

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

GELENEKSEL TIPTA KULLANILAN KUŞBURNU (*Rosa Canina L.*)
MEYVELERİNİN FARKLI SAKLAMA KOŞULLARI VE DEMLEME
SÜRELERİNDE ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE
FENOLİK İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

Münevver DARAK

KASIM-2022
GÜMÜŞHANE



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL TIPTA KULLANILAN KUŞBURNU (*Rosa Canina L.*)
MEYVELERİNİN FARKLI SAKLAMA KOŞULLARI VE DEMLEME
SÜRELERİNDE ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE
FENOLİK İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND
PHENOLIC CONTENT OF ROSEHIP (*Rosa canina L.*) FRUITS USED IN
TRADITIONAL MEDICINE IN DIFFERENT STORAGE CONDITIONS AND
INFUSION TIMES**

YÜKSEK LİSANS

Münevver DARAK

**KASIM-2022
GÜMÜŞHANE**



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL TIPTA KULLANILAN KUŞBURNU (*Rosa Canina L.*)
MEYVELERİNİN FARKLI SAKLAMA KOŞULLARI VE DEMLEME
SÜRELERİNDE ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN VE
FENOLİK İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND
PHENOLIC CONTENT OF ROSEHIP (*Rosa canina L.*) FRUITS USED IN
TRADITIONAL MEDICINE IN DIFFERENT STORAGE CONDITIONS AND
INFUSION TIMES**

YÜKSEK LİSANS

Münevver DARAK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ

**KASIM-2022
GÜMÜŞHANE**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Geleneksel Tıpta Kullanılan Kuşburnu (*Rosa canina L.*) Meyvelerinin Farklı Saklama Koşulları ve Demleme Sürelerinde Antioksidan Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve Fenolik İçeriğinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

29//11/2022

.....
Münevver DARAK

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tüm tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, destek ve yardımını esirgemeyen danışmanım olan Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ'a, laboratuvar uygulamalarındaki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Cemalettin BALTACI, Doç. Dr. Azer ÖZAD DÜZGÜN, Doç. Dr. Tuba ACET ve Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKAR'a, tecrübelerinden yararlandığım lisans üstü öğrencileri Osman AKMEŞE, Buğra BOZKIR ve Gamze YÜKSEL'e, tez çalışmalarım sırasındaki manevi desteğinden dolayı arkadaşım Yüksel Rıdvan KULLUKÇU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tüm eğitim ve öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen annem Zahide DARAK ve Babam Sait DARAK'a, teşekkürlerimi sunarım.

.....
Münevver DARAK
GÜMÜŞHANE - 2022

ÖZET

Rosa canina L (kuşburnu) geleneksel tedavide yaygın kullanılan tıbbi aromatik bir bitkidir. Antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özellikleri çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Fenolik bileşiklerin çeşitli saklama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak miktarlarında değişiklik meydana geldiği bilinmektedir.

Bu çalışmada Gümüşhane İli'nden toplanmış kuşburnu meyvelerin farklı demleme süreleri ve saklama koşullarına göre antioksidan, antimikrobiyal aktivite ve C vit miktarı değişimlerinin izlenmesi amaçlandı. Buna göre taze, kurutulmuş ve dondurulmuş kuşburnu örnekleri üç ay ara ile 90 derece sıcaklıkta demlenerek 30, 60, 90 ve 120 dakika 5 ve 6. saatlerde alınan örneklerde ABTS, DPPH FRAP metotları ile antioksidan aktivite, toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid madde miktarları ve antimikrobiyal aktivite analizleri, HPLC ile fenolik içerik ve C vitamini analizi yapılmıştır. Kurutulmuş meyvelere ait sulu ve etanolik ekstraktlar yapılarak bu örneklerde de yukarıda belirtilen analizler gerçekleştirilmiştir. Demleme ürünlerinde en yüksek antioksidan aktivitenin toplam fenolik içerik ve flavonoid madde miktarının kurutulmuş kuşburnu örneklerinde özellikle 6. Saatte olduğu görüldü ($p < 0.05$). Saklama süresine bağlı olarak bu parametrelerde belirgin azalma izlendi. Demlemeler içinde en yüksek C vitamini miktarı kurutulmuş kuşburnunda olduğu görüldü (83.56 µg/mL demleme). HPLC fenolik içerik analizinde ekstraktlarda toplam 8 adet fenolik bileşik tespit edildi. En fazla Fenolik bileşik olarak kateşin (661.42 µg/g ekstrakt) bulundu. Etanolik ve sulu ekstrakt C vitamini değerlerinde 3 ay sonunda sırası ile %26 ve %14'lük düşüşler tespit edildi. Antimikrobiyal aktivite analizinde 7 suştan beşine karşı (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* E. *Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) aktivite gözlemlendi. Bu sonuçlara göre kuşburnu meyvelerinin uygun demleme süre ve saklama biçimlerinin verimin arttırılmasına katkı yapacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antimikrobiyal, Demleme, Fenolik İçerik, Kuşburnu, *Rosa canina*

SUMMARY

Rosa canina L (rosehip) is a medicinal plant, frequently using in traditional medicine. Its antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties have been demonstrated. Amounts of phenolic compounds and vitamin C depends on various storage temperatures and periods.

We aimed to determine the changes in antioxidant, antimicrobial activity and vitamin C content of rosehip fruits collected from Gumushane according to different infusion times and storage conditions. The antioxidant activity, total phenolic content and total flavonoid substance amounts were determined by ABTS, DPPH FRAP methods in the samples taken at 30, 60, 90, 120 minutes and 5th and 6th hours after the fresh, dried and frozen samples were infused at 90 centigrade degree for three months. Phenolic content and vitamin C analysis were determined by HPLC. The analyzes were carried out in these samples by making aqueous and ethanolic extracts of dried fruits. The highest antioxidant activity observed in the infusion products in dried rosehip samples at 6th hour compared with TFC and flavonoid content ($p < 0.05$). It was observed depending on the storage time the highest amount of vitamin C among the samples was in dried rosehip (83.56 $\mu\text{g/mL}$). Eight phenolic compounds were detected in extracts by HPLC analysis. The catechin was highest compound (661.42 $\mu\text{g/g}$ extract), vitamin C values decreased by 26% and 14%, respectively in extracts. Antimicrobial activity was observed against five of the 7 strains (*B. subtilis*, *S. aureus*, *S.s pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*). Recently, appropriate infusion time and storage forms of rosehip fruits will contribute to increasing the yield.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial, Infusion, Phenolic Compounds
Rosahips, *Rosa canina L*.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1.GENEL BİLGİLER	1
1.1.Giriş.....	1
1.2.Serbest Radikaller	2
1.2.1.Reaktif Oksijen (ROS) ve Nitrojen Türleri (RNS):	2
1.3.Antioksidanlar	4
1.3.1.Antioksidan Sistem ve Etki Mekanizması	4
1.4.Fenolik Bileşikler.....	5
1.5.C Vitamini.....	8
1.6.Rosa canina	9
1.7.Kuşburnu ve Tıbbi Etkiler.....	10
2.MATERYAL ve METOT	12
2.1.Kullanılan Cihazlar	12
2.2.Kullanılan Kimyasallar	12
2.3.Kuşburnu Örneklerinin Toplanması ve Çalışma Grupları	13
2.4.Örneklerin Ekstraksiyonu.....	13
2.5.Demleme	14
2.6.Antioksidan Tayin Metotları	15
2.6.1.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	15
2.6.2.Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini	16
2.6.3.ABTS Radikali Yakalama Yöntemi.....	18
2.6.4.DPPH Radikali Yakalama Yöntemi.....	19
2.6.5.FRAP Demir (Fe ³⁺) İndirgeyici Güç Tayini	20
2.7.HPLC Analizleri.....	22

2.7.1.HPLC Fenolik Bileşik Analizi	22
2.7.2.HPLC Askorbik asit (C Vit) Analizi.....	23
2.8.Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	24
3.BULGULAR	25
3.1.Fenolik Madde Miktarı Sonuçları	25
3.2.Flavonoid Madde Miktarı	28
3.3.ABTS Radikal Yakalama Yöntemi Sonuçlar.....	31
3.4.DPPH Radikal Yakalama Yöntemi Sonuçlar.....	34
3.5.FRAP Demir (Fe ⁺³) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçlar	37
3.6.HPLC Analizi:.....	39
3.6.1.Fenolik İçerik Analizi	39
3.6.2.C Vitamini Analizi	40
3.7.Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları	40
4.TARTIŞMA	42
5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
KAYNAKÇA.....	56
ÖZGEÇMİŞ	55

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Başlıca reaktif oksijen ve nitrojen türleri.....	3
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları.....	12
Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları	12
Tablo 4. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre Fenolik miktar sonuçları	26
Tablo 5. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu ürünlerinin demleme sürelerine göre.....	32
Tablo 6. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu ürünlerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri	35
Tablo 7. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri	38
Tablo 8. Etanolik Ekstrakt ve Sulu Ekstraktların Fenolik Bileşik Analizi	39
Tablo 9. Kuşburnu Gruplarında C Vitamini Değerleri µg/mL	40
Tablo 10. Sulu ve Etanolik ekstraktların C vitamini değerleri.....	40
Tablo 11. Ekstraktlara ait antimikrobiyal aktiviteler	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Meyvelerdeki polifenollerin sınıflandırılması (Rupasinghe vd., 2014).....	7
Şekil 2. Bazı yaygın fenolik bileşikler	8
Şekil 3. Askorbik Asidin moleküler yapısı	9
Şekil 4. Kuşburnu Meyvesi	10
Şekil 5. Kuşburnunun Türkiye’de dağılımı.....	10
Şekil 6. 1. Aşama toplam fenolik içerik için hazırlanan gallik asit standart grafiği	15
Şekil 7. 2. Aşama toplam fenolik içerik için hazırlanan gallik asit standart grafiği	16
Şekil 8. 1. Aşama toplam flavonoid madde miktarı için hazırlanan kuersetin standart grafiği	17
Şekil 9. 2. Aşama toplam flavonoid madde miktarı için hazırlanan kuersetin standart grafiği	17
Şekil 10. ABTS 1. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği	18
Şekil 11. ABTS 2. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği	19
Şekil 12. DPPH 1. Aşama Gallik asit standart konsantrasyon grafiği	20
Şekil 13. DPPH 2. Aşama Gallik asit standart konsantrasyon grafiği	20
Şekil 14. FRAP 1. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği.....	21
Şekil 15. FRAP 2. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği.....	22
Şekil 16. HPLC Standart Kromatogramı ve kullanılan standartlar.....	23
Şekil 17. HPLC C vitamini standart diyagramı	23
Şekil 18. 1. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarları	25
Şekil 19. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarını grafiği	26
Şekil 20. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarının zamansal eğim grafiği	27
Şekil 21. Sulu (SuEk) ve etanolik (EtEk) ekstraktların fenolik madde miktarları.....	27
Şekil 22. Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarları.....	28
Şekil 23. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarları.....	29
Şekil 24. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarlarının zamansal eğimi grafiği	30

Şekil 25. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları Flavonoid madde miktarları.....	30
Şekil 26. 1.Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerleri	31
Şekil 27. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerleri grafiği	32
Şekil 28. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerlerinin zamansal eğim grafiği	33
Şekil 29. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları ABTS yakalama radikali	33
Şekil 30. 1. Aşama Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri	34
Şekil 31. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri grafiği	35
Şekil 32. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerlerinin zamansal eğim grafiği	36
Şekil 33. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları DPPH yakalama radikali	36
Şekil 34. 1. Aşama Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri	37
Şekil 35. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri grafiği.....	37
Şekil 36. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerlerinin zamansal eğim grafiği.....	38
Şekil 37. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları FRAP Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç miktarları.....	39
Şekil 38. Ekstraktlarda antimikrobiyal aktivite.....	41
Şekil 39. Demleme ürünlerinde antimikrobiyal aktivite	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
μ	: Mikro
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
DPPH $\cdot$	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
FeCl ₃	: Demir (III) Klorür
FRAP	: Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Güç
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
HCl	: Hidroklorik asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
L	: Litre
LOO $\cdot$	: Lipid Perosil Radikali
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
mL	: Mililitre
mg	: Miligram
NO $\cdot$	: Nitrik Oksit Radikali
NO ₂ $\cdot$	: Azot Dioksit
O ₂ $\cdot^-$	: Süperoksit Anyonu
QE	: Kuersetin eşdeğeri
R ²	: Korelasyon katsayısı
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TPTZ	: 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-S-triazine

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler sahip oldukları zengin çeşitte ve birbirinden farklı kimyasalları içeren, kök, gövde, yaprak, meyve ve özüt gibi kısımları gıda, ilaç ve kozmetik gibi alanlarda oldukça eski zamanlardan beri kullanılan bitkilerdir. Bu bitkiler, geleneksel, alternatif veya tamamlayıcı tıp olarak ifade edilen tedavi yöntemlerinin de en önemli bileşenini oluşturmaktadır (Göktaş ve Gıdık, 2019). Dünya Sağlık Örgütü (DSO) verilerine göre gelişmemiş ülkelerin nüfusunun %80'ni, gelişmiş ülkelerin nüfusunun ise %40'ı geleneksel ilaç tedavileri uygulamaktadır (Acıbuca ve Budak, 2018).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin geleneksel tıpta antikanser, antidiyabetik, antihipertansif, anti-inflamatuvar, antimikrobiyal, antisitotoksiste, antiapoptotik, nefroprotektif, DNA onarımı gibi son derece farklı etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Turan vd., 2019; Kılınç vd., 2020). Bununla beraber bu bitkilerin belki de en önemli etkilerinden biri, bahsi geçen hastalıkların oluşumunda başlıca ve ortak faktörlerden biri olan oksidan mekanizmalara karşı koruyucu özelliği yani antioksidan yetenekleridir. Bu özelliklerinin başlıca kaynakları olarak sekonder metabolit ürünleri olan fenolik bileşiklerin geldiğine inanılmaktadır (Rupasinghe vd., 2014).

Serbest radikal olarak bilinen ve eşleşmemiş elektron içeren moleküller hücre içinde metabolik yollarla meydana gelirler ve antioksidan mekanizmanın yetersiz kaldığı durumlarda hücrede yıkıcı sonuçlara neden olabilirler (Pham-huy 2008). Canlı organizmalarda reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türleri (RNT) özellikle fizyolojik hücre içi olaylar sonucu meydana gelen güçlü zararlı etkileri olan radikallerdir (Di Meo vd., 2016). Kardiyovasküler hastalıkların (KVH), kanserin, metabolik bozuklukların bazı böbrek hastalıklarının, romatoid artrit, çeşitli otoimmün hastalıkların ardında bu etmenlere rastlanmaktadır (Valko vd., 2007).

Rosa canina (kuşburnu) ülkemizde yaygın olarak yetişen tıbbi aromatik bitkiler grubuna dahil bir bitkidir. Çay, marmelat, meyve suyu gibi farklı besinsel kullanım alanları mevcuttur. Özellikle çay şeklinde ticari olarak kurutulmuş parçalar veya poşetlenmiş şekilde ve/veya yetiştiği bölgelerde halk arasında dönemine göre yaş ya da yine tam kurutulmuş olarak demleme şeklinde kullanılmaktadır. Gümüşhane ili kuşburnu açısından son derece zengindir (Öz vd., 2019).

Kuşburnu zengin fenolik bileşik çeşitliliği, yağ asitleri ve yüksek C vitamini miktarları sayesinde geleneksel olarak soğuk algınlığı, hepatotoksiste, lipid düşürücü

antidiyabetik ve anti-inflamauar etmenli çeşitli hastalıkların tedavi ve önlenmesinde uzun zamandan beri kullanılan bir bitkidir (Marmol vd., 2017).

Çalışmamızda kuşburnunun geleneksel tüketim yöntemlerinden biri olan demleme yöntemi kullanılarak ilk aşamada kurutulmuş ve taze kuşburnu meyvelerinin farklı sürelerde (30 dk, 60 dk, 90 dk, 120 dk, 5 ve 6 saat) elde edilen demleme ürünlerinin antioksidan kapasitelerinin, C vitamin miktarları ve antimikrobiyal özelliklerinin tespit edilmesi, ardından farklı şekillerde ve sıcaklıklarda saklanmış demleme ürünleri ve meyvelerde aynı analizler yapılarak bu parametreler üzerine saklama koşulları ve demleme sürelerinin nasıl etkilediğinin görülmesi amaçlanmıştır. Çalışmada ayrıca meyvelerden elde edilen sulu ve etanolik ekstraktlarda HPLC ile fenolik içerik analizi de yapılarak demleme sonuçlarının fenolik bileşiklerle ilişkilendirilmesi planlanmıştır. Böylece yaygın bir tüketime sahip kuşburnu ürünlerinin çeşitli saklama koşulları ve biçimlerinin gerek bireysel gerekse ticari olarak daha verimli hale getirilebileceği düşünülmektedir.

1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla serbest elektron içeren atom veya moleküllerdir (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikal olarak tanımlanan moleküller canlı sistemlerde metabolizma sonucu meydana gelebilmektedir. Hücre içi elektron taşıma sistemi reaksiyonları, bazı sitokrom enzimleri, peroksizomlarla ilişkili oksidazlar, fenton reaksiyonu (eşitlik 1) gibi metabolik olaylar bu duruma örnek olarak verilebilir (Di Meo vd., 2016). Bununla beraber serbest radikal kaynakları olarak endojen (mitokondrial tepkimeler, lipoksijenazlar, NADPH oksidaz gibi enzimler, inflamasyon vb.), savunma mekanizması elemanları ve ürünleri (Süperoksid dismutaz, katalaz gibi enzimler, askorbat ve toofreol gibi vitamin deriveleri, glutatyon.) ve eksojen (Ultra viyole –UV- ışınlar, iyonize radyasyon, kemoterapi kaynaklı inflamasyon vb.) şeklinde bir sınıflandırma yapılabilir (Setty vd., 2004; Lin vd., 2016; Karabulut ve Gülay 2016). Serbest radikaller genel olarak zararlı kabul edilmekle beraber hücrede orta veya düşük düzeydeki miktarlarının bazı yararlı sonuçları olabileceği ifade edilmektedir. Bağışık yanıtta mikrobiyal atakara karşı bazı fagositer özellikteki lökosit hücreleri (Monositler, makrofajlar cevap olarak serbest radikal salgırlar (Dröge, 2002; Pham-Huy vd., 2008).

1.2.1. Reaktif Oksijen (ROS) ve Nitrojen Türleri (RNS):

Oksijen, serbest radikal oluşumunda son derece etkilidir. Serbest radikallerce oluşturulan reaktif oksijen türleri normal hücrelere göre daha yüksek kimyasal reaktivite

özelliği gösterir (Nawar, 1985). Bu durum ROT'un DNA, protein ve lipidler gibi oldukça farklı moleküllerle reaksiyona girebilmesine ve bu moleküllerde hasar oluşturmaya neden olur. Reaktif oksijen ve nitrojen türlerini radikal ve radikal olmayan şeklinde ayırmak mümkündür (Tablo 1). Normal durumlarda hücre içi ve dışı antioksidan moleküller ile ROT ve RNT türleri arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROT ve RNT'ye doğru kayması oksidan özelliği artırır ve "oksidatif stres" denen durum ortaya çıkar (Sies, 1991). Oksidan/antioksidan dengenin bozulması, derecesine göre çeşitli bozuklukların ortaya çıkmasına neden olur. Çeşitli kanser türleri, kardiyasküler hastalıklar (KVH), nörodejeneratif bozukluklar, deri hastalıkları, yaşlanma, diyabet, otoimmün hastalıklar ve romatoid artrit gibi hastalıklar bu dengenin bozulması sonucu ortaya çıkabilmektedir (Pham-Huy vd., 2008; Valko vd., 2007).

Hücre içi organeller ROT kaynakları olarak ortaya çıkabilir. Mitokondri, endoplazmik retikulum zarı, sitozol ve peroksisomlar bu organellere örnek verilebilir. Hücrede ROT'un iki şekilde oluştuğu ifade edilmektedir: Enzimatik olan, enzimatik olmayan. Ksantin oksidaz, peroksidazlar ve NADPH oksidaz gibi enzimler solunum zinciri reaksiyonları, sitokrom p450 sistemi ve fagositoz gibi olaylar sırasında enzimatik olarak serbest radikal oluşumuna neden olabilirler (Halliwell, 2007; Valko vd., 2007).

Tablo 1. Başlıca reaktif oksijen ve nitrojen türleri (Di Meo, vd., 2016).

Radikaller	O ₂ ⁻ . Süperoksit Anyonu
	.OH Hidroksi Radikali
	NO. Nitrik Oksit Radikali
	NO ₂ . Azot Dioksit
Radikal Olmayanlar	LOO. Lipid Peroksil Radikali
	H ₂ O ₂ Hidrojen Peroksit
	HOCl Hipoklorik Asit
	ONOO- Peroksinitrit

Süperoksit dismutaz enzimi mitokondride reaksiyonlar sonucu açığa çıkan süperoksit anyonunu (O₂⁻) Hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürür. H₂O₂ radikal olmaya reaktif oksijen türüdür ve Fe⁺² varlığında Fenton reaksiyonu ile OH radikaline ayrıştırılır (Aslankoç, vd., 2019). Fenton reaksiyonu eşitlik 1'de gösterilmiştir.



Serbest oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumun da eksojen kaynaklar arasında sigara ve hava kirliliği gibi çevresel toksin ajanlar COVID 19 gibi viral kaynaklı

enfeksiyonlar ve buna bağılı olarak gelişen inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde görev yapan sitokinler de sayılabilir.

1.3. Antioksidanlar

Hücre içerisinde antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda bulunan serbest radikal süpürücü özelliğı bulunan maddelerdir. Bu sayede serbest radikaller üzerinde bulunan elektronlara bağlanarak onları nötrlerler böylece zarar verme kapasitesini azaltarak hücresel hasarı geciktirir veya azaltır (Halliwell, 1995).

Antioksidanlar, diyetin bir parçası veya diyet takviyeleri olarak endojen veya eksojen olarak elde edilebilir. Serbest radikalleri nötrlemeyen ancak endojen aktiviteyi artıran bazı diyet bileşikleri de antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. İdeal bir antioksidan, kolayca emilmeli ve serbest radikalleri ortadan kaldırmalıdır. Ayrıca fizyolojik olarak da uygun seviyelerde redoks metallerini şelatlamalıdır (Kurutaş, 2015).

1.3.1. Antioksidan Sistem ve Etki Mekanizması

Antioksidanlar radikal süpürücü, hidrojen verici, elektron verici, peroksit ayrıştırıcı, tekl oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı ajanlar olarak işlev görür. ROT'u etkisiz hale getirmek için hücre içi ve hücre dışı ortamda hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanlar bulunur (Frie vd., 1988).

Antioksidanlar için iki temel etki mekanizması bulunmaktadır (Rice-Evans ve Diplock, 1993). Birincisi, birincil antioksidanın sistemlerde bulunan serbest radikale bir elektron bağlayarak zincir kırma mekanizmasıdır. İkinci mekanizma ise zincir başlatıcı katalizörü süpürerek ROT'un (ikincil antioksidanlar) çıkarılmasını sağlar. Antioksidanlar biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini elektron bağlayıcı, metal iyon şelatlayıcı, ko-antioksidanlar veya gen ekspresyon düzenleyici gibi farklı mekanizmalarda gösterebilirler (Krinsky, 1992).

Savunma sistemlerinde görev yapan antioksidanlar, koruyucu, radikal süpürücü, DNA onarımı ve dördüncü savunma hattında yani adaptasyonda etki seviyeleri gösterirler

İlk savunma hattı, serbest radikallerin oluşumunu baskılayan antioksidanlardır. Bu tür reaksiyonları önlemek için, bazı antioksidanlar, hidroperoksitleri veya hidrojen peroksiti, serbest radikaller oluşturmadan önce sırasıyla alkollere ve suya indirgeyerek bazı proteinleri metal iyonlarına bağlayarak depolanmasını sağlarlar.

İkinci savunma hattı, zincir başlangıcını bastıran veya zincir yayılma reaksiyonlarını kırmak için aktif radikalleri temizleyen antioksidanlardır. Çeşitli endojen radikal süpürücü antioksidanlar bilinmektedir. Bunlar hidrofilik veya lipofilik

olabilirler. C vitamini, ürik asit, bilirubin, albümin ve tiyoller hidrofilik, radikal süpürücü antioksidanlardır. E vitamini ve ubiquinol ise lipofilik radikal süpürücü antioksidanlardır. E vitamini, en güçlü radikal süpürücü lipofilik antioksidan olarak kabul edilir.

Üçüncü savunma hattı, onarım ve de novo antioksidanlardır. Memeli hücrelerinin sitozolünde ve mitokondrilerinde bulunan proteolitik enzimler, proteinazlar, proteazlar ve oksidatif olarak değiştirilmiş proteinleri tanıyarak uzaklaşmasını sağlar. Böylece oksitlenmiş proteinlerin birikmesini önler (Niki, 1993).

1.4. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bir ya da daha fazla sayıda hidroksil grubu içeren bir ya da daha fazla aromatik halkadan oluşan maddelerdir (Lin vd., 2016). Yapılarına göre suda çözünen ve çözünmeyen formları mevcuttur.

Fenolik bileşikler ya da polifenoller yapısal özelliklerine bağlı olarak farklı aktiviteler gösteren ve yaygın olarak bulunan fitokimyasallardır. Sekonder metabolit sınıfından olan da bu kimyasallar bitkilerin renk, tat, koku, görünüm gibi çeşitli özelliklerinden de sorumludurlar ve bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve gibi farklı bölgelerinde bulunabilirler (Rupasinghe vd., 2014; Karbulut ve Yemiş 2019). Bitkilerin bu bileşikleri savuma, büyüme ve gelişme amacı ile ürettikleri, biyotik ve abiyotik stres sırasında önemli görevler yaptıkları ifade edilmektedir (Pratyusha, 2022).

Fenolik bileşikler bitkilerde şikimik asit yolu, malonik asit yolu (poliasetat) ve ortak-karışık (Şikimik asit – poliasetat) yoldan üretilirler (Lin vd., 2016; Rupasinghe vd., 2016). Sitozolda gerçekleşen glikoliz sırasında oluşan fosfoenol piruvatın bir kısmı TCA döngüsüne girerken diğer bir kısmı tirozin triptofan fenil alanin gibi aromatik aminositlerin ve sonunda polifenollerin sentezlendiği şikimat yoluna dahil olur (Lin vd., 2010).

Meyve polifenolleri genel olarak bu bitkilere yüksek antioksidan kapasitesi kazandırır ve dünya genelinde geniş bir dağılıma sahiptirler (Rupasinghe, vd., 2008). Ayrıca mikroorganizmalarca parçalanarak bitkilerin toprak verimliliğini, emilim yeteneğini arttırdığı ve ekosistemin gelişimine olanak sağladığı ifade edilmektedir (Pratushya, 2022).

Bitki fenolik bileşiklerinin sınıflandırılmasında karbon-benzen halkası sayısı esas alınır. Örneğin 7 karbonlu (C6-C1) fenolik asitler, 14 karbonlu (C6-C2-Ca) stilbenler, 15 karbonlu flavonoidler, isoflavonoidler örnek olarak gösterilebilir (Harborn 1989; Pratyusha, 2022).

Meyvelerdeki fenolik bileşikler (Şekil 1) 5 ana başlıkta toplanmaktadır (Rupasinghe vd., 2014):

1-Fenolik asitler Meyvelerin asidik tadını oluştururlar ve diyetel fenoliklerin büyük bir kısmını meydana getirirler. Gallik asit, parakumarik asit, kafeik asit bu gruptaki yaygın fenolik asitlerdir (Pandey ve Rivzi, 2009).

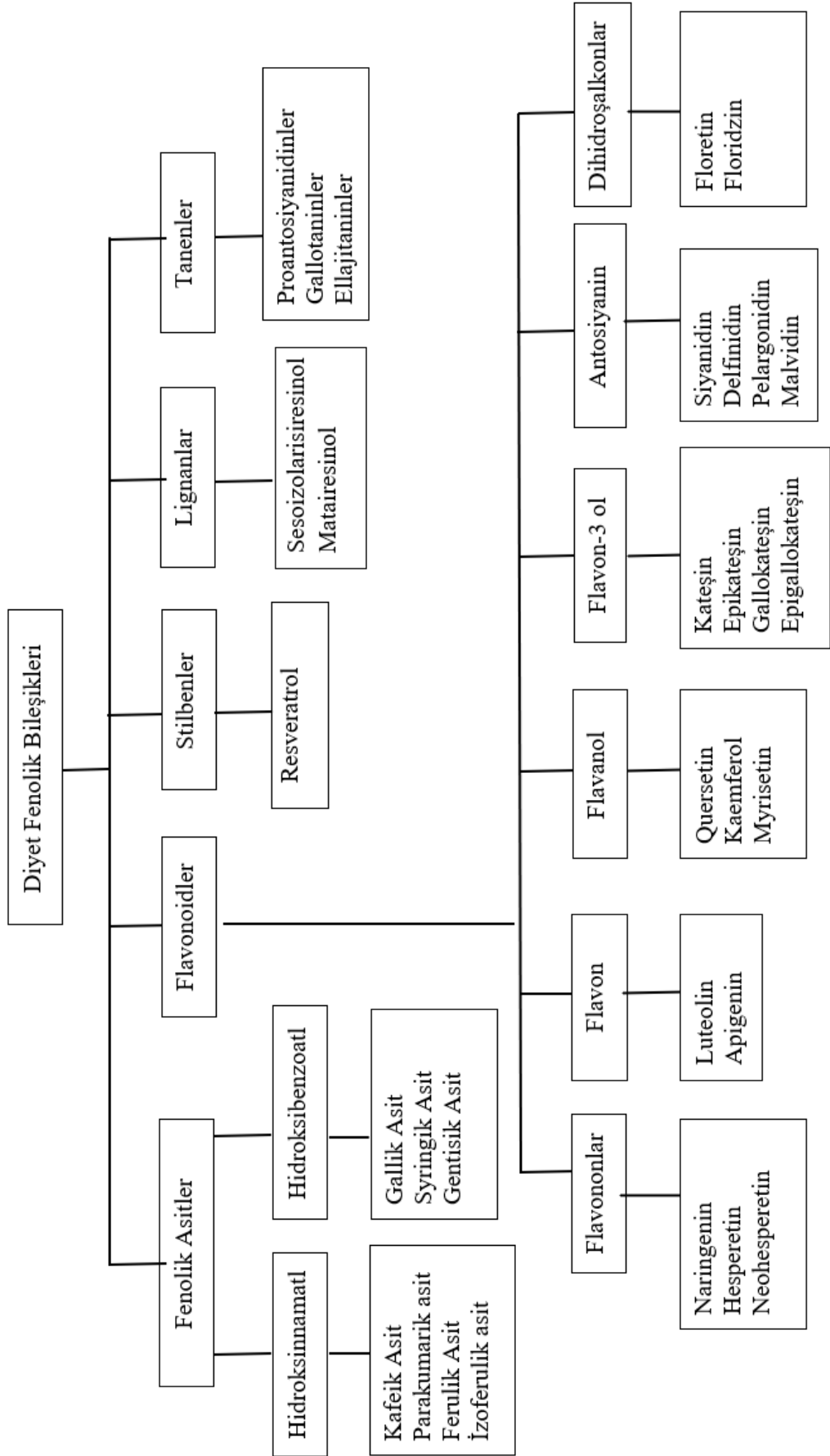
2-Lignanlar 2 fenil-propan ünitesinin oksidatif dimerizasyonu ile meydana gelirler. Keten tohumundaki miktarları yüksektir ve son dönemlerde yararlı tıbbi etkilerine dair artan biçimde çalışmalar mevcuttur (Pietrofesa vd., 2016) Matairesinol bu gruba örnek olarak verilebilir.

3-Stilbenler polifenolik bileşikler grubundadır. Üzüm, karaüzüm, yer fıstığında bol miktarda bulunurlar. En iyi bilinen örneği resveratroidir ve bu bileşiğin KVH kapsamında önemli bir antioksidan etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Xia vd., 2017; Demir ve Özlem, 2020).

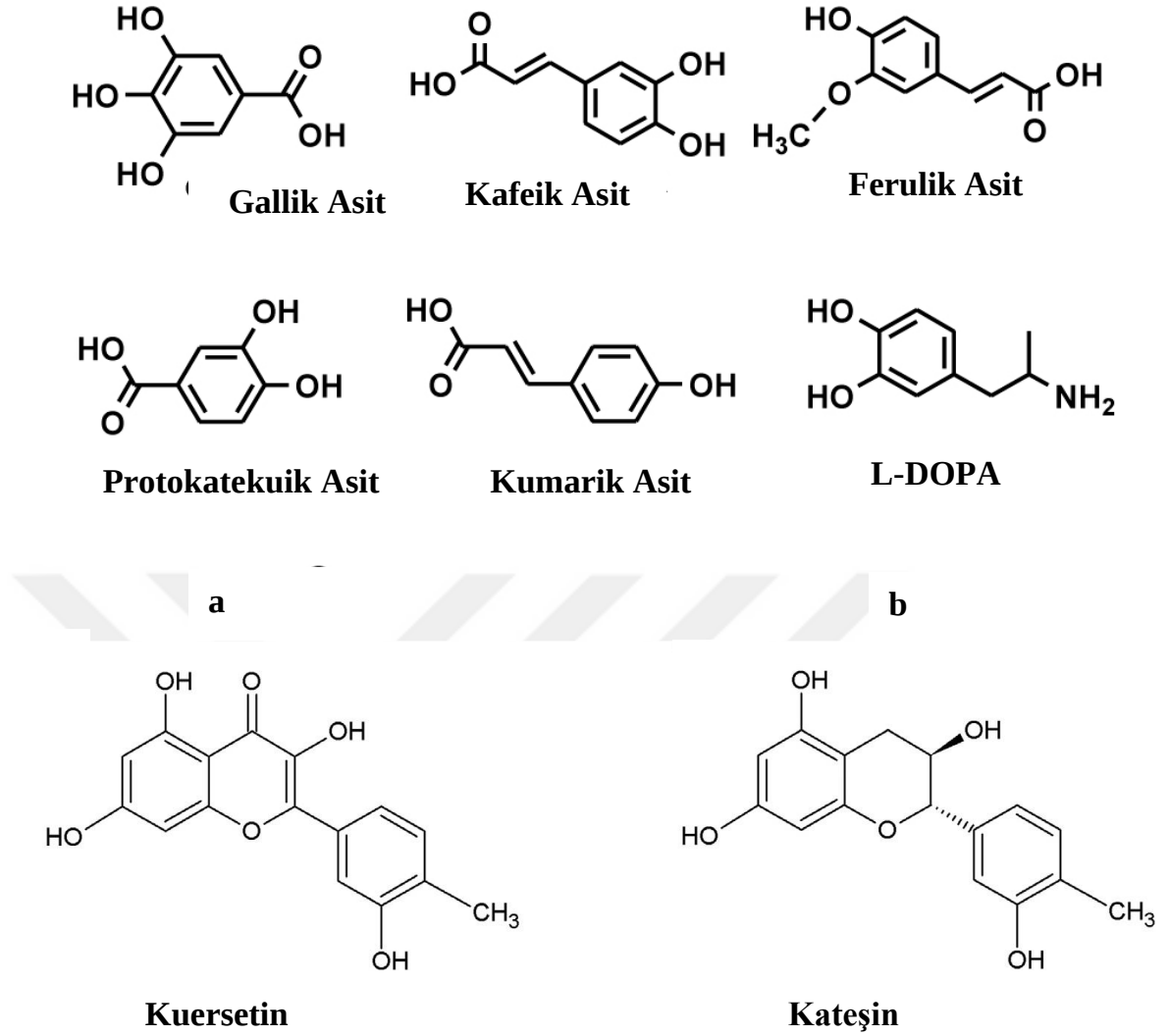
4-Flavonoidler en geniş fenolik çeşide sahip grubu oluştururlar. Bitkilerin kök gövde yaprak çiçek meyve gibi farklı bölgelerinde, sebzelerde ağaç kabuklarında, tahıllarda çayda geniş biçimde bulunurlar ve bu nedenle diyet fenolleri olarak adlandırılırlar. Farmasötik, kozmetik ve tıbbi uygulama alanlarının vazgeçilmez unsurlarıdır (Panche vd., 2016). Kuersetin, kateşin, epikateşin ve rutin bu grubun iyi bilinen fenolik bileşikleridir. Bu bileşiklerin KVH, nörodejeneratif bozukluklar, yaşlanma gibi oksidatif stres kaynaklı hastalıklara karşı özellikle lipid peroksidasyonunu engelleyerek önemli ölçüde koruyucu rol oynadıkları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Pietta, 2000; Panche vd., 2016).

5-Tanenler sebze, meyve ve tahıllarda yaygın olarak bulunan suda çözünebilen polifenolik bileşiklerdir. Antimikrobiyal antiparazitik, immünolasyon ve anti-inflamatuar etkilerinden bahsedilmekle beraber 90'lı yılların sonunda tanenlerin kanserojen olabileceğine dair görüşler de mevcuttur (Chung vd., 1998; Zhang vd., 2022). Proantosiyantinler, gallotaninler bu grup bileşiklere örnek olarak verilebilir.

Fenolik bileşiklerin çeşitli sıcaklıklarda ve saklama sürelerinde antioksidan aktivitelerinde kayıplar olabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin Kuşburnu meyvesinde bulunan kateşinin sıcaklık, pH, oksijen miktarı ve ortamda metal iyonu bulunması gibi faktörlere bağlı olarak biyolojik aktivitelerinde azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Hou vd., 2005).



Şekil 1. Meyvelerdeki polifenollerin sınıflandırılması (Rupasinghe vd., 2014).



Şekil 2. Bazı yaygın fenolik bileşikler (a: Lin vd., 2016; b: Josiah vd., 2021 kaynaklarından modifiye edilmiştir).

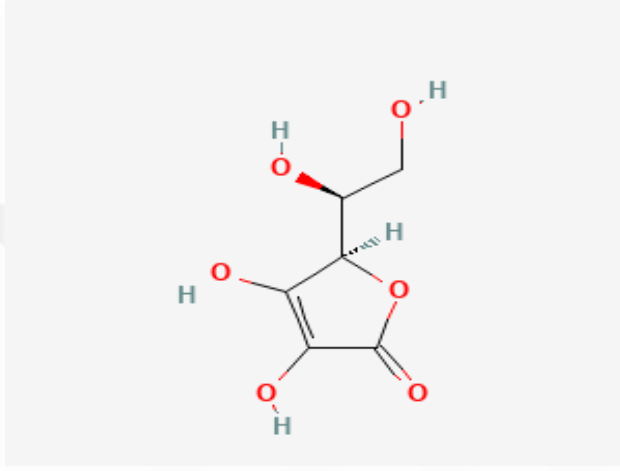
1.5. C Vitamini

C vitamini (Askorbik asit) bir serbest radikal temizleyicisi olduğu kadar bağ dokuda kollajen sentezi, gastrointestinal yolda demir emilimi, bazı enzimlerin Ko-faktörü olması gibi çeşitli işlevleri olan önemli bir vitamindir (Abdullah vd., 2022). Eksikliğinde kollajen sentezinin bozulması ile ilişkili iskorbüt (skorbüt) hastalığı meydana gelir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Suda çözünebilen C vitamini insanlar tarafından sentezlenemediğinden diyet şeklinde dışarıdan alınması gerekmektedir. Askorbik asitin bilinen fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerinin, elektron donörü olarak hareketinden kaynaklandığı ifade edilmektedir ve elektron transferi sayesinde önemli bir indirgeyici ve antioksidan ajan olarak görülmektedir. Askorbik asit 5 karbonlu bir lakton halkası içinde enodiol grubu

olan dibazik bir asit olup kimyasal ve fizyolojik özelliklerinin büyük oranda bu yapı ile alakalı olduğu belirtilmektedir (Hacışevki, 2009). Bununla beraber bazı şartlara ve konsantrasyona bağlı olarak prooksidan özelliği de söz konusu olabilmektedir (Du vd., 2012).

Şekil 3'te belirtildiği üzere askorbik asit (AscH₂, C vitamini), iyonlaşabilme özelliği gösteren iki hidroksil grubuna sahip bir ketolakton olup bu özelliği sayesinde suda çözülebilmektedir (Du vd., 2012)..



Şekil 3. Askorbik Asidin moleküler yapısı (URL-1)

C vitamininin enfeksiyon durumunda savunma hücrelerinde yoğunluğunun artması ile, kemotaksi ve fagositoz özelliğini tetiklediği ve bu sayede antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığı ifade edilmektedir (Uğur vd., 2020).

1.6. Kuşburnu (*Rosa canina*)

Rosa canina (kuşburnu) tıbbi bitkilerin odun dışı bitkisel orman ürünü grubu içinde değerlendirilen ve ülkemizde geniş bir yayılım gösteren *Rosaceae* familyasına ait bir bitkidir. Dünya genelinde yetişen kuşburnu türlerinin yaklaşık %25 oranında Türkiye’de yetiştiği belirtilmektedir (Kılınç vd., 2020). Besinsel açıdan çay, marmelat, meyve suyu şeklinde farklı kullanım biçimleri söz konusudur.

Yapılan çeşitli çalışmalarda kuşburnunun fenolik bileşikler, C vitamini, tokoferoller, esansiyel yağ asitleri, karetenoidler ve bazı şekerler bakımından önemli ölçüde fitokimyasal içeriğe sahip olduğu gösterilmiştir (Deliorman vd., 2007; Jäger vd., 2007). Fenolik bileşik analizlerinde kuşburnunun gallik asit, ferulik asit, parakumarik asit, vanilik asit, hidroksibenzoik asit, parakateuik asit gibi fenolik asitler, kuersetin,

kateşin, epikateşin gallat, kaemferol gibi flavonoidleri içerdiği tespit edilmiştir (Guimarães vd., 2014; Nadpal vd., 2016).

Kuşburnu meyvelerinin C vitamini içeriği açısından en zengin meyvelerden biri olduğu bilinmektedir ve bu nedenle grip gibi soğuk algınlığı başta olmak üzere C vitamini yetmezliği, artrit, kollajen eksikliği, bazı böbrek ve alt idrar yolu inflamatuvar rahatsızlıkları gibi çeşitli hastalık ve bozuklukların tedavisinde ve önlenmesinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Chrubasik vd., 2008; Nadpal vd., 2016).



Şekil 4. Kuşburnu Meyvesi



Şekil 5. Kuşburnunun Türkiye’de dağılımı (Ayhan ve Altınkaynak 2020).

1.7. Kuşburnu ve Tıbbi Etkiler

Kuşburnunun tıbbi etkileri: Kuşburnu fenolik içerik açısından zengin bir bitkidir. Ayrıca meyvesi en yüksek C vitamini değerine sahip meyvelerden biri olarak önemli bir antioksidan kaynağıdır. Fenolik içerik incelendiğinde rutin, ellajik asit, kuercetin, gallik

asit, kaemferol, vanilik, syringik asit gibi çeşitli fenolik asit ve flavonoidlerin bol miktarda bulunduğu görülmektedir (Marmol vd., 2016). Bununla beraber karetenoid ve yağ asitleri içeriğinin de geleneksel tedavide yararlanılan diğer bileşikleridir. Örneğin kuşburnu çekirdeğinde daha bol bulunan linoleik asit ev α linolenik asitlerin anti-inflamatuar aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Winther vd., 2016). Meyvelerin (aslında yalancı meyvelerdir) hem etli kısımları hem de çekirdekleri farklı özellikler gösterebilmektedir.

Yüksek C vitamini içeriği sayesinde özellikle kış aylarında soğuk algınlığı grip gibi enfeksiyonlara karşı kullanımı tercih edilmektedir. Bunun dışında çeşitli hastalıklara karşı tedavi ve koruyucu amaçlı geleneksel kullanımı da söz konusudur. Antikanser, antidiyabetik, anti-inflamatuar, lipid düşürücü, anti-aging, hepatoprotektif ve romatoid artrite kaşı koruyu rolleri olduğu ifade edilmektedir (Kılınç vd., 2020; Turan vd., 2018; Marmol vd., 2016).

Kuşburnu bitkisinin geleneksel tedavide kullanılan kısımları meyveleri ile sınırlı değildir. Bitkinin kök, gövde, dallar ve meyvelerinin çeşitli kısımları farklı hastalıkların tedavisinde uzun süre kullanılmaktadır. Örneğin kökleri anal hemaroid, disüri ve romatizma tedavisinde (Yeşilada vd., 1997; Kültür, 2007); dalları böbrek taşı ve egzema tedavisinde (Yeşilada vd., 1997), meyvesi ise alt idrar yolu hastalıklarında, romatoid hastalıklarında, bronşit, soğuk algınlıkları, astım, diare, osteoartrit gibi hastalıkların tedavisinde (Blummenthal vd., 1998) kullanılmaktadır. Bununla beraber en yaygın biçimde kullanılan türü meyveleridir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz ve Aletler	Marka/Model
Buzdolabı	Beko
Cam malzemeler (beher, erlen, balon joje)	ISO Lab
Çalkalayıcı İnkübatör	Shel Lab
Distile Su Cihazı	Merk Milipore
Ependorf tüp (1.5 mL)	ISO Lab
Evaporatör	Heidolph
Etüv	Memmert
Falkon Tüp (15/50 mL)	Labsolute
Hassas Terazı (0.0001 Hassasiyet)	KERN
Havan	ISO Lab
HPLC	Agilent 1200 Infinity
Manyetik Isıtıcı/Karıştırıcı	IKA RH Basic 2
Mikroplakalar	Lp Italiana Spa
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific
Otomatik pipetler (10-20-200-1000µL)	Eppendorf/
pH-metre	HANNA
Santrifüj (Soğutmalı)	Allegra X-30R
Spektrofotometre Cihazı	Shimadzu UV1800
Vorteks	Heidolph

2.2. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları

Kimyasal Maddeler	Firma/Kod
Alüminyum nitrat	Merck 101063ISO
Aseton	Sigma Aldrich 67641
Etanol	Sigma Aldrich 32205
Folin-Ciocalteu reaktifi	Merck 1.09001.0100

Tablo 3. (Devamı)

Kimyasal Maddeler	Firma/Kod
Fosfat tampon	Sigma Aldrich P4417
Gallik asit	Sigma Aldrich G7384
Glasiyal asetik asit	Sigma Aldrich
Hidroklorik Asit (HCl)	Sigma Aldrich
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Tekkim 7722841
Kuersetin	Merck 1592409
Metanol	Merck 106009
Ninhidrin	Merck 487472
Orto Fosforik asit	Honeywell-Seelze 04107
Potasyum asetat (KCH ₃ COO)	Merck 2048222
Potasyum iyodid (KI)	Sigma Alrich
Sodyum karbonat	Merck 106392
Sodyum klorür	Merck 100317
Toluen	Merck 108323
Tiyobarbütürik Asit (TBA)	Merck 108180
Trikloroasetik Asit (TCA)	Merck 76039
TPTZ	

2.3. Kuşburnu Örneklerinin Toplanması ve Çalışma Grupları

Kuşburnu meyve örnekleri Gümüşhane il merkezinden Şiran yolunda aynı bitki florasından toplandı. Örnekler yaklaşık 50'şer gram olacak şekilde ağzı kilitli buzdolabı poşetlerine alındı. Meyveler 5 ayrı kuşburnu meyve grubu şeklinde düzenlendi:

- 1.-20 °C'de dondurulmuş taze kuşburnu meyvelerinden oluşan grup
- 2.Taze kuşburnu (dondurulmamış, toplama aşamasındaki) meyvelerinin hemen kurutulması ile elde edilen kuşburnu numunelerinden oluşan grup
- 3.Dondurulmuş taze kuşburnu meyvelerinin çözüldükten sonra kurutulması ile oluşturulan grup.
- 4.b Grubu kuşburnu meyvelerinden elde edilen sulu ekstrakt grubu
- 5.b Grubu kuşburnu meyvelerinden elde edilen etanolik ekstrakt grubu

2.4. Örneklerin Ekstraksiyonu

Kuşburnu örneklerinin ekstraksiyonu için en iyi sonuçları veren su ve etanol çözücü olarak kullanıldı. (Ozgen vd., 2006; Ercisli ve Orhan, 2008). Toplanan kuşburnu

örneklerinin bir kısmı hassas terazide tartılarak ekstraksiyon işlemi için etüvde 48 saat 36°C’de kurutuldu. Kurutulmuş kuşburnu örnekleri öğütülerek toz haline getirildi.

Sulu Ekstraksiyonu: Toz halindeki kuşburnu örneklerinden 5 gram tartıldı ve saf su ile 50 mL ‘e tamamlandı. Örnekler vortekslendikten sonra 45°C’de 150 rpm’de 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası numuneler 2 kat kaba filtre kağıdından süzüldü ve boş ağırlığı bilinen balon jojeye alındı. Evaporatör yardımı balon joje içerisindeki çözücü uçuruldu. Uçurma sonrası kalıntıların ağırlığı tartıldı. Kalıntılar bir miktar saf su ile çözdürüldü. Elde edilen ekstraktların bir kısmı +4°C diğer kısmı ise 2. aşama için -20°C de muhafaza edildi.

Etanol Ekstraksiyonu: Toz halindeki kuşburnu örneklerinden 5 gram tartıldı ve etanol ile 50 mL ‘e tamamlandı. Örnekler vortekslendikten sonra 45°C’de 150 rpm’de 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası numuneler 2 kat kaba filtre kağıdından süzüldü ve boş ağırlığı bilinen balon jojeye alındı. Evaporatör yardımı balon joje içerisindeki çözücü uçuruldu. Uçurma sonrası kalıntıların ağırlığı tartıldı. Kalıntılar bir miktar etanol ile çözdürüldü. Elde edilen ekstraktların bir kısmı +4°C diğer kısmı ise 2. aşama için -20°C de muhafaza edildi.

2.5. Demleme

Toplanan kuşburnu meyveleri yapılacak olan demleme metotlarına göre kurutma, dondurma ve dondurulup kurutma olmak üzere 3 ayrı şekilde demleme yapılmak için hazırlandı.

Kurutulmuş, dondurulmuş ve dondurulup kurutulan kuşburnu meyvelerine her birinden ayrı ayrı 25 gram analitik hassas terazide tartıldı. Demleme yapılmak üzere demliklere koyularak üzerlerine mezür yardımı ile 500 ml içme suyu eklendi. Demleme için hazırlanan içme suyu içerisindeki kuşburnu meyveleri bulunan demlikler sıcaklığı 90°C ye sabitlenmiş olan ısıtıcı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu. Sık sık sıcaklık ölçümleri termometre yardımı ile yapılarak sıcaklık kontrolü demleme süreleri tamamlana kadar yapıldı ayrıca demliklerden su kaybını önlemek için alüminyum folyo ile kapak ve uç kısımları sıkıca sarıldı. Her bir demleme için hazırlanan demliklerden 30 dakika, 60 dakika, 90 dakika, 120 dakika, 5 saat ve 6 saat sürelerinin sonunda 10 ml demleme numunesi alınarak falkon tüp içerisine kaba filtre kağıdından geçirilerek demleme numuneleri alımı gerçekleştirildi. Hazırlanan numuneler planlanan saklama koşullarına göre +4°C ve -20°C’lerde saklandı.

2.6. Antioksidan Tayin Metotları

2.6.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

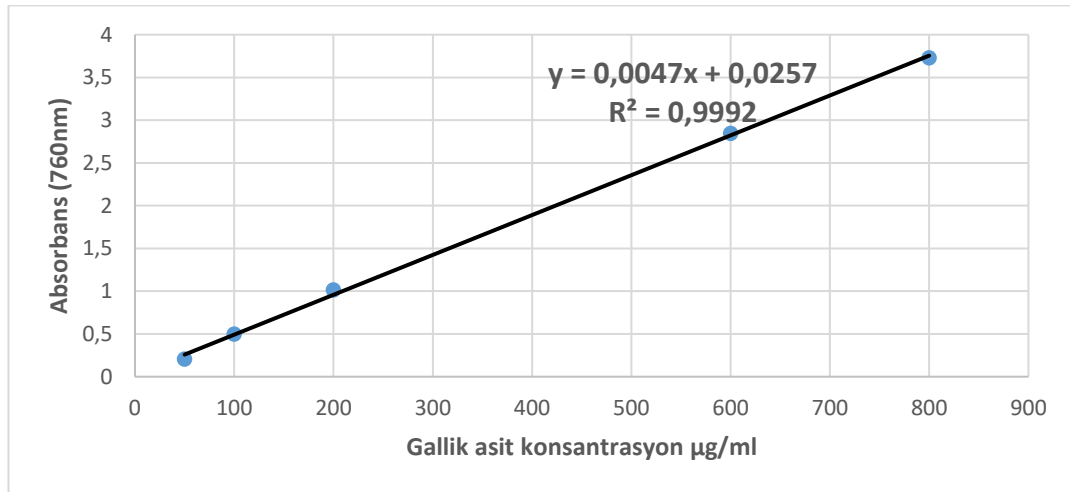
Bu yöntem Folin-Ciocalteu metodunun 96 kuyucuklu plakaya uyarlanmasına göre yapıldı. Toplam polifenol içeriğinin belirlenmesinde gallik asit standart olarak kullanıldı (Beara vd., 2014).

Çözeltilerin Hazırlanması: %1' Sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi: 0.25 g sodyum karbonat hassas terazide tartılarak 25 ml'lik balon jojeye alındı. Üzerine bir miktar saf su eklenerek çözünmesi sağlandı. Hacmi saf su ile 25 ml'ye tamamlandı.

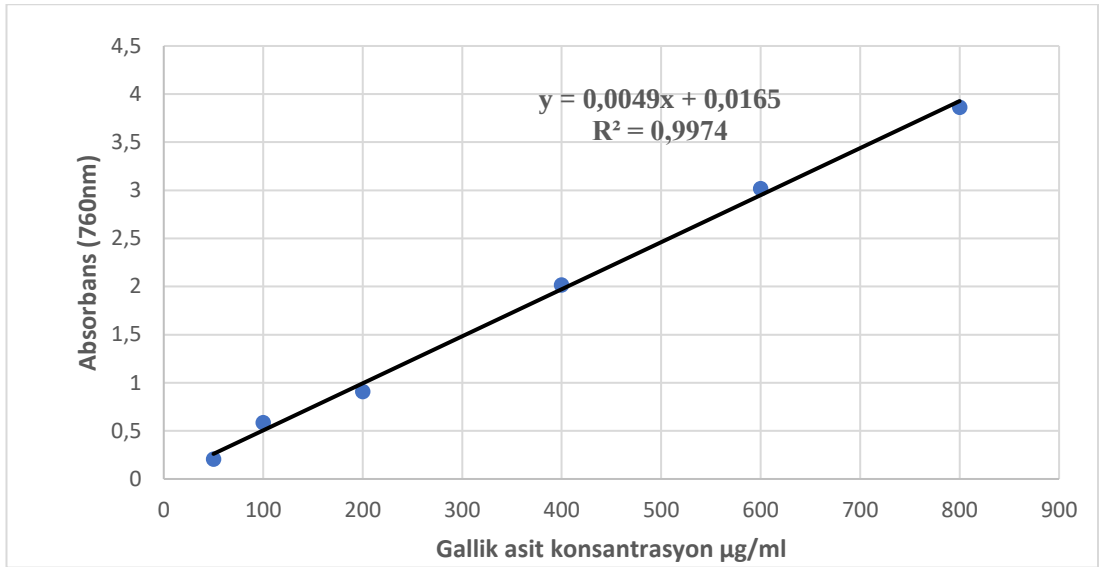
Folin-Ciocalteu reaktif çözeltisi: 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi volumetrik flaskaya alındı üzerine saf su eklenerek son hacim 10 mL'ye tamamlandı. Volumetrik flaskaya alüminyum folyo ile kaplanarak karanlıkta saklandı.

Gallik asit standart çözeltisi: 10 mg gallik asit hassas terazide tartıldı. 10 ml metanol içerisinde çözüldü ve stok çözelti hazırlandı. Elde edilen bu stok çözeltiden 1000 $\mu\text{g/ml}$ 'lik standart çözeltisi hazırlandı ve metanol ile seyreltme yapılarak 50, 100, 200, 400, 600, 800 $\mu\text{g/ml}$ 'lik gallik asit standartları oluşturuldu.

Deneyin Yapılışı: Demlemeden elde edilen numune ve ekstraktlar için gerekli seyreltmeler yapıldı. Pipetlemeler 96 kuyucuklu mikropalakaya yapıldı. Demleme numuneleri, ekstraktlar ve standartlardan 31 μl , 125 μl de 1:10 Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 10 dakika karanlıkta reaksiyon gerçekleşmesi için beklendi. Son olarak 94 μl %1' Sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi koyuldu. Mikropalakaya pipetlemeler yapıldıktan sonra 2 saat karanlıkta inkübe edildi ve 760 nm'de köre karşı okuma gerçekleştirildi. Kör olarak saf su kullanıldı. Bütün standartlar ve numuneler 3 tekrar olarak çalışıldı.



Şekil 6. 1. Aşama toplam fenolik içerik için hazırlanan gallik asit standart grafiği



Şekil 7. 2. Aşama toplam fenolik içerik için hazırlanan gallik asit standart grafiği

2.6.2. Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini

Kuşburnu demleme numunelerinin ve ekstratlarının toplam flavonoid madde içeriğini belirlemek için 96 kuyucuklu plakaya uyarlanan alüminyum klorür kolorimetrik analiz yöntemi kullanıldı (Beara vd., 2014). Yapılan bu metotta standart olarak Kuersetin kullanıldı.

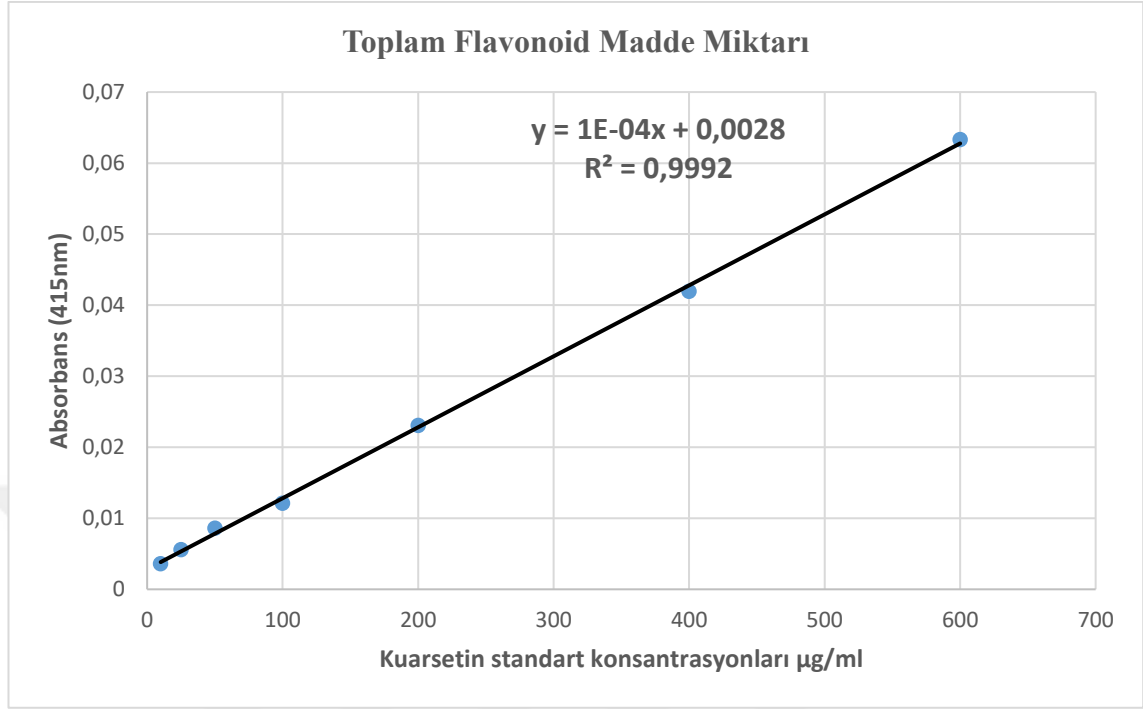
Çözeltilerin Hazırlanması: %10'luk Alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi: Hassas terazide 1 gram alüminyum klorür tartıldı. Falkon tüp içerisine alındı. Daha sonra çeker ocakta hacmi yavaş yavaş saf su ile 10 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda şartlarında saklandı.

1 mol/L Potasyum asetat (CH_3COOK) çözeltisi: Hassas terazide 0.9815 gram potasyum asetat tartıldı ve falkon tüp içersine alındı. Hacmi 10 mL'ye saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda şartlarında saklandı.

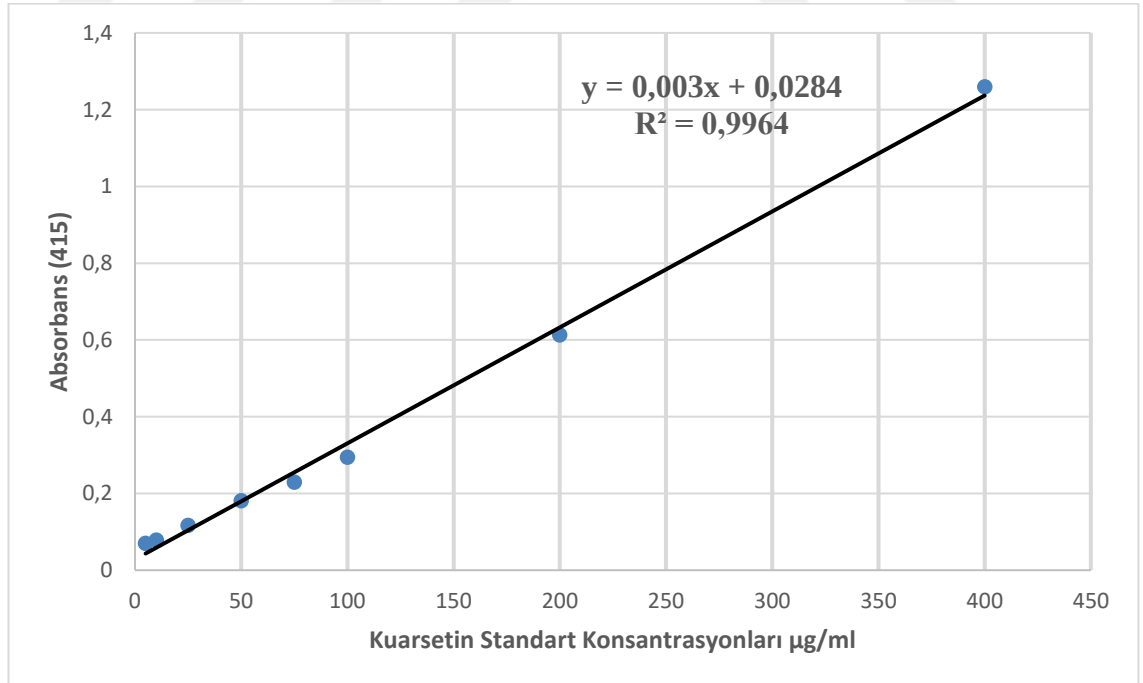
Kuersetin standart çözeltisi: Standartlar çalışmadan hemen önce taze olarak hazırlandı. 10 mg Kuersetin hassas terazide tartıldı ve tüpe alındı. 80 μl saf etanol ile çözdürüldü üzerine 920 μl saf su eklenerek hacmi 1000 μl 'ye tamamlandı. Elde edilen bu çözeltiden %80'lik etanol ile 1000 $\mu\text{g/ml}$ 'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Ardından 10, 25, 50, 100, 200, 400, 600 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında %80'lik etanol seyreltme yapılarak Kuersetin standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı: Kuşburnundan elde edilen demleme numune ve ekstraktlar için gerekli seyreltmeler yapıldı. Mikro plakaya numuneler ve standartlardan 30 μl koyuldu daha sonra üzerine sırasıyla 80 μl metanol, 6 μl %10'luk alüminyum klorür, 6 μl 1 mol/l potasyum asetat ve 125 μl ultra saf su ilave edildi. 96 kuyucuklu mikro plaka üzerine pipetlemeler yapıldıktan sonra karanlıkta oda sıcaklığında 40 dakika bekletildi ve

ardından 415 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucuda kör karşı okuma gerçekleştirildi. Kör olarak metanol kullanıldı. Bütün numuneler ve standartlar 3 tekrar olarak çalışıldı.



Şekil 8. 1. Aşama toplam flavonoid madde miktarı için hazırlanan kuarsetin standart grafiği



Şekil 9. 2. Aşama toplam flavonoid madde miktarı için hazırlanan kuarsetin standart grafiği

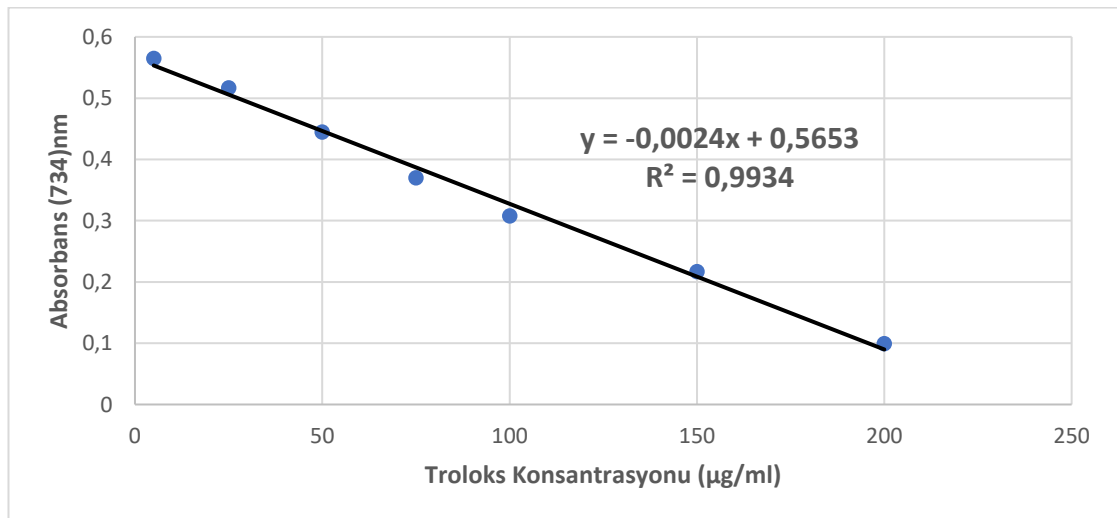
2.6.3. ABTS Radikali Yakalama Yöntemi

ABTS radikali yakalama deneyi Kuşburnundan elde edilen demleme numuneleri ve ekstraktlar, 96-kuyucuklu mikro plakalar için uyarlanan Silva yönteminden modifiye edilerek gerçekleştirildi (Siva vd., 2007).

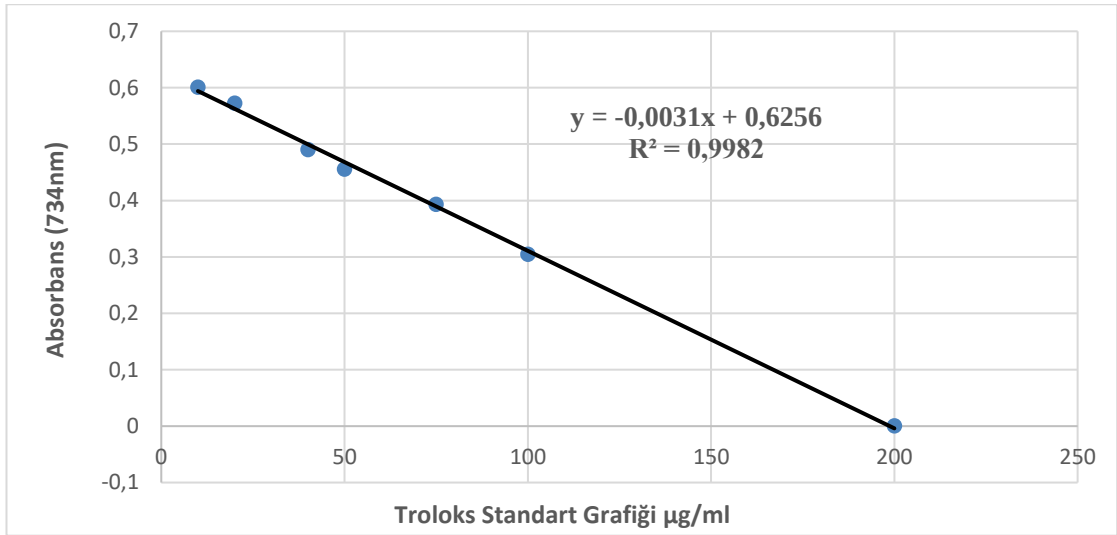
Çözeltilerin Hazırlanması: 7 mmol/l ABTS [2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu) radikal çözeltisi: Hassas terazide 38.4 mg ABTS tartıldı ve 10 ml saf suda çözüldü. 6.6 mg potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) hassas terazide tartıldı üzerine 10 ml saf su eklenerek çözüldü. Daha sonra hazırlanan bu iki çözelti alüminyum folyo ile kaplanmış falkon tüpe aktarıldı, kuvvetlice çalkalanarak karıştırıldı. Ardından oda sıcaklığında 12 saat karanlıkta ABTS radikalinin oluşması için bekletildi.

Troloks standart çözeltisi hazırlama; Hassas terazide 10 mg troloks tartıldı ve falkon tüpe alınarak 1mL etanol içerisinde çözdürüldü. Hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı. Hazırlanan 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik stok çözeltiden etanol ile gerekli seyreltmeler yapılarak 5, 25, 50, 75, 100, 150, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı: Kuşburnundan elde edilen demleme numuneleri ve ekstraktları için gerekli seyreltmeler yapıldı. Seyreltilen numuneler ve hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki standartlardan 8 μL , hazırlanan ABTS (Saf su ile seyreltilerek 734 nm dalga boyunda 0.7 ± 0.02 Abs olarak ayarlandı) çözeltisinden 230 μL 96 kuyucuklu mikro plaka üzerine pipetlemeleri yapıldı. Ardından reaksiyonun gerçekleşmesi için karanlıkta 30°C 'de 6 dakika beklendi. Standartlar ve numuneler 734nm dalga boyunda köre karşı mikro plaka okuyucuda okuması yapıldı. Köre olarak saf su kullanıldı. Her bir numune ve standartlar 3 tekrar olarak çalışıldı.



Şekil 10. ABTS 1. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği



Şekil 11. ABTS 2. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği

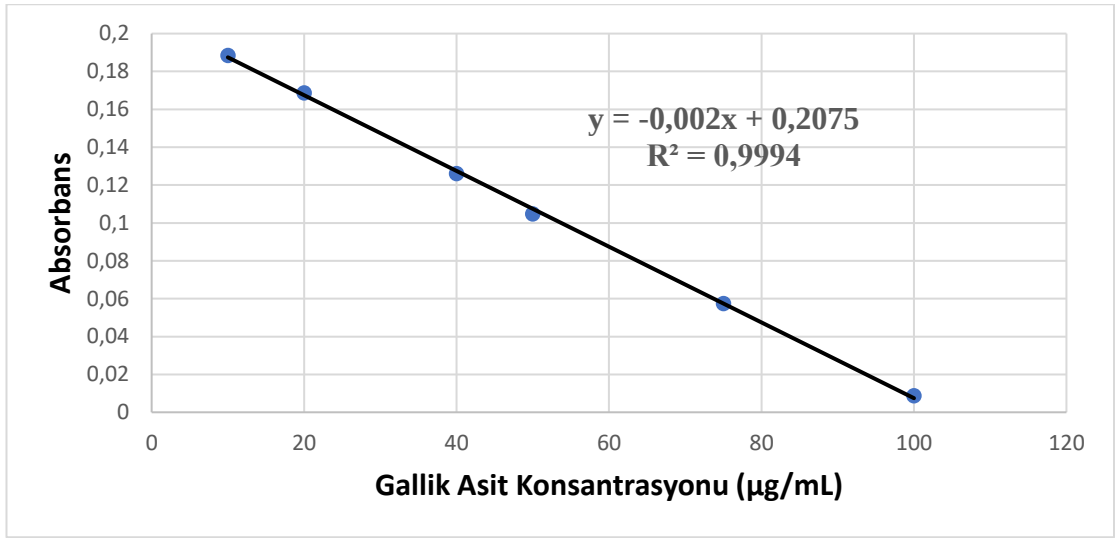
2.6.4. DPPH Radikali Yakalama Yöntemi

Soler-Rivas vd. (2000) DPPH radikali yakalama yöntemi 96 Kuyucuklu mikro plakaya uyarlanarak, kuşburnu demleme numuneleri ve ekstraktlarının DPPH radikali üzerindeki süpürücü etkisi analiz edildi.

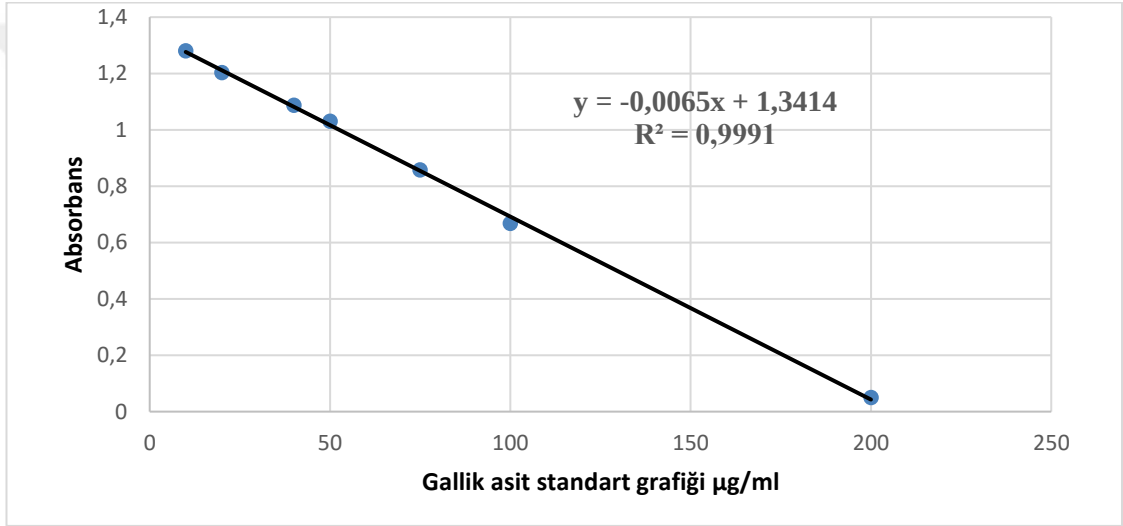
Çözeltilerin Hazırlanması: 90 µmol/l DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal çözeltisi; Analitik hassas terazide 8.9 mg DPPH tartıldı. 25'lik balon joje içersine alındı. Bir miktar metanol ile çözdürüldü ve son hacmi metanol ile 25 mL 'ye tamamlandı. Hazırlanan reaktif alüminyum folyo ile kaplanmış falkon tüp içersine alınarak karanlıkta saklandı.

Gallik asit standart çözeltisi; Hassas terazide 10 mg gallik asit tartıldı ve falkon tüpe alınarak bir miktar etanolle çözdürüldü hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı. Hazırlanan 1000 µg/ml'lik stok çözeltiden etanol ile gerekli seyreltmeler yapılarak 10, 20, 40, 50, 75, 100, 200 µg/ml konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı: Kuşburnu demleme numune ve ekstraktlar için gerekli seyreltmeler yapıldı. Seyreltilen numuneler ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit standartları 96 kuyucuklu plaka üzerine 10 µl pipetlendi. Daha sonra üzerlerine sırasıyla 100µl hazırlanmış olan DPPH çözeltisi, 190µl ise metanol eklenerek pipetleme işlemi tamamlandı. Reaksiyonun gerçekleşmesi için oda şartlarında 1 saat karanlıkta bekletildi. 1 saatlik bekleme süresi sonunda 515nm dalga boyunda mikropilaka okuyucuda köre karşı okuma işlemi yapıldı. Kör olarak saf su kullanıldı. Her bir numune ve standart 3 tekrar olarak çalışıldı.



Şekil 12. DPPH 1. Aşama Gallik asit standart konsantrasyon grafiği



Şekil 13. DPPH 2. Aşama Gallik asit standart konsantrasyon grafiği

2.6.5. FRAP Demir (Fe³⁺) İndirgeyici Güç Tayini

Ahmed vd.'nin Demir III (Fe³⁺) İndirgeyici Güç Tayini (FRAP) metodunun 96 kuyucuklu mikropalakaya uyarlanmasıyla yapılmıştır. Deney de standart olarak troloks kullanılmıştır (Ahmed vd., 2015).

Çözeltilerin Hazırlanması: 300 mM Asetat tamponu: Analitik hassas terazide 0.775 gram Sodyum Asetat Trihidrat tartıldı ve 250 mL'lik balon jojeye alındı bir miktar saf su ile çözdürüldü. Çeker ocakta üzerine 4 mL Glasiyel Asetik Asit eklendi. Son hacmi saf su ile 250 mL 'ye tamamlandı. pH 3.60' a ayarlandı.

40 mM Hidroklorik Asit (HCl) çözeltisi: %37'lik HCl(d:1.19)' den 1.7 mL alındı ve 500mL'lik balon joje içersine koyuldu. Çeker ocakta hacmi 500 mL'ye tamamlandı.

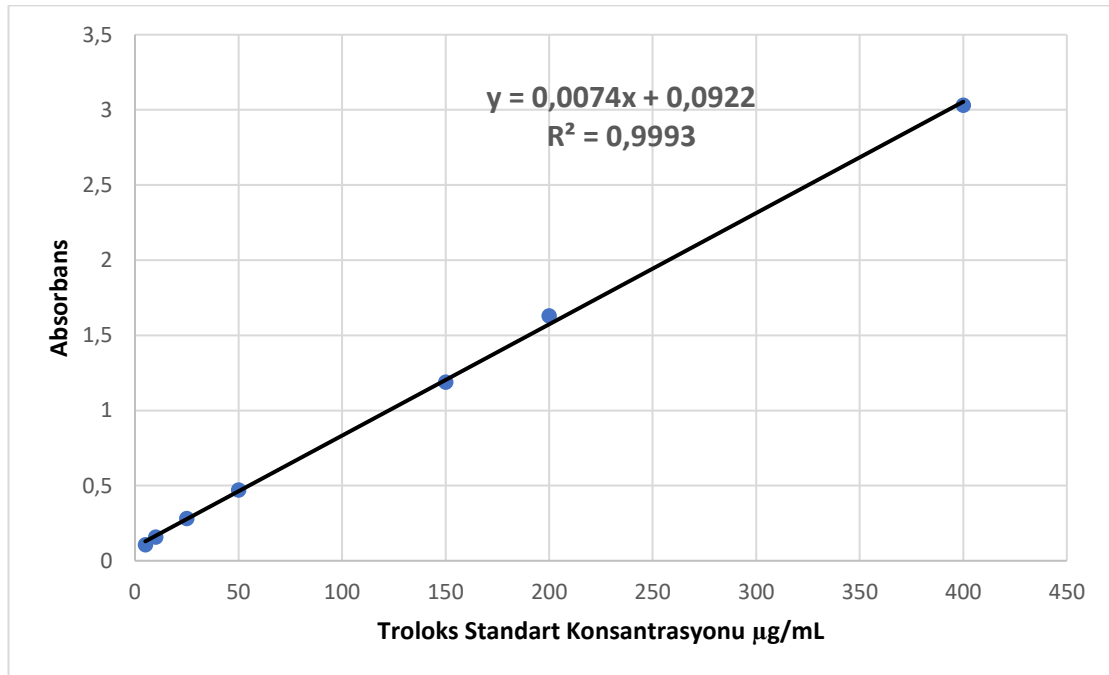
10 mM TPTZ (2,4,6-Tri(pyridy)-S-triazine) çözeltisi: Analitik hassas terazide 0.780 gram TPTZ tartıldı ve 250 mL'lik balon jojeye alındı. Hacmi 40 mM HCl ile 250 mL'ye tamamlandı.

20 mM Demir 3 Klorür ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$): Hassas terazide 0.81 gram $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ tartıldı ve 250 mL'lik balon jojeye alındı. Hacmi saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

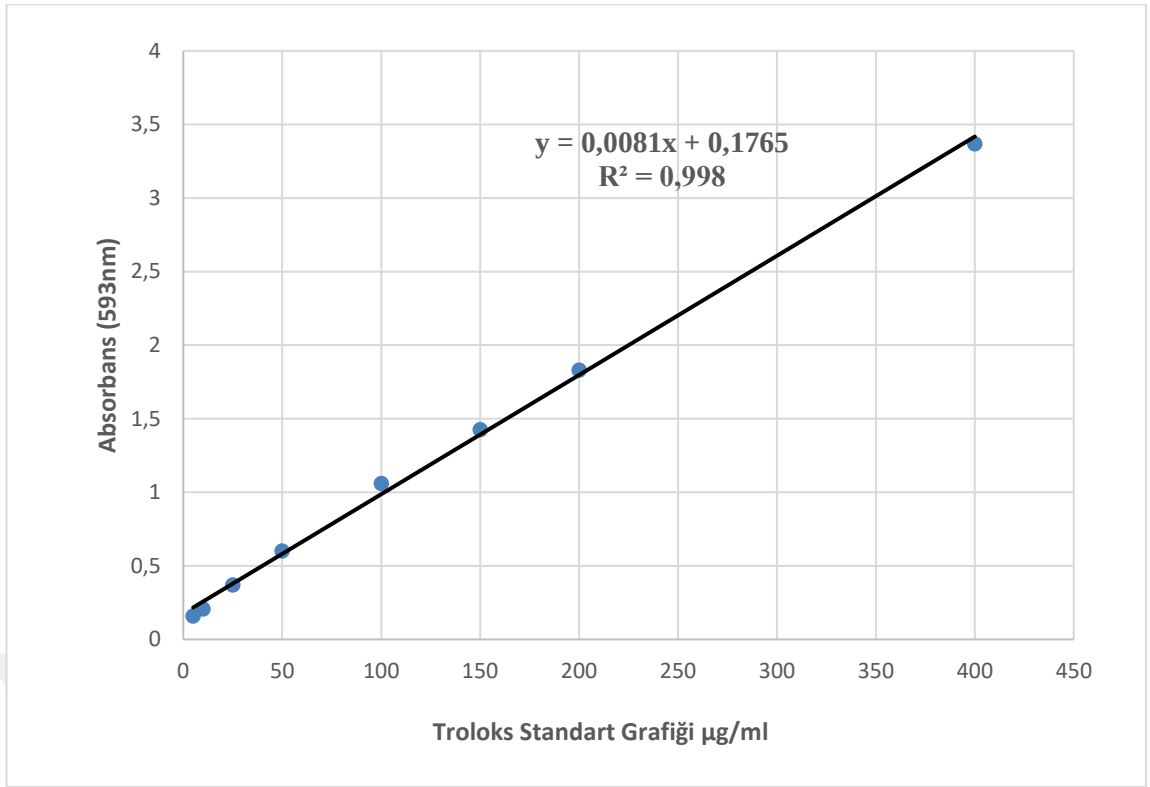
FRAP reaktifi hazırlama; Sırasıyla 10:1:1 oranında asetat tamponu, TPTZ ve $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ karıştırılarak reaktif hazırlandı.

Troloks standart çözeltisi hazırlama; Hassas terazide 10 mg troloks tartıldı ve falkon tüpe alınarak 1mL etanol içerisinde çözündürüldü. Hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı. Hazırlanan 1000 µg/mL'lik stok çözeltiden etanol ile gerekli seyreltmeler yapılarak 5, 10, 25, 50, 100, 150, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı: Kuşburnu demleme numune ve ekstraktlar için gerekli seyreltmeler yapıldı. Troloksdan hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki standartlar ve seyreltilen numunelerden 25 µL alınarak 96 kuyucuklu mikro plakaya eklendi, üzerlerine 275 µL hazırlanmış olan FRAP reaktifinden eklenerek pipetleme işleme plaka üzerinde tamamlandı. Reaksiyonun tamamlanması için 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Bekleme süresi sonunda 593nm dalga boyunda mikro plaka okuyucuda köre karşı okuma yapıldı. Kör olarak saf su kullanıldı. Her bir numune ve standartlar 3 tekrar olarak çalışıldı.



Şekil 14. FRAP 1. Aşama Troloks standart konsantrasyon grafiği

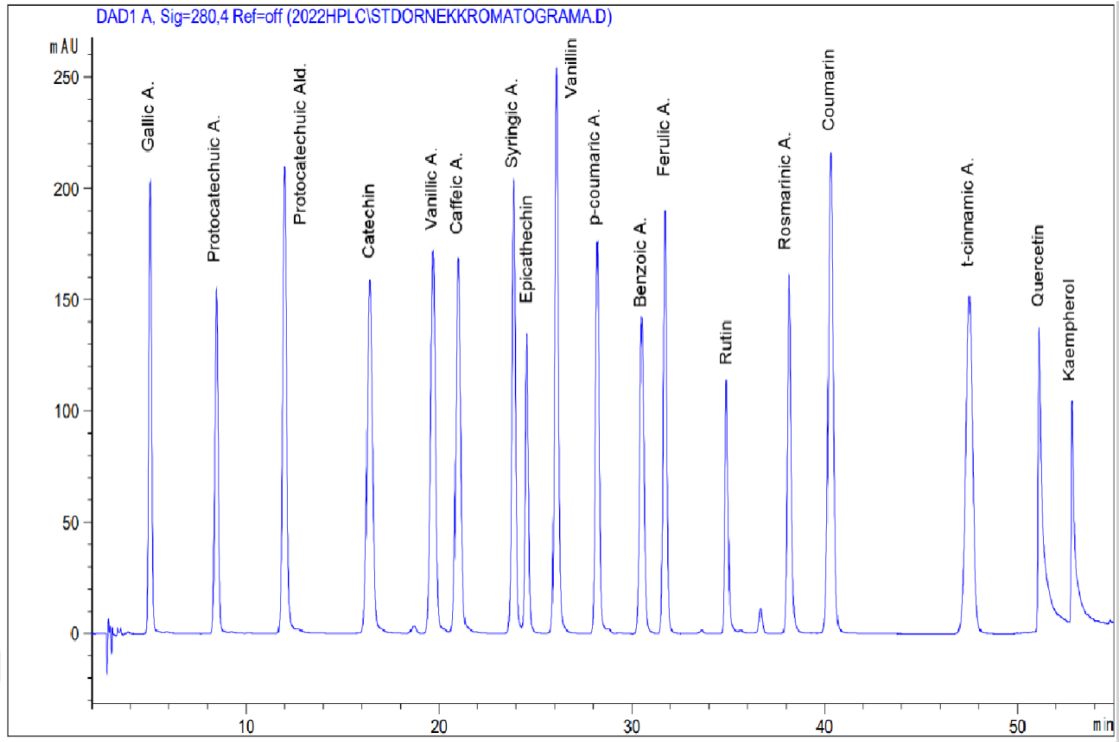


Şekil 15. FRAP 2. Aşama Trolox standart konsantrasyon grafiği

2.7. HPLC Analizleri

2.7.1. HPLC Fenolik Bileşik Analizi

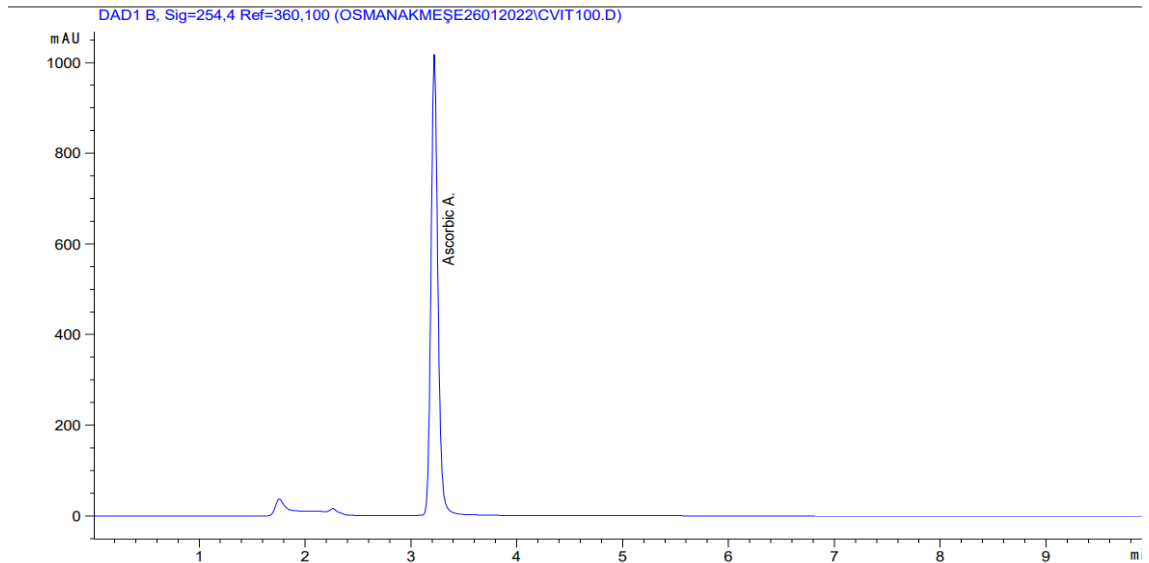
Kuşburnu örneklerinin fenolik bileşik analizi Gümüşhane Üniversitesi Merkez Laboratuvarı Araştırma ve Uygulama Merkezinde Paje vd., 2022 yöntemine göre gerçekleştirildi (Paje vd., 2022). HPLC analizi için Agilent Infinity 1200 CA diod array dedektörlü cihaz kullanıldı. E.C. 250/4.6 Nucleosil 100-5 C18 HD kolon (Kat No: 720280 46) ile 400 bar basınç altında %90 oranı %3 Asetik A+ Saf Su %10 oranında %3 Asetik Asit + %25 ACN % Saf su karışımında 1 mL/Dk akış hızında gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşik analizinde standart olarak: Gallik Asit, Protokatekuik asit, Protokatekuik aldehit, Kateşin, Vanilik asit, Kafeik asit, Syringik asit, Epikateşin, Vanilin, P-Kumarik asit, Benzoik asit, Ferulik asit, Rutin, Rosmarinik asit, Kumarin, t- sinnamik asit, Kuarcetin ve Kaemferol olmak üzere 18 bileşik ve vitamin C (Askorbik asit) kullanıldı. Fenolik içerik analizine ait HPLC Standart kromatogramı ve kullanılan standartlar Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 16. HPLC Standart Kromatogramı ve kullanılan standartlar

2.7.2. HPLC Askorbik asit (C Vit) Analizi

Kuşburnu örneklerinin fenolik bileşik analizi Gümüşhane Üniversitesi Merkez Laboratuvarı Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirildi. HPLC analizi için Agilent Infinity 1200 CA diod array dedektörlü cihaz kullanıldı. E.C. 250/4.6 Nucleosil 100-5 C18 HD kolon (Kat No: 720280 46) ile 400 bar basınç altında metanol – H₂O (5:95, v/v) pH= 3.00 (H₃PO₄) mobil fazında 20 °C kolon sıcaklığında (210-360 nm dalga boyu arasında) gerçekleştirildi. Akış hızı 1mL/dk olarak ayarlandı (Öz vd., 2018).



Şekil 17. HPLC C vitamini standart diyagramı

2.8. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal analizi için agar difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde yaygın olarak kullanılan gram pozitif *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911 suşları seçildi. Petri kabı besiyeri üzerine steril delik açıcı kullanılarak 6 mm çapında delikler açıldı. Her bir deliğe numunelerden 50 µL örnek pipetlendi ve orta deliğe yine aynı hacimde kontrol olarak Ampisilim yüklendi. Petri kapları oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra inkübatörde 37 °C sıcaklıkta bir gece inkübasyona bırakıldı. İnhibisyon zonu parametreleri bir kumpas yardımı ile ölçülerek değerlendirildi.

2.9. İstatistik

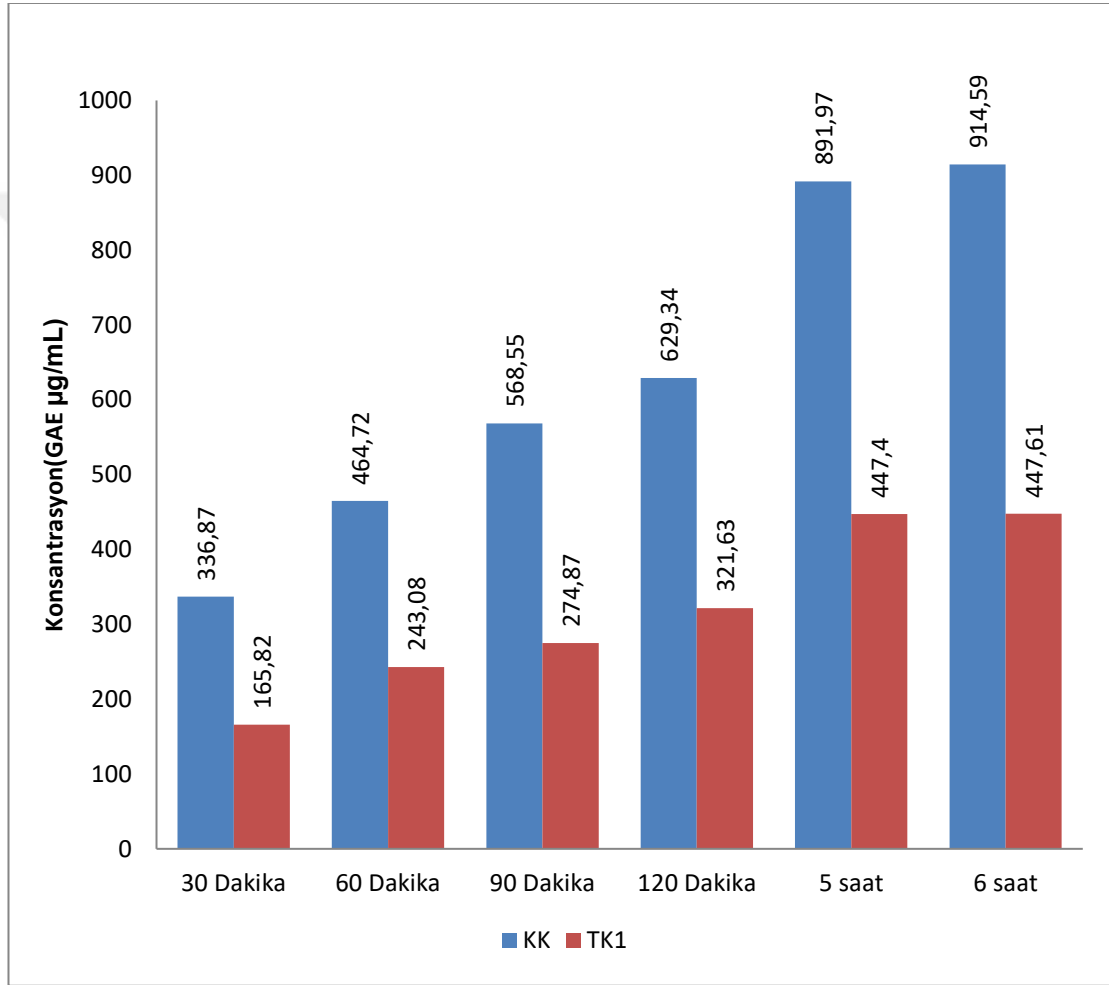
Sonuçlar SPSS programında One-Way Anova testi ile hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Tukey Testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

Kuşburnu ürünlerinin ve ekstraktlarının DPPH analizlerine ait 1. ve 2. Aşama verileri ve karşılaştırmaları Şekil 18-21’de ve Tablo 4’te verilmiştir.

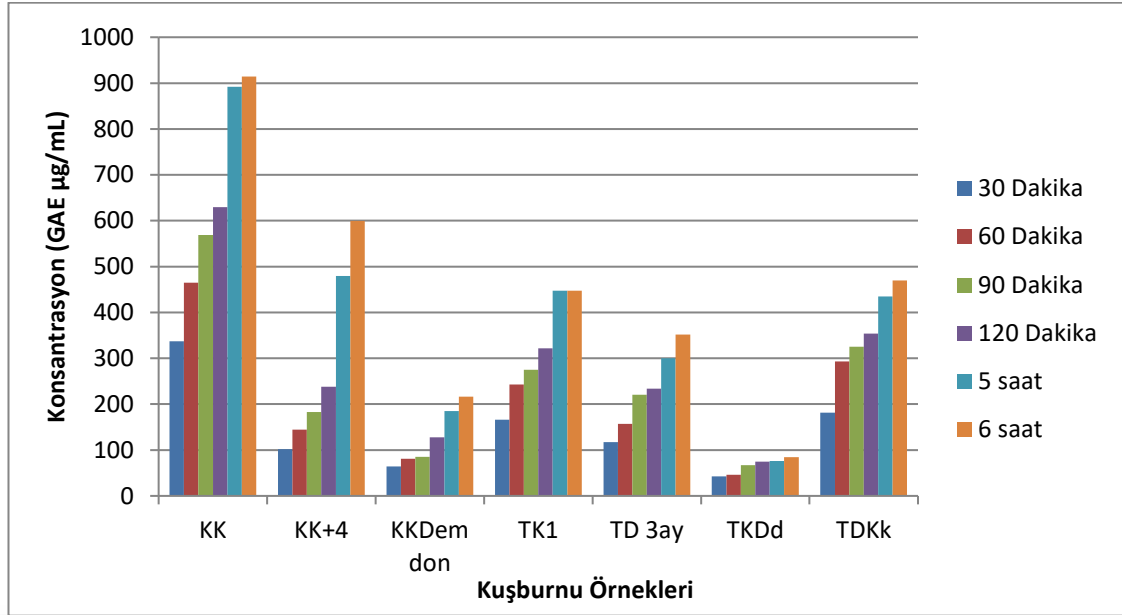
Fenolik Madde Miktarı 1. Aşama



Şekil 18. 1.Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarları (KK: kurutulmuş kuşburnu; TK1: Taze kuşburnu)

Şekil 17’de görüldüğü üzere kurutulmuş ve taze kuşburnundan yapılan demlemeler demleme zamanına göre artış göstermiştir. Ayrıca kurutulmuş kuşburnundan elde edilen demleme numunelerinin zamana göre artışı taze kuşburnundan elde edilen demleme numunelerine oranla daha yüksek fenolik madde miktarına sahiptir.

Fenolik Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 19. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarını grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği; TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği.

Fenolik Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Demleme Numunelerinin Sonuçları

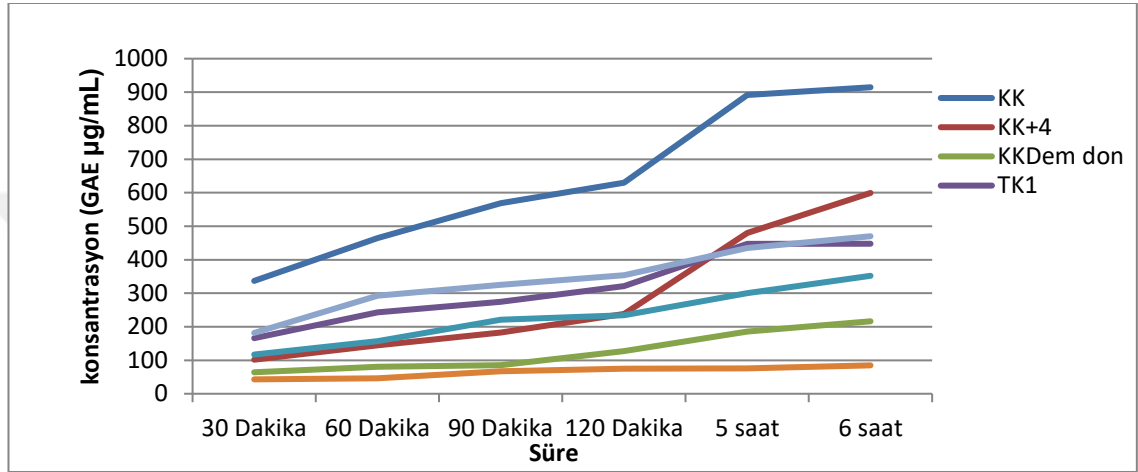
Tablo 4. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre Fenolik Madde miktarları

Süre	Demleme Ürünleri						
	KK	KK+4	KKDem don	TK1	TD 3ay	TKDd	TDKk
30 Dk	336.8 ^(*)	101.6 a.b.e.f.g	64.0 ^(*)	165.8 a,c,d,e, f	116.9 a.b.e.f.g	42.8 ^(*)	181.6 a,c,d,e,f
60 Dk	464.7 ^(*)	144.3 a.b.e.f.g	80.7 ^(*)	243.1 a,c,d,e, f	157.1 a.b.e.f.g	45.8 ^(*)	292.9 a,c,d,e,f
90 Dk	568.5 ^(*)	182.5 ^(*)	85.3 ^(*)	274.8 ^(*)	220.7 ^(*)	67.1 ^(*)	325.4 ^(*)
120 Dk	629.3 ^(*)	238.3 a.b.e.f.g	127.6 ^(*)	321.6 a.c.d.e. f	236.2 a.b.e.f.g	74.7 ^(*)	353.7 a.c.d.e.f
5 saat	891.9 ^(*)	479.5 a,d.e.f	185.1 ^(*)	447.4 a,d.e.f	300.3 ^(*)	75.7 ^(*)	434.6 a,d.e.f
6 saat	914.5 ^(*)	599.2 ^(*)	216.1 ^(*)	447.6 a.c.d.e. f	352.2 ^(*)	84.7 ^(*)	470 a.c.d.e.f

(*): Tüm gruplara göre anlamlı farklılık; a: KK'ya göre; b:TK1'e göre; c: KK+4'e göre; d:TD3ay'a göre; e: KKDemdon'a göre; f: TKDd'ye göre; g: TDKk'ya göre anlamlı farklılık. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

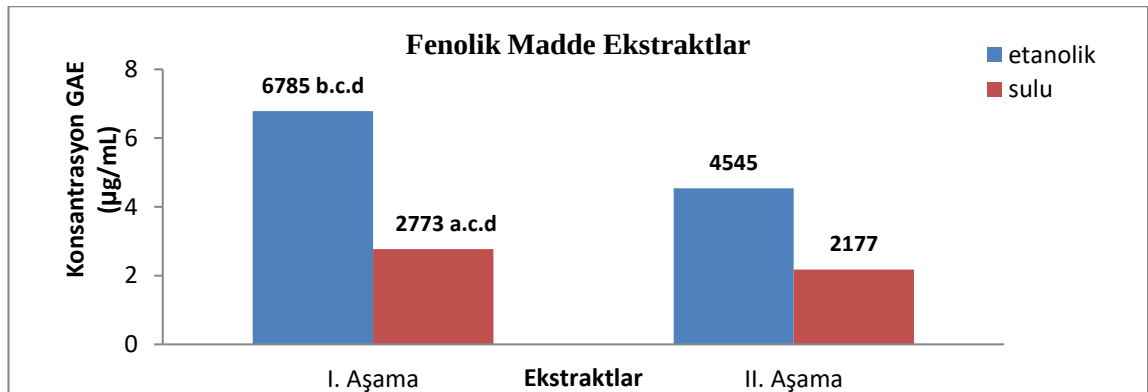
Tablo 4'te görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu (KK) fenolik içerik değerleri tüm zaman dilimlerinde diğer numunelerdeki eşdeğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bunu +4 °C de 3 ay bekletilmiş kurutulmuş kuşburnu (KK +4 °C) ve ardından taze kuşburnu (TK1) izlemektedir. Hem kurutulmuş kuşburnundan demlenmiş ve ardından 3 ay dondurulmuş (KKdem don) hem de taze kuşburnunun demlenmiş ardından 3 ay dondurulmuş (TKDd) örneklerinin en düşük fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Fenolik Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 20. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre fenolik madde miktarının zamansal eğim grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneğinin örneği)

Fenolik Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Ekstraktlar



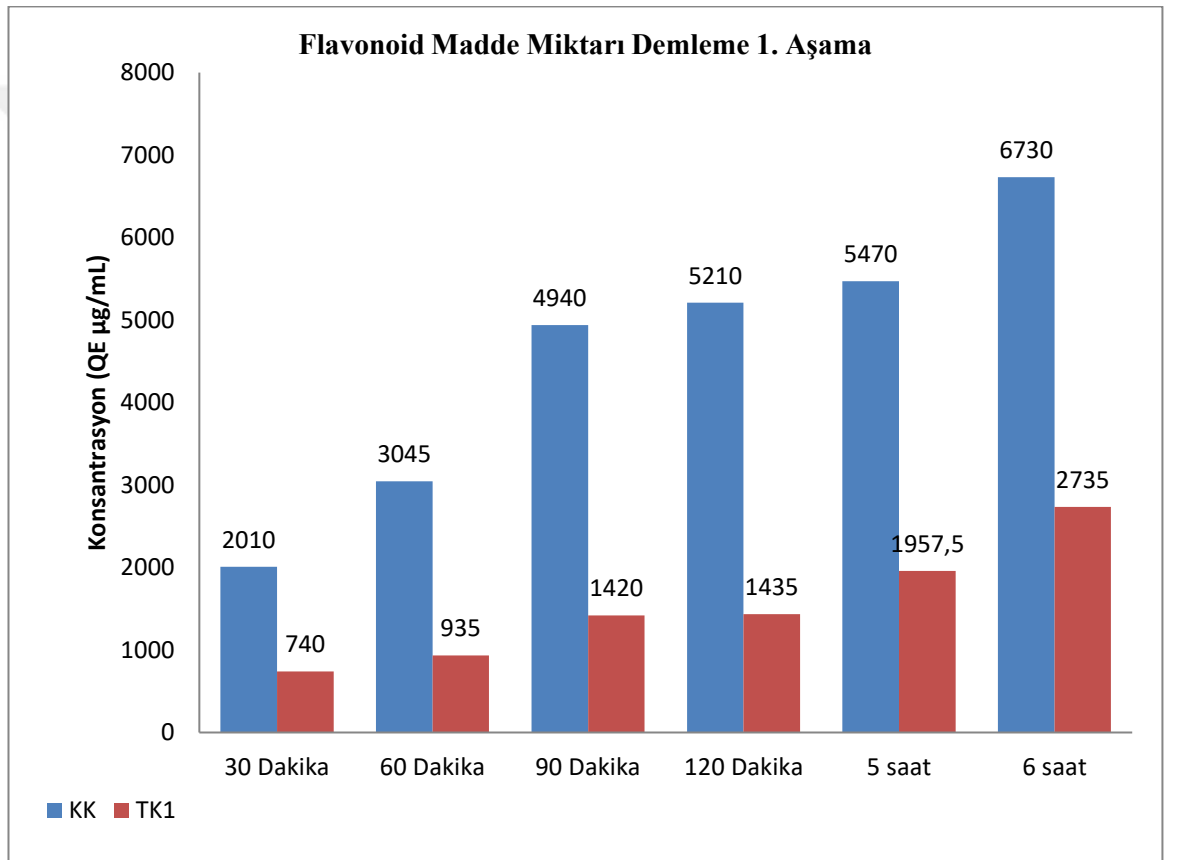
Şekil 21. Sulu ve etanolik ekstraktların fenolik madde miktarları (1. Aşama: Kurutulmuş kuşburnu ekstraktı etanolik ve sulu; 2. Aşama: birinci aşamada kullanılan ekstraktın dondurulmuş hali) a: Fenolik madde etanolik ekstrakt 1.aşamaya göre; b: Fenolik madde sulu ekstrakt 1. aşamaya göre; c: Fenolik madde etanolik ekstrakt 2. aşamaya göre d: Fenolik madde sulu ekstrakt 2. aşamaya göre anlamlı farklılık. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Şekil 20’de görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu numunesinden elde edilen ekstraktlardan etanolik kuşburnu ekstraktı sulu ekstrakta göre daha yüksek fenolik madde miktarına sahiptir. Bunun yanı sıra dondurulmuş ekstraktların ise fenolik madde miktarında azalma görülmektedir. Etanolik ekstraktın dondurulmasında görülen düşüş ise sulu ekstrakta göre daha azdır.

3.2. Flavonoid Madde Miktarı

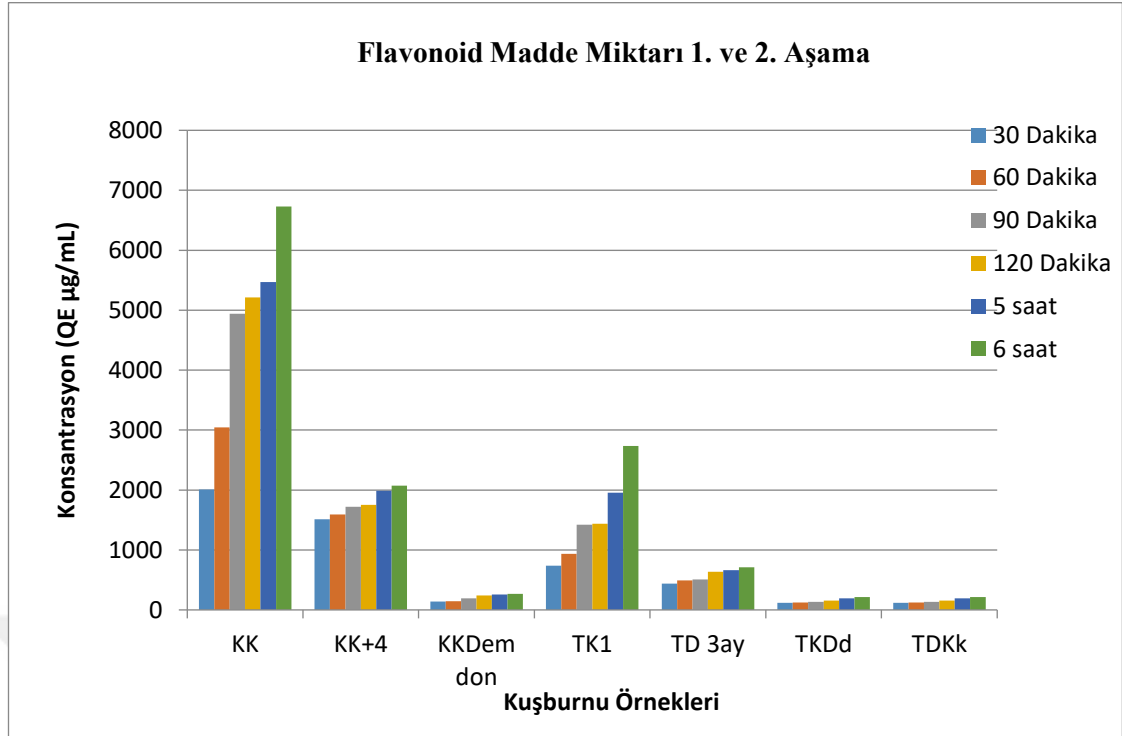
Flavonoid madde miktarı demleme örneklerine ve ekstraktlara ait flavonoid madde miktarı Şekil 22-25’te ve Tablo 5’te sunulmuştur

Flavonoid Madde Miktarı 1. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 22. Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarları

Şekil 21’de görüldüğü üzere kurutulmuş ve taze kuşburnundan yapılan demlemelerde kendi içlerinde demleme zamanlarına göre flavonoid madde miktarının artışı görülmektedir. Ayrıca kurutulmuş kuşburnundan elde edilen demleme numunelerinin zamana göre artışı taze kuşburnundan elde edilen demleme numunelerine oranla daha yüksek flavonoid madde miktarına sahiptir. Taze kuşburnu demleme örnekleri 2. saatten sonra dramatik bir artış göstermektedir.



Şekil 23. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarları (KK-1. aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK+4: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği; TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği)

Flavonoid Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Demleme Numunelerinin Sonuçları

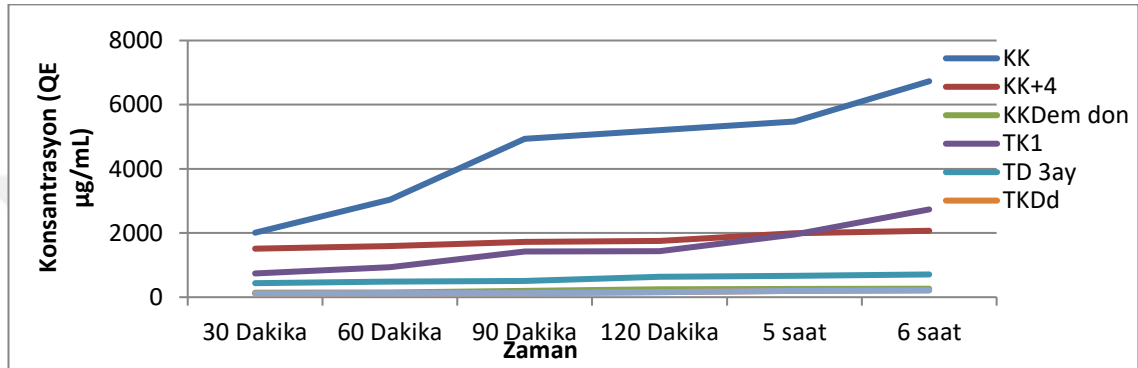
Tablo 5. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu ürünlerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarları

Süre	Demleme Ürünleri						
	KK	KK+4 °C	KKDem don	TK1	TD 3ay	TKDd	TDKk
30 Dk	2010(*)	1512.5 a.b.d.e.f	140.3 a.b.c.d,g	740(*)	437.7(*)	116.8 a,b,c,d,g	1379.1 a.b.d,e,f
60 Dk	3045(*)	1590.8 a,b,d,f,e	145.7 a.b.c.d,g	935(*)	490(*)	122.6 a.b.c.d, g	1515 a.b.d,f,e
90 Dk	4940(*)	1722.7 a.b.d.e.f	195.5 a,b,c,d	1420(*)	509.9(*)	131.9 a,b,c,d	1620 a.b.d,e,f
120Dk	5210(*)	1751.6 a.,b,d,e,f	242.91 a.b.c.d,g	1435 a.c.d,e,f.	637.2(*)	157.7 a.b.c.d,g	1810.5 a.b.d,e,f
5 saat	5470(*)	1988.3 a.d,e,f.	255.3 a.b.c.d,g	1957.5 a.d,e,f.	663.3(*)	194.2 a.b.c.d,g	1862.7 a.d,e,f
6 saat	6730(*)	2070 a.b.d,e.f	265.16 a.b.c.d,g	2735(*)	709.4(*)	214.1 a.b.c.d,g	1943.3 a.b.d,e,f

(*): Tüm gruplara göre anlamlı farklılık; a: KK'ya göre; b:TK1'e göre; c: KK+4'e göre; d:TD3ay'a göre; e: KKDemdon'a göre; f: TKDd'ye göre; g: TDKk'ya göre anlamlı farklılık. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

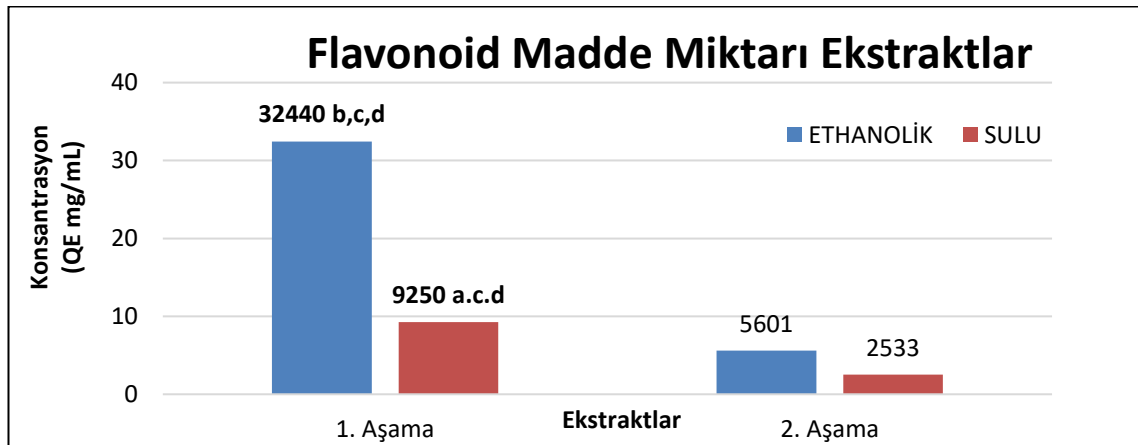
Tablo 5’te görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu (KK) flavonoid içerik değerleri tüm zaman dilimlerinde diğer numunelerdeki eşdeğerlerine göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bunu +4 °C de 3 ay bekletilmiş kurutulmuş kuşburnu (KK +4 °C) ve ardından taze kuşburnu (TK1) izlemektedir. Hem kurutulmuş kuşburnundan demlenmiş ve ardından 3 ay dondurulmuş (KKdem don) hem de taze kuşburnunun demlenmiş ardından 3 ay dondurulmuş (TKDd) örneklerinin en düşük flavonoid içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Flavonoid Madde Miktarı 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 24. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre flavonoid madde miktarlarının zamansal eğimi grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği; TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği; TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği)

Flavonoid Madde miktarı 1. ve 2. Aşama Ekstraktlar



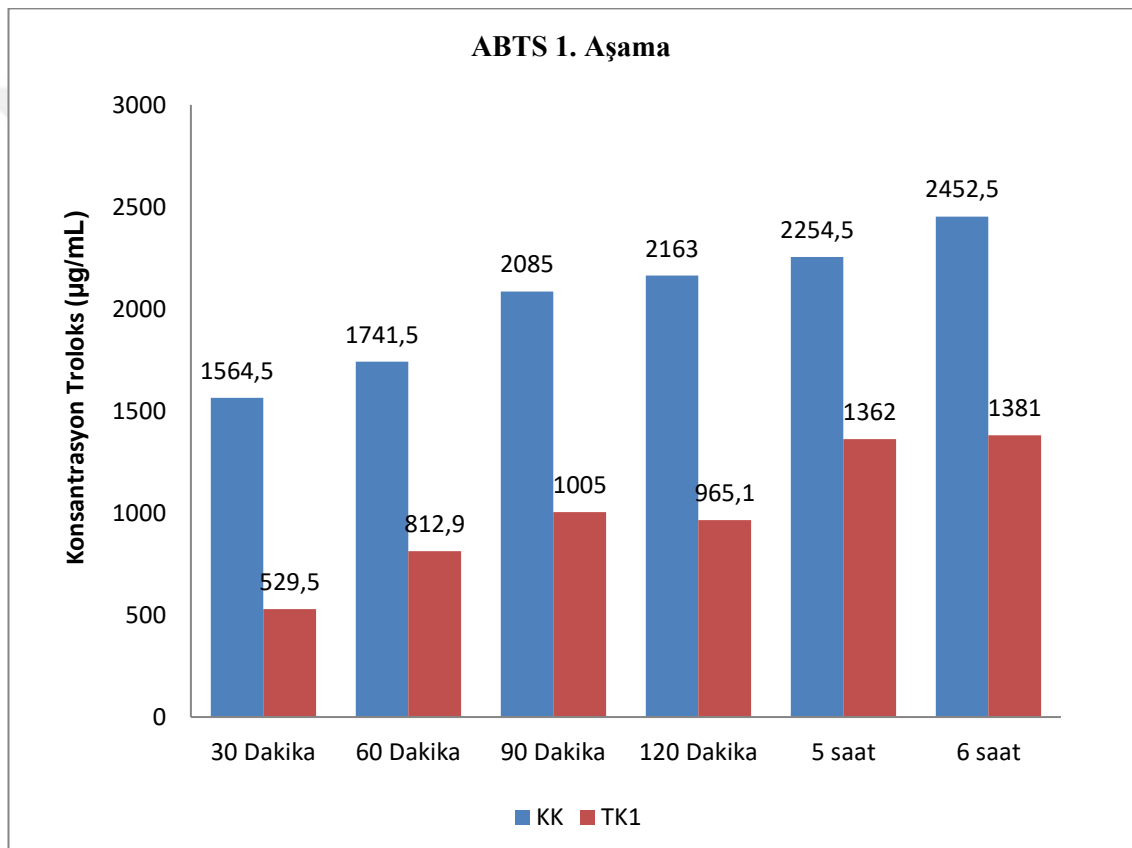
Şekil 25. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları Flavonoid madde miktarları (1. Aşama: Kurutulmuş kuşburnu ekstraktı etanolik ve sulu; 2. Aşama: birinci aşamada kullanılan ekstraktın dondurulmuş hali) a: Fenolik madde etanolik ekstrakt 1.aşamaya göre; b: Fenolik madde sulu ekstrakt 1. aşamaya göre; c: Fenolik madde etanolik ekstrakt 2. aşamaya göre d: Fenolik madde sulu ekstrakt 2. aşamaya göre anlamlı farklılık. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

Şekil 25'te görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu numunesinden elde edilen ekstraktlardan etanolik kuşburnu ekstraktı sulu ekstrata göre daha yüksek flavonoid madde miktarına sahiptir. Bunun yanı sıra dondurulmuş ekstraktların ise flavonoid madde miktarında azalma görülmektedir. Dondurulmuş ekstraktlar da ise flavonoid madde miktarı düşüşü sulu ekstraktan daha fazladır.

3.3. ABTS Radikal Yakalama Yöntemi Sonuçlar

ABTS analizlerine ait 1. ve 2. Aşama verileri ve karşılaştırmaları Şekil 26-29'da ve Tablo 7'de verilmiştir.

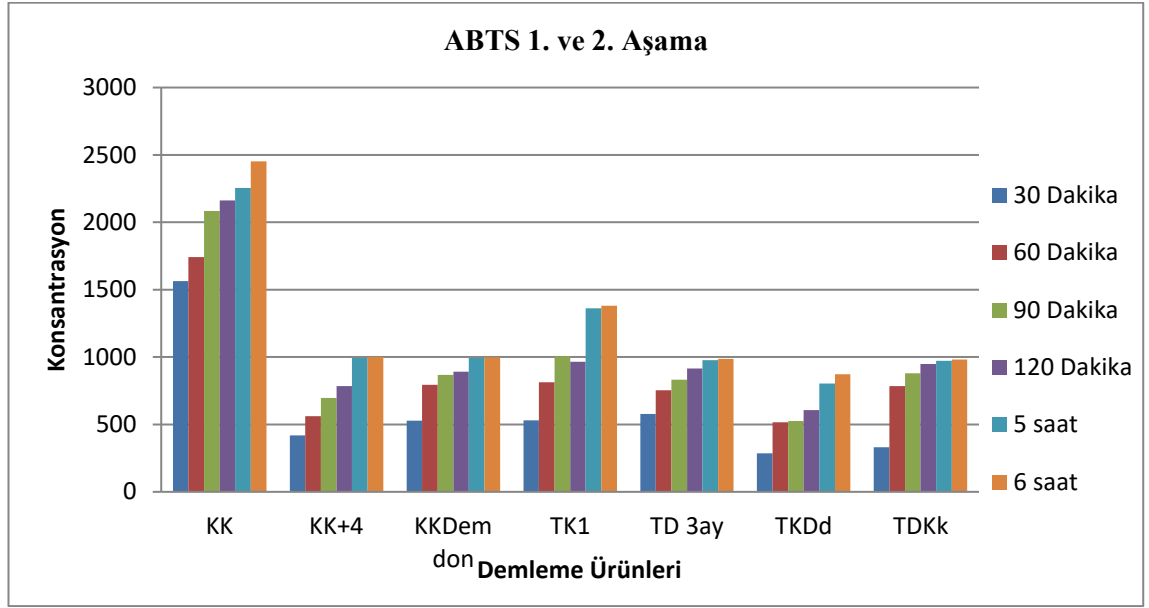
ABTS 1. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 26. 1.Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerleri (KK: kurutulmuş kuşburnu; TK1: Taze kuşburnu)

Şekil 25'de görüldüğü üzere kurutulmuş ve taze kuşburnundan yapılan demlemeler kendi içinde demleme zamanlarına göre ABTS yakalama radikali miktarının artışı görülmektedir. Ayrıca kurutulmuş kuşburnundan elde edilen demleme numunelerinin zamana göre artışı taze kuşburnundan elde edilen demleme numunelerine oranla daha yüksek ABTS yakalama radikali miktarına sahiptir. 5. ve 6. saatlerde dramatik bir artış görülmektedir.

ABTS 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 27. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerleri grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK+4: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği; TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği)

ABTS 1. ve 2. Aşama Demleme Numunelerinin Sonuçları

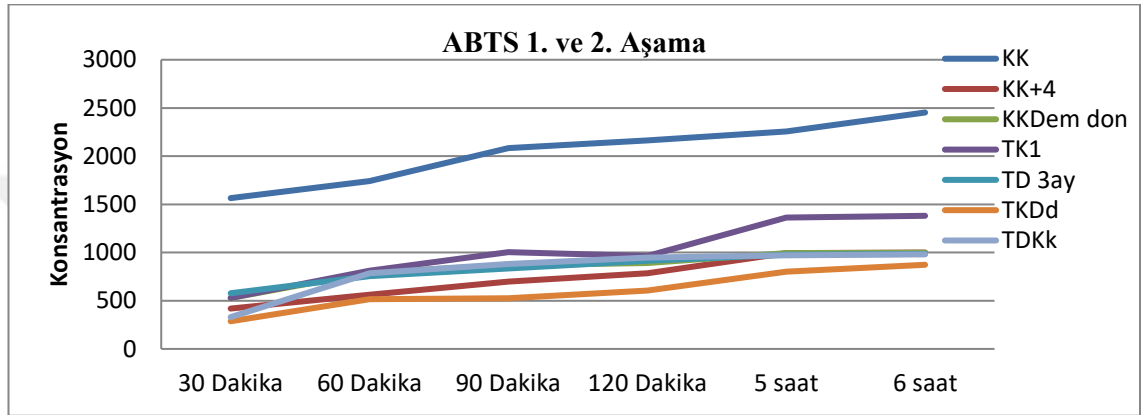
Tablo 6. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu ürünlerinin demleme sürelerine göre ABTS değerleri

Demleme Ürünleri (µg/mL)							
Süre	KK	KK+4	KKDem	TK1	TD 3ay	TKDd	TDKk
30 Dk	1564.5 (*)	418.8(*)	528.0 a.c.d.f.g	529.5 a.c.d.f.g	577.7(*)	286.9(*)	333.2 (*)
60 Dk	1741.5 (*)	567.8 a.b.d.f	795.05 a.c,e	812.9 a.c,e	754.9 a.c,e	516.6(*)	784.0 a.c,e
90 Dk	2085(*)	697.1(*)	867.7 a.b.c.d	1005(*)	833.2(*)	527.8(*)	880.6 a.b.c,d
120 Dk	2163(*)	785.6(*)	891.02	965.1 a.c.d,e,f	914.1 a,c,e	606.4 a.b.c,d, f	947.9 a.c,e,f
5 saat	2254.5 (*)	994.5 a.b.c.f	993.22 a.b.c.f	1362(*)	976.5 a.b.c.f	802.5(*)	972.0 a.b.c.f
6 saat	2452.5 (*)	999.9 a.b.f	997.9 a.b.f	1381(*)	985.7 a.b.f	873.0(*)	979.2 a.b.f

(*): Tüm gruplara göre anlamlı farklılık; a: KK'ya göre; b:TK1'e göre; c: KK+4'e göre; d:TD3ay'a göre; e: KKDemdon'a göre; f: TKDd'ye göre; g: TDKk'ya göre anlamlı farklılık. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

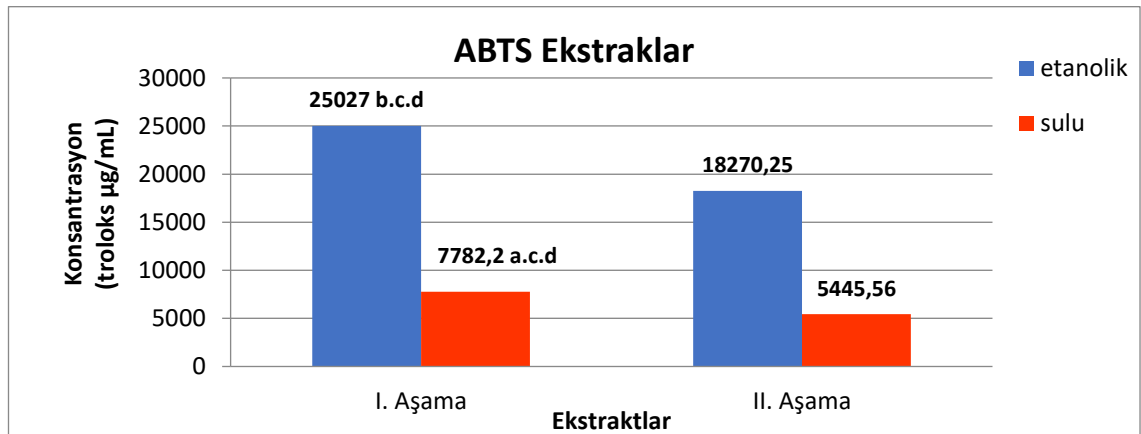
Tablo 6'da görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu (KK) ABTS değerleri tüm zaman dilimlerinde diğer numunelerdeki eşdeğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bunu +4 °C de 3 ay bekletilmiş kurutulmuş kuşburnu (KK +4 °C) ve ardından taze kuşburnu (TK1) izlemektedir. Hem kurutulmuş kuşburnundan demlenmiş ve ardından 3 ay dondurulmuş (KKdem don) hem de taze kuşburnunun demlenmiş ardından 3 ay dondurulmuş (TKDd) örneklerinin en düşük ABTS radikal yalama değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

ABTS 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 28. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre ABTS değerlerinin zamansal eğim grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneğinin örneği)

ABTS 1. ve 2. Aşama Ekstraktlar



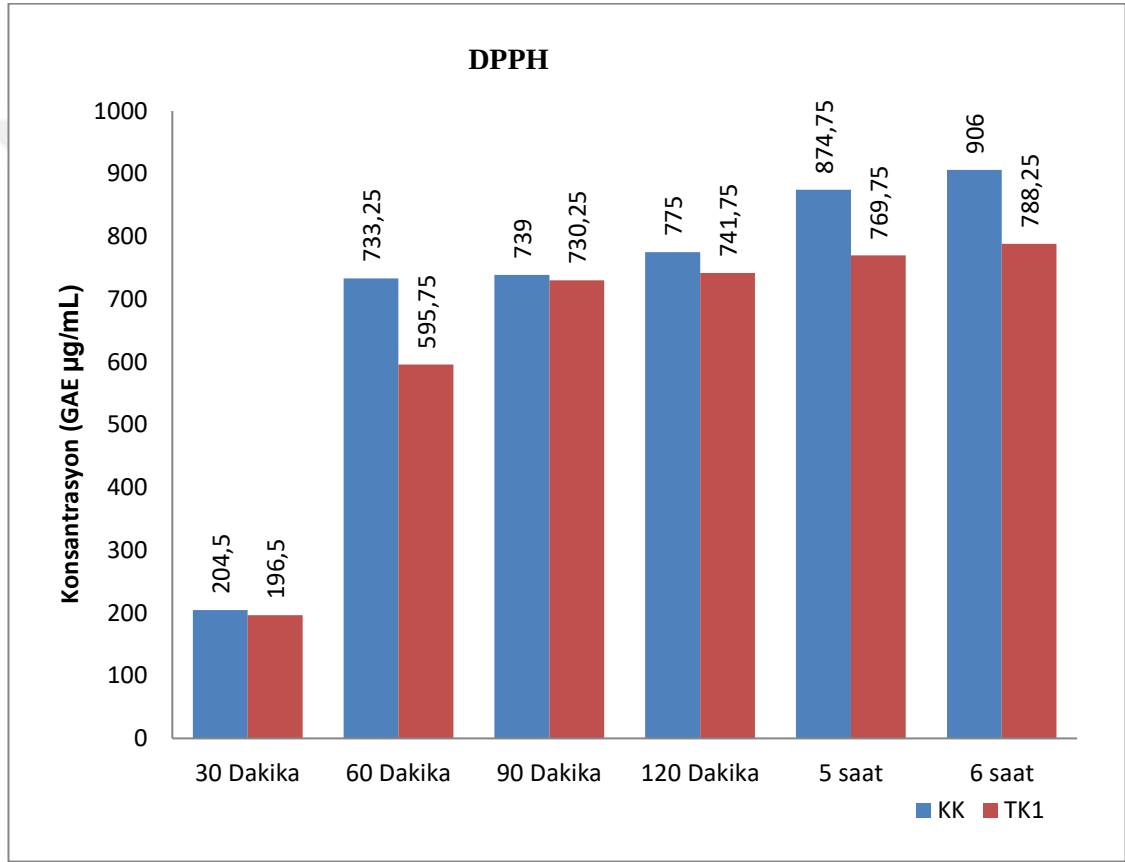
Şekil 29. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları ABTS yakalama radikali (1. Aşama: Kurutulmuş kuşburnu ekstraktı etanolik ve sulu; 2. Aşama: birinci aşamada kullanılan ekstraktın dondurulmuş hali) a: Fenolik madde etanolik ekstrakt 1.aşamaya göre; b: Fenolik madde sulu ekstrakt 1. aşamaya göre; c: Fenolik madde etanolik ekstrakt 2. aşamaya göre d: Fenolik madde sulu ekstrakt 2. aşamaya göre anlamlı farklılık. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

Şekil 28’de görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu numunesinden elde edilen ekstraktlardan etanolik kuşburnu ekstraktı sulu ekstrakta göre daha yüksek ABTS radikali yakalama miktarına sahiptir. Bunun yanı dondurulmuş ekstraktların ise ABTS radikali yakalama miktarında azalma görülmektedir.

3.4. DPPH Radikal Yakalama Yöntemi Sonuçlar

DPPH analizlerine ait 1. ve 2. Aşama verileri ve karşılaştırmaları Şekil 30-3’te ve Tablo 7’de verilmiştir.

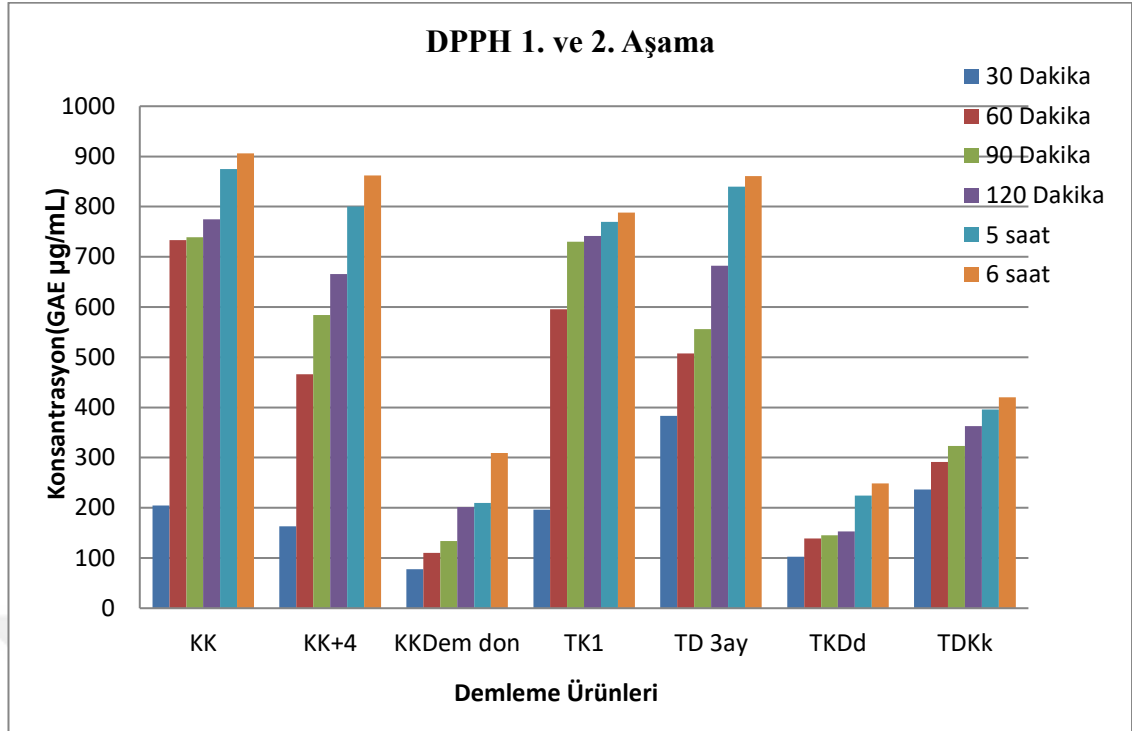
DPPH 1. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 30. 1. Aşama Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri (KK: kurutulmuş kuşburnu demleme; TK1 Taze kuşburnu demleme)

Şekil 29’da görüldüğü üzere kurutulmuş ve taze kuşburnundan yapılan demlemeler kendi içinde demleme zamanlarına göre DPPH yakalama radikali miktarının artışı görülmektedir. Ayrıca kurutulmuş kuşburnundan elde edilen demleme numunelerinin zamana göre artışı taze kuşburnundan elde edilen demleme numunelerine oranla ciddi bir DPPH yakalama radikali miktarına sahiptir değildir.

DPPH 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 31. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği; TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği)

DPPH 1. ve 2. Aşama Demleme Numunelerinin Sonuçları

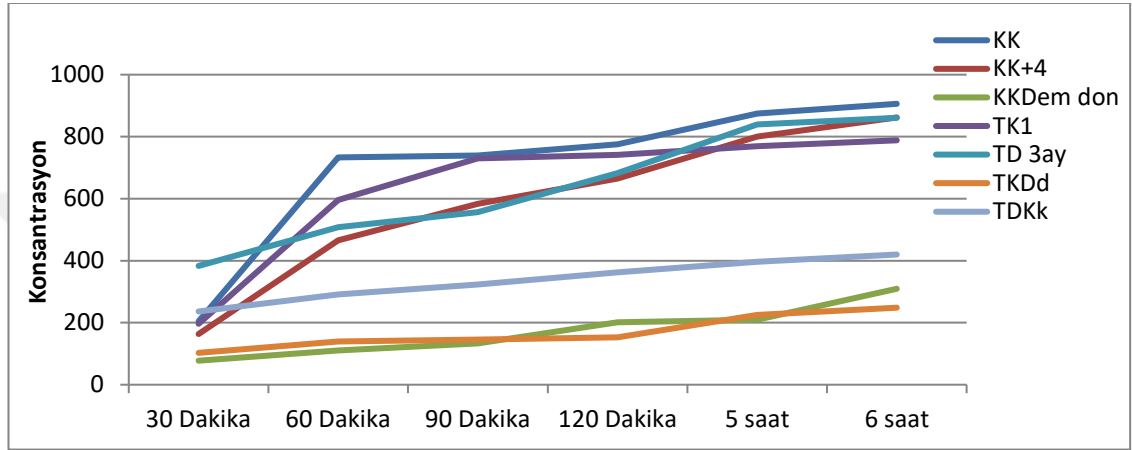
Tablo 7. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu ürünlerinin demleme sürelerine göre DPPH değerleri

Süre	Demleme Ürünleri						
	KK	KK+4	KKDem don	TK1	TD 3ay	TKDd	TDKk
30 Dk	204.5 c.d.e.f.g	163.4(*)	77.4(*)	196.5 c.d.e.f.g	383.1(*)	102.6(*)	236.2(*)
60 Dk	733.2(*)	466.0(*)	110.3(*)	595.7(*)	507.5(*)	139.0(*)	291.3(*)
90 Dk	739 c.d.e.f.g	583.8 a.b.e.f.g	133.6 a.b.c.d.g	730.2 c.d.e.f.g	558.2 a.b.e.f.g	145.2 a.b.c.d.g	323.1(*)
120 Dk	775 c.d.e.f.g	665.3 a.b.e.f.g	201.3(*)	741.7 c.d.e.f.g	682.2 a.b.e.f.g	153.0(*)	362.5(*)
5 saat	874.7(*)	800.4(*)	209.8 a.b.c.d.g	769.7(*)	839.5(*)	224.6 a.b.c.d.g	396.0(*)
6 saat	906(*)	862.0 a.b.e.f.g	309.4(*)	788.2(*)	870.8 a.b.e.f.g	248.4(*)	419.9(*)

(*) : Tüm gruplara göre anlamlı farklılık; a: KK'ya göre; b:TK1'e göre; c:KK+4'e göre;d:TD3ay'a göre; e: KKDemdon'a göre; f:TKDd'ye göre; g :TDKk'ya göre anlamlı farklılık. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

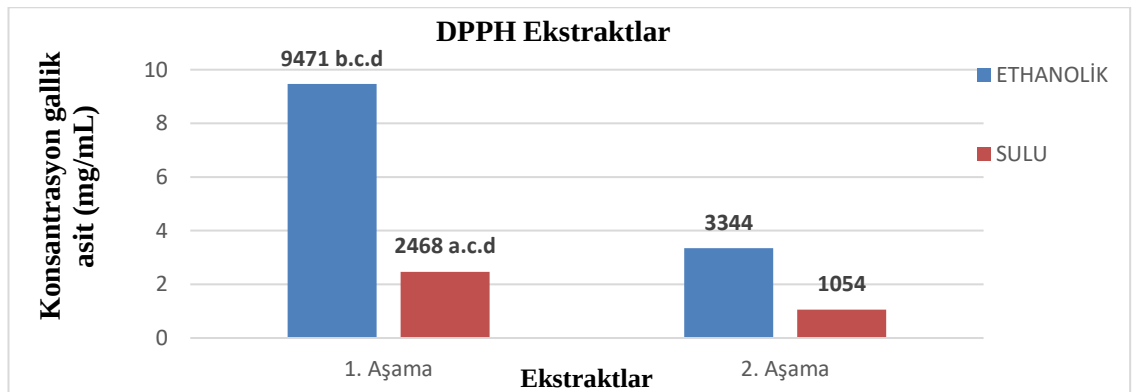
Tablo 7’de görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu (KK) DPPH değerleri tüm zaman dilimlerinde diğer numunelerdeki eşdeğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bunu +4 °C de 3 ay bekletilmiş kurutulmuş kuşburnu (KK +4 °C) ve ardından taze kuşburnu (TK1) izlemektedir. Hem kurutulmuş kuşburnundan demlenmiş ve ardından 3 ay dondurulmuş (KKdem don) hem de taze kuşburnunun demlenmiş ardından 3 ay dondurulmuş (TKDd) örneklerinin en düşük DPPH radikal yakama değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

DPPH 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 32. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre DPPH değerlerinin zamansal eğim grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 °C de bekletilmiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneğinin örneği)

DPPH 1. ve 2. Aşama Ekstraktlar



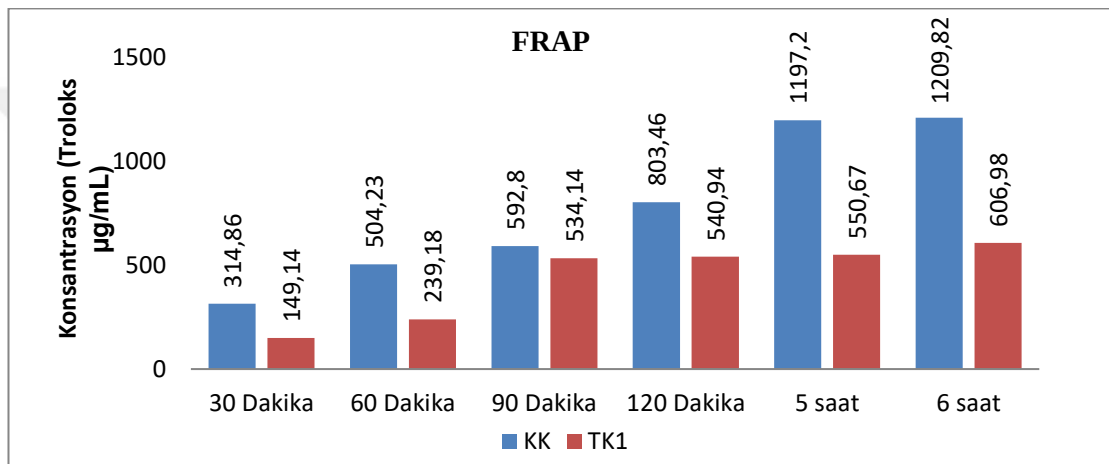
Şekil 33. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları DPPH yakalama radikali (1. Aşama: Kurutulmuş kuşburnu ekstraktı etanolik ve sulu; 2. Aşama: birinci aşamada kullanılan ekstraktın dondurulmuş hali) a: Fenolik madde etanolik ekstrakt 1.aşamaya göre; b: Fenolik madde sulu ekstrakt 1. aşamaya göre; c: Fenolik madde etanolik ekstrakt 2. aşamaya göre d: Fenolik madde sulu ekstrakt 2. aşamaya göre anlamlı farklılık. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Şekil 32’de görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu numunesinden elde edilen ekstraktlardan etanolik kuşburnu ekstraktı sulu ekstrakta göre daha yüksek DPPH radikali yakalama miktarına sahiptir. Bunun yanı sıra dondurulmuş ekstraktların ise DPPH radikali yakalama miktarında azalma görülmektedir. Dondurulmuş ekstraktlar da görülen düşüş ise sulu ekstraktta daha fazladır.

3.5. FRAP Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçlar

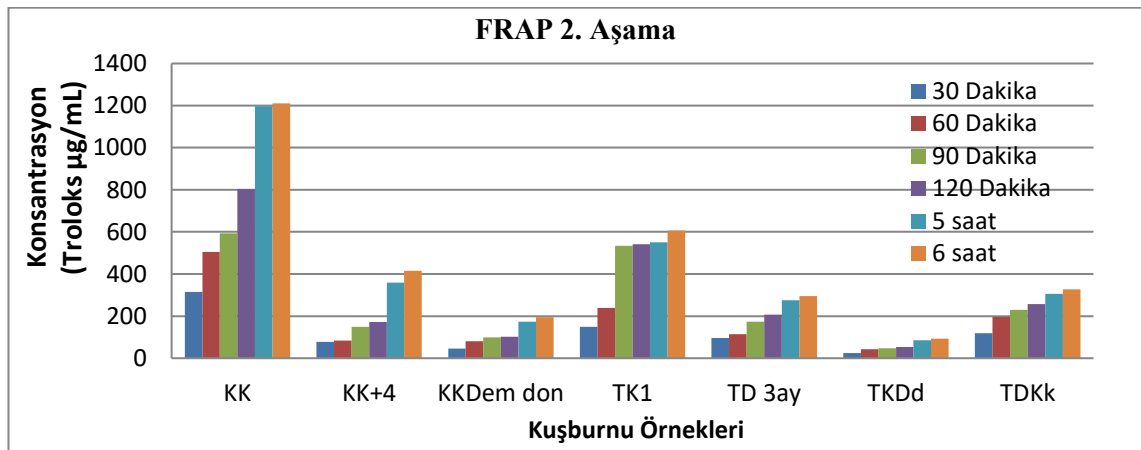
FRAP analizlerine ait 1. ve 2. Aşama verileri ve karşılaştırmaları Şekil 34-37’de ve Tablo 8’de verilmiştir.

FRAP 1. Aşama Demleme Numuneler



Şekil 34. 1. Aşama Farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri (KK: kurutulmuş kuşburnu demleme; TK1 Taze kuşburnu demleme)

FRAP 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 35. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK4+: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği; TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği, TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği)

FRAP 1. ve 2. Aşama Demleme Numunelerinin Sonuçları

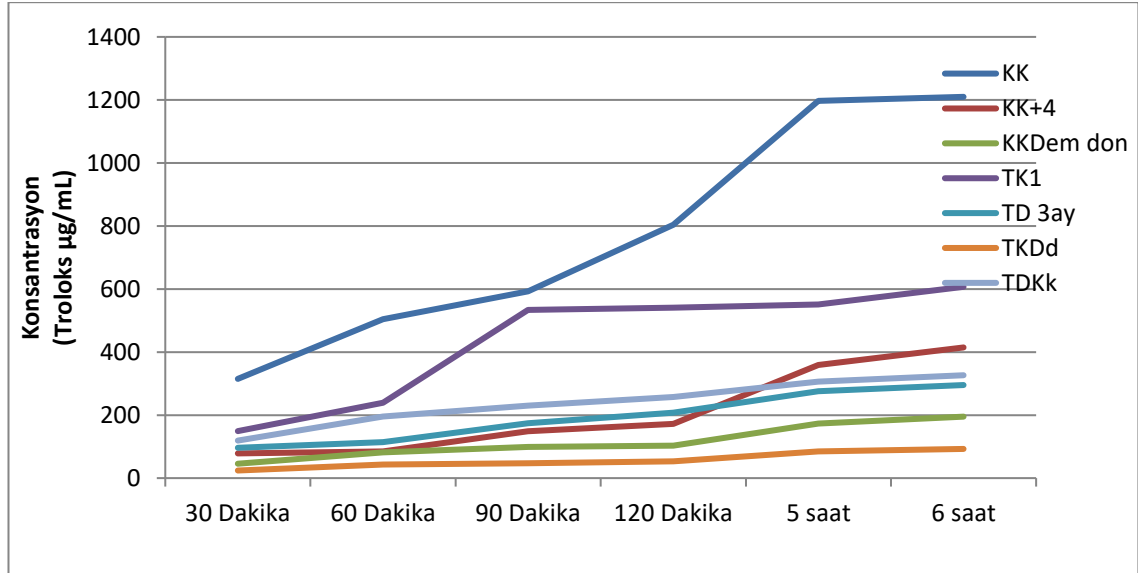
Tablo 8. 1. ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerleri

Süre	Demleme Ürünleri						
	KK	KK+4	KKDem don	TK1	TD 3ay	TKDd	TDKk
30 Dk	314.86 (*)	78.4 a.b.e.f.g	45.73 a.b.c.d.g	149.14 (*)	96.2 a.b.e.f.	24.13 a.b.c.d.g	119.1 a.b.e.f.
60 Dk	504.23 (*)	84.37 a.b.f.g	81.3 a.b.d.g	239.18 (*)	114.5 a.b.f.g	42.76 a,b,c,d,f	195.9(*)
90 Dk	592.8(*)	149.2 a.b.e,f,g	98.9(*)	534.1(*)	173.9 a.b.e.f.g	47.2(*)	229.7(*)
120 Dk	803.46 (*)	172.2 a.b.e.f,g	102.7(*)	540.94 (*)	207.5 a.b.e.f.g	52.92(*)	257.3(*)
5 saat	1197.2 (*)	359.01 a,b,e,f	173.4(*)	550.67 (*)	275.7 a.b.c.e.f	84.87(*)	305.8 a.b.e.f
6 saat	1209.8 (*)	414.6(*)	195(*)	606.9(*)	295.3 a.b.c.e.f	92.5(*)	343 a.b.c.e.f

(*) : Tüm gruplara göre anlamlı farklılık; a: KK'ya göre; b:TK1'e göre; c:KK+4'e göre; d:TD3ay'a göre; e: KKDemdon'a göre; f :TKDd'ye göre; g :TDKk'ya göre anlamlı farklılık. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

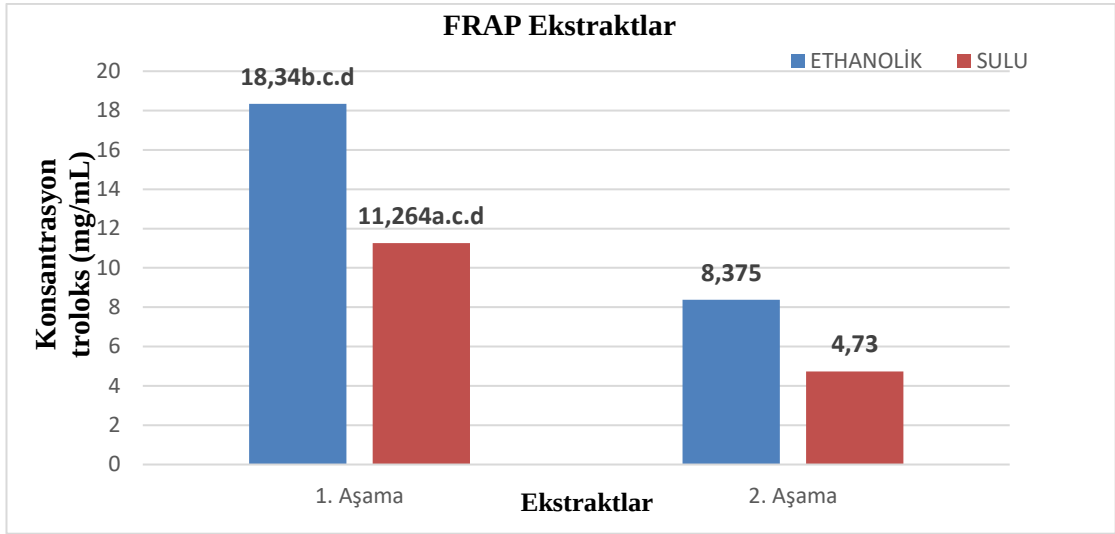
Tablo 8'de görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu (KK) FRAP değerleri diğer tüm zaman dilimlerinde diğer numunelerdeki eşdeğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur.

FRAP 1. ve 2. Aşama Demleme Numuneleri



Şekil 36. 1. Ve 2. Aşama farklı kuşburnu meyvelerinin demleme sürelerine göre FRAP değerlerinin zamansal eğim grafiği (KK-1.aşama: kurutulmuş kuşburnu, KK+4: 3 ay boyunca +4 0C de beklemiş kurutulmuş kuşburnu; KKDemdon: Kurutulmuş kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay dondurulmuş örneği TK1: Taze kuşburnu ilk aşama; TD 3ay: Taze kuşburnunun 3 ay dondurulmuş örneği TKDd: Taze kuşburnu demleme numunelerinin 3 ay sonraki örneği TDKk: Taze dondurulmuş kuşburnunun 3 ay sonra kurtulmuş örneği

FRAP 1. ve 2. Aşama Ekstraktlar



Şekil 37. 1. ve 2. Aşama etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktları FRAP Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç miktarları (1. Aşama: Kurutulmuş kuşburnu ekstraktı etanolik ve sulu; 2. Aşama: birinci aşamada kullanılan ekstraktın dondurulmuş hali) a: Fenolik madde etanolik ekstrakt 1.aşamaya göre; b: Fenolik madde sulu ekstrakt 1. aşamaya göre; c: Fenolik madde etanolik ekstrakt 2. aşamaya göre d: Fenolik madde sulu ekstrakt 2. aşamaya göre anlamlı farklılık. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Şekil 36'da görüldüğü üzere kurutulmuş kuşburnu numunesinden elde edilen ekstraktlardan etanolik kuşburnu ekstraktı sulu ekstrakta göre daha yüksek FRAP Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç miktarına sahiptir. Bunun yanı sıra dondurulmuş ekstraktların ise FRAP Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç miktarında azalma görülmektedir.

3.6. HPLC Analizi:

3.6.1. Fenolik İçerik Analizi

Ekstraktlarda fenolik içeriğe ait veriler Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Etanolik Ekstrakt ve Sulu Ekstraktların Fenolik Bileşik Analizi

Fenolik Bileşikler ($\mu\text{g/g}$ ekstrakt)	Ekstrakt1 +4 $^{\circ}\text{C}$ Etanolik	Ekstrakt2 Oda Sıcaklığı Etanolik	Ekstrakt3 Sulu
Gallik Asit	19.905	12.19	21.60
H. Benzoik Asit	177.48	112.74	-
Protokatekuik Asit	53.136	13.22	-
Kateşin	428.53	661.42	125.26
Epikateşin			93.40
Rutin	111.31	121.18	7.62
Kuersetin	113.65	132.01	75.33
P Kumarik asit			14.01

3.6.2. C Vitamini Analizi

HPLC ile demleme ürünlerinde demleme sürelerine göre tespit edilen C vitamin değerleri Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Kuşburnu Gruplarında C Vitamini Değerleri µg/mL

Süre	TK1	TD	D1	DD2	KK	KD
30 Dk	16.61	8.52	5.49	5.99	34.41	9.13
60 Dk	24.80	16.31	11.76	7.11	44.73	26.31
90 Dk	30.87	19.65	14.89	19.37	51.20	30.16
120 Dk	34.81	23.19	16.41	25.41	57.87	39.16
5 Saat	47.35	33.30	33.70	35.22	82.04	56.86
6 Saat	55.55	38.46	35.52	30.57	83.56	61.31

TK1: Taze kuşburnu; TD: taze dondurulmuş kuşburnu; D1: dondurulmuş kuşburnu DD2: dondurulmuş kuşburnu demleme numunesi dondurulması KK: Kurutulmuş kuşburnu, KD: kurutulmuş dondurulmuş kuşburnu

Tablo 11’de görüldüğü üzere en yüksek C vitamini düzeyleri kurutulmuş kuşburnu kurutulmuş dondurulmuş kuşburnu demleme ürünlerinde tespit edilmiştir. Bununla beraber tüm örneklerde demleme sürecince C vitamini değerlerinin arttığı görülmektedir.

Tablo 11. Sulu ve Etanolik ekstraktların C vitamini değerleri

C vitamini	Sulu Ekstraktı (µg/g Ekstrakt)	Etanolik Ekstraktı (µg/g Ekstrakt)
1. Okuma	4941.95	18893.84
Okuma	4295.56	14164.57
Fark (%)	-% 14	-% 26

Birinci okumada kurutulmuş kuşburnu numunelerinin, ikinci okumada ise kurutulmuş dondurulmuş kuşburnu numunelerinin sulu ve etanolik ekstraktlarında C vitamini değerleri verilmiştir. Kurutulmuş dondurulmuş kuşburnu ekstraktlarının 3 aylık süre sonunda belirgin biçimde azalma göstermiştir.

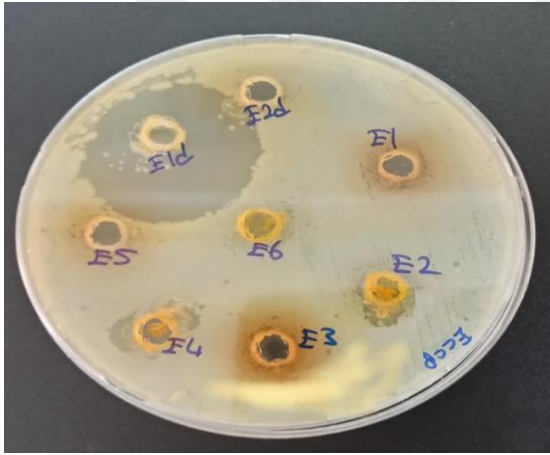
3.7. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

Kuşburnu demleme ürünlerinin hiçbirinde antimikrobiyal aktivite tespit edilememiştir. Bununla beraber kuşburnu ürünlerinin etanolik ve sulu ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir (Tablo 12)

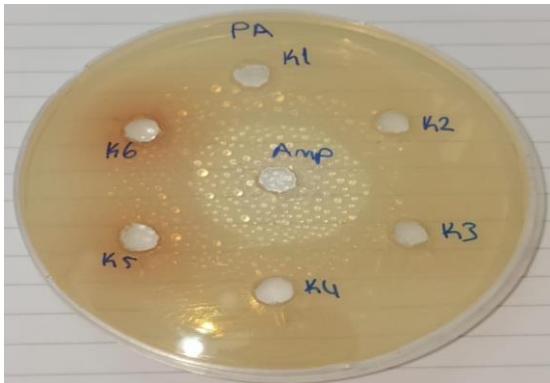
Tablo 12. Ekstraktlara ait antimikrobiyal aktiviteler

Mikroorganizma	DK Kuşburnu Ekstraktı		+4'de Kurutulmuş Kuşburnu Ekstraktı		Oda Sıcaklığında Bekleyen Kurutulmuş Kuş. Ekstraktı		TD Kurutulmuş Kuş. Ekstraktı	
	EtE	SuE	EtE	SuE	EtE	SuE	EtE	SuE
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10mm				12mm	7mm		
<i>Staphylus aureus</i> ATCC 25923	15mm		6mm	6mm	6mm	10mm	6mm	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	6mm	6mm	15mm		7mm		11mm	9mm
<i>E. coli</i> ATCC 25922	30mm		7mm	7mm		8mm	17mm	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC43288	10mm		16mm	10mm	6mm	8mm	18mm	12mm
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315			8mm		6mm		17mm	
<i>Y. pseudotuberculosis</i> ATCC 911					6mm		6mm	

(EtE; Etanolik ekstrakt, SuE; sulu ekstrakt)



Şekil 38. Ekstraktlarda antimikrobiyal aktivite (E coli)



Şekil 39. Demeleme ürünlerinde antimikrobiyal aktivite (P. Aeruginosa)

4. TARTIŞMA

Oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki hassas dengenin oksidan sistemler lehine bozulması sonucu ortaya çıkan patolojik bir durumdur (Kılınç vd., 2020). Oksidatif stresin başlıca sorumluları olarak reaktif oksijen türleri (ROS) gösterilmektedir. Kanseri, hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ROS'un başlıca patolojik etkileri arasında sayılmaktadır (Di Meo vd., 2016; Aggrawal vd., 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkiler eski zamanlardan beri tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bu bitkiler sadece sağlık alanında değil kozmetik, ticari içecekler diğer gıda maddeleri, eczacılık, boya, ziraat gibi çeşitli alanlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır (Göktaş ve Gıdık. 2019).

Bitki sekonder metabolitleri olarak bilinen çeşitli fitokimyasallar bitkilerin büyüme ve gelişmeleri, çevreye adaptosyanları, savunma mekanizmaları ve diğer fonksiyonel özellikleri ile kendilerine avantaj kazandıran bileşiklerdir. Fenolik bileşikler/polifenoller bitki sekonder metabolitleri içinde önemli yer tutan fitokimyasallardır. Bu bileşiklerin önemli bir kısmı yüksek antioksidan, antidiyabetik, anti-inflamatuar, antimikrobial, antikanser, lipid düşürücü, angiogenezi inhibe edici etkilere sahiptir (Teoh, 2016).

Rosaceae familyası dünya genelinde yaygın bir dağılıma ve oldukça geniş çeşitliliğe sahiptir. Avrupa Kuzey Amerika, Ortadoğu ve Asya'da dağılım gösteren 100'den fazla türü söz konusu Avrupa'da *Rosa canina*, en fazla bulunan ve *Rosaceae* familyasının üzerinde en fazla çalışma yapılan türüdür (Mármol vd., 2017). Yalancı meyve olarak da ifade edilen kuşburnu meyveleri sonbahar aylarında olgunlaşır. Kültürlere göre halk arasında çay, reçel, meyve suyu ve jöle gibi farklı gıda tüketim ürünleri oluşturulmuştur. Sahip olduğu yüksek C vitamini içeriği başta olmak üzere çeşitli fenolik bileşikler ve vitaminler sayesinde gerek meyveleri gerekse çekirdekleri geleneksel tıpta özellikle soğuk algınlığı ve buna bağlı oluşan inflamasyonun tedavisinde fonksiyonel bir gıda olarak uzun süreden beri kullanılmaktadır (Marmol vd. 2017).

Kuşburnunun bu şekilde kolay elde edilebilirliği, işlem gerektirmeden doğal biçimde doğrudan çay şeklinde kullanılabilirliği antioksidan özelliklerinden yararlanım için önemlidir. Ülkemizde özellikle Anadolu'nun bazı kırsal bölgelerinde yaygın biçimde demliklerde uzunca süre kaynatılarak çay şeklinde tüketilmektedir. Hatta zaman zaman üzerine su ilave edilerek ertesi gün de kullanılmaya devam edilebilmektedir. Demlenen

kuşburnu çayının zamanla renginin koyulaştığı görülür. Bununla birlikte hazır poşet çay şeklinde süzme biçiminde kullanım şekli de mevcuttur.

Kuşburnun fenolik içerik analizleri ekstrakt yöntem ve çeşitlerine, kullanılan cihazın çeşidine göre farklılıklar göstermektedir. Nadpal ve arkadaşları LC/MS-MS yöntemi ile kuşburnunun farklı ekstraktların kullanıldığı çalışmalarında fenolik içerik analizlerinde fenolik asitler olarak gallik asit, ferulik asit, parakumarik asit, vanilik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateuik asit, flavonoid olarak ise kuersetin, kuersetin-3-O-glukozit, kateşin, epikateşin ve kuinik asit tespit etmişlerdir (Nadpal vd., 2016). Çalışmamızda etanolik ve sulu kuşburnu ekstraktlarında gallik asit, hidroksibenzoik asit, protokateuik asit, kateşin, rutin, kuersetin, epikateşin ve p-kumarik asit olmak üzere 8 fenolik bileşik tespit edildi. Bu bileşikler içinde kateşin 4+ °C'de bekletilmiş, oda sıcaklığında bekletilmiş etanolik ekstraktlarla sulu ekstrakt olmak üzere her üç ekstraktta da en yüksek değerlere sahip fenolik bileşikti (sırasıyla 428.53 , 661.42 ve 125.26 µg/g Ekstrakt). Bu durum, kateşinin *Rosa canina*'da başlıca fenolik bileşik olduğunu ifade eden çalışmalarla uyumludur (Türkben vd., 2010; Karesioti vd., 2019).

Ekstrakt yöntemleri önemli olmakla beraber HPLC analizleri, fenolik içeriği tek başına verimli bir şekilde göstermeyebilir. Araştırmalarda bu nedenle daha çok LMS/MS analizi de tercih edilmektedir. *Rosa canina*'nın fenolik içerik ve biyoaktivite ile ilgili çalışmalarında 45 fenolik bileşik içinden 14'ünü kantitatif olarak tespit edildiği bir çalışma da mevcuttur (Nadpal vd., 2016).t

Bir fenolik bileşikteki hidroksil (-OH) grubu sayısı ile o bileşiğin antioksidan aktivitesinin korele olduğu kabul edilir (Bernotoniene ve Kopustinskiene, 2018). Bu hidroksil grupları ortamdaki serbest oksijen ve nitrojen türlerini yakalama yeteneğine sahiptirler. Epikateşin, gallat grupları ile esterifikasyon yoluyla epikateşin gallat, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat bileşiklerini oluşturabilir ve antioksidan etkinliğini artırabilir (Rice vd., 1995).

Fenolik bileşiklerin çeşidi, miktarı ve C vitamini içeriği ile antioksidan aktiviteleri arasında ilişki olduğu belirtilmektedir. (Gao vd., 2000; Ozcan, 2000; Kumarasamy vd., 2003). Askorbik asit degradasyon etmenlerine olan duyarlılığından dolayı dayanıksız bir vitamin olarak kabul edilir ve aktivitesi sıcaklık, pH enzimatik aktivasyon gibi sebeplerden dolayı düşebilir (Kıca ve Cemeroğlu, 2001). Çalışmamızda tüm gruplarda demleme süresi ile C vitamini miktarı artış göstermekle beraber hem demleme ürünlerinin hem de ekstraktların C vitamini değerlerinde bekleme süresi ve saklama koşuluna göre kayıplar söz konusu idi. Örneğin en yüksek değeri gösteren kurutulmuş kuşburnu demleme ürününün C vitamini içeriği ile kurutulup dondurulmuş kuşburnu örneğinin aynı

saatteki örneğinin C vitamini miktarı arasında-%26.7'lik bir fark vardı. Yani kurutulmuş kuşburnunun 3 aylık dondurucuda beklemesi ile %26'lık bir kayıp meydana gelmiştir. Genel olarak C vitaminin düşük sıcaklıklarda C daha stabil olabileceği ifade edilse de dondurma, dondurup depolama durumlarında, 18 °C'nin altındaki sıcaklıklarda önemli derecede vitamin kaybı olduğu gösterilmiştir (Tannenbaum vd; 1985; Davidek vd., 1990). Yine fenolik bileşik çeşit ve konsantrasyonunun C-vit miktarı ve aktivasyonu üzerine etkileri olduğu ifade edilmektedir. Flavonollerin metal iyonları ile şelat yapabilmesi, oysa metal iyonlarının C vitaminin yıkımını önlediği dikkate alındığında bu durumun sebebi anlaşılabilir (Miller ve Rice, 1997).

Ülkemizde farklı kuşburnu türlerinin farklı tarımsal iklim koşullarına bağlı olarak 100 gram posada C vitamin konsantrasyonunun 106-2712 mg arasında değiştiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Demir ve Özcan, 2001; Roman vd., 2013). Novajan ve arkadaşları, farklı olgunluk aşamalarındaki *Rosa canina*'nın C vitamini içeriğinin 211-417,5 mg/100 gram meyve olarak tespit etmişlerdir (Novajan vd., 2008). Askorbik asit düzeylerindeki bu farklılıkların bitki türü, yükseklik, bitkinin olgunlaşma süreçleri ve zamanları ve çeşitli ekolojik faktörlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Doğan ve Kazankaya, 2006). Öz ve Baltacı'nın Gümüşhane İli kapsamında yaptığı ve *Rosa canina* ve *Rosa pimpinellifolia* (siyah kuşburnu) türlerinin bir yıl ara ile toplanan ve askorbik asit ve şeker analizlerinin yapıldığı çalışmada C vitamini değerleri *Rosa canina* için bir yıl ara ile sırası ile 423.6 ve 320.4 mg/100 gr meyve olarak tespit edilmiştir (Öz ve Baltacı, 2018). Öz ve Baltacı bu çalışmada C vitamini analizlerini HPLC-UV cihazı kullanılarak ÇSN EN 14130 metodu ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışmamızda her iki okumadaki sulu ve etanolik ekstraktlarımızdaki değerlerin (sırası ile 4941.9- 4295.5 µg/mL sulu ekstrakt ve 18893.8-14164.5 µg/mL etanolik ekstrakt) 100 gram meyve cinsinden literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

Farklı ekstraksiyon, süre ve sıcaklıkların fenolik ve alkaloid maddelerin ortama geçişini değiştirdiği bilinmektedir. Fenolik içerik ve alkaloidlerin zenginleştirilmiş ekstraktlarının farklı sıcaklık ve demleme sürelerinin, yeşil ve siyah çay üzerindeki antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarı üzerine değişimlerini incelemiş, sıcaklık ve demleme süresinin bu faktörleri önemli ölçüde etkilediğini tespit etmiştir (Hanay vd., 2011). Ekstraktlarımızda en fazla bulunan fenolik bileşik olarak tespit edilen Kateşinin, Matcha olarak da bilinen bir yeşil çay türü olan *Camellia sinensis* 'te uzun süreli depolama ve sıcaklık artışına bağlı olarak toplam flavonoid madde ve fenolik içerik miktarlarında, DPPH ve ABTZ aktivitelerinde azalma gösterdiği Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma ile ortaya konmuştur (Kim vd., 2020). Kateşinin aktivitesindeki bu azalmanın

sebepleri arasında pH, sıcaklık, diğer antioksidanların seviyeleri, ortamda metal iyonlarının varlığı ve oksijen miktarı gibi faktörlerin etkili olduğu belirtilmiştir (Hou vd., 2005).

Çalışmamızın amaçlarından biri de bu ürünlerin bekleme sürelerine bağlı olarak aynı analizler sonunda antioksidan durumlarındaki değişimleri görmektir. FRAP, DPPH, ABTS, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarının tespitine yönelik 1. ve 2. aşama deneylerin analizlerinde, demleme ürünleri ve ekstraktlar içinde en yüksek aktiviteye kurutulmuş kuşburnu (KK) örneklerinin sahip olduğu görülmüştür. Genel olarak kuru meyvelerin yaş örneklerle göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermesi beklenen bir durumdur. 1. ve 2. aşama sonuçlarının karşılaştırılmasında tüm ürünlerde bir kayıp olduğu izlenmiştir. En fazla aktiviteye sahip olan KK'nın ilk ölçümü ile dondurulduktan 3 ay sonunda FRAP, DPPH, ABTS, oranlarının değişimi en fazla aktivite gösterdiği 6. Saatte anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). Aktivitedeki bu düşüşün sebeplerinin başında antioksidan madde kayıplarının geldiği söylenebilir. Örneğin C vitaminin yukarıda belirtildiği üzere sıcaklıkla değişkenlik gösteren içeriği ve ekstraktlarımızda en fazla bulunan kateşinde olduğu gibi fenolik maddelerin aktivitelerinde kayıp söz konusudur (Tannenbaum vd., 1985; Davidek vd., 1990; Hou vd., 2005).

Doğal kuşburnu demleme ürünlerinin belli sıcaklıklara göre antioksidan aktivitedeki değişimleri gösteren pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Akar vd. (2021) ticari olarak satılan bazı *Rosa canina* paket çayların poşetlerini 7 farklı sıcaklıkta (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90°C) infüzyona tabi tutarak antioksidan aktiviteyi belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarında bardakta numunelerin antioksidan aktiviteleri tespit edilmiş ve toplam fenolik içerik, FRAP ve ABTS için en yüksek aktivite değerlerinin 90 °C'de gerçekleştiğini göstermişlerdir (Akar vd., 2021). Çalışmamızda uzun süreli (6 saat) bir uygulama hedeflendiğinden sıcaklık üst limiti olarak buharlaşmayı da en aza indirmek amacı ile 90 derece sıcaklık seçilmiştir. Demleme ürünleri içinde FRAP, DPPH, ABTS toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid madde antioksidan aktivite analizlerinde kurutulmuş kuşburnu örneklerinin en yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Bu durum tüm demleme süreleri (30 dk- 6 saat) için geçerlidir. Ayrıca değerlerin demleme süreleri boyunca arttığı görülmüştür. Akar ve arkadaşları ticari kuşburnu çaylarının demlemelerinde 90 °C'de toplam fenolik içeriği GAE cinsinden 615 µg/mL olarak tespit etmiştir (Akar, vd., 2021). Bu değer kurutulmuş kuşburnu örneklerimizin 120 dk, 5 ve 6. Saat değerlerinden düşük, 30,60 ve 90 dk değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Öte yandan Koczka ve arkadaşlarının aralarında *Rosa canina*'nın da olduğu 4 farklı

kuşburnu çeşidine ait antioksidan kapasite ve fenolik içerik analizlerinde etanolik ekstraktlarının yaklaşık 500 GAE'in (mg/100 gram kuru meyve) biraz üzerinde bulmuşlardır ki bu değer çalışmamızdaki 678 GAE mg/100 gram kuru meyve miktarına yakındır. Aynı çalışmada yine sulu ekstraktlar için belirtilen yaklaşık 250 GAE (mg/100 gram kuru meyve) değeri de çalışmamızda kurutulmuş kuşburnu örnekleri için bulunan 277.3 GAE mg/100 gram kuru meyve değerine yakındır (Koczka, vd., 2018).

Çeşitli kuşburnu türlerine ait antimikrobiyal aktivite çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmalarda sadece meyveler değil bitkinin tohumları (çekirdekleri) ve çiçekleri de aktivite açısından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılan kuşburnu materyali ve ekstraksiyon yöntemine göre değişebilmektedir. Etanolik, metanolik, aseton, su ve etil asetat ekstraktları bu yöntemlere örnek gösterilebilir (Rovna vd., 2015).

Antimikrobiyal aktivite tayini için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivite tayininde ekstraktlarda *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288 (-) suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite görülürken *Proteus vulgaris* ATCC 13315 ve *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911 bakteri türlerine karşı aktivite tespit edilememiştir. Rovna vd. (2015) ifade ettiği üzere kuşburnu çiçeklerinin metanolik ekstraktlarının değerlendirildiği antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışmada bizim çalışmamızda da bulunan *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'de bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda etanolik dondurulmuş kuşburnu ekstraktının *E. coli*'ye karşı oldukça yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görüldü (30 mm). Aynı suş için oda sıcaklığında kurutulmuş ve bekletilmiş kuşburnu numunesinin sulu ekstraktında 10 mm zon alanı ölçülmüştür. *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı taze dondurulmuş kurutulmuş kuşburnunun sulu ekstraktının 12 mm zone alanı oluşturduğu izlendi.

Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini belirleyen çeşitli faktörler vardır. Fenolik antioksidan bileşiğin türü ve konsantrasyonu, ortamda başka fenolik antioksidan bileşiğin/bileşiklerin bulunması, mikroorganizmanın türü bu faktörlerin bazılarıdır (Raccach, 1984). Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal mekanizmalarının nasıl işlediği tam olarak aydınlatılmış değildir (Bouarab-Chibane, vd., 2019). Bununla ilgili bazı öneriler mevcuttur. Bu öneriler içinde fenolik bileşiklerin hücre içi çeşitli enzimlere bağlanması, hücre zarlarındaki geçirgenliğin modifikasyonu ve hücre içi moleküllere bağlanarak zarla hücre duvarı arasındaki bütünlüğün bozulması sayılabilir (Stapleton vd., 2004; Taguri, vd., 2006).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Genel olarak kuşburnunun tüm gruplarında demleme süreleri boyunca (30 dakikadan 6. Saate kadar) antioksidan özelliğın, fenolik ve flavonoid madde miktarlarının arttığı görüldü.

Genel olarak, demleme ve ekstraktlardan oluşan kuşburnu örneklerinin birinci aşamadaki antioksidan kapasiteleri, C vitamini içerikleri ikinci aşamadaki aynı analiz sonuçlarına göre daha yüksek bulundu. Kurutulmuş kuşburnunun demleme ürünlerinin ABTS, DPPH, FRAP antioksidan tayin yöntemlerinde en yüksek içeriğe sahip olduğu, ikinci aşama da bu özelliğini koruduğu görüldü. Bununla beraber kurutulmuş ve taze kuşburnu demleme ürünlerinin dondurulup tekrar çözülmesi ile yapılan aynı antioksidan aktivite analizlerinde dramatik düşüşler gözlemlendi.

Etanolik ve sulu ekstraktlarda toplam 8 bileşik HPLC yöntemi ile tespit edildi. Kateşin, en yüksek miktara sahip fenolik bileşik olarak belirlendi.

Demleme ürünlerinin hiçbirinde antimikrobiyal aktivite tespit edilemedi. Bununla beraber ekstraktların tümünde antimikrobiyal aktivite görüldü. Bu durum kuşburnunda anti mikrobiyal aktivitenin mevrut olduğu, demleme suyunda bu durumun tespit edilemediği ve demleme ürünlerinin daha konsantre hale getirilerek bakılabileceğini göstermektedir. Tez çalışmasının içeriği açısından değerlendirmeye alınmasa da minimal inhibisyon konsantrasyonu ile antimikrobiyal aktivite tayini de yapılabilir.

Antimikrobiyal aktivite tayininde ekstraktlarda *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylylus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288 (-) suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite görülmüştür.

KAYNAKÇA

- Abdullah, M., Jamil, R. T. ve Attia, F. N. (2022). Vitamin C (Ascorbic Acid) StatPearls Treasure Island. Stat Pearls Basım. Ocak 2022 tarihinde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499877/>.
- Acıbuca, V. ve Budak, D. B. (2018). Dünya’da ve Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım Gıda Bil. Dergisi*, 33(1), 37-44.
- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M. B., Sak, K., . . . Sethi, G. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression: molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules*, 9(11), 735.
- Ahmed, D., Khan, M. M. ve Saeed, R. (2015). Comparative analysis of phenolic, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from adiantum caudatum leaves. *Antioxidants*, 4(2), 394-409.
- Akar, Z., Orhan, E. ve Durmuş, S. (2021). Effects of cold and hot infusions on antioxidant activities of rosehip tea bag. *Turkish Journal of Food Science and Agriculture-Technology*, 9(8), 1455-1459.
- Beara, I. N., Lesjak, M. M., Cetojevic-Simin, D. D., Marjanovic, Z. S., Ristic, J. D., Mrkonjic, Z. O. ve Mimica-Dukic, N. M. (2014). Phenolic profile, antioxidant, antiinflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles. *Food Chemistry*, 165, 460–466.
- Bernatoniene, J. ve Kopustinskiene, D. M. (2018). The role of catechins in cellular responses to oxidative stress. *Molecule*, 23(4), 965.
- Bitki Üretim Genel Müdürlüğü (2020). *Kuşburnu Fizibilite Raporu ve Yatırımcı Rehberi*. Tarım ve Orman Bakanlığı. Eğitim ve Yayın Dairesi Başkanlığı Ankara.
- Blumenthal, M., Busse, W.R., Goldberg, A., Gruenwald, J., Hall, T., Klein, S., . . . Rister, R. (1998). Therapeutic Guide to Herbal Medicines. In *The Complete German Commission E Monographs*.
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., . . . Bordes. C. (2019). Antibacterial properties of polyphenols: characterization and qsar (quantitative structure–activity relationship) models. *Front. Microbiol*, 10, 829. doi: 10.3389/fmicb.2019.00829

- Chrubasik, C., Roufogalis, B. D., Müller-Ladner, U. ve Chrubasik, S. (2008). A systematic review on the Rosa canina effect and efficacy profiles. *Phytotherapy Research*, 22, 725–733.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W, ve Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6), 421-64.
- Deliorman, O. D., Hartevioglu, A., Küpeli, E. ve Yesilada, E. (2007). In vivo antiinflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from Rosa canina L. fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(2), 394–400.
- Demir, T. ve Akpınar, Ö. (2020). Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 8(8), 1734-1746. doi: 10.24925/turjaf.v8i8.1734-1746.3484.
- Demir, F. ve Özcan, M. (2001). Chemical and technological properties of rose (Rosa canina L.) fruits grown wild in Turkey. *J Food Eng*, 47(4), 333–336.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P. ve Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 1245049. doi: 10.1155/2016/1245049.
- Dogan, A. ve Kazankaya, A. (2006). Fruit properties of rosehip species grown in lake Van basin (eastern Anatolia region). *Asian J Plant Sci*, 5(19), 120–122.
- Dröge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82(1), 47-95.
- Du, J., Cullen, J. J. ve Buettner, G. R. (2012.) Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim Biophys Acta*, 1826(2), 443-57. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003
- Ercisli, S. ve Orhan, E. (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (Morus nigra L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 116(1), 41–46.
- Gao, X. Q., Bjork, L., Trajkovski, V. ve Uggla, M. (2000). Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *J Sci Food Agri*, 80, 2021–2027. doi: 10.1002/1097-0010(200011)80:14%3C2021::AID-JSFA745%3E3.0.CO;2-2
- Göktaş, Ö. ve Gıdık, B. (2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1), 136-42.
- Guimarães, R., Barros, L., Calheta, R. C., Carvalho, A. M., Queiroz, M. J. R. P. ve Ferreira, I. C. F. R. (2014). Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from northeastern Portugal: a comparative study. *Plant Foods for*

- Human Nutrition*, 69(1), 37–42.
- Frie, B., Stocker, R. ve Ames, B. N. (1988). Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci*, 85(24), 569–71.
- Hacışevki, A. (2009). An overwiev of ascorbic acide biochemistry. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38(3), 233-255.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Harborne, J. B. (1989). General procedures and measurement of total phenolics. *Methods in plant biochemistry*, 1, 1-28.
- Hanay, N. (2011). *Farklı ekstrasyon süre ve sıcaklıklarının çaydan deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi FBE. Gıda Mühendisliği.*
- Hou, Z., Sang, S., You, H., Lee, M. J., Hong, J., Chin, K. V. ve Yang, C. S. (2005). Mechanism of action of (–)-epigallocatechin-3-gallate: Auto-oxidation–dependent inactivation of epidermal growth factor receptor and direct effects on growth inhibition in human esophageal cancer KYSE 150 cells. *Cancer Res*, 65(17), 8049–8056.
- Jäger, A. K., Eldeen, I. M. S. ve Staden, J. (2007). COX-1 and -2 activity of rose hip. *Phytotherapy Research*, 21, 1251–1252.
- Josiah, S. S., Umar, H. I., Saliu, İ. O. ve Akinmoladun, A. C. (2021). Quercetin and catechin assuage redox imbalance and neurochemical dysfunction in rotenone-induced neurotoxicity: A comparative in vivo experiment supported by in silico study. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 1-11. doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100077.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Dergisi*, 4(1), 50-59.
- Karabulut, G. ve Yemiş, O. (2019). Fenolik bileşiklerin bağlı formları ve biyoyararlılığı. *Akademik Gıda*, 17(4), 526-37.
- Kerasioti, E., Apostolou, A., Kafantaris, I., Chronis, K, Kokka, E., Dimitriadou, C., . . . Stagos, D. (2019). Polyphenolic composition of rosa canina, rosa sempervivens and pyrocantha coccinea extracts and assessment of their antioxidant activity in human endothelial cells. *Antioxidants, (Basel)*, 8(4), 92.
- Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. (2001). Askorbik asidin degradasyon mekanizması. *Gıda*, 26(4), 233-242.

- Kilinc, K., Demir, S., Turan, I., Mentese, A., Orem, A., Sonmez, M. ve Aliyazicioglu, Y. (2020). Rosa canina extract has antiproliferative and proapoptotic effects on human lung and prostate cancer cells. *Nutr Cancer*, 72(2), 273-282.
- Kim, J. M., Kang, J. Y., Park, S. K., Han, H. J., Lee, K. Y., Kim, A. N., . . . Heo, H. J. (2020). Effect of storage temperature on the antioxidant activity and catechins stability of Matcha (*Camellia sinensis*). *Food Sci Biotechnol*, 29(9), 1261-1271.
- Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É. ve Ombódi, A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some rosa species. *Medicines (Basel)*, 5(3), 84.
- Krinsky, N. I. (1992). Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol, Med*, 200(2), 248–54.
- Kumaran, A. ve Karunakaran, R. J. (2007). In vitro antioxidant properties of methanol extracts of five phyllanthus species from India. *LWT–Food Science and Technology*, 40(2), 344–352,
- Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Rashid, M. A. ve Sarker, S. D. (2003) Bioactive flavonoid glycosides from the seeds of rosa canina, *Pharmaceutical Biology*, 41(4) 237-242.
- Kurutaş, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*, 15(1), 71.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B, Li, X., Kong, M, Li, L., Zhang, Q., . . . Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374. doi: 10.3390/molecules21101374.
- Lin, D. R., Hu, L. J., You, H., Sarkar, D., Xing, B. S. ve Shetty, K. (2010). Initial screening studies on potential of high phenolic-linked plantclonal systems for nitrate removal in cold latitudes. *J. Soils Sediment*, 10, 923–932. doi: /10.1007/s11368-010-0214-6
- Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta C. ve Rodríguez-Yoldi MJ. (2017). Therapeutic applications of rose hips from different rosa species. *Int J Mol Sci*, 18(6), 1137.
- Miller, N. J. ve Rice-Evans, C. A. (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60(3), 331-337.
- Ozgen, M., Serce, S. ve Kaya, C. (2009). Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Sci. Hortic*, 119(3), 275–279.

- Nadpal, J. D., Lesjak, M. M., Šibul, F. S., Anačkov, G. T., Četojević-Simin, D. D., Mimica-Dukić, N. M. ve Beara, I. N. (2016). Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina* L. and *Rosa arvensis* Huds. *Food Chem*, 1, 192, 907-914.
- Nawar, W. W. (1985). Lipids in food chemistry. *Food chemistry*, 3, 308-310.
- Niki, E. (1993). Antioxidant defenses in eukariotic cells: an overview. *Free radicals: from basic science to medicine*, 365-373.
- Novajan, S., Khalilian, F., Kiaie, F. M., Atyeh, R., Arabanian, A. ve Chalavi, S. (2008). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L fruits. *J Food Comp Anal*, 21(4), 300–305.
- Oz, M., Baltacı, C. ve Deniz, İ. (2018). Gümüşhane yöresi kuşburnu (*rosa canina* l.) ve siyah kuşburnu (*rosa pimpinellifolia* l.) meyvelerinin c vitamini ve şeker analizleri. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 284-292.
- Ozcan, M. (2000). Antioxidant activity of seafennel (*Crithmummaritimum* L.) essential oil and Rose (*Rosa canina*) extract on natural olive oil. *Acta Alimentaria*, 29, 377–384.
- Paje, L. A., Choi, J., Lee, H. D., Kim, J., Yu, A. R., Bae, M. J., . . . Lee, S. (2022). Phenolic acids and flavonoids from *Salvia plebeia* and HPLC-UV profiling of four *Salvia* species. *Heliyon*, 8(3), e, 09046. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09046.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. ve Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*, 5. doi: 10.1017/jns.2016.41. PMID: 28620474, PMCID: PMC5465813.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, 63(7), 1035–1042.
- Pratyusha, S. (2022). Phenolic Compounds in the Plant Development and Defense: An Overview. *Plant Stress Physiology-Perspectives in Agriculture*.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89-96.
- Raccah, M. (1984). The antimicrobial activity of phenolic antioxidants in foods: a review. *Journal of Food Safety*, 6(3), 141-170.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M. ve Pridham J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic, Res*, 22(4), 375–383.
- Rupasinghe H. P., G. Paliyath, D. P., Murr, A. K. ve Handa, S. Lurie (Eds.). (2008). Postharvest biology and technology of fruits, vegetables and flowers. *Wiley-Blackwell Yayıncılık*, ss. 260–281.

- Rupasinghe, H. P. V., Nair, S. V. G. ve Robinson, R. A. (2016). Chemopreventive properties of fruit phenolic compounds and their possible mode of actions. A. Rahman (Der.), *Studies in Natural Products Chemistry*, ss. 229-266.
- Rice-Evans C. A. ve Diplock A. T. (1993). Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med*, 15(1), 77–96.
- Roman, I., Stănilă, A. ve Stănilă, S. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chem Cent J*, 23, 7(1), 73.
- Shetty, K. ve Wahlqvist, M. L. (2004). A model for the role of the proline-linked pentose-phosphate pathway in phenolic phytochemical bio-synthesis and mechanism of action for human health and environmental applications. *Asia Pac. J. Clin. Nutr*, 13(1), 1–24.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.
- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Reesb, J. F. ve Larondellea, Y., (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chem*, 101(3), 1012–1018.
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C. ve Wichers, H. J., (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*, 11(5), 330–338.
- Stapleton, P. D., Shah, S. ve Hamilton-Miller, J. M. T. (2004). Anti-staphylococcus aureus activity and oxacillin resistance modulating capacity of 3- O-acylcatechins. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 24(4), 374–380. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.03.024
- Taguri, T., Tanaka, T. ve Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biol. Pharm. Bull*, 29(11), 2226–2235.
- Tannenbaum, S. R. ve Young V. R. (1985). *Vitamins and minerals*. O. R. Fennema, Ed., Food Chemistry, 2nd Edition, Marcel Dekker, New York.
- Teoh, E. S. (2016). Secondary metabolites of plants. *Medicinal Orchids of Asia*, 59–73.
- Turan, İ., Demir, S., Kılınç, K., Arslan, N. B., Özer, S. Y., Akbulut, Ç. K., . . . Değer, O. (2017). Antiproliferative and apoptotic effect of morus nigra extract on human prostate cancer cells. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(2), 241-248.
- Turan, I., Demir, S., Aliyazicioglu, R., Kilinc, K., Ozer Yaman, S., Akbulut Cakiroglu K., . . . Deger, O. (2019). Dimethyl sulfoxide extract of dianthus carmelitarum

- induces s phase arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Nutr Cancer*, 71(7), 1181-1188.
- Turan, İ., Demir, S., Kılınç, K., ÖY, Serap., Mısır, S., K, Hanife., . . . Değer, O. (2018). Cytotoxic effect of rosa canina extract on human colon cancer cells through repression of telomerase expression. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(6), 394–399.
- Türkben, C., Uylaşer, V., İncedayı, B., ve Çelikkol, I. (2010). Effects of different maturity periods and processes on nutritional components of rose hip (Rosa canina L.) *Jorurnal of Agriculture and Environment*, 8(1), 20-30.
- Uğur, H., Eker, S., Çatak, J. ve Yaman, M. (2020). Vitamin C ve hastalıklar üzerine etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 19, 746-756.
- URL-1, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ascorbic-acid>. Temmuz 2002.
- Winther, K., Campbell-Tofte, J., ve Hansen, A.S. (2016). Bioactive ingredients of rose hips (Rosa canina L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies. *Botanics: Targets and Therapy*, 6, 11-23.
- Xia, N., Daiber, A., Forstermann, U., ve Li, H. G. (2017). Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*, 174(12), 1633-1646.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M. ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.
- Yeşilada, E., Ustün, O., Sezik, E., Takaishi, Y., Ono, Y. ve Honda, G. (1997). Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha. *J Ethnopharmacol*, 58(1), 59–73.
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng., G. ve Zhang, Y. (2022). A brief review of phenolic compounds identified from plants: their extraction, analysis, and biological activity. *Natural Product Communications*, 17(1), 1-14. doi: 10.1177/1934578X211069721

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve ortaöğrenimini, Ziya Gökalp İlköğretim Okulu'nda Kahramanmaraş'ta tamamladı. 2009-2014 yılları arasında Mehmet Gümüşer Anadolu Lisesi'nde eğitim gördü. 2014 yılında, Gümüşhane Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2018 yılında tamamladı. 2018 yılında Gümüşhane Üniversitesi Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2022 yılı Ocak ayı itibariyle Ulaştırma Bakanlığına bağlı TEMA Tehlikeli Madde Güvenlik Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.'nde Tehlikeli Madde Güvenlik Danışmanlığı yapmaktadır.

