



**KIZILCIK (*Cornus mas L.*) MEYVE
EKSTRAKTLARININ FENOLİK İÇERİKLERİNİN
HPLC İLE BELİRLENMESİ VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yılmaz UĞUR

TEMEL ECZACILIK ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Selim ERDOĞAN**

Doktora Tezi - 2020

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KIZILCIK (*Cornus mas* L.) MEYVE EKSTRAKTLARININ FENOLİK
İÇERİKLERİNİN HPLC İLE BELİRLENMESİ VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yılmaz UĞUR

**Temel Eczacılık Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Selim ERDOĞAN**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TDK-
2018-1497 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2020**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kızılıık (<i>Cornus mas L.</i>)	3
2.2. Serbest Radikaller	4
2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	6
2.3.1. Endojen Kaynaklar	6
2.3.2. Eksojen Kaynaklar	6
2.4. Antioksidanlar	7
2.5. Polifenoller	9
2.5.1. Polifenollerin Sınıflandırılması	10
2.5.1.1. Fenolik Asitler	11
2.5.1.2. Flavonoidler	13
2.5.2. Polifenollerin Antioksidan Özellikleri ve İnsan Sağlığındaki Rollerini	16
2.6. Meyvelerden Polifenollerin Ekstraksiyonu	20
2.7. Polifenollerin Tayin Yöntemleri	22
2.8. Sitotoksik Aktivite	24
2.8.1. Kanseri	24
2.8.2. Sitotoksik Aktivite Ölçüm Yöntemleri	25
2.8.2.1. MTT Testi	26
2.9. Kaynak Özetleri	27
3. MATERYAL ve METOT	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Kızılıık Meyvesi	36
3.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar	44

3.1.3. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar	44
3.2. Yöntem	47
3.2.1. Meyve Örneklerinin Liyofilizasyonu	47
3.2.2. Optimum Ekstraksiyon Koşullarının Belirlenmesi	47
3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM) Tayini	48
3.2.4. Antioksidan Kapasite Tayini	49
3.2.4.1. DPPH Radikal Süpürme Gücü Testi	49
3.2.4.2. İndirgeme Gücü Testi	49
3.2.5. Toplam Antosiyanin Tayini	49
3.2.6. Fenolik Bileşenlerin HPLC’de Tayini	50
3.2.6.1. Geri Alma, LOD ve LOQ Parametrelerinin Belirlenmesi	50
3.2.7. Meyvelerde Şeker Analizi	51
3.2.8. Sitotoksik Aktivite	51
3.2.8.1. Hücre Kültürü	51
3.2.8.2. Optimizasyon Çalışmaları	51
3.2.8.3. MTT Analizi	52
3.2.9. İstatistiksel Analiz	52
4. BULGULAR	53
4.1. Ekstraksiyon Optimizasyonu Sonuçları	53
4.1.1. Çözgen Optimizasyonu	53
4.1.2. Sıcaklık Optimizasyonu	54
4.1.3. Süre Optimizasyonu	55
4.1.4. Basınç Optimizasyonu	56
4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM) Sonuçları	57
4.3. Antioksidan Kapasite Sonuçları	60
4.3.1. DPPH Radikal Süpürme Gücü Sonuçları	60
4.3.2. İndirgeme Gücü Sonuçları	65
4.4. Toplam Antosiyanin Sonuçları	68
4.5. HPLC’de Tayin Edilen Fenolik Bileşenlerin Konsantrasyonları	70
4.5.1. Gallik Asit Analiz Sonuçları	70
4.5.2. Kateşin Analiz Sonuçları	74
4.5.3. Epikateşin Analiz Sonuçları	78
4.5.4. Klorojenik Asit Analiz Sonuçları	82

4.5.5. Epigallokateşin Gallat Analiz Sonuçları	86
4.5.6. Rutin Analiz Sonuçları	90
4.6. HPLC’de Tayin Edilen Şeker Bileşenlerinin Konsantrasyonları	97
4.6.1. Fruktoz Analiz Sonuçları	97
4.6.2. Sakkaroz Analiz Sonuçları	100
4.6.3. Glikoz Analiz Sonuçları	102
4.7. Sitotoksik Etki Sonuçları	104
4.8. Temel Bileşenler Analizi Sonuçları	114
4.9. Korelasyon Analizi Sonuçları	117
5. TARTIŞMA	119
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	133
KAYNAKLAR	140
EKLER	155
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	155
EK-2. HPLC-RF ile Kateşin ve Epikateşin Bileşikleri için Elde Edilen Mix Standart Çözeltilerine Ait Kromatogramlar	160
EK-3. HPLC-RF ile Kateşin ve Epikateşin Bileşikleri için Elde Edilen Mix Standart Çözeltisi ve Örneğe (K03) Ait Kromatogramlar	161
EK-4. HPLC-RID Sistemindeki Fruktoz Standardı Kalibrasyon Grafiği ve Ortalama Pik Alanları	162
EK-5. HPLC-RID Sistemindeki Sakkaroz Standardı Kalibrasyon Grafiği ve Ortalama Pik Alanları	163
EK-6. HPLC-RID Sistemindeki Glikoz Standardı Kalibrasyon Grafiği ve Ortalama Pik Alanları	164
EK-7. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge	165

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca gerek bilgisi gerekse de tecrübesiyle desteğini hep yanımda hissettiğim, hoca-öğrenci ilişkisinden ziyade arkadaşça yaklaşımına şahit olduğum, nezaketiyle, anlayışıyla, istişareyi önemseyiőiyle, işleri kolaylaştırıcı rolüyle iyi ki öğrencisiyim dediğim kıymetli danışman hocam

Prof. Dr. Selim ERDOĞAN'a

Örneklerin ekstraksiyonu, evaporasyon ve spektrofotometrik analizler aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e, Arő. Gör. Hatice ÇAĞLAR YILMAZ'a, Yüksek Kimyager Fatma İMİK'e, doktora öğrencisi Samir Abbas Ali NOMA'ya,

Sitotoksik etkinin belirlenmesi çalışmalarında çok büyük katkıları olan hocam Doç. Dr. Emine ŐALVA'ya,

Meyve örneklerinin temin ve hasadında desteğini aldığım mesai arkadaşım Ziraat Mühendisi Makbule YANAR'a, laboratuvar çalışmalarında önemli katkıları olan mesai arkadaşım Kimyager Rukiye YAMAN'a,

Tez çalışmam boyunca gösterdikleri anlayış ve sabırlarından dolayı eşim Emine, kızım Ayőegül ve oğlum Talha'ya,

Teőekkür ederim.

ÖZET

Kızılcık (*Cornus mas L.*) Meyve Ekstraktlarının Fenolik İçeriklerinin HPLC ile Belirlenmesi ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Antioksidan özelliğiyle bilinen kıızılcık bitkisinin yaprakları, çiçekleri ve meyveleri geleneksel tıpta; kanser, kalp hastalıkları, anemi, diyabet, böbrek hastalıkları, bronşit ve soğuk algınlığı gibi birçok hastalığın önlenmesinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, aynı koşullarda yetiştirilen 27 kıızılcık genotipine ait meyvelerin optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi ve optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktların fenolik içeriği, antioksidan kapasitesi, sağlıklı (L-929) ve akciğer kanser (A-549) hücrelerine karşı sitotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca biyoaktif bileşenlerce ve sitotoksik etkisi ile öne çıkan genotiplerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Meyve örnekleri liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuş ve PLE ekstraksiyon tekniğinde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktların HPLC sisteminde fenolik içerikleri tayin edilmiştir. Spektrofotometrik yöntem ile antioksidan kapasite, toplam fenolik içerik ve toplam antosiyanin belirlenmiştir. Aynı ekstraktların sitotoksik etkileri *in vitro* yöntem ile değerlendirilmiştir. Örneklerin şeker bileşimi HPLC-RID sisteminde tayin edilmiştir.

Bulgular: Ekstraksiyon optimizasyonuna göre, metanol:su:HCl çözgen karışımı, 25°C sıcaklık, 60 dakika süre ve 1500 psi basınç optimum ekstraksiyon parametreleri olarak belirlendi. Kıızılcık meyvelerinde tayin edilen fenolik bileşenler ve konsantrasyonları, gallik asit; 21.91-55.21 mg/100 g, kateşin; 6.98-32.48 mg/100 g, epikateşin; 4.77-36.33 mg/100 g, epigallokateşin gallat; 4.09-17.57 mg/100 g ve rutin; 3.69-15.68 mg/100 g aralıklarında belirlendi. Meyve ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin, DPPH radikal süpürme gücü testine göre 1377.22-3003.91 mg TEAC/100 g ve indirgeme gücü testine göre 1869.16-4943.36 mg TEAC/100 g aralıklarında değiştiği gözlemlendi. Akciğer kanser hücreleri (A-549) üzerine sitotoksik etkileriyle öne çıkan genotiplerin K14, K18, K16 ve K01 genotipleri olduğu belirlendi.

Sonuç: Sonuçlar, genotipler arasında önemli farklılıklar olduğunu ($p \leq 0.05$) ve kıızılcık meyvesinin antioksidan kapasite ve sitotoksik etki potansiyeline sahip olduğunu ortaya çıkardı.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan kapasite, Biyoaktif bileşikler, *Cornus mas L.*, PLE ekstraksiyon, Sitotoksik etki

ABSTARCT

Determiration of Phenolic Content with HPLC of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Fruits and Investigation of Cytotoxic Effects

Aim: The leaves, flowers and fruits of *Cornus mas* known for its antioxidant properties use in traditional medicine, and at the prevention of many diseases such as cancer, cardiovascular, anemia, diabetes, kidney, bronchitis and cold. In this study, determining the optimum extraction conditions of fruits belong to 27 *Cornus mas* genotypes grown under the same conditions, and investigating the phenolic content, antioxidant capacity, the cytotoxic effect on healthy (L-929) and lung cancer (A-549) cells of the extracts obtained under optimum extraction conditions were aimed.

Materail and Metot: Fruit samples were dried by lyophilization and extracted by PLE extraction technique. The phenolic contents of the extracts obtained were determined by the HPLC system. Antioxidant capacity, total phenolic and total anthocyanin content were determined by spectrophotometric method. Cytotoxic effects of the same extracts were evaluated by in vitro method. The sugar composition of the samples was determined by the HPLC-RID system.

Results: According to the extraction optimization, methanol:water:HCl solvent mixture, 25°C temperature, 60 minutes time and 1500 psi pressure were determined as optimum extraction parameters. The phenolic components and their concentrations determined in *Cornus mas* fruits were gallic acid 21.91-55.21 mg/100 g, catechin 6.98-32.48 mg/100 g, epicatechin 4.77-36.33 mg/100 g, chlorogenic acid 4.09-33.98 mg/100 g, epigallocatechin gallate 4.37-17.57 mg/100 g and routine 3.69-15.68 mg/100 g. It was observed that antioxidant capacities of fruit extracts ranged between 1377.22-3003.91 mg TEAC/100 g according to DPPH radical scavenging activity test and 1869.16-4943.36 mg TEAC/100 g according to reducing power test. The genotypes coming into prominence with cytotoxic effects on lung cancer cells (A-549) were established as K14, K18, K16 and K01 genotypes.

Conclusion: The results have brought out that there are significant differences between the genotypes ($p \leq 0.05$) and *Cornus mas* fruit has antioxidant capacity and potential for cytotoxic effects.

Keywords: Antioksidant capacity, bioactive compounds, *Cornus mas* L., PLE extraction, Cytotoxic effect

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
A	: Absorbans
A-549	: Akciğer kanseri hücresi
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu
AGS	: Mide kanseri hücresi
ASE	: Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütil hidroksi toluen
c-3gE	: Siyanidin-3-glikozit eşdeğeri
CCl ₄	: Karbon tetraklorür
CO ₂	: Karbondioksit
DAD	: Diode array dedector
dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EAE	: Enzim destekli ekstraksiyon
FeCl ₃ .6H ₂ O	: Demir (III) klorür heksahidrat
FRAP	: Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
g	: Gram
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GC	: Gaz kromatografisi
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
HCl	: Hidrojen klorür
HCT-116	: Kolon kanseri hücresi
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	: % 50 inhibisyon konsantrasyonu
KCl	: Potasyum klorür
KM	: Kuru madde
L	: Litre

LOD	: Tespit limiti
LOQ	: Tayin limiti
M	: Molar
MAE	: Mikro dalga destekli ekstraksiyon
MCF-7	: Göğüs kanseri hücresi
mg	: Miligram
MS	: Kütle spektrometresi
MTT	: Metiltiazol difenil tetrazolyum
N₂	: Azot
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
Na₂S₂O₃	: Sodyum tiyosülfat
NaCH₃COO.3H₂O	: Sodyum asetat trihidrat
NIR	: Yakın infrared
nm	: Nanometre
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
o	: Orto
O₂	: Oksijen
p	: Para
PBS	: Phosphate buffered saline
PC-3	: Prostat kanseri hücresi
PLE	: Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
psi	: Pounds per square inch
PVDF	: Poliviniliden diflorür
R²	: Determinasyon katsayısı
RF	: Floresans dedektör
RID	: Refraktif indeks dedektörü
SCE	: Süper kritik sıvı ekstraksiyonu
SE	: Solvent ekstraksiyonu
SKOV3	: Yumurtalık kanseri hücresi
SO₂	: Sülfür dioksit
TBHQ	: Tersiyer bütül hidroksi kinon
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapaiste
TFMM	: Toplam fenolik madde miktarı

TLC	: İnce tabaka kromatografisi
UV	: Ultraviyole
α	: Alfa
β	: Beta
λ	: Lambda



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 2.1.	Bitkilerdeki fenolik bileşenlerin biyosentez yolları	10
Şekil 2.2.	Fenolik bileşenlerin sınıflandırılması	11
Şekil 2.3.	Fenolik asitlerin genel yapısı	12
Şekil 2.4.	Hidroksisinnamik asitler	12
Şekil 2.5.	Hidroksibenzoik asitler	13
Şekil 2.6.	Flavonoidlerin genel yapısı	13
Şekil 2.7.	Antosiyanidinlerin genel yapısı	14
Şekil 2.8.	Flavon ve flavonollerin genel yapısı	14
Şekil 2.9.	Flavanonların genel yapısı	14
Şekil 2.10.	Flavanollerin genel yapısı	15
Şekil 2.11.	Proantosiyanidinlerin genel yapısı	16
Şekil 2.12.	İzoflavonoidlerin genel yapısı	16
Şekil 2.13.	Tüketilen polifenollerin insan vücudundaki dolaşım sistemi	18
Şekil 2.14.	Polifenol ekstraksiyon metotları	22
Şekil 2.15.	Polifenollerin tayininde kullanılan yöntemler	24
Şekil 3.1.	K01, K02, K03 ve K04 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	37
Şekil 3.2.	K05, K06, K07 ve K08 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	38
Şekil 3.3.	K09, K10, K11 ve K12 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	39

Şekil 3.4.	K13, K14, K15 ve K16 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	40
Şekil 3.5.	K17, K18, K19 ve 20 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	41
Şekil 3.6.	K21, K22, K23 ve K24 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	42
Şekil 3.7.	K25, K26 ve K27 Kızılılık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri	43
Şekil 3.8.	ASE-200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü	45
Şekil 3.9.	ASE-200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü ve ekstraksiyon aparatları	45
Şekil 3.10.	ASE-200 Solvent ekstraktöründe ekstraksiyon işlemi için çözgen ve gaz akış şeması	46
Şekil 3.11.	Bazı kızılılık örnekleri ve Liyofilizasyon işlemi	47
Şekil 4.1.	Farklı çözgen karışımları ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları	54
Şekil 4.2.	Farklı sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları	55
Şekil 4.3.	Farklı sürelerde yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları	56
Şekil 4.4.	Farklı basınçlarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları	57
Şekil 4.5.	TFMM tayininde kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği	58
Şekil 4.6.	Kızılılık meyve örneklerinin TFMM sonuçları (mg GAE/100 g)	59
Şekil 4.7.	DPPH Radikal Süpürme Gücü testi tayininde kullanılan troloks standardının kalibrasyon grafiği	60
Şekil 4.8.	Kızılılık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite DPPH sonuçları (mg TEAC/100 g)	63
Şekil 4.9.	Kızılılık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite DPPH sonuçları (% inhibisyon)	64
Şekil 4.10.	İndirgeme Gücü testi tayininde kullanılan troloks standardının kalibrasyon grafiği	65

Şekil 4.11.	Kızılıcık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite İndirgeme Gücü sonuçları (mg TEAC/100 g)	67
Şekil 4.12.	Kızılıcık meyve örneklerinin Toplam Antosiyanin sonuçları (mg c-3gE/100 g)	69
Şekil 4.13.	HPLC-DAD sistemindeki gallik asit standardı kalibrasyon grafiği	71
Şekil 4.14.	Kızılıcık meyve örneklerinin Gallik Asit analiz sonuçları (mg/100 g)	73
Şekil 4.15.	HPLC-DAD sistemindeki Kateşin standardı kalibrasyon grafiği	75
Şekil 4.16.	Kızılıcık meyve örneklerinin Kateşin analiz sonuçları (mg/100 g)	77
Şekil 4.17.	HPLC-DAD sistemindeki Epikateşin standardı kalibrasyon grafiği	79
Şekil 4.18.	Kızılıcık meyve örneklerinin Epikateşin analiz sonuçları (mg/100 g)	81
Şekil 4.19.	HPLC-DAD sistemindeki Klorogenik asit standardı kalibrasyon grafiği	83
Şekil 4.20.	Kızılıcık meyve örneklerinin Klorogenik Asit analiz sonuçları (mg/100 g)	85
Şekil 4.21.	HPLC-DAD sistemindeki Epigallokateşin gallat standardı kalibrasyon grafiği	87
Şekil 4.22.	Kızılıcık meyve örneklerinin Epigallokateşin gallat analiz sonuçları (mg/100 g)	89
Şekil 4.23.	HPLC-DAD sistemindeki Rutin standardı kalibrasyon grafiği	91
Şekil 4.24.	Kızılıcık meyve örneklerinin Rutin analiz sonuçları (mg/100 g)	93
Şekil 4.25.	HPLC-DAD ile gallik asit, kateşin, klorogenik asit, epigallokateşin gallat, epikateşin ve rutin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltilerine (mix standart 1, 2, 3 ve 4) ait kromatogramlar	94
Şekil 4.26.	HPLC-DAD ile gallik asit, kateşin, klorogenik asit, epigallokateşin gallat, epikateşin ve rutin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltilerine (mix standart 5, 6 ve 7) ait kromatogramlar	95

Şekil 4.27.	HPLC-DAD ile gallik asit, kateşin, klorogenik asit, egkg, epikateşin ve rutin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltisine ve örneğe (K03) ait kromatogramlar	96
Şekil 4.28.	Kızılcık meyve örneklerinin Fruktoz analiz sonuçları (g/100 g)	99
Şekil 4.29.	Kızılcık meyve örneklerinin Sakkaroz analiz sonuçları (g/100 g)	101
Şekil 4.30.	Kızılcık meyve örneklerinin Glikoz sonuçları (g/100 g)	103
Şekil 4.31.	Kızılcık meyve örneklerinin sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K01-K13)	107
Şekil 4.32.	Kızılcık meyve örneklerinin sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K14-K27)	108
Şekil 4.33.	Kızılcık meyve örneklerinin akciğer kanseri (A-549) hücre hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K01-K13)	111
Şekil 4.34.	Kızılcık meyve örneklerinin akciğer kanseri (A-549) hücre hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K14-K27)	112
Şekil 4.35.	Sitotoksik etki sonuçlarının toplu gösterimi	113
Şekil 4.36.	Kızılcık genotiplerinin biyokimyasal özelliklerine ait temel bileşen analizi sonuçlarına göre dağılımı	116

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 2.1.	Antioksidanların sınıflandırılması	8
Tablo 3.1.	Kızılcık genotiplerine ait meyve hasat tarihleri	36
Tablo 3.2.	HPLC sistemi ve çalışma koşulları	46
Tablo 3.3.	Kızılcık meyvelerinin optimum ekstraksiyon koşulları için uygulanacak parametreler	48
Tablo 3.4.	Fenolik bileşiklerin analizi için HPLC sisteminde uygulanan gradient programı	50
Tablo 4.1.	Farklı çözügen karışımları ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların TFMM ölçüm sonuçları	54
Tablo 4.2.	Farklı sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların TFMM ölçüm sonuçları	55
Tablo 4.3.	Farklı sürelerde yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların TFMM ölçüm sonuçları	56
Tablo 4.4.	Farklı basınçlarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların TFMM ölçüm sonuçları	57
Tablo 4.5.	Kızılcık meyve örneklerinin TFMM (mg GAE /100 g) sonuçları	58
Tablo 4.6.	Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite DPPH Radikal Süpürme Gücü (mg TEAC /100 g) sonuçları	61
Tablo 4.7.	Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite DPPH Radikal Süpürme Gücü (% inhibisyon) sonuçları	62
Tablo 4.8.	Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite İndirgeme Gücü (mg TEAC/100 g) sonuçları	66
Tablo 4.9.	Kızılcık meyve örneklerinin Toplam Antosiyanin (mg c-3gE/100 g) sonuçları	68
Tablo 4.10.	Gallik aside ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	70
Tablo 4.11.	Gallik aside ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	71

Tablo 4.12.	Kızılcık meyve örneklerinin gallik asit sonuçları (mg/100 g)	72
Tablo 4.13.	Kateşine ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	74
Tablo 4.14.	Kateşine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	75
Tablo 4.15.	Kızılcık meyve örneklerinin Kateşin sonuçları (mg/100 g)	76
Tablo 4.16.	Epikateşin ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	78
Tablo 4.17.	Epikateşine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	79
Tablo 4.18.	Kızılcık meyve örneklerinin Epikateşin sonuçları (mg/100 g)	80
Tablo 4.19.	Klorojenik asite ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	82
Tablo 4.20.	Klorojenik aside ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	83
Tablo 4.21.	Kızılcık meyve örneklerinin Klorojenik asit sonuçları (mg/100 g)	84
Tablo 4.22.	Epigallokateşin gallata ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	86
Tablo 4.23.	Epigallokateşin gallat'a ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	87
Tablo 4.24.	Kızılcık meyve örneklerinin Epigallokateşin gallat sonuçları (mg/100 g)	88
Tablo 4.25.	Rutine ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri	90
Tablo 4.26.	Rutine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri	91
Tablo 4.27.	Kızılcık meyve örneklerinin Rutin sonuçları (mg/100 g)	92
Tablo 4.28.	Kızılcık meyve örneklerinin Fruktoz sonuçları (g/100 g)	98
Tablo 4.29.	Kızılcık meyve örneklerinin Sakkaroz sonuçları (g/100 g)	100

Tablo 4.30.	Kızılcık meyve örneklerinin Glikoz sonuçları (g/100 g)	102
Tablo 4.31.	Kızılcık meyve örneklerine ait ekstraktın sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri	105
Tablo 4.32.	Kızılcık meyve örneklerine ait ekstraktın sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri	106
Tablo 4.33.	Kızılcık meyve örneklerine ait ekstraktın akciğer kanser hücre (A-549) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri	109
Tablo 4.34.	Kızılcık meyve örneklerine ait ekstraktın akciğer kanser hücre (A-549) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri	110
Tablo 4.35.	Meyve kalite özelliklerine ait temel bileşen analizi sonuçları	115
Tablo 4.36.	Meyve kalite özellikleri ve sitotoksik özellikler arasındaki korelasyon sonuçları	118

1. GİRİŞ

Meyve ve sebzeler gıda kaynağı olmanın yanı sıra içerdikleri sekonder metabolitleri sayesinde doğal antioksidanların da kaynağıdır. Kansere, kalp hastalıkları ve diğer birçok hastalığın sebepleri arasında sayılan zararlı serbest radikallere karşı önleyici etkisi olan antioksidanlar, insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir (1).

Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren kimyasal yapılar olarak tanımlanan serbest radikaller, organizmada normal olarak meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi radyasyon, virüsler, ultraviyole ışınları, sigara dumanı ve hücre metabolizmasının toksik ürünleri gibi kaynaklar nedeniyle de oluşabilmektedir. Reaktif olan bu türler lipid, protein ve nükleik asitlerde oksidatif hasara yol açarak çeşitli patolojik olaylara sebep olmaktadır. Hücrelerde moleküler değişimlere ve gen mutasyonlarına yol açtıkları, yaşlanma, hücre hasarı ve doku yıkımında rol aldıkları bilinmektedir.

Kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötr hale getiren ve serbest radikal oluşumunu engelleyen antioksidanlar, insan vücudunda koruyucu bir işlev görürler. Gıdalarda ve vücutta oksitlenebilir substratlara göre daha düşük konsantrasyonlarda bulunurlar ve oksidatif hasara sebep olan substratın oksidasyonunu büyük ölçüde geciktirir veya engellerler (2).

Vitaminler, karotenoidler ve polifenoller, doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır. Polifenoller pek çok sebze ve meyvede, çay ve kırmızı şarap gibi içeceklerde bulunan ve yapısında esas olarak flavonoid ve fenolik asitler içeren bileşiklerdir. Bu bileşikler ya serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak ya da serbest radikalleri doğrudan baskılayarak radikal süpürücü etki gösterirler (3). Çoğu bitkide yaygın olarak bulunan polifenoller, hücrede yıkıcı hasara sebep olan reaktif oksijen türlerini giderme /önleme özelliklerinden dolayı geniş bir spektrumda farmakolojik aktiviteye sahiptir.

Antikanser ajanların normal doku ve tümör arasında ayırımı yapmaksızın etki etmesi, uyarılmış ilaç direncine hassasiyetleri ve şiddetli yan etkileri bu ajanların ilaç olarak kullanımlarındaki önemli sorunlardandır. Bu tür sorunlar kansere önleyici veya iyileştirici ajanlar olarak doğal biyoaktif bileşenlerin kullanımına yönelik ilgiyi arttırmaktadır (4). Özellikle kanser, kalp hastalıkları ve daha birçok hastalık üzerindeki

iyileştirici rollerinin ortaya çıkarıldığı araştırmaların varlığı, biyoaktif bileşenlerce zengin olan bitkilere artan bu ilgiyi haklı çıkarmaktadır.

Kızılcık, genelde tarla ve bahçe kenarlarında ya da ormanlık alanlarda doğal olarak yetişen bir bitkidir. Kızılcık meyvesi genellikle reçel, marmelat, şurup, jöle, komposto, pestil, tarhana, şıra ve taze meyve olarak tüketilmektedir. Ayrıca meyvesi, yaprağı, kökü, kabuğu geleneksel tedavide ateş düşürücü, ishal kesici ve böbrek taşı düşürücü olarak kullanılmaktadır. Meyvesi antosiyanin, flavonoid ve fenolik bileşenler yönüyle zengin bir içeriğe sahiptir. Bu meyvenin antiseptik, antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal özelliklerinin olduğuna dair çok sayıda çalışma mevcuttur. Modern çağın hastalıklarından sayılan kanser, obezite, diyabet ve kalp damar hastalıklarına karşı bitkisel tedavi yaklaşımına olan ilginin doğru kanalize edilmesi için bitkilerin tedavi edici özelliklerinin ortaya çıkarılmasına yönelik yapılan araştırmalar çoğalmakta, kızılcık da bu yönüyle ilgi çekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, Malatya'da kültüre alınmış 27 kızılcık genotipine ait meyvelerin fenolik bileşenler açısından içerik ile antioksidan kapasite özelliklerinin belirlenmesi ve meyve ekstraktlarının kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkilerinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda Solvent Ekstraksiyon Sistemiyle (ASE) optimum ekstraksiyon parametreleri belirlenerek fenolik bileşenler HPLC ile tayin edilmiştir. Spektrometre ile toplam fenolik madde miktarı (TFMM), antioksidan kapasite ve toplam antosiyanin miktarı tayin edilmiştir. Ayrıca meyvenin şeker kompozisyonu da HPLC ile tayin edilmiştir. Meyve ekstraktlarının sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde MTT yönteminden yararlanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kızılcık (*Cornus mas L.*)

Umbelliflorae takımının Cornaceae familyasına ait olan kızılcık ağacı, 7-8 metreye kadar boylanabilen, gövde çapı 25-45 cm olan, kışın yapraklarını döken ve sert çekirdekli meyveleri olan bir bitkidir. Anavatanı Anadolu, Kafkasya ve Avrupa olan bu bitki ülkemizde genellikle tarla ve bahçe kenarlarında tek veya birkaç ağaç halinde ya da ormanlık alanlarda doğal olarak yetişmektedir. Yaprakları, sürgünlerde karşılıklı dizili şekilde kısa saplı, mızrak şeklinden geniş eliptiğe kadar değişmektedir. Boyları 3 ile 10 cm arasında değişmektedir. Çiçek salkımı şemsiye şeklinde, 1,5-2,5 cm boyunda ve 15-20 çiçeklidir. Çiçekler yeşilimsi mat sarı renktedir. Taç yapraklar 2-3 mm, çanak yapraklar ise 0,5 mm boydadır. Genç sürgünler yeşilimsi-sarı renkli, dört köşeli ve tüylüdür. Yaşlı sürgünler ise silindirik, ince sık tüylüdür. Yaprak tomurcukları sivri uçlu, küçük, karşılıklı kapanmış bir çift pulla örtülü ve üzeri hafif tüylüdür. Çiçek tomurcukları kısa sürgünlerin ucunda yer almaktadır. Büyük, küre ve ampul biçiminde olan çiçek tomurcukları karşılıklı iki çift pulla örtülmüştür. Çiçek tomurcukları, yaprak tomurcuklarından önce açmaktadır. Zeytin iriliğinde olan meyvenin şekli oval, yuvarlak, silindir ve koniktir. Ekşi ve buruk bir tada sahiptir. Meyve kabuk rengi genotip veya çeşide bağlı olarak kırmızı, sarı, sarı-kırmızı, kırmızı-sarı olabilmektedir. Et rengi ise kırmızı, pembe, krem ya da sarıdır. Genellikle yaz ayının sonuna doğru ve kısmen de sonbaharın başlarında meyveleri hasat olgunluğuna erişmektedir (5-12).

Ülkemizde kızılcık genel olarak yabani formlarda Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde sahil ve yüksek kesimlerinde dağlık alanlarda, dere yataklarında tek veya gruplar hâlinde bulunur. Malatya, Bursa, Yalova, Karabük, İstanbul, Denizli illerinde sınırlı miktarda aşılı kızılcık yetiştiriciliği yapılmaktadır. Kızılcık yetiştirildiği yörelerde eğren, eyren, eyir, kevren, kiren, zoğal, beyaz kızılcık, çalı kızılcığı, çum, güren, kevren, kıran, kiren, şefit, zağal, zanğal, zavrak, zongal, zoval, zuğal, zuhal, zuval gibi isimlerle anılmaktadır (13, 14).

Kızılcık bitkisinin meyvesi, yaprağı, çiçeği, kabuğu ve kökleri değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Meyvesi taze ve kuru olarak ya da reçel, marmelat, şurup, jöle, komposto, pestil, tarhana, şıra, alkollü içki ve meyve suyu olarak işlenip değerlendirilmektedir. Ayrıca meyve kuru ya da yaş olarak geleneksel tıpta deri hastalıklarında, metabolik bozukluklarda, soğuk algınlığında, güneş çarpmasında,

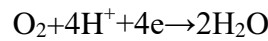
böbrek taşına ve diyareye karşı tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bitkinin yaprak, kabuk, kök, çekirdek ve çiçekleri ise öksürük, bronşit, idrar yolu enfeksiyonları, dizanteri, çiban ve yara tedavisinde kullanılmaktadır (15-22).

Yapılan çalışmalar, kızılılık meyvesinin, glikoz, fruktoz, tanen, pektin, mineral madde, organik asit ve askorbik asit (C vitamini), fenolik asit, flavonol, antosiyanin, triterpenoid gibi çok sayıda biyoaktif bileşik içerdiğini göstermiştir. Bu tür bileşikler, yüksek antioksidan özellikleri sayesinde reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu birçok hastalığı önleyebilmektedir. Bu nedenle, zengin biyoaktif bir içeriğe sahip olan kızılılık meyvesinin tüketimi, obezite, kanser ve kardiyovasküler gibi hastalıkların oluşum ve gelişiminde önleyici bir etkiye sahip olabilmektedir (23-27).

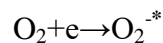
2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren ve oldukça reaktif olan kimyasal yapılar olarak tanımlanırlar. Bu yapılar basit bir atom veya kompleks yapıya sahip bir organik molekül olabilir. Dış orbitallerde ortaklanmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Normal koşullarda kimyasal olarak bağlanmış iki veya daha fazla elektron içeren moleküllerin elektron düzeni, kararlılıklarını belirler. Molekül üzerinde ortaklanmamış elektron varsa, son derece reaktif davranır ve kararlı konuma geçmek için bir elektronla çift oluşturma eğilimi gösterir.

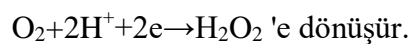
Serbest radikaller, organizmada normal olarak meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları sırasında olduğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkenler nedeniyle de oluşabilmektedir. Serbest radikal yaratan kaynaklardan bazıları radyasyon, virüsler, ultraviyole ışınları, sigara dumanı ve hücre metabolizmasının toksik ürünleridir. Örneğin aerobik canlıların mutlaka kullanılması gereken O₂ tam indirgenme sonucu;



reaksiyonu gereği suya dönüşürken, tek elektronlu indirgenme ile;



süperoksit radikaline veya iki elektronlu indirgenme ile;



Tam indirgenme ürünü olan su hücre için toksik etki göstermez ancak süperoksit radikali, hidroksil radikali ve H_2O_2 hücre için toksik etki gösterirler. Bunlar arasında en toksik özelliğe sahip olan hidroksil radikalidir.

Solunum yoluyla alınan oksijen, besin yoluyla alınan ve hayati fonksiyonların icrası için gerekli olan enerjinin açığa çıkmasında etkilidir. Ancak oksijenin hücrede kullanılması sırasında etraftaki moleküller de okside olmaktadır. Bu durumda ortaya çıkan radikaller, hücrenin lipid, protein ve nükleik asit gibi önemli bileşenleri ile kontrolsüz reaksiyonlara girebilmektedir. Hücrenin zarar görmesiyle sonuçlanan bu durum kimyasal reaksiyonlar zincirinin başlamasına ve daha çok serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Bu radikaller lipidlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olmaktadır. Bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylar meydana gelmektedir. Ayrıca bu reaktif türlerin pek çok hücrede moleküler değişimlere, gen mutasyonlarına yol açtığı artık iyi bilinmekte olup yaşlanma, hücresel hasar ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir (28, 29).

Reaktif oksijen türleri, reaktif azot türleri ve reaktif klor türleri, başlıca serbest radikallerdir. Reaktif oksijen türleri, kimyasal olarak reaktif bir ya da daha fazla oksijen atomu içeren moleküller olarak tanımlanır.

Reaktif Oksijen Türleri;

- 1- Süperoksit anyonu (O_2^{*-})
- 2- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- 3- Peroksit radikali (ROO^*)
- 4- Hidroksil radikali (OH^*)
- 5- Singlet oksijen (1O_2)

Reaktif Azot Türleri;

- 1- Azot oksit (NO)
- 2- Azot dioksit (*NO_2)
- 3- Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Reaktif Klor Türü;

- 1- Hipoklorik asit (HOCl)' dir.

2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, endojen (hücre veya sistem içi) ya da eksojen (organizma, hücre veya sistem dışı) kaynaklı olabilmektedir (30).

2.3.1. Endojen Kaynaklar

- a) Mitokondride aerobik solunum sırasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler serbest radikalleri yan ürün olarak üretirler.
- b) Yangı durumunda sitokinler serbest bırakılır ve bunun sonucunda nötrofiller ve makrofajlar serbest radikalleri üretmeye başlar.
- c) Serbest radikaller lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyel sitokrom oksidaz gibi çeşitli kaynaklardan oluşabilir.
- d) Düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması tarafından serbest radikaller üretilebilir.
- e) Otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda meydana gelen elektron kaçaklarından oluşabilir.
- f) Zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres toksik yan ürün olarak serbest radikal üretebilir. Ayrıca kortizol ve katekolamin gibi hormonlar vücutta stres reaksiyonlarına yol açarlar. Aynı zamanda bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilirler.

2.3.2. Eksojen Kaynaklar

- a) UV ışınlar, X-rays, gamma ışınları, mikrodalga ışınları
- b) Orman yangınları, volkanik faaliyetler
- c) Asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler
- d) Temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar
- e) Kloroform ve diğer trihalometanlar gibi su kirletici maddeler
- f) Alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı

2.4. Antioksidanlar

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücre veya organizmalar koruyucu mekanizmalara sahiptirler. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu önlerken, bir kısmı da oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırır. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak **antioksidanlar** denir. Serbest radikalleri nötralleştirerek vücudun onlardan etkilenmemesini sağlayan antioksidanlar, yükseltgenebilecek maddeye nazaran daha düşük derişimde bulunduğunda, bu yükseltgenebilecek maddenin oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da engelleyen maddelerdir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik yani reaktif türlerin, organizmada var olan veya gıdayla alınan antioksidanlarla dengelenememesi durumu oksidatif stres adı verilen hasara yol açar. Böyle bir hasar, DNA, yağlar, proteinler, karbonhidratlar gibi biyolojik molekülleri sarsabilir. Bu nedenle oksidatif stres, mutasyonların meydana gelmesi, kanser oluşması, membran hasarı, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve parçalanması, karbonhidrat hasarı gibi durumlarla bağlantılı olabilmektedir (31).

Antioksidan madde, serbest radikal olan hedef molekülden bir elektron alarak veya vererek onu etkisiz hale getirmektedir. Dolayısıyla serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını durdurmaktadır. Kendisi her durumda stabil olduğundan dolayı serbest radikale dönüşmemektedir ve böylelikle etrafındaki serbest radikallerin süpürülmesi ve yok edilmesinden sorumludur (32).

Antioksidanlar;

- a) Biyolojik olarak reaktif türleri zayıf bir moleküle çevirme,
- b) Reaktif türlere bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme,
- c) Reaktif türlerin yaptıkları hasarları onarma,
- d) Reaktif türleri bağlayarak fonksiyonlarını engelleme,

şeklinde etki ederler (33, 34).

Antioksidanları doğal ve sentetik olmak üzere iki sınıfta incelemek mümkündür. Doğal antioksidanlar ise kendi aralarında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar şeklinde sınıflandırılır.

Enzimatik antioksidanlar; hücre içinde çeşitli mekanizmalarla oluşan radikaller bazı enzimler tarafından giderilir. Pek çok enzim doğrudan veya dolaylı olarak serbest radikalleri giderme mekanizmasına katkıda bulunur.

Enzimatik olmayan antioksidanlar; bu gruptaki doğal antioksidanlar, bitki veya hayvan dokularında bulunan ya da bitkisel veya hayvansal kaynaklı bileşiklerin pişirilmesi veya işlem görmesi sonucu oluşan maddelerdir.

Genel bir sınıflandırma Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

ANTIOKSİDANLAR		
DOĞAL ANTIOKSİDANLAR		SENTETİK ANTIOKSİDANLAR
ENZİMATİK ANTIOKSİDANLAR	ENZİMATİK OLMAYAN ANTIOKSİDANLAR	
*SOD	Endojen Antioksidanlar	*BHT
*Katalaz		*BHA
*Glutasyon Peroksidaz	*Glutasyon	*Troloks
*Glutasyon Redüktaz	*Serüloplazmin	*Çeşitli şelat oluşturuçu sentetik maddeler
*Glutasyon-S-Transferaz	*Bilirubin	
	*Ferritin	
	*Laktoferrin	
	*Ürik Asit	
	*Haptoglobinler	
	*Albumin	
	Eksojen Antioksidanlar	
	*E Vitamini	
	*Beta Karoten	
	*Askorbik Asit	
	*Polifenoller	

Canlı metabolizmasında meydana gelen oksidasyon, dış kaynaklı reaktif türlerin alınımıyla hızlanmaktadır. Serbest radikallerin çoğalmasıyla gerçekleşebilecek hücre hasarları, sağlık açısından önemli sorunlar oluşturabilmektedir. Çünkü bu radikallerin artışı kardiyovasküler hastalıklardan sindirim, üreme, solunum ve boşaltım sistemlerindeki bozukluklara kadar birçok rahatsızlığa karşı yatkınlığı arttırabilir. Serbest radikal düzeyleri ile doğrudan ilişkili olan bu rahatsızlıkların önlenmesi için oksidan maddelerin antioksidanlar ile dengede olması sağlanmalıdır. Dengeli beslenme ve yeterli miktarda antioksidan alımı ile serbest radikallerin olumsuz etkilerinden kurtulmak mümkün olabilir (35).

Antioksidanlar grubunda, vitaminler, polifenoller, karotenoidler ve bazı fitokimyasallar yer alır. Polifenoller; antosiyanin, fenolik asit, lignan, flavonoidleri ve stilbenleri içeren geniş bir antioksidan sınıfıdır. Polifenoller bitkilerin sekonder metabolitleridir ve bitki polifenollerini, radikal yok ediciler olup çok etkili

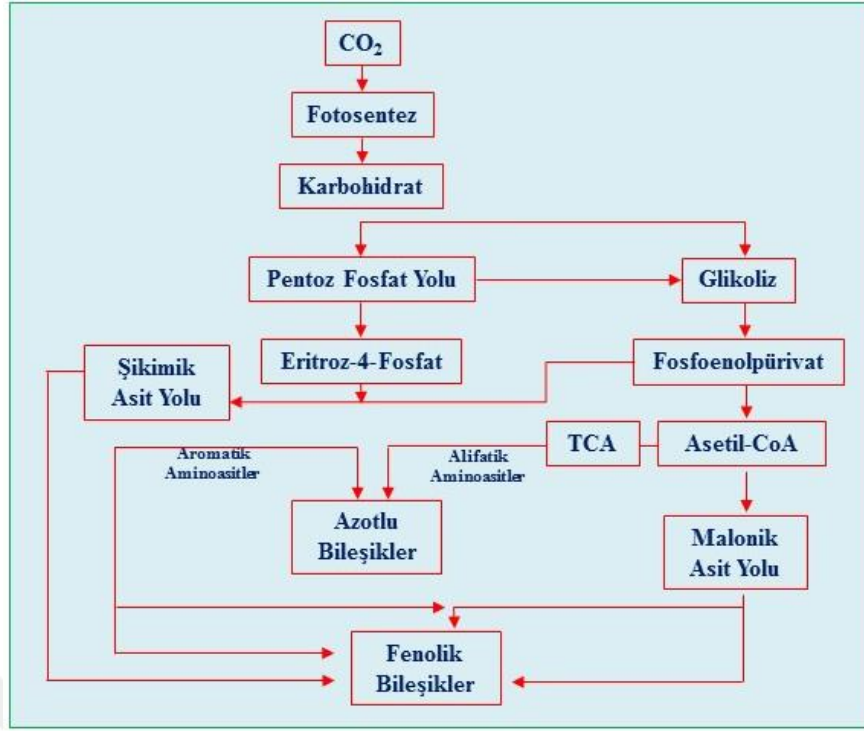
antioksidanlardır. Flavonoidler ise bitkilerdeki polifenolik sekonder metabolitlerin en yaygın grubunu oluşturur ve birçok metabolik bozuklukta tedavi amacıyla kullanılan doğal bileşiklerin önemli bir üyesidir. Sebzelerde, meyvelerde, çay ve şarap gibi içeceklerde doğal olarak bulunan polifenolik antioksidanlardır. Kansere, koroner kalp hastalığı ve aterosklerosis gibi kronik hastalıklara karşı potansiyel koruyucu olarak görev yaparlar. Serbest radikalleri yok edici ve serbest radikal reaksiyonlarını tetikleyen metal iyonlarının yakalayıcısı olarak rol oynarlar. Son yıllarda hücre döngüsü, hücre proliferasyonu ve oksidatif stresi önlemesi, enzimlerin ve immün sistemin detoksifikasyonunun oluşması gibi özellikleri de dikkat çekmektedir. Flavonoidlerin oksidatif hasara karşı etkili olmasından dolayı kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri vardır (36, 37).

Sebzeler ve meyveler, içerdikleri çeşitli antioksidanlar sayesinde, kanser, kalp-damar, beyin- damar rahatsızlıkları gibi hastalıklara karşı koruma sağlarlar. Meyveler ve sebzeler çok sayıda değişik antioksidan bileşenler içerirler. Bir sebze ya da meyvenin antioksidan kapasitesi çoğunlukla, C vitamini, E vitamini ve β -karoten dışındaki bileşenlerden ileri gelir. Örneğin bazı flavonoidler, besinlerde güçlü antioksidan aktivite gösteren bileşenlerdendir (38).

2.5. Polifenoller

Polifenoller bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik yapılardır. Bitki ürünlerinde bol miktarda bulunur ve bu ikincil metabolitler biyolojik açıdan oldukça aktif yapılardır. Bazıları sadece organik çözücülerde çözünürken, diğerleri karboksilik asit ve glikozitleri sayesinde suda çözünür. Diğer gruplar ise çözünmeyen polimerlerdir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşenlerin çoğu herbivor ve patojenlere karşı savunma bileşikleridir. Diğerlerinin mekanik destek veren, polen ve meyve dağılımını sağlayan canlıları çeken veya aynı ortamda yetişen rakip bitkilerin büyümesini azaltan işlevleri vardır. Fenolik bileşenlerin büyük bir çoğunluğu insan beslenmesinde besin zincirine katılmaktadır (39).

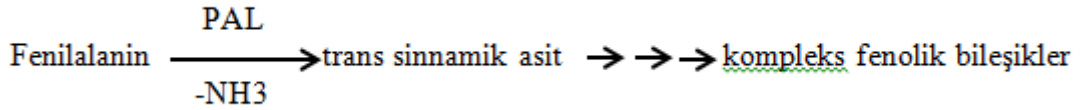
Bitkisel kaynaklı polifenollerin farklı sentez yolları olduğu için heterojen bir gruptur. Şikimik asit yolu ve malonik asit yolu olmak üzere iki temel metabolik yolu vardır. Şikimik asit yolu pek çok bitkisel fenoliklerin biosentezine katılır. Malonik asit yolu bakteri ve funguslarda fenolik ikincil ürünler için önemli bir kaynak oluşturmaktadır (40, 41).



Şekil 2.1. Bitkilerdeki fenolik bileşenlerin biyosentez yolları

Şikimik asit metabolik yolu glikoz ve pentoz fosfat yolunda oluşan basit karbonhidrat öncülleri aromatik aminoasitlere dönüştürür. Ara ürünlerden biri şikimik asittir ve metabolik yola ismi verilmiştir.

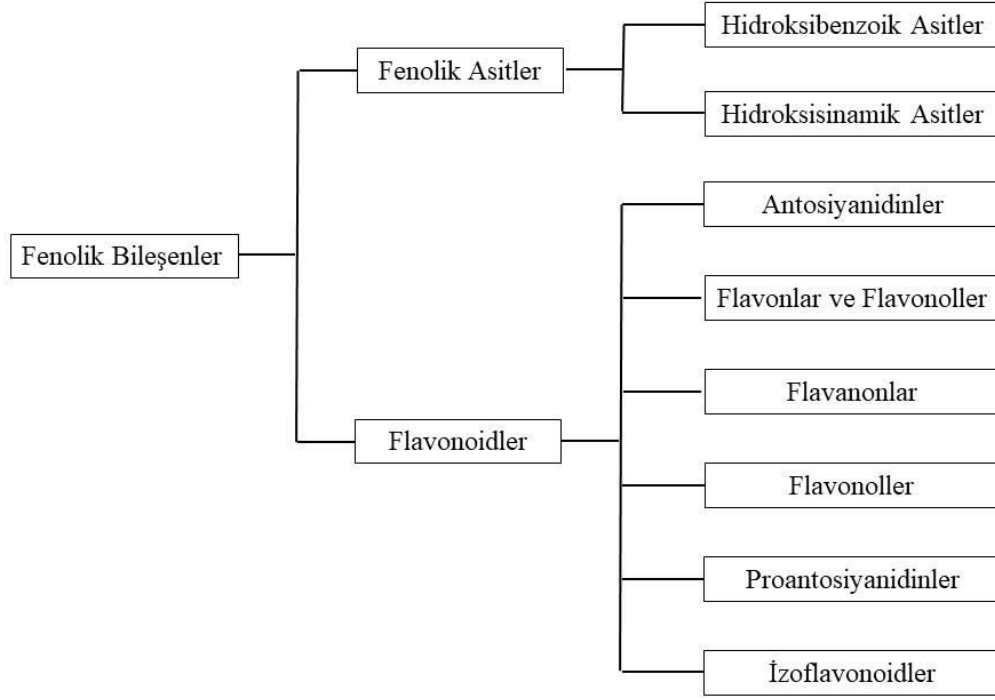
Bitkilerde en sık rastlanan sekonder fenolik bileşik grupları fenilalaninden türevlenir. Fenilalaninden amonyum molekülünün uzaklaşmasıyla sinnamik asit oluşur. Bu tepkimeyi katalizleyen fenilalanin amonyum liyaz (PAL), primer ve sekonder metabolizmanın tam ayrılma noktasında bulunduğundan, birçok fenolik bileşiğin oluşumunda önemli bir düzenleyici basamağı katalizler.



2.5.1. Polifenollerin Sınıflandırılması

Polifenoller farklı özellikleri göz önüne alınarak birçok farklı şekilde gruplanabildiği gibi genel olarak, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir. Fenolik asitler, hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki alt gruba, flavonoidler ise antosiyanidinler, flavonlar ve flavonoller,

flavanonlar, kateşinler (flavanoller), proantosiyanidinler, izoflavonoidler olmak üzere altı alt gruba ayrılmaktadırlar (42).



Şekil 2.2. Fenolik bileşenlerin sınıflandırılması

2.5.1.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler genel olarak bitki dokularında serbest halde bulunmazlar, bitkilerin işlenmesi sırasında hidrolize şekilde ortaya çıkarlar. Yapılarında bulunan karboksil grupları karbonhidratlar, alkoller, aminoasitler veya proteinler bileşik yaparak glikozidleri, fenol esterleri ve amidleri oluştururlar.

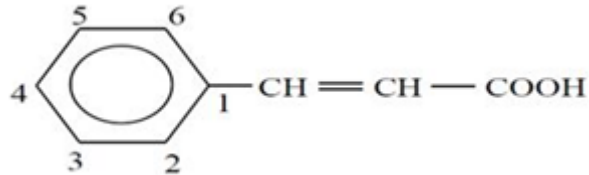
Fenolik asitlerin fenol halkasına bağlı hidroksil grupları çok aktif olup, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar. Meyvelerdeki fenolik asitlerin miktarları meyvelerdeki olgunluk durumuna bağlı olarak değişmektedir. Hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki alt grupta incelenirler.

Asit	R1	R2	R3	Asit	R1	R2	R3
<i>p</i> -Hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -Kumarik	H	OH	H
Pirokate şük	H	OH	OH	Kafeik	H	OH	OH
Vanilik	CH ₃ O	OH	H	Ferulik	CH ₃ O	OH	H
Siringik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinapik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik	OH	OH	OH				

Şekil 2.3. Fenolik asitlerin genel yapısı (a: Benzoik asit türevleri, b: Sinnamik asit türevleri) (43)

Hidroksisinnamik Asitler

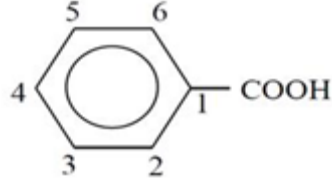
Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunurlar ve fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterirler. Ferulik asit, kafeik asit, o-kumarik asit ve p-kumarik asit bu grupta yer alan önemli fenolik asitlerdendir.



Şekil 2.4. Hidroksisinnamik asitler

Hidroksibenzoik Asitler

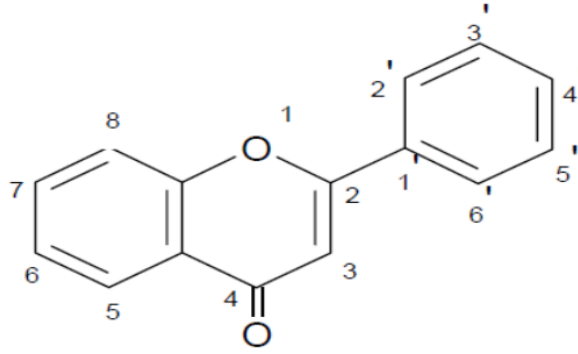
Hidroksibenzoik asitler ise bitkisel gıdaların yapısında genellikle eser düzeyde bulunur veya hiç bulunmayabilirler. Salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik ve vanilik asit bu grupta yer alan fenolik asitlerdir.



Şekil 2.5. Hidroksibenzoik asitler

2.5.1.2. Flavonoidler

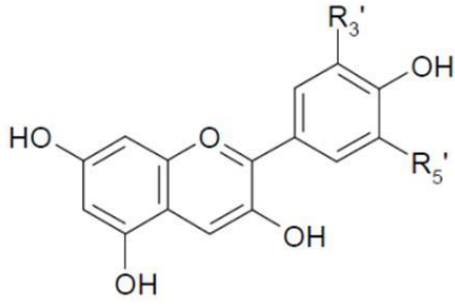
Fenolik bileşenlerin içerisinde yer alan en yaygın gruptur. Bugüne kadar yaklaşık 5000 tane fenolik madde tanımlanmış olup bunların 2000'den fazlası bu grupta yer almaktadır. Flavonoid'ler; üç karbonlu zincir ile bağlı iki benzen halkasını içeren C6–C3–C6 iskeletinde bileşiklerdir. Bu grupta yer alan polifenollerin bir kısmı bitkilerde renk verici işlevi görürken bir kısmı da acı ve buruk tat oluştururlar. Altı alt grupta incelenirler.



Şekil 2.6. Flavonoidlerin genel yapısı

Antosiyanidinler

Bu grupta yer alan polifenoller glikozid formunda bulunmaktadır. Suda çözünebilen bu bileşenler meyve ve sebzelerde pembe, kırmızı ve mor tondaki renkleri veren pigmentlerdir.

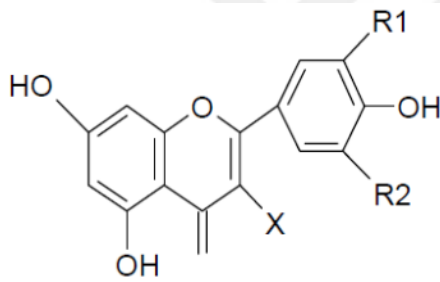


Antosiyanidinler	R ₃ '	R ₅ '
Pelargonidin (Pg)	H	H
Siyanidin (Cy)	OH	H
Peonidin (Pn)	OCH ₃	H
Delfinidin (Dp)	OH	OH
Petunidin (Pt)	OCH ₃	OH
Malvinidin (Mv)	OCH ₃	OCH ₃

Şekil 2.7. Antosiyanidinlerin genel yapısı

Flavonlar ve Flavonoller

Bu gruptaki bileşenlerde antosiyanidinler gibi glikozid formunda bulunurlar. Başlıcaları; kaempferol, kuersetin, mirisetin ve izoramnetin'dir.

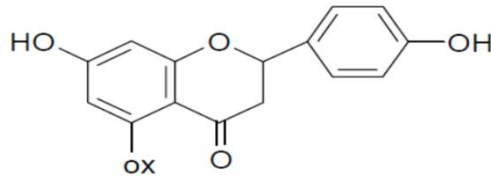


Flavonollar (X = OH)	R1	R2	Flavonlar (X = H)	R1	R2
Kaempferol	H	H	Apigenin	H	H
Kuersetin	OH	H	Luteolin	OH	H
Mirisetin	OH	OH	Krisoeriol	OCH ₃	H
isoramnetin	OCH ₃	H	Trisin	OCH ₃	OCH ₃

Şekil 2.8. Flavon ve flavonollerin genel yapısı

Flavanonlar

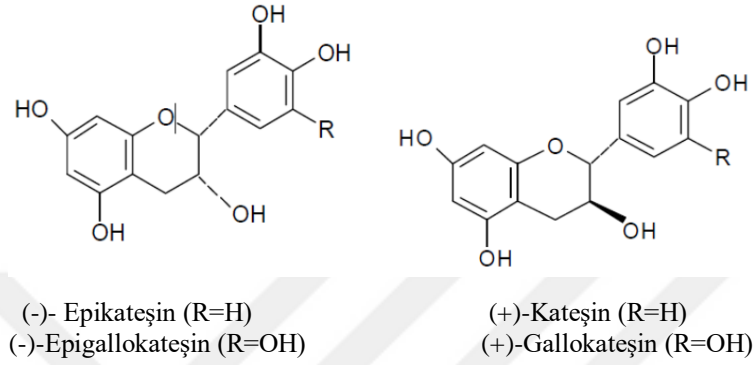
Doğada genellikle glikozid formda bulunan flavanonlar, turunçgillerde yaygın olarak bulunurlar. Naringin, hesperidin ve naringenin bu grupta yer alan fenolik bileşenlerdir.



Şekil 2.9. Flavanonların genel yapısı

Flavanoller

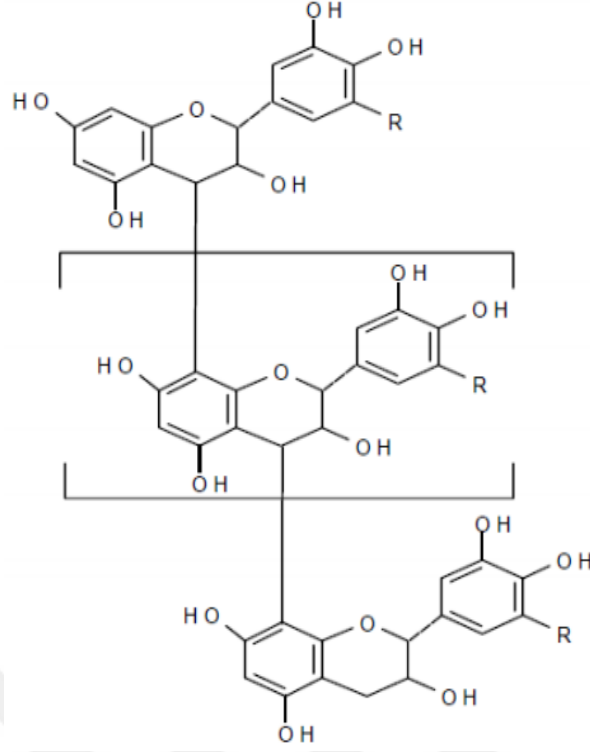
Kateşinler olarak da bilinen renksiz bileşiklerdir. Çoğu meyvede bulunan kateşinler, flavonoid biyosentezinde ara ürün olarak yer alır. Gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu oluştururlar. Flavanoller, hem kimyasal hem de enzimatik olarak havadaki oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girerler.



Şekil 2.10. Flavanollerin genel yapısı

Proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler, kateşinler veya löykoantosiyanidinlerden oluşan polimerik yapılardır. Birçok meyvenin kendine has tadının oluşmasında önemli rolleri vardır. Kısa zincirli molekülleri renksiz olduğu halde polimerizasyon dereceleri yükseldikçe renkleri sarıdan kahverengine dönüşmektedir.

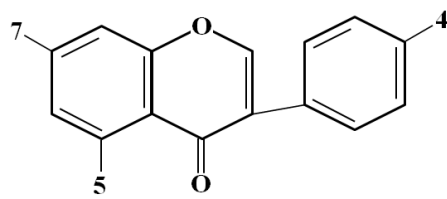


Prosiyanidin (R=H), Prodelfinidin (R=OH)

Şekil 2.11. Proantosiyandinlerin genel yapısı

İzoflavonoidler

Bazı meyve ve sebzelerde, soya fasulyesi başta olmak üzere çeşitli baklagillerde bulunan fenolik bileşenlerdir. İzoflavonoidlerin biyoaktif bileşikler olduğu ve kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesinde önemli rolleri olduğu belirtilmiştir.



Şekil 2.12. İzoflavonoidlerin genel yapısı

2.5.2. Polifenollerin Antioksidan Özellikleri ve İnsan Sağlığındaki Roller

Polifenoller, güçlü antioksidanlardır ve kimyasal yapılarına bağlı olarak aktivite gösterirler. Bitki polifenoller, indirgeme aracı, hidrojen atomu verici ve singlet oksijen söndürücü olarak işlev görürler. Bazı polifenoller ise metal iyonu kelatlama

özelliklerine sahip antioksidanlar olarak etkilidirler. Bir polifenolün antioksidan olarak değerlendirilmesi için iki temel özelliğe sahip olması gerekir:

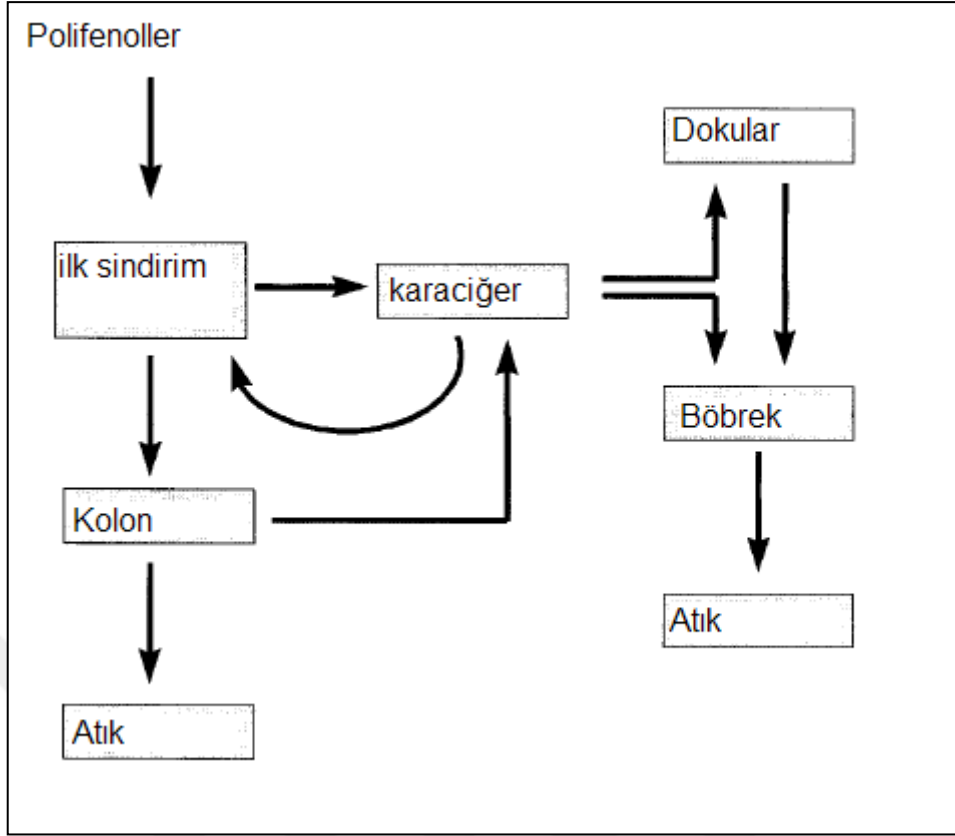
- 1) Okside olabilen substratlara oranla düşük derişimlerde bulduklarında, serbest radikal kaynaklı oksidasyonu geciktirmeli ya da önlemelidir.
- 2) Süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır (44).

Fenolik asitler; proantosiyanidinler; flavonoller, flavanoller, hidroksisinnamik asit, izoflavonlar, stilbenler, lignanlar, flavonler, flavanonler, antosiyaninler, kateşinler, tanenler, biflavanlar en iyi bilinen ve son zamanlarda yoğun bir şekilde çalışılan polifenollerdir. Fenolik maddeler arasında vücutta en hızlı absorbe olan bileşenler gallik asit ve izoflavonlardır, bu bileşenleri flavanon, kateşin ve quercetin glikozitleri izlemektedir. Fakat bu bileşenlerin absorpsiyon kinetikleri farklıdır. En az absorbe olan polifenoller ise, antosiyanidinler, proantosiyanidinler ve çay kateşinleridir. Fenolik bileşikler hem serbest radikal süpürme ve hem de metal kelatlama özelliklerine sahiptirler. Polifenollerin ayrıca, aktive enzimatik sistemler ve prokarsinojenlerini içeren enzimlerin aktivasyonu ve karsinojenlerin inaktivasyonu ile bazı tümörlerin gelişmesine öncülük eden bazı basamakları inhibe etme özellikleri de vardır (39, 45).

Kafeik asit ve ferulik asitler in vitro nitritle reaksiyona girer ve invivo nitrozamin oluşumunu inhibe eder. Rutin ve quercetin gibi polifenollerin biyolojik aktiviteleri açıklanmaya çalışılmıştır. Quercetin ve izorhamnetin ise LDL oksidasyonu indükleyen bakır inhibisyonu özelliğine sahiptir.

Kronik hastalıklar ve oksidatif stres; biyoaktif moleküller olarak bitkisel gıdalardaki flavonoidler ve diğer antioksidant polifenollerin belirlenmesi; oksidatif hasar ve belirteçleri gibi çalışmalar yoğunluktadır. Antioksidant bileşiklerin yoğunlukta olduğu gıdalar; sebzeler, meyveler ve son yıllarda özellikle de şarap numunelerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. İnsan besin zincirinde belli gıdaların düzenli olarak tüketilmeleri, fenolik antioksidanların alınması ve vücuda düzenli bir korunma mekanizmasının oluşması açısından çok önemlidir. Polifenollerin günlük olarak tüketilmesi gereken miktarı 1 g/gün olarak belirlenmiştir (46).

Bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda, ikincil metabolitler olan fenolik bileşikler, farmakolojik özelliklerinin yanında meyvede; koku, tat, çiçek ve meyvelerde renklenmeye etkileri gibi önemli etkileri vardır. Ayrıca bu metabolitler bitkileri fungal ve bakteriyel ajanlara ve abiyotik stres faktörlerine karşı da koruyabilirler (39).



Şekil 2.13. Tüketilen polifenollerin insan vücudundaki dolaşım sistemi

Meyve ve sebzeler; birçok sıvı içecekler (çay, kahve, meyve suyu ve bazı alkollü içecekler), yağlı tohumlar (zeytin, kanola, keten tohumu), tahıllar (mısır, pirinç, nohut, fasulye, buğday) gibi birçok gıda ve gıda maddeleri polifenollerini içerir. Çay en önemli polifenol kaynaklarından biridir. En önemli polifenoller; flavanoller (+) kateşin, (-) epikateşin ve epikateşin galat), flavonoller (quercetin, kaempferol ve bunların glikozitleri), flavonler (viteksin, izovinteksin) ve fenolik asitler (gallik asit, klorojenik asit). Bu bileşenler yeşil çay yapraklarının %30'unu oluştururken, siyah çay yapraklarının %9-10'unu oluşturmaktadır. Turunçgil meyveleri, yüksek oranda askorbik asit ve flavonoid içerikleri ile dikkat çekmektedirler. (47).

Üzümde (*Vitis vinifera* and *Vitis lubruscana*); özellikle de siyah renkli üzümelerde yüksek oranda flavonoid ve hidroksisinnamatlar bulunmaktadır. Taze üzüm ekstraktları LDL oksidasyonunu önlemektedir. Antioksidatif aktivite, toplam fenolik madde derişimi ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Taze üzümelerde ve üzüm sularında polifenolik maddeler glikozitler olarak bulunmaktadır. Ayrıca üzüm ekstraktlarının lesitin lipozomlarında hem hidroperoksit hem de heksanal oluşumunu önledikleri bildirilmiştir (48).

Elmalarda yoğunluklu olarak bulunan fenolikler, hidrosinamik asit ve türevleri, flavan-3-ol'ler (monomerik ve oligomerik), flavanoller, dihidrokalkonlar ve prosiyanidinlerdir. Klorogenik asit, toplamın büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Antosiyaninler kırmızı elma ve çeşitlerinin kabuklarının epidermal dokularında yoğun bir şekilde bulunur. Phloridzin ve phloretin elma meyvelerinde yoğun bir şekilde bulunan dihidrokalkonlardır. Elma meyvesinde tayin edilen birkaç flavanol glikozit ise rutin, hyperin, isoquercitrin, quercitrin(quercitrin-3- α -L-rhamnozid) dir. Ayrıca yoğun bir şekilde bulunan prosiyanidinleri ise monomerik birimler olarak (-)-epikateşin ve(+)-kateşin'den yapılmış oligomer ve polimerlerin bir karışımıdır (49, 39).

Çilek ise antioksidatif özellik gösteren fenolik asitler, kateşinler, flavanoller, antosiyaninler ve proantosiyanidinler bakımından oldukça zengindir. Gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik ve ellagik asitler bu meyvede tayin edilmiştir. Antosiyanidinlerin birçoğu izole edilmiş ve tayin edilmiştir. Bunlar 3-galaktozid ve 3-arabinozid siyanidinler, delfidin, peonidin, petunidin ve malvidin antosiyanidinleridir. Bunlara ek olarak kateşin, myricetin, quercetin ve kaempferol de tayin edilmiştir. Çilek yapraklarından elde edilen ham fenolik ekstraktların antioksidant aktiviteleri de incelenmiş ve sentetik bir antioksidant olan butylated hydroxyanisole (BHA)'nın karşılaştırma sonrasında oldukça önemli bir antioksidant etki gösterdiği gözlenmiştir (50).

Meyvede ve meyvenin kabuğunda bol miktarda fenolik asitler ki bunlar sinamik asitler (kaumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, klorogenik asit, neoklorogenik asit), benzoik asitler (p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit, gallik asit), flavonoidler olarak renksiz flavan-3-ol (kateşin, epikateşin), bunların polimerlerini ve bu bileşenlerin glikoz ve galaktik asitle bunların esterleri formunu, renkli flavanonları (yaygın olarak bulunanı quercetindir), kırmızı ve mavi antosiyaninleri içerir (51).

Nar meyvesinde sezona bağlı yapılan toplam fenolik madde ve bazı minerallerin analizi de yapılmış, bu bileşenlerin dönemsel olarak içeriklerinin değiştiği gözlenmiştir. Nar meyvesinde gallik asit, hidrolizlenebilir ve kondanse taninler, flavanol-glikozidler ve iz düzeydeki izoflavonoidler olarak toplam polifenol içeriği 448 mg/kg olarak bulunmuştur. Nar meyvesinde yapılan polifenol çalışmalarında, hidrolizlenebilir tanin ve antosiyaninler açısından zengin olduğu gözlemlenmiştir. Bunlardan bir kaçışöyledir; siyanidin 3-glikozit, delphinidin 3-glikozid, siyanidin 3,5-diglikozid, pelargonidin 3-glikozid nar suyunda tayin edilenleridir (52).

Narenciye meyvelerinde yapılan fenolik madde tayinlerinde fazla miktarda flavonoidler (flavononlar, flavonlar ve flavonoller), kaumarinler ve sinamik asitler bulunmaktadır. Fenolik asitler narenciye meyvelerinde genellikle esterleri, aminleri ve glikozidleri formunda bulunur. Naringin, naringenin 7-neohesperidozit ve narirutin, naringenin 7-rutinozit üzüm meyvesinde yoğun bir şekilde bulunan flavanon glikozitlerdir. Tatlı portakal meyvesinde narirutin, hesperidin, hesperidin 7-rutinozit ve ekşi portakal meyvesinde ise naringin, neohesperidin ve hesperidin 7-neohesperidozit; kan portakalında ise hesperidin, narirutin ve isosakuranetin 7- rutinozit bol miktarda bulunan flavanon glikozitlerdir (53).

2.6. Meyvelerden Polifenollerin Ekstraksiyonu

Bitki materyallerindeki polifenoller çeşitli çözücü ya da çözücü kombinasyonları kullanılarak ekstrakte edilmektedir. Bu bileşenlerin ekstraksiyonu, örneklerin toplanması, ön işlemler, örnek çeşitlerinin muhafazası, ekstrakte edilecek bileşenlerin kimyasal yapısı, girişim yapan türlerin varlığı, sıcaklık, basınç, süre ve kullanılan çözücü / çözücü karışımı gibi faktörlerden etkilenir.

Fenolik maddeler bitkilerin diğer bileşenleri olan protein ve karbonhidratlarla etkileşim içinde olabilir. Bu etkileşimler kompleks ve çözümlenemeyen reaksiyonlara yol açabilir. Bu yüzden tüm bitki polifenollerinin ekstraksiyonu için uygun bir ekstraksiyon şeması oluşturmak zordur. Polifenoller bitki dokularına homojen olarak dağılmamıştır. Bu nedenle bitkilerin numune olarak hazırlanıp analize hazır hale gelmeleri sırasında fenolik madde kaybı söz konusu olabilir (54, 55).

Örnek matrislerinden türlerin ayrıştırılmaları için en uygun işlem sıvı ekstraksiyonudur. Fenoliklerin bitki materyallerinden ekstraksiyonu için çeşitli çözücüler ve bunların çeşitli kombinasyonları veya bu çözücülerin su ile belli oranda karıştırılmasıyla oluşturulan çözeltiler kullanılmaktadır. Sıvı ekstraksiyonu sıvı örneklerle uygulanabildiği gibi, dondurarak veya hava ile kurutulmuş örneklerle de çeşitli çözücülerle uygulanabilir (39). Fenoliklerin bitki materyallerinden ekstraksiyonu için genellikle çözücü olarak metanol, etanol, su, propanol, aseton, etil asetat, dimetil formamit, bunların çeşitli kombinasyonları veya bu çözücülerin su ile belli oranda karıştırılmasıyla oluşturulan çözeltiler kullanılmaktadır (56).

Çözücülerin ardışık olarak örneklerle uygulanmasıyla artan polariteleri göz önüne alınarak yapılan ekstraksiyon işlemi de etkili olabilir. Bitki materyallerinden

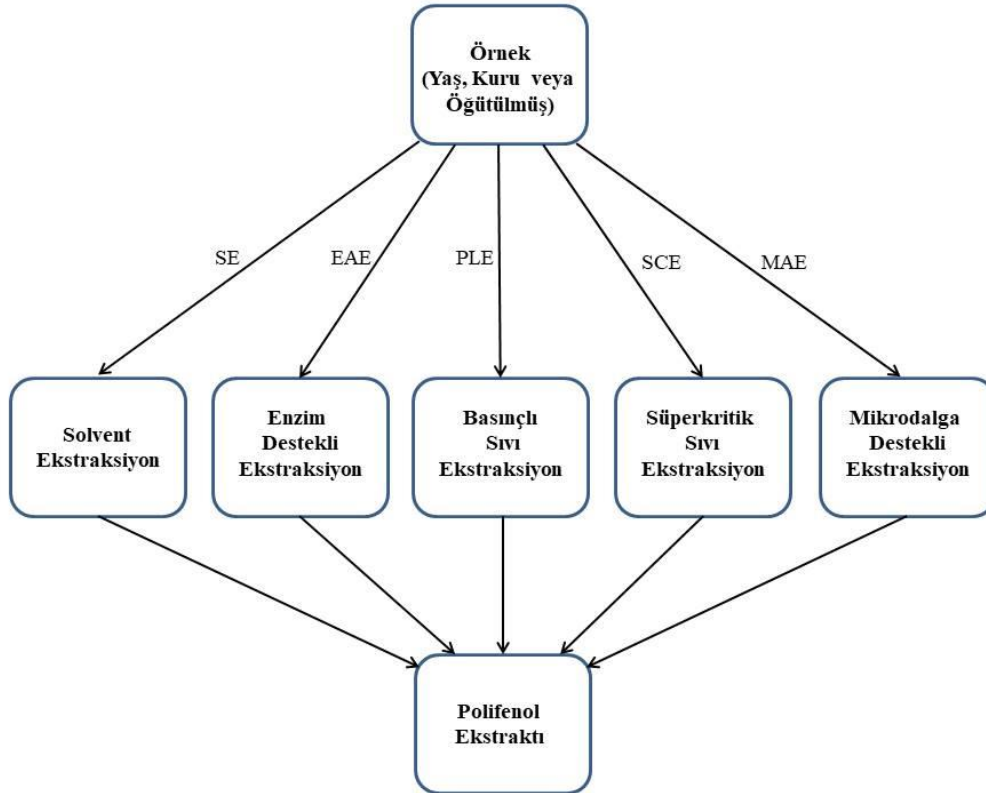
fenoliklerin ekstraksiyonu için, uygun çözen karışımları kullanılmalıdır. Bu işlemler sonrasında, klorofil, yağ, terpenler ve parafin yapılu bileşikler gibi istenmeyen fenolikler ve fenolik olmayan bileşiklerin uzaklaştırılmaları zorunludur. Doğal antioksidanların dezavantajlarından birisi de, özellikle ışık, yüksek sıcaklık ve kurutulmaya maruz kaldıklarında oksijene karşı düşük direnç göstermeleridir. Çoğu ekstraksiyon işlemlerinde ortama stabilizatör olarak kullanılan ve antioksidant madde olan; BHA, TBHQ (Tert-Butylhydroquinone) ve askorbik asit katılmaktadır (57, 58).

Fenolik maddelerin, ışık, O₂, pH ve sıcaklığın olumsuz etkilerine karşı hızlı ve güvenilir metotlarla ekstrakte edilmesi gerekir. Polifenollerin ekstraksiyonunda seçilen çözenler ve örnek miktarı arasındaki oran da önemlidir. Klasik çözücü ekstraksiyonunda, pahalı organik çözücülerin fazla miktarda kullanılması, ekstrakt içinde çözücü kalması, ekstraksiyon süresinin uzun olması ve bu süreçte maddenin ışık ve O₂ ile etkileşimi önlenemediğinden, otooksidasyon tepkimelerinin gözlenmesi nedeniyle alternatif bir yöntem gerekmektedir. Polifenoller meyvelerde genellikle glikozitleri formunda buldukları için kullanılan farklı çözücü ve karışımları yanında belli oranlarda asit eklenmesi de gerekir. Bunun amacı, glikozitleri ve esterleri şeklinde bulunan fenolik bileşikleri serbest hale geçirerek, bunların analizine olanak sağlamasıdır ki bu işleme hidroliz denir (58, 50).

Fenoliklerin analizinde uygulanan hidroliz basamağı ile kromatografik ölçümlerde interferans etkisi minimize edilmektedir. Fenolik maddelerin HPLC ile analizlerinde; en önemli problemlerden biri çok fazla miktardaki şeker ve pektin bileşenlerinin bu fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu zorlaştırmasıdır. Özellikle de kükürtlü bileşiklerde SO₂ ve şekerin indirgeyici özelliğinden dolayı, analiz aşamasında oldukça önemli girişimler oluşmaktadır. Hidroliz aşamasının amacı glikozitleri ve esterleri şeklinde bulunan fenolik bileşikleri, serbest hale geçirerek ölçümünü sağlamaktır (59-61).

Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için solvent ekstraksiyon (SE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), ultrasonik ve katı-faz ekstraksiyon gibi metotlar kullanılmaktadır. Ayrıca enzim destekli ekstraksiyon (EAE), hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE) olarak da bilinen basınçlı sıvı ekstraksiyon (PLE) ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SCE) gibi spesifik metotlara da başvurulmaktadır. Metot seçimi bitki materyalinin yapısına, analizin kapsamına, içerikte yer alan analitlerin türüne, çalışmanın veya uygulamanın amacına bağlı olarak değişir. Söz konusu metotların avantaj ve dezavantajlarının olduğu muhakkaktır. Ekstraksiyon koşullarının

optimizasyonu için kombine metot kullanımı ekstraksiyon verimini arttırabilmektedir. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonuna yönelik optimizasyon çalışmaları, daha yüksek ekstraksiyon verimini hedeflediği gibi yüksek doğruluğu da hedeflemektedir. Uygun ekstraksiyon metodu seçimi mümkün olduğu kadar, örneğin ışık, yüksek sıcaklık ve hava ile temasını önleyerek numunedeki fenolik bileşenlerin minimum düzeyde bozulmasına odaklanmalıdır (62, 63).



Şekil 2.14. Polifenol ekstraksiyon metotları (64)

2.7. Polifenollerin Tayin Yöntemleri

Polifenollerin tayini (ayırma, tanımlama, miktar ölçümü) amacıyla birçok metot geliştirilmiştir. Bu metotlar polifenollerin kimyasal yapısı, kullanılan ekstraksiyon metodu, standartların seçimi, girişim yapan türler, örneğin muhafaza süresi ve muhafaza koşulları gibi parametrelere dayanır (64).

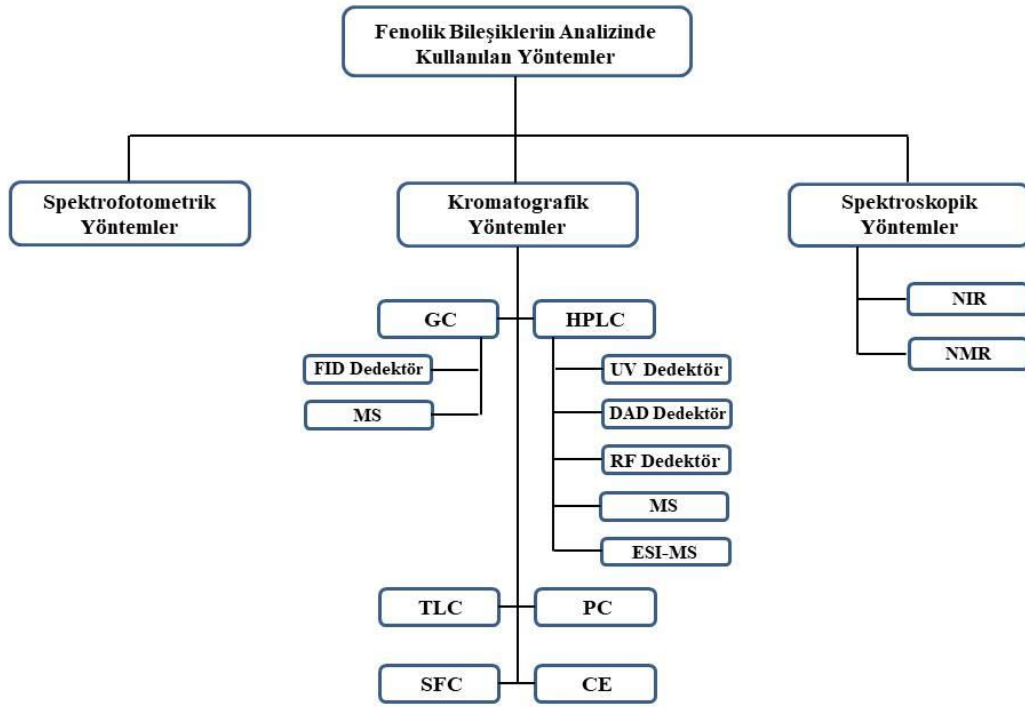
Yaygın olarak kullanılan analiz metotları iki ana gruba ayrılır. İlk grup, antioksidant ve substratın serbest radikalleri kararlı hale getirmek için yarıştığı hidrojen atomu transfer reaksiyonuna ve okside edici tür indirgendiğinde renk değişiminin gözlemlendiği elektron transfer reaksiyonuna dayalı analizleri içermektedir (63).

Spektofotometrik yöntemlerin kullanıldığı ilk grupta toplam fenolik, toplam flavonoid ve toplam antosiyanin içeriği gibi analizler yapılmaktadır. Toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu metodu yaygın olarak kullanılmaktadır. Folin-Ciocalteu reaktifinin indirgenmesiyle gerçekleşen renk değişiminin 765 nm'de spektofotometrik olarak ölçülmesine dayanır (63, 2). Diğer bir spektofotometrik yöntem ise Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesine ve hekzasiyanoferrat (II) şelat oluşumunu takiben Fe^{+2} 'nin tayinine dayanan Prussia Blue metodudur (65). Şarap ve çay örneklerinde toplam fenolik içeriğin tayini için peroksidaz katalizli enzimatik yöntem olarak bilinen spektofotometrik-enzimatik bir metot geliştirilmiştir. Bu yöntem yüksek saflıkta enzim gerektirir ve maliyeti yüksektir (64). Tanen ve proantosiyanidinlerin tayininde kateşinin standart olarak kullanıldığı vanilin metodu ise diğer bir spektofotometrik yöntemdir (62).

Spektofotometrik ölçümlere dayalı bu yöntemler basit ve hızlıdır. Fakat bu yöntemlerle fenolik bileşenlerin bireysel tayini mümkün değildir.

Polifenollerin tayinine yönelik ikinci grupta yer alan yöntemler ise yakın infrared bölgede farklı dalga boylarındaki ışığın absorpsiyonu ile örnek kompozisyonu arasındaki ilişkiye dayanır. Bu grupta spektroskopi ve kromatografi temelli yöntemler kullanılmaktadır. Yakın infrared (NIR) ve nükleer magnetik rezonans (NMR) teknikleri, spektroskopik yöntemlere örnek verilebilir. NMR, farklı bitki materyallerinden kompleks fenolik bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında kullanılmaktadır. Bileşiklerin NMR spektrumu karmaşıktır ve referans bir bileşene ihtiyaç duyulur. Bu teknik, çok miktarda bileşen gerektirir. NIR tekniği tarım, petrokimya, tekstil, gıda ve eczacılık alanlarında kullanılmaktadır. Örnek analizinin kalibrasyonu ve pahalı ekipman gerektirmesi bu tekniğin negatif yanlarıdır (63, 64).

Polifenollerin tayininde farklı kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC), gaz kromatografisi (GC), kağıt kromatografisi (PC), süperkritik akışkan kromatografisi (SFC) ve kapiler elektroforez (CE) teknikleridir (66). HPLC ve GC teknikleri çeşitli detektörlerle kombine edilmektedir. HPLC tekniğinde UV, diyot serili (DAD) ve floresans (RF) dedektörler ile kütle spektrometresi (MS) kullanılmaktadır. GC tekniğinde de kütle spektrometresinin yanı sıra alev iyonizasyon dedektörü (FID) kullanılmaktadır. Ayrıca HPLC-ESI-MS (elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi) tekniğinde polifenollerin analizi yapılmaktadır (67-69).



Şekil 2.15. Polifenollerin tayininde kullanılan yöntemler

2.8. Sitotoksik Aktivite

2.8.1. Kanser

Sağlıklı hücreler bölünme yetenekleriyle yenilenir, ölen hücrelerin yerini doldurur ve doku hasarlarını onarır. Bu bölünme ve çoğalma DNA aracılığıyla kontrol edilir ve belli bir düzeni vardır. Fakat DNA'da oluşan birtakım hasarlar sonucu bazı hücreler kontrolsüz bölünür ve çoğalır. Bu şekilde kontrolsüzce bölünüp çoğalan hücreler **kanser hücreleri** olarak adlandırılmaktadır. Bu hücreler bir araya gelerek tümörleri oluşturur. Vücudumuzun çeşitli doku ve organlarında meydana gelebilen tümörler iyi huylu ve kötü huylu olarak ikiye ayrılır. Kötü huylu tümörler büyüdükçe normal dokulara zarar verirler ve kanser olarak adlandırdığımız hastalıklar ortaya çıkar. Kimi zaman kanser hücreleri, oluştukları dokudan kan ve lenf dolaşımı yoluyla başka dokulara ulaşıp hastalığın vücudun başka bölümlerine de taşınmasına neden olur. Bu duruma metastaz adı verilir (70).

Normal hücreler bir program dahilinde kontrollü bir şekilde bölünür, büyür, farklılaşır ve işlevleri bitince yine kontrollü bir şekilde ölür. Bu şekilde gerçekleşen programlı hücre ölümüne apoptozis adı verilir. Kanser hücrelerinde bu mekanizma

devre dışı kaldığından kontrolsüz bir çoğalma süreciyle normal olmayan bir doku kitlesi oluşur. Tümör olarak adlandırılan bu kitle çevredeki dokulara baskı yaparak diğer sorunlara da yol açmaktadır. Kanserli hücrelerde büyüme, büyüme hızı, görünüş ve bu hücrelerin etrafındaki kılcal damarların büyümesi, normal hücrelerinkinden farklıdır (71).

Kanser, günümüzde ciddi bir sağlık problemidir ve ölüm nedeni olarak kardiyovasküler hastalıklarından (% 38.44) sonra ikinci sırada (% 19.74) yer almaktadır (72). 2015 yılı verilerine göre erkeklerde en sık görülen kanser türleri akciğer (% 21.0), prostat (% 12.9), kolorektal (% 9.3), mesane (% 8.1) ve mide (% 5.8) kanserleridir. Kadınlarda en sık görülen kanser türleri ise meme (% 24.7), tiroid (% 12.1), kolorektal (% 8.3), uterus korpusu (% 5.5) ve akciğer (% 5.1) kanserleridir (73). Bu hastalık teşhis, önleme çabaları ve tedavideki ilerlemelere rağmen dünya çapında milyonlarca insanı etkileyerek, hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve ölümlere neden olmaktadır. Yapılan araştırmalara göre kanser hastalığının görülme sıklığı çevre (kirlilik, kimyasal maddeler, X ve UV ışınları, virüsler), yaşama biçimi (sigara ve alkol alışkanlığı) ve beslenme şekli (antioksidan içerikli besinler, vitaminler, lifli veya yağlı yiyecekler ile beslenme ya da beslenememe durumu) gibi faktörlerden etkilenmektedir (74).

Genel olarak kanser hastalıklarının tedavisinde cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi teknikleri kullanılmaktadır. Bu tekniklere ilave olarak bitkisel kökenli preparatları içeren alternatif ve tamamlayıcı tedavi yöntemlerinin çeşitli versiyonları da kullanılmaktadır. Kemoterapide kullanılan sentetik ilaçların ciddi yan etkileri ve kanserli hücrelerdeki sınırlı etkileri bitkisel kökenli bileşiklere ilgiyi arttırmış ve bu alandaki araştırmaların çoğalmasına yol açmıştır (75).

2.8.2. Sitotoksik Aktivite Ölçüm Yöntemleri

Sitotoksik aktivite çalışmaları, bitki ekstraktları ya da bitkilerden elde edilen biyoaktif bileşikler gibi preparatların potansiyel toksisitesinin belirlenmesinde önemli bir aşamadır. Farmasötik ürünlerin başarılı bir şekilde geliştirilmesi onların nontoksik veya minimum düzeyde toksik olmasıyla ilişkilidir bu yönüyle hücresel toksisite çalışmaları çok önemli bir rol oynamaktadır. Hücre sitotoksitesinin ölçülmesi, antikanser ilaçların geliştirilmesi sürecinde vazgeçilmez bir aşamadır. Kanser hücrelerinin sitotoksisite seviyelerinin belirlenmesiyle kullanılacak olan antikanser ilaçlar, hedef hücrelerin genetik materyalini bozmak veya hücrelerin hayatta kalmak

için ihtiyaç duyduğu besinleri bloke ederek kanser hücrelerin çoğalmasını ve proliferasyonunu engelleyebilmektedir. Kimyasal bileşenlerin ya da doğal kaynaklı preparatların sitotoksitesi hücre ölümü, canlılık, hücre yapısı, morfoloji, enerji metabolizması ve hücre çoğalması gibi parametrelerin ölçülmesi ile belirlenebilmektedir. Bu parametrelerin ölçülmesi amacıyla çeşitli yöntemler mevcuttur (76, 77).

Sitotoksik aktiviteyi belirlemede genellikle kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik yöntemler kullanılmaktadır. Kolorimetrik yöntemlerde, 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT), 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (WST) gibi tetrazolyum tuzları kullanılarak renk değişikliği ya da kristal viyole, nötral kırmızısı gibi boya maddeleri kullanılarak hücrelerin spesifik boyanması esasına dayalı ölçüm yapılmaktadır. Lüminesans esaslı yöntemler, floresans ve biyolüminesans olarak ikiye ayrılır. Floresans yöntemlerde, floresans özellikteki maddeler kullanılırken, biyolüminesans yöntemlerde ise lusiferaz denilen özel enzimler ve bunların substratlarının kullanımı ile canlı/ölü hücre tespiti yapılmaktadır. Hücre hasarını ya da ölümünü takiben sızan enzimler de ölü hücre sayısının belirteci olarak ele alınmıştır. Bu enzimler içerisinde stabilitesi ile öne çıkan laktat dehidrogenaz (LDH), hücre ölümü belirteci olarak canlılık testleri arasındaki yerini almıştır (78, 79).

2.8.2.1. MTT Testi

Metabolik aktivite ölçümüne dayanan ve genellikle hücre canlılığı ölçümünde kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Prolifere olan hücrelerin tetrazolyum ile formazan ürünleri oluşturması esasına dayanır ve meydana gelen renk değişimi absorbans ölçümü ile değerlendirilir. Hücre canlılığı kaybolduğunda mitokondriyal fonksiyon azalır ve sonuç olarak tetrazolyum tuzunu formazana çevirebilme yeteneği azalır. Birçok hücrede hücre sayısı ile orantılı bir şekilde formazan miktarı değişir ve bu miktar değişimiyle hücre canlılığı tespit edilir (80).

2.9. Kaynak Özetleri

Tural ve Koca'nın (81) yaptıkları çalışmada Türkiye'de kendiliğinden yetişen kızılılık genotiplerinin antioksidan ve fizikokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Kızılılık genotiplerinde meyve ağırlığı 0.39-1.03 g, meyvenin boyu 14.24-22.20 mm, meyvenin genişliği 9.59-13.21 mm, meyve eti/çekirdek oranı 1.34-6.72 olarak belirlenmiştir. Meyve rengi için L değeri 10.82-19.69, a değeri 6.25-15.59, b değeri 3.46-6.64, meyvenin kuru madde miktarı % 15.88-28.19, suda çözünebilir kuru madde miktarı % 12.50-21.00, pH değeri 3.11-3.53, titrasyon asitliği % 1.10-2.53, toplam şeker miktarı 76.80-154.00 g/kg ve indirgen şeker miktarı 52.80-120.00 g/kg değerleri arasında bulunmuştur. Kızılılık meyvesinin askorbik asit içeriği 0.166-0.88 mg/g, toplam fenolik madde miktarı 2.81-5.79 mg/g, toplam antosiyanin miktarı 1.12-2.92 mg/g, FRAP metoduna göre antioksidan kapasitesi 16.21-94.43 mmol/g, IC₅₀ değeri 0.29-0.69 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Meyvenin HPLC ile belirlenen antosiyanin profilinde ise siyanidin-3-glikozit % 14.59-45.88, siyanidin-3-rutinozit % 0.45-12.28 ve pelargonidin-3-glikozit % 46.47-73.55 olarak ölçülmüştür. Yapılan değerlendirmede kızılılık meyvesinin yüksek düzeyde antioksidan etkiye sahip olduğu ve tüketiminin insan sağlığına yararlı etkilerinin olacağı belirtilmiştir.

Didin ve ark. (12), Malatya'da yetiştirilen bazı kızılılık meyveleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, kızılılığın suda çözünür kuru madde miktarı % 14.0-16.5, pH değeri 2.89-3.14, toplam titrasyon asitliği %1.24- 1.72, toplam şeker miktarı 8.85-13.92 g/100 g olarak tespit etmişlerdir.

Pırlak'ın (82) Erzurum'da yaptığı kızılılık seleksiyonu çalışmasında, suda çözünür kuru madde miktarı %11.80-23.05, toplam şeker miktarı %8.28-13.88 g, toplam asit miktarı malik asit cinsinden 0.637-2.927 g/100 mL olarak tespit edilmiştir.

Kökosmanlı ve Keleş (83) farklı kızılılık tiplerinde yaptıkları çalışmalarda suda çözünür kuru madde miktarını %10.0-12.0, toplam şeker miktarını 10.85- 11.43 g/100 g, titrasyon asitliği miktarını %2.06-2.94 ve pH değerini ise 2.66-2.92 olarak tespit etmişlerdir.

Farklı kızılılık genotiplerinde meyvelerin antioksidan kapasitesini ve fitokimyasal özelliklerini inceledikleri bir çalışmada Folin&Ciocalteu yöntemi ile TFMM, DPPH testi ile antioksidan kapasite ve pH diferansiyel yöntemi ile toplam antosiyanin

içerikleri belirlenmiştir. Genotiplere ait meyvelerin TFMM değerlerinin 1097.19-2695.75 mg GAE/100 g yaş ağırlık, antioksidan kapasite değerlerinin % 38.98-82.37 ve toplam antosiyanin değerlerinin ise 106.89-442.11 mg /100 g yaş ağırlık arasında değiştiği tesbit edilmiştir. Yapılan değerlendirmede kızılıcığın iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği ve bu nedenle gıda ve nutrasötik katkısı olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (84).

Gülçin ve ark. (85), kızılıcığın su ile ekstraksiyonu sonucu elde ettikleri ekstraktın antioksidan özelliklerini incelemiş ve sonuçların önemli düzeyde hidrojen peroksit, DPPH ve süperoksit radikal süpürme, metal indirgeme ve şelatlama aktivitesi gösterdiğini bildirmiştir.

Ersoy ve ark. (86), farklı *Cornus* türlerine ait meyvelerin metanolik ekstraktlarının iyi düzeyde hidrojen peroksit, DPPH radikal süpürme ve metal iyonu şelatlama potansiyeli gösterdiklerini, Popovic ve ark. (87) 10 kızılıcık genotipine ait meyvelerin etanolik ekstraktlarının permanganat indirgeme aktivitesinin askorbik asit içeriğiyle iyi bir korelasyon gösterdiğini ve antioksidan aktivite yönüyle genotipler arasında varyasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Tanaka ve ark. (88), *Cornus capitata* türünün köklerinde, Sultana ve Lee (89) ise *Cornus kousa* türünün gövdesinde yaptıkları çalışmada bu materyallerin antioksidan aktivitelerini değerlendirdiler. DPPH ve süperoksit radikal süpürme testlerinin sonuçlarına göre kızılıcığın bu türlerine ait kök ve gövde ekstraktlarının önemli düzeyde aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir.

Yılmaz ve ark. (90) tarafından yapılan bir çalışmada ise suda çözünür kuru madde miktarı %12.53-21.17, titrasyon asitliği %1.25-3.89, indirgen şeker miktarı %2.81-7.86, olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada kızılıcığın toplam antosiyanin miktarı 148- 237 mg/100 g yaş ağırlık, toplam fenolik madde miktarı 26.59-74.83 mg GAE/g KM, antioksidan aktivitesini 73-114 µmol AsA/g KM (FRAP yöntemiyle) olarak tespit edilmiştir.

Sengul et al., (91) Çoruh vadisinde yetişen kızılıcık genotiplerinde yaptıkları bir çalışmada, meyvenin kimyasal özellikleri, antioksidan aktivitesi ve antosiyanin içeriklerini değerlendirmişlerdir. Genotiplerin antioksidan aktiviteleri % 84.68 ile %

94.17 arasında değişirken toplam antosiyanin değerleri ise 239 ile 342 mg/100 mL arasında değiştii belirlenmiştir.

Doğal koşullarda yetiştirilen farklı meyve türlerinde (böğürtlen, kızılıık ve akal eriği) yapılan bir çalışmada formik asit:metanol:su (0.1:70:29.9) özgen karışımında örnekler ekstrakte edilerek TFMM, antioksidan aktivite, fenolik bileşen tayinleri yapılmış ve ekstraktların antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. Meyve türlerinden kızılıığın en yüksek TFMM değerine sahip olduğu ve TFMM değerinin 8625.89 mg GAE/kg olduğu belirlenmiştir. DPPH testi kullanılarak kızılıık meyvesinin antioksidan aktivite ölçümü yapılmış ve EC₅₀ değeri 22.19 mL/g olarak ölçülmüştür. Aynı meyvede fenolik bileşenlerden gallik asit 443.53, t-kaftarik asit 4.97, kafeik asit 12.51, sirginik asit 11.98, p-kumarik asit 48.78, prosiyanidin B2 1.61, kateşin 3.95, epikateşin 4.02, kuercetin-3-glikozid 12.02, rutin 13.86 ve kuersetin 0.65 mg/kg yaş ağrılık olarak ölçülmüştür. Antimikrobiyal etki analizleri sonucunda, ekstraktların oldukça yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde kızılıık meyvesinin, gıda ve tıbbi preparat olarak kullanılabilieceği belirtilmiştir (92).

İtalya’da yetişen “Chieri” adlı kızılıık genotipinde yürütölen bir çalışmada meyve ekstraktının TFMM ve toplam antosiyanin içeriği spektrofotometrik olarak ölçölmüş ve demir indirgeme gücü testi ile antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Ayrıca HPLC-DAD sisteminde bireysel fenolik bileşenlerin tayini yapılmıştır. Meyve ekstraktının TFMM değeri 196.68 mg GAE/100 g yaş ağrılık, toplam antosiyanin içeriği 134.71 mg/100 g yaş ağrılık (siyanidin-3-O-glikozid eşdeğeri olarak) ve antioksidan aktivitesi ise 20.41 mmol Fe⁺²/kg olarak tesbit edilmiştir. Tayin edilen ve miktarı tesbit edilen fenolik bileşenler ise şu şekildedir. Gallik asit 0.05, kateşin 14.38, epikateşin 21.74, ellagik asit 23.56, hiperozid 1.00, kuersitrin 0.77, rutin 0.29, kafeik asit 0.66, klorogenik asit 0.66, kumarik asit 3.86 mg/100 g yaş ağrılık. Bu çalışmada sonuç olarak az bilinen bu meyve türünün yüksek kalitede besin ve ilaç bileşenini hazırlamada kullanılacak potansiyelde olduğu vurgulanmıştır (93).

Moldovan ve ark. (94), yerel bir marketten temin ettikleri (Cluj-Napoca, Romanya) kızılıık meyvesini aseton ile ekstraksiyona tabi tutmuş ve elde ettikleri ekstraktta klorogenik asit (32.76 mg/100 g yaş ağrılık), kateşin (37.06 mg/100 g yaş ağrılık), epikateşin (66.89 mg/100 g yaş ağrılık), kafeik asit (27.12 mg/100 g yaş ağrılık) ve ellagik asit (187.91 mg/100 g yaş ağrılık) fenolik bileşenlerini tesbit

etmişlerdir. Aynı çalışmada ekstraktların toplam fenolik madde miktarı 489.94 mg/100 g yaş ağırlık (gallik asit eşdeğeri), toplam antosiyanin içeriği 92.23 mg/100 g yaş ağırlık (siyanidin-3-glikozid eşdeğeri) ve antioksidan aktivite değeri 677.88 µmol Trolox eşdeğeri/100 g yaş ağırlık (ABTS yöntemiyle) ölçülmüştür.

Pantelidis ve ark. (95) yaptığı bir çalışmada kızılığın antosiyanin miktarını 4.2-223.0 mg/100 g yaş ağırlık, fenolik madde miktarını 132-1592 mg GAE/100 g KM (KM), FRAP yöntemi ile belirledikleri antioksidan aktivitesini 5.4-83.9 µmol AsA/g KM olarak tespit etmişlerdir.

Seeram ve arkadaşları (96), kızılık meyvesinden izole ettikleri 3 farklı antosiyanin (3-O-beta-galactopyranoside, cyanidin 3-O-beta-galactopyranoside, pelargonidin 3-O-beta-galactopyranoside) ile ticari sentetik antioksidanların (TBHQ, BHA, BHT, tokoferol) antioksidan etkilerini değerlendirmişlerdir. Sentetik olanlarda antioksidan etki TBHQ için %83.2, BHT için %79.7, BHA için %82.1 ve tokoferol için %10.2 olarak tespit edilirken; kızılıktan izole edilen antosiyaninlerin antioksidan aktivitelerinin sırasıyla %70.2; %60.1 ve %40.3 olduğu belirlenmiştir.

Antolak ve ark. (97), Polonya'da bir meyve bahçesinden temin ettikleri kızılık meyvesinin suyunda ferrulik asit, gallik asit, kuercetin ve loganik asit bileşenlerini belirlemişlerdir.

Milenkovic-Andjelkovic ve ark. (98), *Cornus mas* türünde kurutulmuş meyve ve yaprak örneklerini metanol:aseton:su:formik asit (30:42:27.5:0.5) çözgen karışımında ekstraksiyon işlemine tabi tutmuş ve ekstraktların polifenol içeriğini HPLC-DAD sisteminde tayin etmiştir. Meyve ekstraktlarında gallik asit (0.62 mg/g KM), ellagik asit (2.11 mg/g KM), klorojenik asit (0.85 mg/g KM), quercetin-3-glukozid (0.20 mg/g KM), quercetin-3-galaktozid (0.57 mg/g KM), rutin (0.81 mg/g KM), kaempferol-3-glukozid (1.11 mg/g KM), kateşin (3.91 mg/g KM), epikateşin (2.11 mg/g KM), prosiyanidin B2 (1.55 mg/g KM), siyanidin-3-galaktozid (3.27 mg/g KM), pelargonidin-3-glukozid (10.23 mg/g KM) ve delfinidin-3-galaktozid (0.53 mg/g KM) fenolik bileşenleri tespit edilmiştir. Yaprak ekstraktlarında ise gallik asit (0.37 mg/g KM), ellagik asit (2.62 mg/g KM), klorojenik asit (0.33 mg/g KM), quercetin-3-glukozid (9.37 mg/g KM), rutin (6.09 mg/g KM), luteolin-3-glukozid (0.15 mg/g KM),

kaempferol-3-glukozid (4.37 mg/g KM), kateşin (2.28 mg/g KM) ve epikateşin (4.15 mg/g KM) fenolik bileşenleri tespit edilmiştir.

Salejda ve ark. (99), kızılıık meyve suyunun gıda bileşeni olarak kullanımının gıda kalitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada meyve suyundaki polifenollerini HPLC-DAD sisteminde tayin etmişlerdir. Kızılıık meyve suyunda tayin edilen ve miktarları tesbit edilen polifenoller: Siyanidin-3-O-galaktozid 1.84 mg/100 mL, siyanidin 3-O-robinobiozid 0.65 mg/100 mL, pelargonidin 3-O-galaktozid 5.44 mg/100 mL, pelargonidin 3-O-robinobiozid 0.9 mg/100 mL, ellagik asit 2.83 mg/100 mL, quercetin 3-glukoronid 2.38 mg/100 mL, kaempferol galaktozid 1.49 mg/100 mL ve kaempferol glukozid 0.29 mg/100 mL. Araştırma sonucunda kızılıık meyve suyunun gıdanın raf ömrünü uzatma olanağı sağladığı ve tüketicilere kızılıığın aktif bileşenleriyle zenginleştirilmiş yeni ürünler sunacağı rapor edilmiştir.

Karaaslan (23), bazı meyve türlerinde yaptığı çalışmada, kızılıık meyvesinde % 0.1 HCl içeren asetonitril çözen karışımını kullanarak siyanidin-3-o-glikozit (8.3-18 mg/kg) ve pelargonidin-3-o-glikozit (97-233 mg/kg) fenolik bileşenlerini tespit etmiştir.

Romanya'da doğal koşullarda yetişen 6 kızılıık genotipinde yapılan bir çalışmada örneklerin TFMM, antioksidan kapasite ve fenolik bileşenleri araştırılmıştır. Genotiplerin TFMM değerlerinin 163.69-359.28 mg GAE/100 g yaş ağırlık ve antioksidan kapasite (DPPH testi) değerlerinin ise 1.24-2.71 mmol Trolox/100 g yaş ağırlık arasında değiştiği görülmüştür. Fenolik bileşenlerin ortalama değerleri şu şekilde tayin edilmiştir: Gallik asit 14.49 mg/100 g yaş ağırlık, kumarik asit 14.49 mg/100 g yaş ağırlık, ferulik asit 1.25 mg/100 g yaş ağırlık, sinapik asit 0.19 mg/100 g yaş ağırlık, rutin 3.07 mg/100 g yaş ağırlık, ellagik asit 5.71 mg/100 g yaş ağırlık ve myricetin 26.54 mg/100 g yaş ağırlık (100).

Cornus türlerinde biyoaktif bileşenlerin belirlenmesini kapsayan çalışmalarda Le ve ark. (101) *Cornus controversa* türünde rutin, hiperozid, quersitrin, izoquersitrin ve quersetin; Simestad ve Andersen (102), *Cornus florida* ve *suecica* türlerinde siyanidin-3-O- β -glukopiranozid; Jayaprakasam ve ark. (25) *Cornus mas* türünde delfinidin-3-O- β -galaktopiranozid, siyanidin-3-O- β -galaktopiranozid ve pelargonidin-3-O- β -glukopiranozid; Vareed ve ark. (103) *Cornus controversa* türünde delfinidin-3-O- β -glukopiranozid, *alternifolia* türünde delfinidin-3-O- β -rutinozid, *mas* türünde delfinidin-

3-O- β -galaktopiranozid ve pelargonidin-3-O- β -glukopiranozid ve *kousa* türünde siyanidin-3-O- β -galaktopiranozid; Sultana ve Lee (90) *Cornus kousa* türünde kateşin, epikateşin, 2-hidroksinaringenin ve 2-hidroksinaringenin-7-O- β -glukoizid; Pawlowska ve ark. (104) *Cornus controversa* türünde quersitrin, *mas* türünde kaempferol-3-O- β -galaktozid, izoquersitrin, hiperozid ve rutin; Ma ve ark. (105) *Cornus momum* türünde quersetin; Lin ve ark. (106) *Cornus officinalis* türünde gallik asit, kafeik asit, kaftarik asit, quersetin-3-O- β -glukoronit ve epikateşin-3-O-gallat; Xie ve ark. (107) *Cornus officinalis* türünde kaempferol, 4-O-metil-kaempferol, quersetin, izoquersitrin ve hiperozid fenolik bileşenlerini tespit etmişlerdir.

Lietava ve ark., (108) kızılılık meyvesinin damar sertliği üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kızılılığın damar sertliğini etkileyen fenolik bileşenler içerdiğini belirtmişlerdir. Deneysel çalışmalarla yüksek antioksidan potansiyeli ortaya çıkarılan bu meyvenin, iltihap oluşumunu azalttığı vurgulanmaktadır. Kızılılık meyvesinin bileşiminde bulunan polifenol, tanen, organik asit ve yağ asitleri gibi bileşiklerin, damar sertliğine sebep olan riskleri önlemede oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Celep ve ark. (109), kızılılık yapraklarının metanol ekstralarında yaptıkları çalışmada, CCl₄ uygulanan ratlarda bu ekstrenin antioksidant enzimlerinin aktivitesini yenilediği, lipid peroksidasyon seviyesini düşürdüğü, kan ve karaciğer homojenatlarında toplam antioksidan kapasiteyi arttırdığını belirtmektedirler. DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlendiği başka bir çalışmada kızılılık meyvesinden elde edilen ekstraktın, referans bileşen Bütil hidroksi toluenden (BHT) 3 kat daha fazla aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada, meyve ekstraktının referans bileşen gallik asitten yaklaşık 60 kat daha fazla süperoksit radikal süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Moldovan ve ark. (94), kızılılık meyvesini aseton ile ekstraksiyona tabi tutarak elde ettikleri ekstrenin anti-inflamatuar etkisini in vivo koşullarda incelemişlerdir. Bu etki, inflamasyon indüklemesinden sonra Wistar ratlarının yumuşak pençe dokularındaki sitokin düzeylerinde analizlenerek değerlendirilmiştir. Yapılan histopatolojik incelemede, düşük doz kızılılık ekstresinin ilk akut inflamatuvar reaksiyonunu hafiflettiğini, yüksek dozun ise inflamatuvar hücrelerinin eksudasyonunu inhibe ettiğini ortaya çıkarmıştır.

Kızılcık meyve suyunun bazı bakteri suşlarına karşı anti-adezyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kıızılcık suyunun bakteriyal adezyonu %74'ten %67'ye kadar düşürdüğü gözlenmiştir (97).

Sozanski ve ark. (110), hiperkolesterolemik tavşanlar üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada kıızılcık meyvesinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Liyofilize edilerek elde edilen meyve tozu ile beslenen tavşanların serum trigliserid düzeylerinde %44 oranında bir azalış tesbit edilmiştir. Ayrıca bu meyve tozu ile beslenen tavşanlarda torakal aortta ateromatöz gelişiminin engellendiği belirlenmiştir.

Kızılcık meyvesinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, meyve pulpu ve fenol ekstraktı, gıda patojenleri olan *E. coli* ve *S. enteridis* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Yine başka bir çalışmada, meyve ekstraktı ve suyunun *B. subtilis*, *B. cereus* var. *mycoides* ve *S. Marcescens* mikroorganizmaları üzerinde yüksek düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (111).

Jayaprakasam ve ark. (25) tarafından yapılan çalışmada kıızılcık meyvesinden ekstrakte edilip saflaştırılan antosiyanin ve ürsolik asitin C57BL/6 farelerinin obezite ve glikoz intoleransları üzerine iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Yağ içeriği yüksek diyetle beslenen farelerin glikoz intoleransı kıızılcıktan ekstrakte edilen antosiyanin ve ürsolik asit takviyesiyle önlenmiştir. Antosiyanin desteğiyle beslenen farelerin kilo alımında %24 azalma olduğu ve antosiyanin takviyesinin karaciğerdeki yağ birikimini de azaltarak trigliserit değerlerini düşürdüğü belirlenmiştir. Bunların yanı sıra antosiyanin ve ürsolik asit tedavisinin uygulandığı farelerde insülin seviyelerinin yükseldiği saptanmıştır. Kıızılcık meyvesinden saflaştırılarak elde edilen bazı biyoaktif bileşiklerin doymuş yağ asitlerince zengin diyetler ve obezite üzerinde belirli metabolik parametreleri iyileştirdiği ortaya koyulmuştur.

Yousefi ve ark. (112), kıızılcık meyve ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitelerini inceledikleri bir çalışmada aynı ekstrenin bazı kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini de araştırmışlardır. % 80'lik etil alkolün ekstraksiyon çözgeni olarak kullanıldığı çalışmada TFMM 1310.23 mg GAE/100 g yaş ağırlık ve antioksidan aktivite (DPPH IC₅₀) 2.46 µg/mL olarak tesbit edilmiştir. Farklı dozlarla yapılan ve MTT testinin kullanıldığı sitotoksik etki

çalışmasında ise kızılçık ekstrelerinin SKOV3 (yumurtalık kanseri), MCF-7 (göğüs kanseri), PC-3 (prostat kanseri) ve A549 (akciğer kanseri) hücre hatlarında sırasıyla ortalama % 81.77, % 81.85, % 81.61 ve % 79.31 oranında inhibisyon oluşturdıkları belirlenmiştir.

Slovakya'da yürütülen bir çalışmada *Cornus mas*, *C. alba*, *C. flaviramea*, *C. kousa*, ve *C. officinalis* türlerinin yapraklarından elde edilen infüzyonun göğüs kanser hücrelerindeki (MCF-7) antiproliferatif etkisi test edilmiştir. Farklı doz ve sürelerde hücre canlılığının ölçüldüğü bu çalışmada 72 saat sonra en etkili sonuçlar alınmış ve hücre canlılıkları *C. alba* için % 11.2, *C. officinalis* için % 10.3 ve *C. mas* için ise % 11.1 olarak ölçülmüştür. MCF-7 hücre hattında test edilen *Cornus* türlerinden *C. alba*, *C. officinalis* ve *C. mas* türlerinin en etkili türler olduğu ve bu etkinin toplam fenolik ve tanen içeriği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (113).

Türker ve ark. (114) kızılçık meyvesinde farklı çözgen ve ekstraksiyon teknikleriyle hazırladıkları ekstraktların antitümör ve antibakteriyel etkilerini incelemiştir. Ekstraktların % 16.7 ile 59.4 arasında değişen oranlarda tümör inhibisyonu ve 7.6 ile 9.3 mm aralığında inhibisyon zonu oluşturdıkları bildirilmiştir.

Kızılçığın yaprak ve çiçeklerinin sitotoksik aktivitesinin incelendiği bir çalışmada örnekler metanol ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraktların in vitro koşullarda Hela ve LS174 kanser hücre hatlarına karşı önemli düzeyde sitotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir (4).

Vareed ve ark. (115) *Cornus kousa* türünde yaptığı bir çalışmada meyveden kaempferol 3-O-rhamnoside, myricetin 3-O-rhamnoside, kaempferol 3-O-glukozid, kornin ve stenofilin bileşenlerini izole ederek bu bileşenlerin bazı kanser hücre hatları üzerindeki büyüme inhibisyonunu inceledi. Kornin bileşeni HCT-116 (kolon), MCF-7 (göğüs), NCI-H460 (akciğer), SF-268 (merkezi sinir sistemi) ve AGS (mide) kanser hücre hatları üzerine sırasıyla % 31, % 29, % 40, % 9 ve % 28 büyüme inhibisyonu gösterdi. Stenofilin bileşeni ise aynı kanser hücre hatları üzerine sırasıyla % 0, % 27, % 35, % 16 ve % 27 büyüme inhibisyonu gösterdi.

Kwon ve ark. (116) *Cornus officinalis* türünün meyvelerinden izole ettiği ursolik asitin apoptotic etkisini inceledikleri bir çalışmada bu bileşenin primer malign tümör

kaynaklı prostat hücrelerinin büyümesini doz ve zamana bağlı olarak önemli ölçüde inhibe ettiğini ve apoptozisi aktive ettiğini rapor ettiler.

Radbeh ve ark. (117) İran'da yaptıkları bir çalışmada kızılçık ekstraktının biyoaktif bileşenleri kapsül haline getirilerek antioksidan aktiviteleri ve enterik kaplanmış nano taşıyıcılarla yarı sindirim ortamına salınımları değerlendirildi. Çalışmada kızılçık ekstraktını içermeyen kapsül de kullanılmış ve antioksidanların stabilitesinde kapsül haline getirmenin etkisi çalışıldığı belirtilmiştir. Ayrıca hücre döngüsü, hücre canlılığı ve kanser hücrelerinin apoptozisi üzerine etkisi de incelenmiştir. Sonuçlar, kızılçık ekstraktı içeren kapsüllerin içermeyenlere göre IC₅₀ değerini 1.33 ve 1.44 kat daha fazla arttırdığını göstermiştir. Bulgular, ekstraktı içeren kapsül formülasyonunun G1 fazındaki hücrelerin proliferasyonunu durdurabildiğini ve HT-29 kanser hücre hattında apoptozise sebep olduğunu ortaya çıkardığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOT

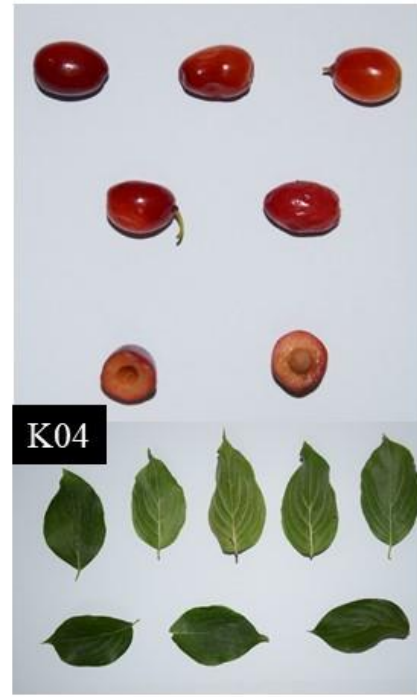
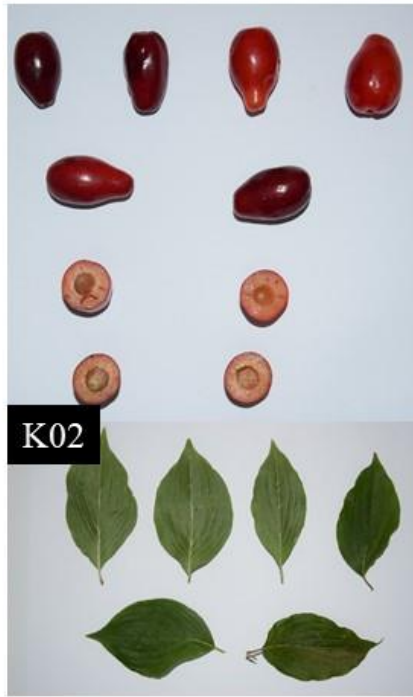
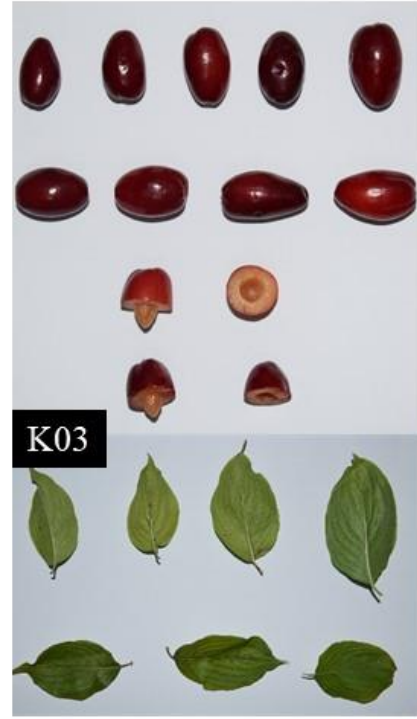
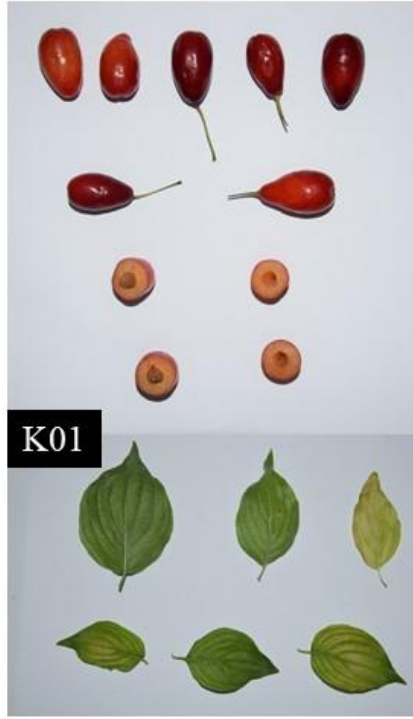
3.1. Materyal

3.1.1. Kızılcık Meyvesi

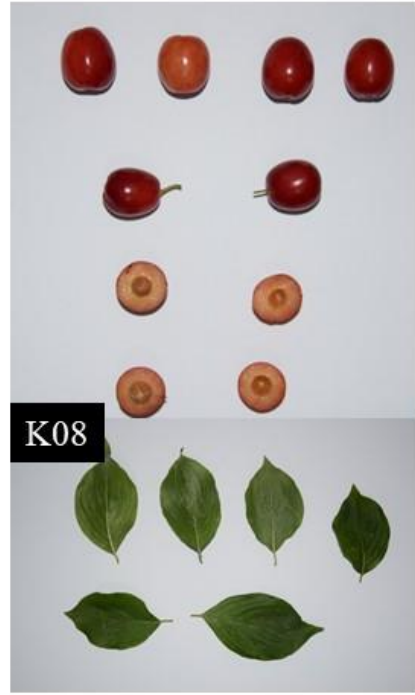
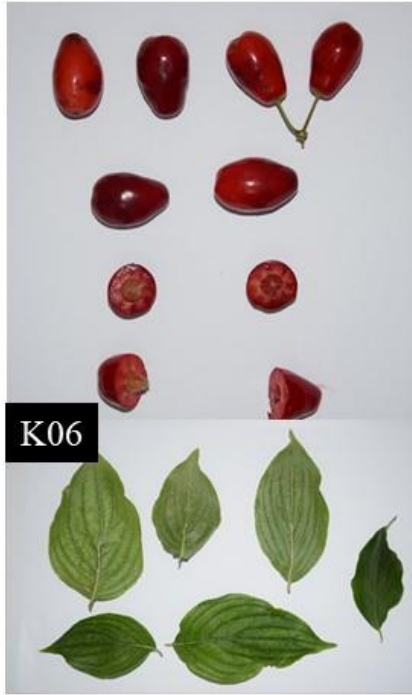
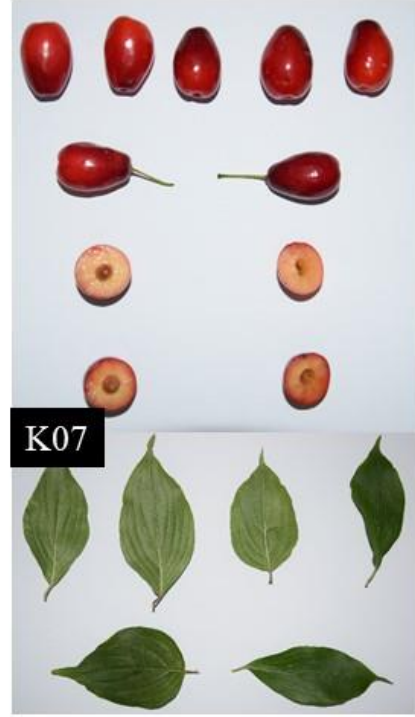
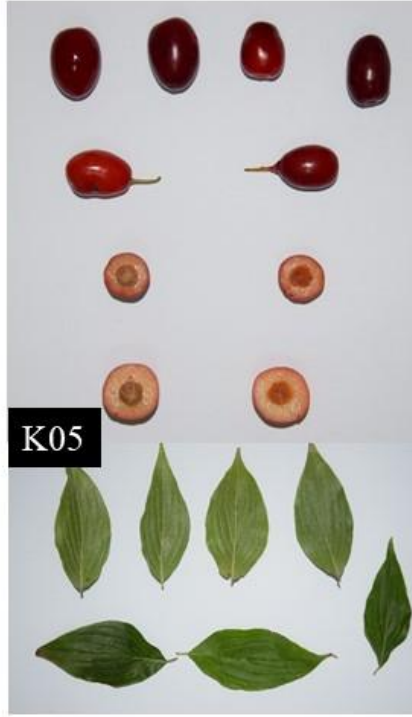
Çalışmada kullanılan meyve materyali Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ait Kızılcık Genetik Kaynakları parselinden temin edilmiştir. 27 kızılcık genotipinden meyve örneği alınmıştır. Meyve hasat tarihleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Genotiplere ait resimler Şekil 3.1-7’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kızılcık genotiplerine ait meyve hasat tarihleri

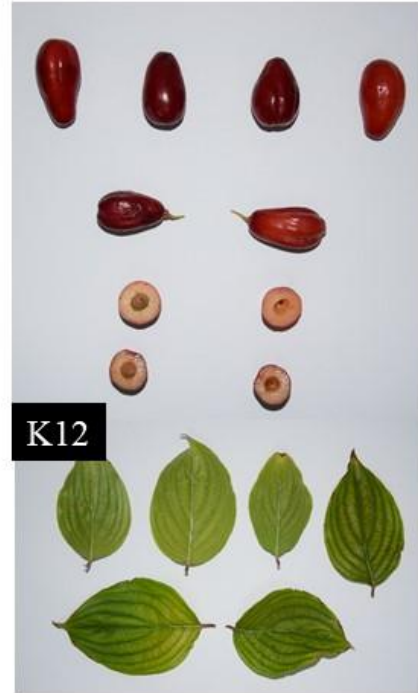
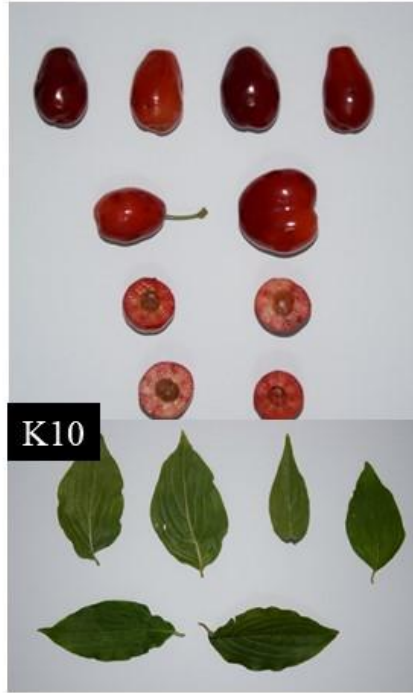
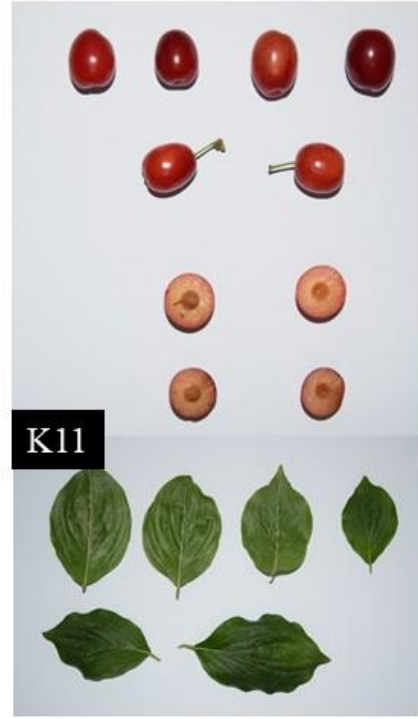
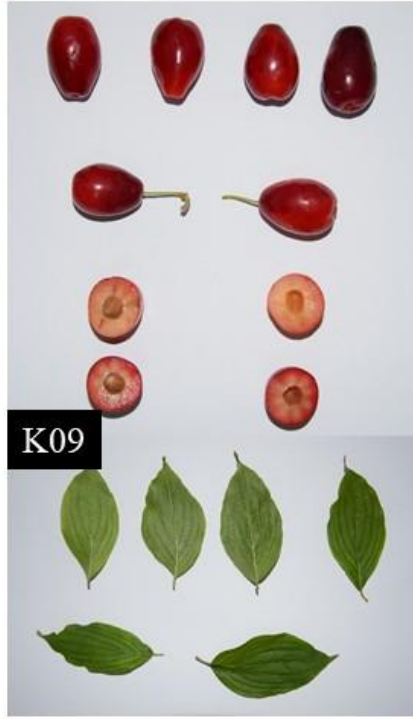
Genotip Adı	Hasat Tarihi	Genotip Adı	Hasat Tarihi	Genotip Adı	Hasat Tarihi
K01	10.08.2018	K10	15.08.2018	K19	17.08.2018
K02	10.08.2018	K11	15.08.2018	K20	17.08.2018
K03	10.08.2018	K12	15.08.2018	K21	17.08.2018
K04	10.08.2018	K13	15.08.2018	K22	17.08.2018
K05	13.08.2018	K14	16.08.2018	K23	17.08.2018
K06	13.08.2018	K15	16.08.2018	K24	17.08.2018
K07	13.08.2018	K16	16.08.2018	K25	27.08.2018
K08	15.08.2018	K17	17.08.2018	K26	27.08.2018
K09	15.08.2018	K18	17.08.2018	K27	03.09.2018



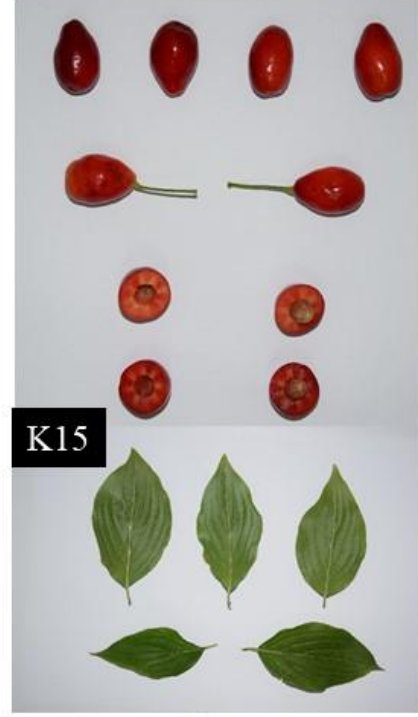
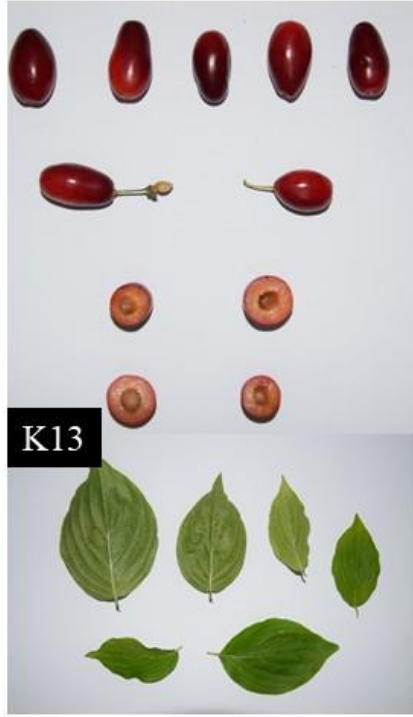
Şekil 3.1. K01, K02, K03 ve K04 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



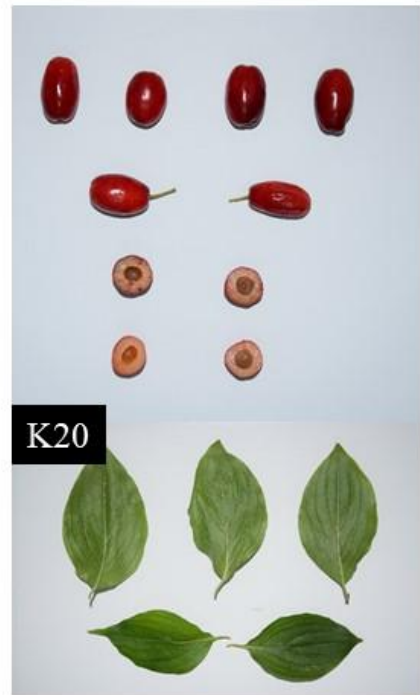
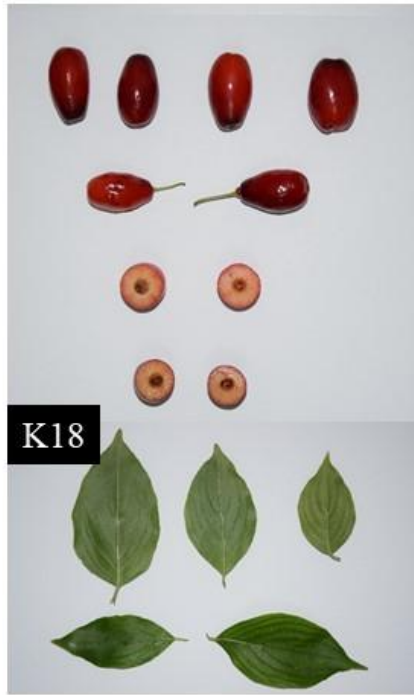
Şekil 3.2. K05, K06, K07 ve K08 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



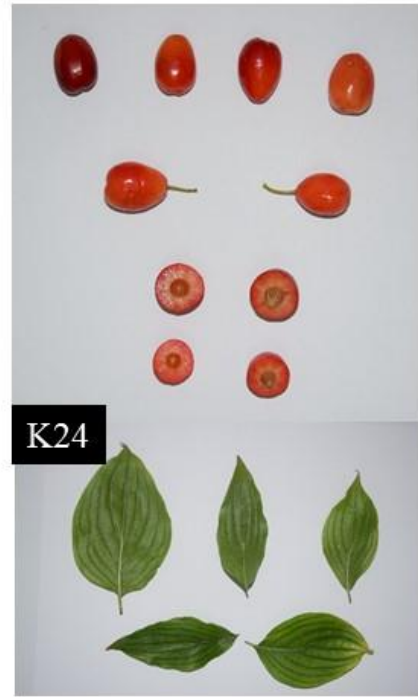
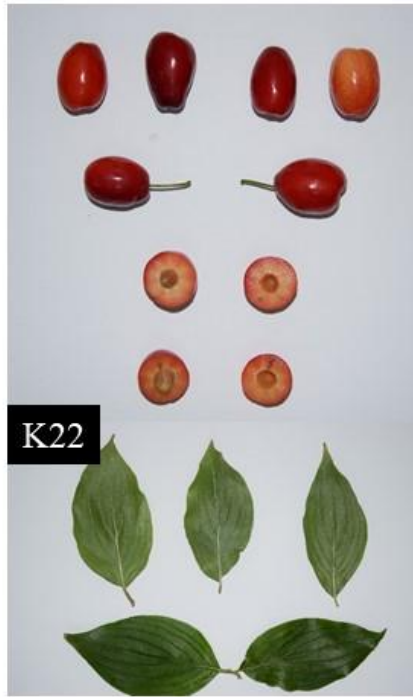
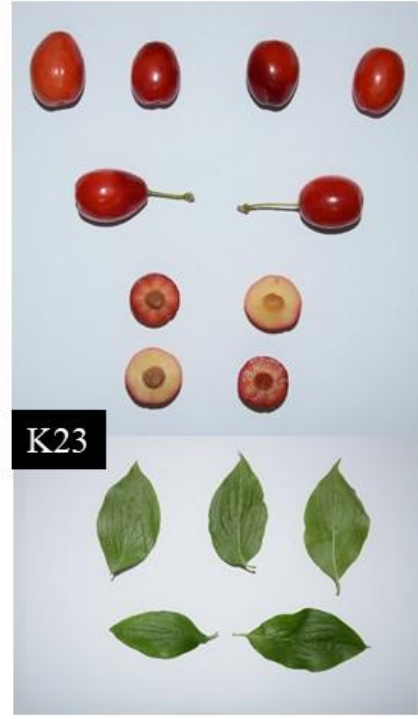
Şekil 3.3. K09, K10, K11 ve K12 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



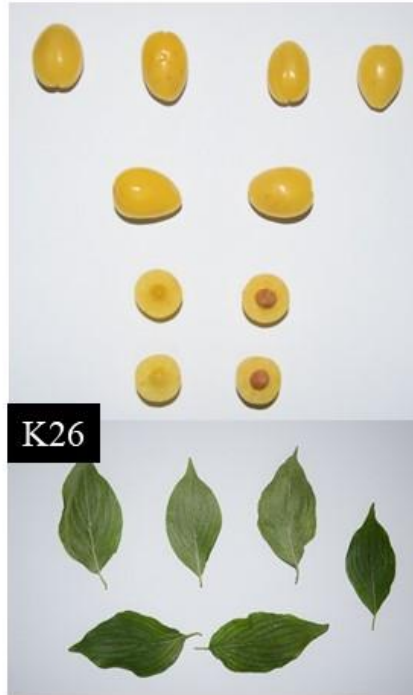
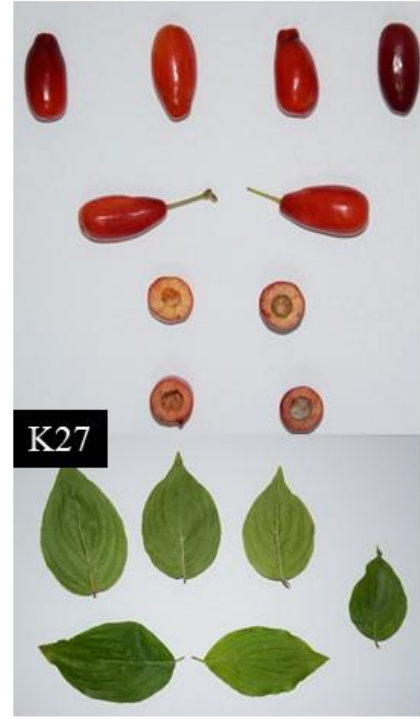
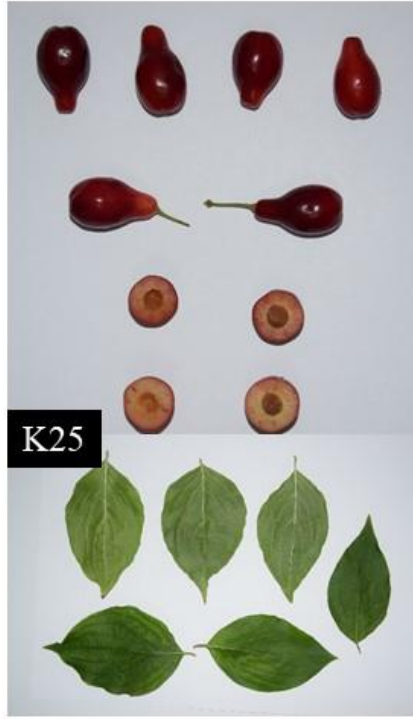
Şekil 3.4. K13, K14, K15 ve K16 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



Şekil 3.5. K17, K18, K19 ve 20 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



Şekil 3.6. K21, K22, K23 ve K24 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri



Şekil 3.7. K25, K26 ve K27 Kızılcık genotiplerine ait meyve ve yaprak resimleri

3.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar

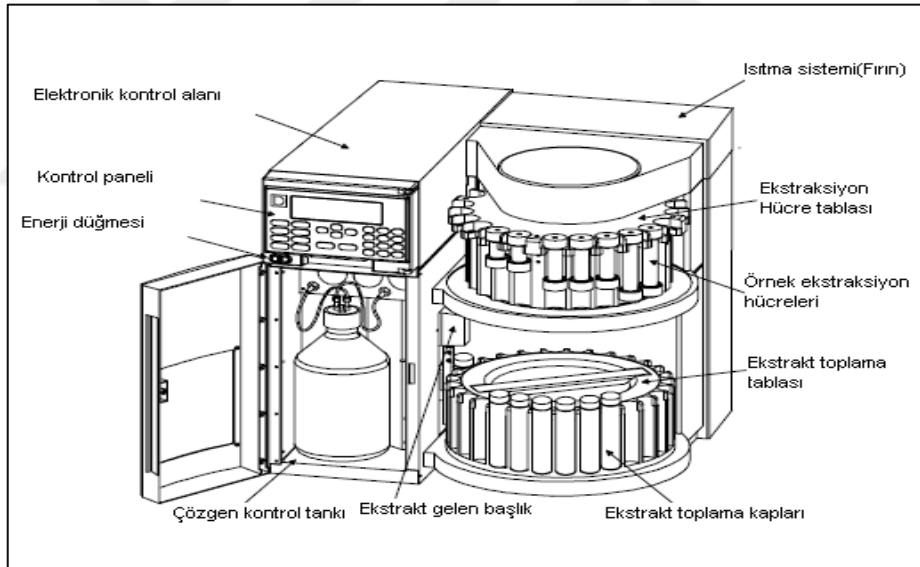
Kimyasal Adı	Marka	Katalog No
Asetik Asit	Fisher	1551209
Aseton	Merck	1000142500
Asetonitril	Sigma	34851
DPPH	Sigma	101610998
DPPH	Sigma	1896-66-4
Epigallokateşin gallat	Sigma	989-51-5
Epikateşin	Sigma	101095141
Etanol	Merck	1.11727
FeCl ₃ .6H ₂ O	Merck	1039430250
Folin&Ciocaltue Reaktifi	Sigma	F9252
Fruktoz	Merck	M105323.0250
Gallik Asit	Merck	M842649.0250
Glikoz	Merck	M108337.0250
H ₂ SO ₄	Merck	M100713
HCl	Merck	M100314
Kateşin	Fluka	101109664
KCl	Merck	M104936.0250
Klorogenik Asit	Sigma	1001347800
Metanol	Merck	1.06007
Na ₂ CO ₃	Merck	M106392
Na ₂ S ₂ O ₃	Merck	M109147
NaCH ₃ COO.3H ₂ O	Supelco	1062670500
Potasyumferri siyanür	Sigma	P4066
Rutin	Sigma	086K12K5
Sakkaroz	Merck	M107687.0250
TBHQ	Fluka	19986
Trikloro asetik asit	Merck	M100810

3.1.3. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

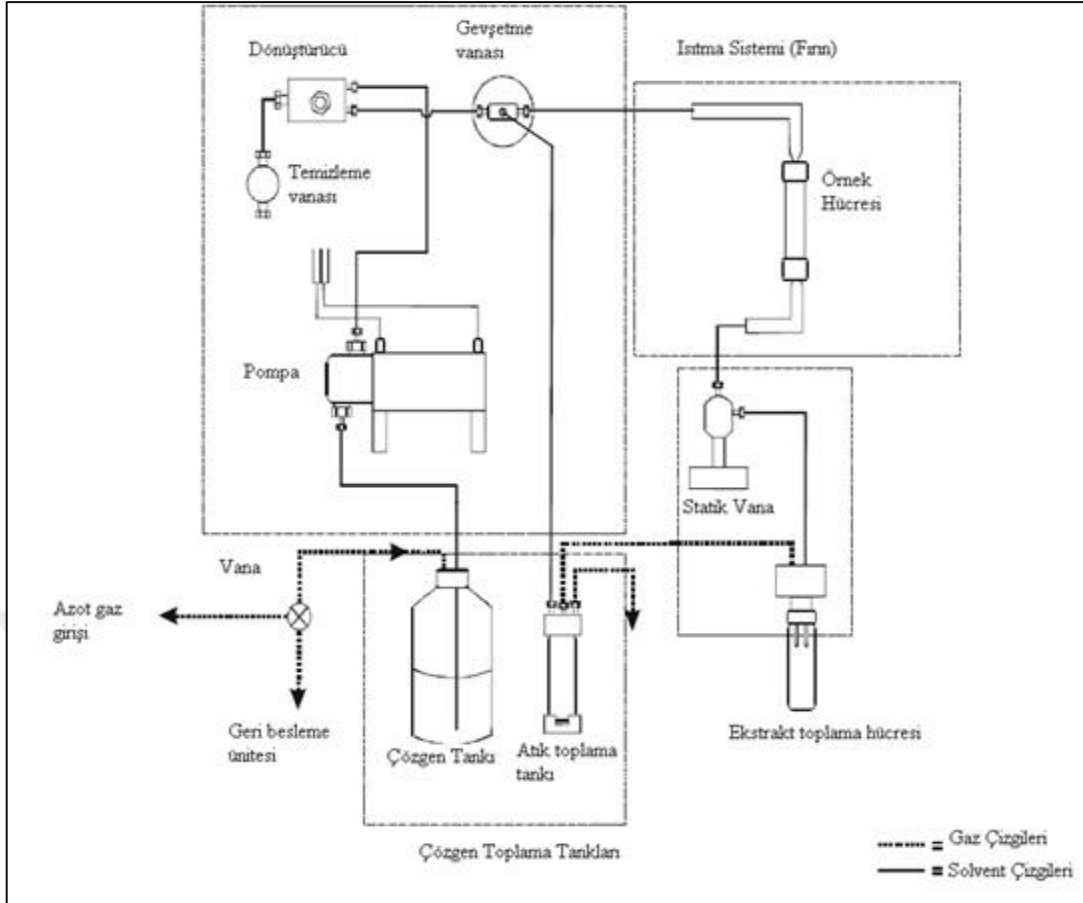
Ekstraksiyon için Dionex marka ASE-200 (Accelerated solvent extraction) cihazı kullanılmıştır. Cihazın genel gösterimi ve çalışma düzeni Şekil 3.8-10'da verilmiştir.



Şekil 3.8. ASE–200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü



Şekil 3.9. ASE-200 Hızlandırılmış solvent ekstraktörü ve ekstraksiyon aparatları



Şekil 3.10. ASE-200 Solvent ekstraktöründe ekstraksiyon işlemi için çözgen ve gaz akış şeması

Fenolik ve şeker bileşenlerinin analizi için Shimadzu marka yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) sistemi kullanılmıştır. HPLC sisteminin kombinasyonu ve çalışma koşulları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. HPLC sistemi ve çalışma koşulları

Kontrol Ünitesi	Shimadzu CBM-20A
Pompa Ünitesi	Shimadzu LC-20AD XR
Otomatik Örnekleyici	Shimadzu SIL-20A XR
Degazör	Shimadzu DGU-20A5
Kolon Fırını	Shimadzu CTO-10AS VP
Dedektör (Fenolik bileşenler)	Shimadzu SPD-M20A(DAD)
Dedektör (Şeker)	Shimadzu RID-10A
Kolon (Fenolik bileşenler)	Clipeus C18 5µm 250x4.6mm
Kolon (Şeker)	Carbohydrate 5µm 250x4.6mm
Sıcaklık	30°C
Mobil Faz (Fenolik bileşenler)	A: Asetik asit (% 4.5) B: Asetonitril
Mobil Faz (Şeker)	Asetonitril:su (77:23)
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Akış Hızı	1 mL/dk

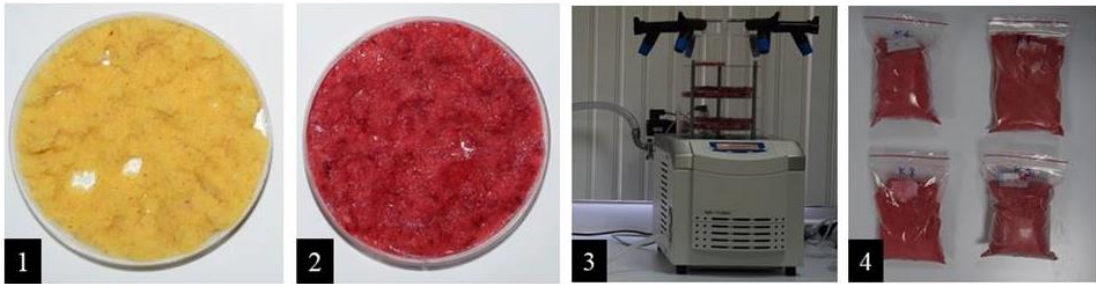
Spektrofotometrik ölçümler için Shimadzu marka UV-1208 model spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

Deneyisel çalışmalarda kullanılan diğer alet ve cihazlar ise şunlardır: Liyofilizatör (Christ Alpha 1-2 LD plus), blender (Waring), ultra saf su sistemi (Millipore Direct Q UV 3), teraziler (Shimadzu AUX-220, Shimadzu BL320H), otomatik pipetler (Eppendorf Research Plus), vakum pompası ve evaporatör (Buchi V-700, R-210), vortex (Jeiotech VM-96EB), ultrasonik su banyosu (Jeiotech UC-10), pH metre (Thermo Orion 2 Star)

3.2. Yöntem

3.2.1. Meyve Örneklerinin Liyofilizasyonu

Meyve örnekleri çekirdekleri çıkarılarak blender yardımıyla püre haline getirilmiştir. Meyve püresi petri kaplarına konularak buzdolabında dondurulması sağlanmıştır. Petri kapları liyofilizatöre yerleştirilmiş ve 0.1 mBar basınç altında yaklaşık 16 saat süreyle ana kurutma (süblimasyon) sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra kristalleşmiş ve maddeye tutunan son su moleküllerini uzaklaştırmak için ortam basıncı 0.01 mBar basınca kadar düşürülerek son kurutma yapılmıştır. Kurutulan meyve örnekleri havan yardımıyla toz haline getirilmiş ve -20°C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Bazı kıvılcık örnekleri ve Liyofilizasyon işlemi (1, 2: Homojenize edilmiş meyve örnekleri; 3: Liyofilizatör ve bazı numunelerin liyofilizasyonu işlemi anından görüntüleri; 4: Liyofilize edilerek toz haline getirilmiş meyve örnekleri)

3.2.2. Optimum Ekstraksiyon Koşullarının Belirlenmesi

Meyve örneklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için Hızlandırılmış Ekstraksiyon Cihazı kullanıldı. Ekstraksiyon işleminin inert (N₂) atmosferde gerçekleştiği bu sistemde; basınç, süre ve sıcaklık kontrollü olarak ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada optimum ekstraksiyon koşullarını belirlemek için;

çözgen karışımı, sıcaklık, süre ve basınç parametreleri optimize edilmiştir. Her bir parametrenin optimum değerinin belirlenmesi için Tablo 3.3’de belirlenen değişkenlerle çalışılmıştır. Değişen her koşulda yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların TFMM değeri ölçülerek optimum parametreler belirlenmiştir.

Ekstraksiyon için 0.50 g liyofilize edilmiş kıvılcık meyve örneği paslanmaz çelikten imal edilmiş 60 mL’lik ekstraksiyon hücresine konulmuş ve hücre cihaza yerleştirilmiştir. Tablo 3.3’de belirlenen koşullarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyon işleminin sonucunda elde edilen ekstraktlar, vakumlu evaporatörde inert atmosferde tamamen kurutuldu. Kurutma işleminin ardından kalan kalıntı metanol:su (50:50) karışımı ile 4 mL’ye seyreltilip 0.45 µm Poliviniliden diflorür (PVDF) filtreden süzüldü. Bu süzüntü, TFMM, antioksidan kapasite, toplam antosiyanin ve sitotoksik aktivite tayinlerinde kullanılmıştır.

Tablo 3.3. Kıvılcık meyvelerinin optimum ekstraksiyon koşulları için uygulanacak parametreler

Çözgen Karışımları	Süre (dk)	Sıcaklık (°C)	Basınç (psi)
Metanol(70):Etilasetat(20):Su(10)	20	25	500
Metanol:Su (50:50)	40	40	1000
Metanol (70): su (30)	60	60	1500
Metanol(70):Aseton(20):Su(10)			
Metanol(70):su(29.9):HCI(0.1)			

3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM) Tayini

TFMM’nin belirlenmesinde Folin–Ciocalteu metodu kullanılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Bir tüpün içerisine sırasıyla 50 µL ekstrakt, 950 µL saf su ve 1 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenerek 3 dakika bekletilmiştir. Sonra 1 mL % 2’lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek karanlık bir ortamda 1 saat daha beklenmiş ve 765 nm dalga boyunda çözeltinin absorbansı ölçülmüştür (118).

3.2.4. Antioksidan Kapasite Tayini

Antioksidan kapasiteyi belirlemek için DPPH radikal süpürme testi ve indirgeme gücü testleri uygulanmıştır.

3.2.4.1. DPPH Radikal Süpürme Gücü Testi

Radikal Süpürme Gücü (RSG) ölçümü, Yen ve Hung'a (119) göre yapılmıştır. 0.0001 M DPPH, metanolde hazırlanmıştır. Bir tüpün içerisine 0.10 mL ekstrakt ve 2.9 mL DPPH çözeltisi konularak oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübasyona bırakılan çözeltilerin absorbansı 517 nm'de metanole karşı okunmuştur.

3.2.4.2. İndirgeme Gücü Testi

İndirgeme gücü ölçümünde Hwang ve ark.'nın (118) kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Bir tüpün içerisine sırasıyla 1 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH: 6.6), 1 mL % 1'lik potasyum ferrisiyanür, 0.1 mL ekstrakt ve 0.3 mL ekstraksiyon çözgeni eklenmiş ve karışım su banyosunda 50°C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Su banyosundan alınan tüplerin üzerine 1 mL % 10'luk trikloro asetik asit eklenip 6000 dev/dakika 10 dakika santrifüj işlemine tâbi tutulmuştur. Üst fazdan 1 mL alınarak üzerine 1 mL distile su ve 0.2 mL % 0.1'lik FeCl₃.6H₂O çözeltisi ilave edilip renklenmiş çözeltilerin absorbansı 700 nm'de distile suya karşı okunmuştur.

3.2.5. Toplam Antosiyanin Tayini

Kızılcık meyvesinde bulunan toplam antosiyanin miktarı pH farkı metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bu analiz için pH'sı 1.0'a ayarlanan 0,025 M potasyum klorür (KCl) çözeltisi ile pH'sı 4.5'e ayarlanan 0,4 M sodyum asetat (NaCH₃COO.3H₂O) çözeltisi hazırlandı. İki ayrı tüpe 0.7 mL meyve ekstaktı konularak tüplerden birine 1.5 mL KCl çözeltisi diğerine ise 1.5 mL NaCH₃COO.3H₂O çözeltisi ilave edilmiştir. 30 dakika beklendikten sonra hazırlanan çözeltilerin 510 ve 700 nm'de ayrı ayrı absorbans değerleri ölçülmüştür. Aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır (23).

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}$$

$$\text{Toplam Antosiyanin (mg siyanidin-3-glikozit/100 g)} = A \times S \times 100 \times M / E \times L$$

A: Absorbans,

S: seyreltme faktörü
M: Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı
E: Molar absorbans
L: Küvetin ışık yolu

3.2.6. Fenolik Bileşenlerin HPLC'de Tayini

Fenolik bileşenlerin tayini HPLC-DAD sisteminde gerçekleştirilmiştir. Gradientli elüsyon uygulanarak yapılan tayinde, % 4.5'lik asetik asit çözeltisi ve asetonitril mobil faz olarak kullanılmıştır. Mobil fazlar 0.45 µm'lik membran filtreden süzölmüş ve ultrasonik su banyosu yardımı ile hava kabarcıkları uzaklaştırılmıştır. HPLC'de uygulanan gradient programı ve çalışma koşulları Tablo 3.2, 4'de verilmiştir.

Tablo 3.4. Fenolik bileşiklerin analizi için HPLC sisteminde uygulanan gradient programı

Analiz süresi (dk)	Çözgen (B)	Akış Hız (mL/dk)	Sıcaklık (°C)	Dalga boyu (λ)
0,01	0	1	30	
7	5	1	30	271, 273,
12	15	1	30	278, 279
20	40	1	30	
25	100	1	30	325, 354
30	100	1	30	
40	5	1	30	

3.2.6.1. Geri Alma, LOD ve LOQ Parametrelerinin Belirlenmesi

Analit içermeyen ya da bilinen miktarda analit içeren numune içerisinde belli bir derişimde standart ilavesi yapılır. Söz konusu analiz için uygulanan işlemlerden sonra alınan ölçüm sonucu (Deneysel Miktar), beklenen değere (Teorik Miktar) oranlanarak geri alma % olarak hesaplanır.

$$\% \text{ Geri alma} = \text{Deneysel Miktar} / \text{Teorik Miktar} * 100$$

Tespit limiti (LOD), çalışılan metodun laboratuvar koşullarında örnek içerisinde tespit edebildiği ancak miktarını kesin olarak ölçemediği en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanır. Tayin limiti (LOQ) ise kantitatif olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. En düşük konsantrasyonda analit içeren standart çözeltisinin en az 10 analiz sonucu alınarak ortalama ve standart sapması hesaplanır.

$$\text{LOD} = \bar{X} + 3 \cdot \text{ss}, \quad \text{LOQ} = \bar{X} + 10 \cdot \text{ss}$$

\bar{X} : Analiz sonuçlarının ortalaması,

ss: Standart sapma

3.2.7. Meyvelerde Şeker Analizi

Meyve örneklerinde şeker analizi HPLC-RID sisteminde gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikle, fruktoz, glikoz ve sakkaroz standartları kullanılarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Takiben 0.50 g meyve örnekleri kapaklı tüplere tartılıp, üzerine 10 mL ultra saf su ilave edilmiştir. Vortekste iyice karıştırılarak tüpler 6000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan bir miktar alınıp 0.45 µm'lik PVDF filtreden süzölmüştür. Viale alınan süzöntü HPLC-RID sistemine enjekte edilerek şeker düzeyleri belirlenmiştir. Cihaz çalışma koşulları Tablo 3.2'de verilmiştir.

3.2.8. Sitotoksik Aktivite

3.2.8.1. Hücre Kültürü

Akciğer kanseri (A549), sağlıklı hücre hattı olan akciğer epitel hücreleri (BEAS2B) % 10 fetal sığır serumu ve % 1 oranında penisilin ve streptomisin içeren DMEM ortamında % 5'lik CO₂ içeren nemli atmosferde, 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmış ve devamlılığı sağlanmıştır. Deneyler için gerekli sayıda hücre elde edilebilmesi için hücreler yeni besiyerlerine geçirilmiş ve hücrelerin üremesi takip edilmiştir. Uygun zaman aralıklarında pasajlanarak devamlılığı sağlanmıştır. Deney kurulacak yoğunlukta elde edilen hücreler toplanıp santrifüj edilmiş süpernatant alınarak atılmış ve pelletin üzerine 10 mL taze besiyeri eklenmiştir. Sonrasında uygulanacak analize göre seçilmiş plakelere uygun sayıda akciğer kanseri ve sağlıklı akciğer epitel hücreleri eklenmiş, aynı koşullarda 24 saat inkübe edilerek hücrelerin plakelere yapışması sağlanmıştır. Akciğer kanseri ve sağlıklı hücreler plakelere yapıştıktan sonra ekstraktlarla muamele edilmiştir (120).

3.2.8.2. Optimizasyon Çalışmaları

Kızılcık meyve ekstraktları kanser hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda muamele edilerek (10-1000 µg/mL) ekstraktların konsantrasyon optimizasyonu yapılmıştır. Optimum maruz kalma süresinin tespitine yönelik yapılan çalışmalarda ekstraktlar ile hücreler farklı sürelerde (24, 48 ve 72 saat) muamele edilmiştir. Aynı deneyler sisplatin ve sağlıklı hücre hatları ile de tekrar edilmiştir. Kanser hücreleri;

ekstraktlar, sisplatin ile muamele edildikten sonra MTT analizi yapılarak optimum konsantrasyon ve zaman belirlenmiştir.

3.2.8.3. MTT Analizi

Hücre proliferasyonu ve canlılığını belirlemek için çalışmamızda, L-929 (sağlıklı fare fibroblast hücre hattı, ATCC, CCL-1) ve A-549 (insan akciğer kanser hücre hattı, ATCC, CCL-185) hücre hatları kullanılarak MTT [2, 5- diphenyl - tetrazolium bromide and 3 - (4, 5-dimethyl thiazolyl)] testi yapılmıştır. Sitotoksosite testi (MTT) ISO 10993-5 protokolüne göre sağlıklı hücre hattı L-929 kullanılarak yapılmıştır (ISO, 2009). Bu teknik, canlı hücrelerde ki mitokondriyel aktivite (mitokondriyal dehidrogenaz) kullanılarak tetrazolium tuzunun mavi formazan ürününe dönüştürülmesi temeline dayanmaktadır. Hücrelerin çoğaltılmasında % 10 fetal bovine serum, 100mM L- Glutamin ve %1 Penisilin/Streptomisin içeren Dulbecco's MEM (DMEM) besiyeri kullanılmıştır. Hücrelerin üretilmesi ve çoğaltılması aşamaları doku kültür 25 ve 75 cm² flask'larında, deney protokolü ve MTT testi (Roche, Cell Proliferation kit) ise 96 well doku kültür plate'lerde üretici firmanın protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Kuyucuklara pasajlanan hücrelere bir gün sonra farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar uygulanmıştır. Bu işlemden 48 saat sonra hücrelerin üzerinde ki besiyeri uzaklaştırılarak hücrelerin üzerine MTT solüsyonu ilave edilmiştir. 4 saat süre ile inkübasyonda sonra formazan kristallerinin oluşumu mikroskopta kontrol edilmiş ve üzerlerine solubilizasyon tamponu eklenmiştir. Hücre proliferasyonu mikropate reader (Epoch, Biotek, USA) kullanılarak her bir kuyucuğun absorbansı ölçülerek elde edilmiştir. Hücre proliferasyonu negatif kontrollerden elde edilen absorbans değerlerinin, deney gruplarına ait absorbans değerlerine % olarak oranlanmasıyla elde edilir. Kontrollerden (ekstrelerle muamele edilmemiş hücreler) alınan absorpsiyon değeri % 100 hücre canlılığı olarak kabul edilir (121, 122).

3.2.9. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar varyans analizi ve LSD çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuş, genotipler arasındaki farklılıklar $p \leq 0,05$ önem seviyesinde değerlendirilmiştir. İncelenen kızılçık genotiplerinin ele alınan özellikleri bakımından değerlendirmek ve genotiplerin ayırt edici özelliklerini ortaya koymak ve varyasyona katkısını belirlemek amacıyla ise Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis (PCA)) yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Ekstraksiyon Optimizasyonu Sonuçları

Tez çalışması kapsamında 27 kızılılık genotipine ait meyve örnekleri liyofilizasyon işlemi uygulanarak toz haline getirilmiş ve fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ideal koşulların belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu çerçevede 5 çözgen kombinasyonu, 3 farklı sıcaklık, 3 farklı süre ve 3 farklı basınç parametresi çalışmaya dâhil edilmiştir. Koşullar değiştirilerek gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonucu elde edilen ekstraktların Folin&Ciocalteu metodu kullanılarak toplam fenolik madde miktarı (TFMM) ölçümü yapılmıştır. Spektrofotometrik ölçüm sonucu en yüksek absorbansı veren parametre optimum parametre olarak belirlenmiştir. Her bir parametre için ekstraksiyon yapılarak optimum parametreler belirlenmiş ve kızılılık meyvesinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için parametrelerin optimizasyonu ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

4.1.1. Çözgen optimizasyonu

Süre 20 dakika, sıcaklık 60°C ve basınç 1500 psi koşullarında çözgen optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Değişen her çözgen koşulunda optimum değeri belirlemek için, toplam fenolik madde analizi (TFMM) spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu yöntemi ile 760 nm'de yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucu, maksimum absorbans değerini veren çözgen kombinasyonu, ekstraksiyon için optimum çözgen karışımı olarak belirlenmiştir. Optimum ekstraksiyon için aşağıdaki çözgenler çalışılmıştır. Bu çözgenlerden elde edilen ekstraktlarda yapılan TFMM ölçüm sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'deki gibidir.

Optimum ekstraksiyon için çalışılan çözgen karışımları:

Çözgen 1: Metanol:Etil asetat:Su (70:20:10)

Çözgen 2: Metanol:Su (50:50)

Çözgen 3: Metanol:Su (70:30)

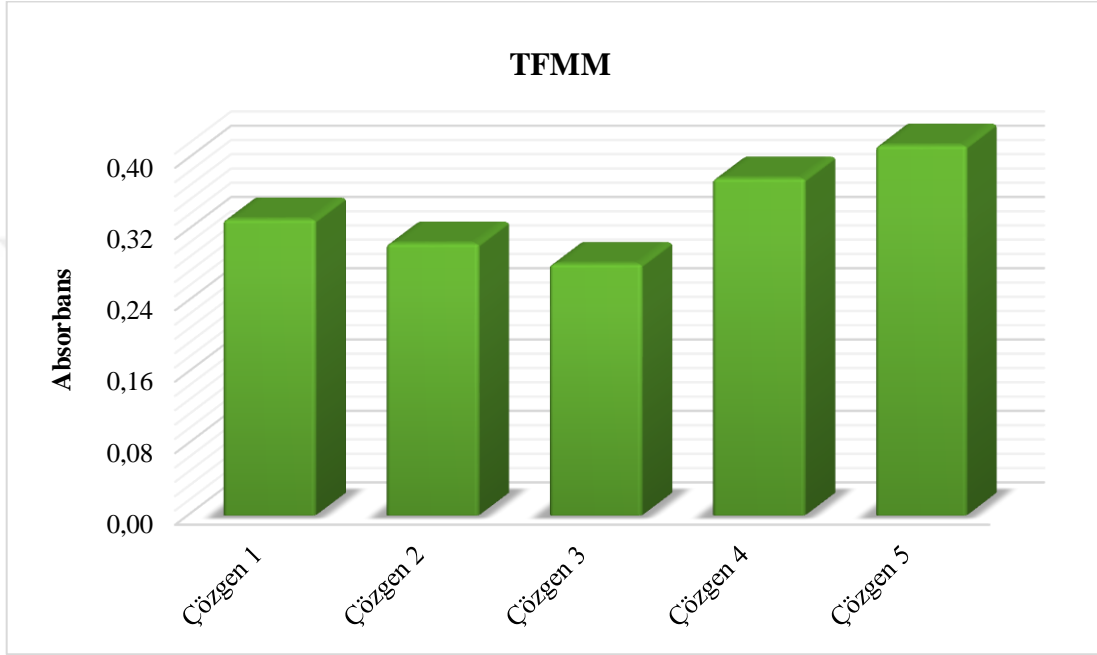
Çözgen 4: Metanol:Aseton:Su (70:20:10)

Çözgen 5: Metanol:Su:HCl (70:29.9:0.1)

Tablo 4.1. Farklı çözen karışımları ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

	Çözen 1	Çözen 2	Çözen 3	Çözen 4	Çözen 5
TFMM (Absorbans) ^x	0.332±0.00bc	0.305±0.03bc	0.282±0.08c	0.378±0.01ab	0.415±0.05a

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD%5 (TFMM): 0,07



Şekil 4.1. Farklı çözen karışımları ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

Kızılcık meyve örneklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda süre, sıcaklık ve basınç parametrelerinin optimizasyonu için Çözen 5 karışımı ekstraksiyon çözeni olarak kullanılmıştır.

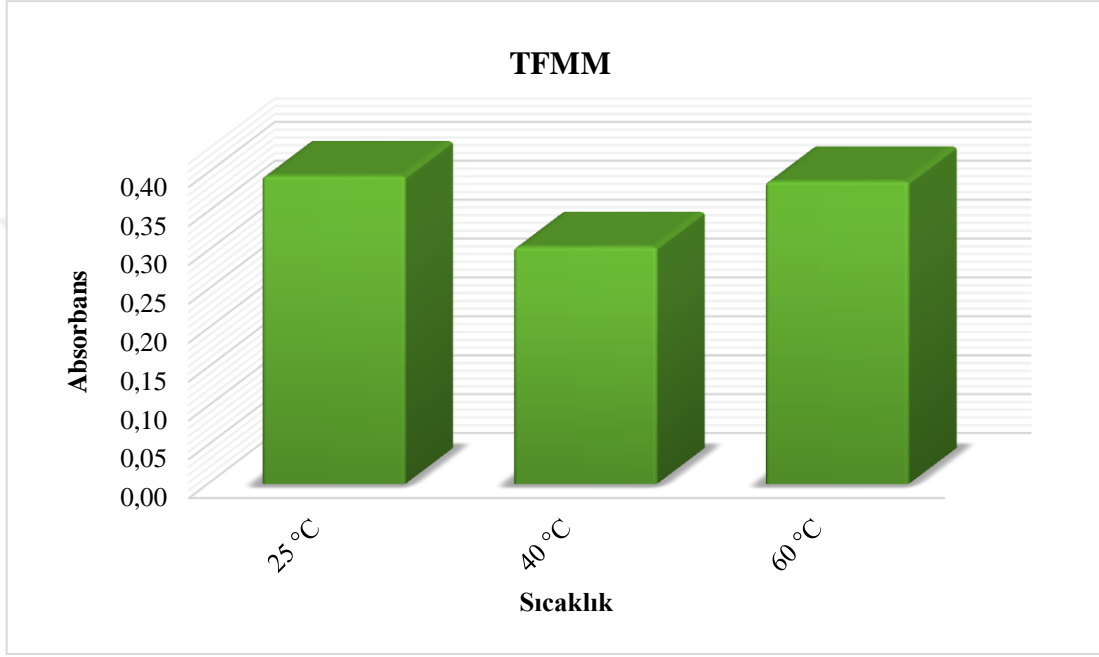
4.1.2. Sıcaklık optimizasyonu

Sıcaklık optimizasyonu için 25°C, 40°C ve 60°C değerleri çalışılmıştır. Çözen optimizasyonuna benzer şekilde, elde edilen ekstrelerin TFMM ölçümleri yapılmış ve maksimum absorbans değeri elde edilen sıcaklık, ekstraksiyon için optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir. Ölçüm sonuçları Tablo 4.2 ve Şekil 4.2'deki grafikte verilmiştir.

Tablo 4.2. Farklı sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

	25 °C	40 °C	60 °C
TFMM (Absorbans) ^x	0.396±0.01a	0.305±0.00b	0.389±0.05a

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (TFMM): 0.05



Şekil 4.2. Farklı sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

Kızılcık meyve örneklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda süre ve basınç parametrelerinin optimizasyonu için Çözgen 5 karışımı ve 25°C sıcaklık değeri kullanılmıştır.

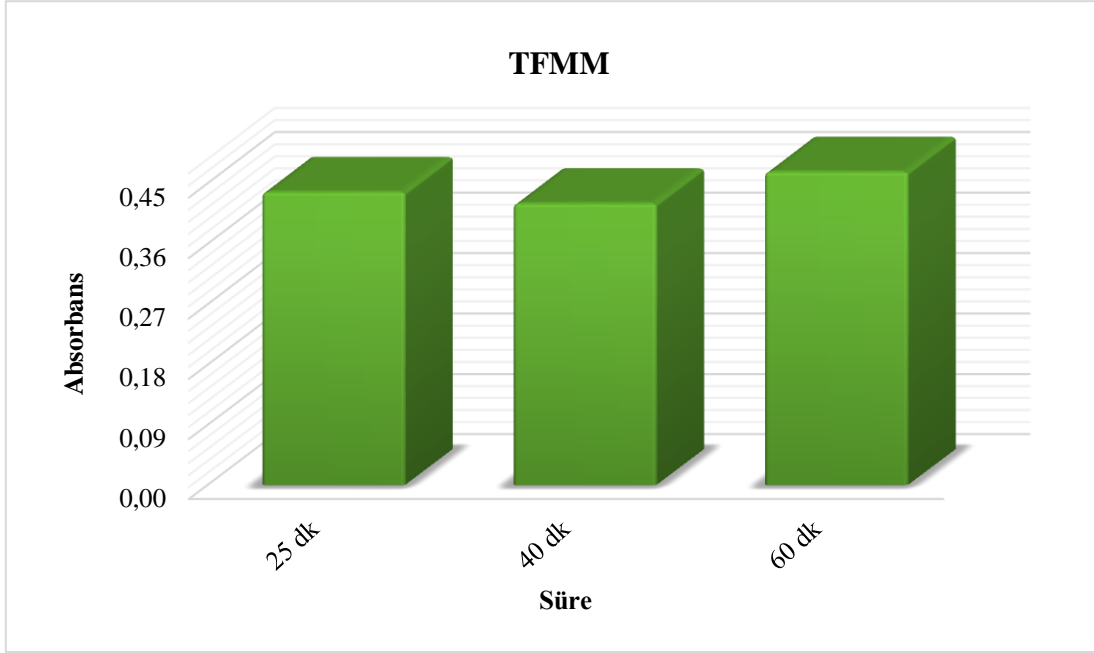
4.1.3. Süre optimizasyonu

Süre optimizasyonu için 20, 40 ve 60 dakikalık süreler çalışılmıştır. Bu sürelerle yapılan ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin TFMM ölçümleri yapılmış ve maksimum absorbans değeri elde edilen süre, ekstraksiyon için optimum süre olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'deki grafikte verilmiştir.

Tablo 4.3. Farklı sürelerde yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

	25 dk	40 dk	60 dk
TFMM (Absorbans) ^x	0.437±0.01ab	0.420±0.04b	0.467±0.00a

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (TFMM): 0.03



Şekil 4.3. Farklı sürelerde yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

Basınç parametresinin belirlenmesinde Çözgen 5 kombinasyonu, 25°C sıcaklık ve 60 dakika süre kullanılmıştır.

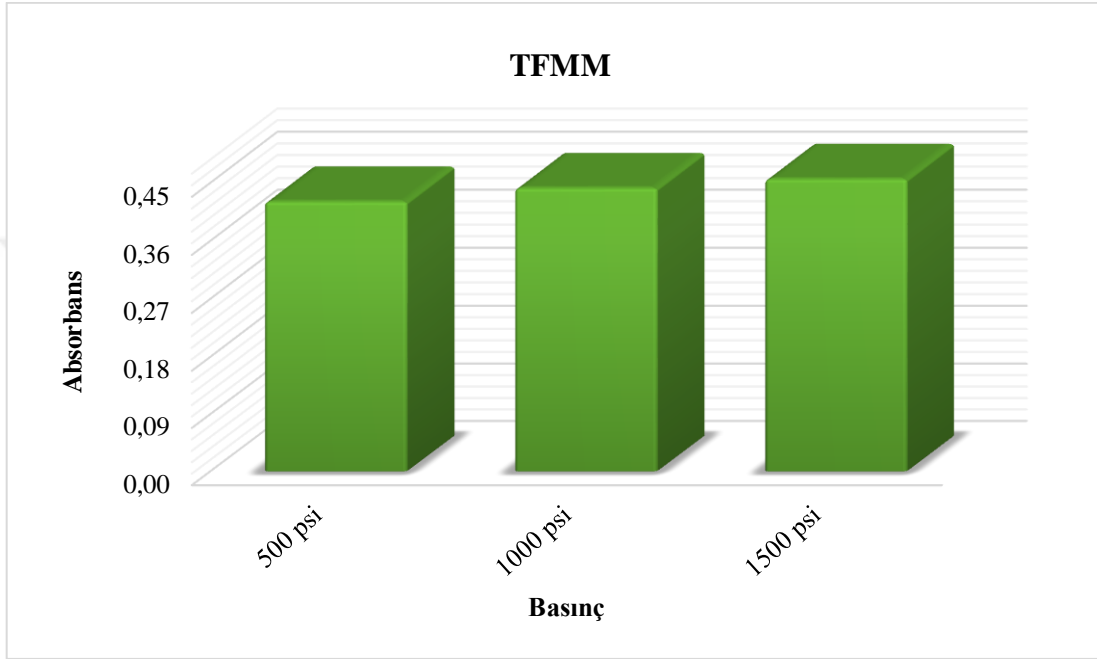
4.1.4. Basınç optimizasyonu

Basınç optimizasyonu için 500, 1000 ve 1500 psi değerleri çalışılmıştır. Bu basınçlarda yapılan ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin TFMM ölçümleri yapılmış ve maksimum absorbans elde edilen basınç, ekstraksiyon için optimum basınç olarak belirlenmiştir. Ölçüm sonuçları Tablo 4.4 ve Şekil 4.4'deki grafikte verilmiştir.

Tablo 4.4. Farklı basınçlarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

	500 psi	1000 psi	1500 psi
TFMM (Absorbans) ^x	0.421±0.02b	0.442±0.00ab	0.456±0.01a

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (TFMM): 0.02

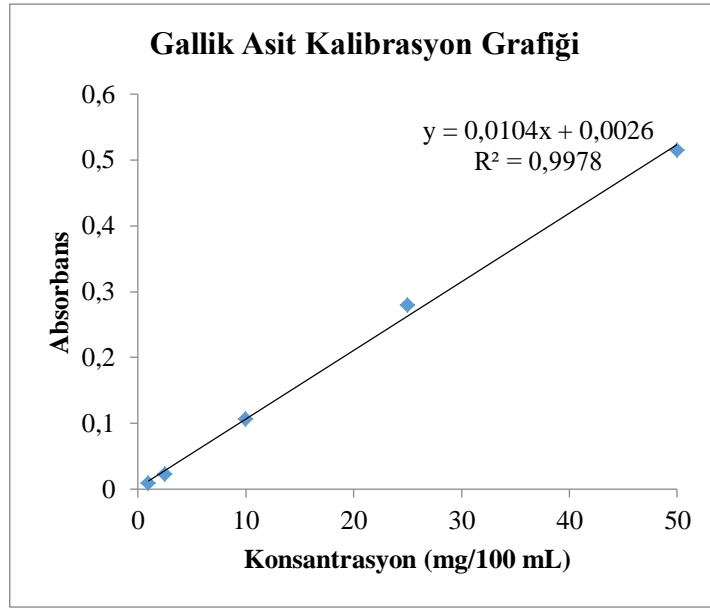


Şekil 4.4. Farklı basınçlarda yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrelerin TFMM ölçüm sonuçları

Kızılcık meyve örneklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için çözen karışımı, sıcaklık, süre ve basınç parametrelerinin optimizasyonu yapılarak Çözen 5 kodlu çözen karışımı, 25°C sıcaklık, 60 dakika süre ve 1500 psi basınç optimum ekstraksiyon parametreleri olarak belirlenmiştir. Bundan sonra yapılacak tüm analizlerde bu ekstraksiyon koşulları kullanılarak elde edilen ekstratlar kullanılmıştır.

4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM) Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstratların TFMM değeri ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Gallik asit standardının 1.00, 2.50, 10.00, 25.00 ve 50.00 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak spektrofotometrede kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.5). Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak kıızılcık meyve örneklerinin TFMM değerleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

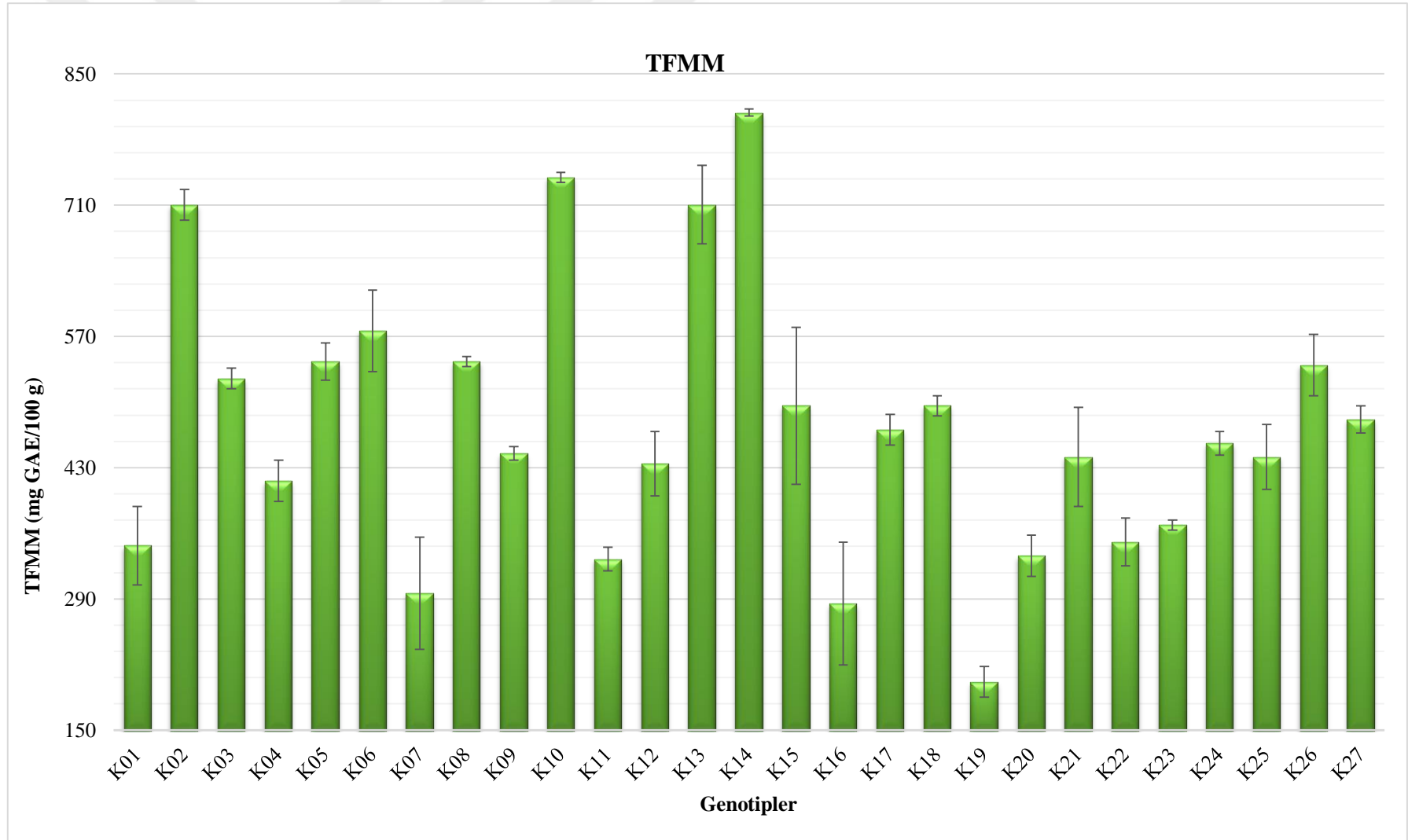


Şekil 4.5. TFMM tayininde kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

Tablo 4.5. Kızılcık meyve örneklerinin TFMM (mg GAE /100 g) sonuçları (GAE: Gallik Asit Eşdeğeri)

Genotip Adı	Ortalama (TFMM) ^x	Genotip Adı	Ortalama (TFMM) ^x
K01	346.91 ± 83.64 fgh ₁	K15	496.00 ± 167.27 bcd
K02	710.55 ± 32.73 a	K16	285.09 ± 130.91 ij
K03	525.09 ± 21.82 bcd	K17	470.55 ± 32.73 bcde
K04	416.00 ± 43.64 defgh	K18	496.00 ± 21.82 bcd
K05	543.27 ± 40.00 bc	K19	201.45 ± 32.73 j
K06	576.00 ± 87.27 b	K20	336.00 ± 43.64 gh ₁
K07	296.00 ± 120.00 ij	K21	441.45 ± 105.45 cdefgh
K08	543.27 ± 10.91 bc	K22	350.55 ± 50.91 fgh ₁
K09	445.09 ± 14.55 cdefg	K23	368.73 ± 10.91 efgh ₁
K10	739.64 ± 10.91 a	K24	456.00 ± 25.45 cdef
K11	332.36 ± 25.45 h ₁	K25	441.45 ± 69.09 cdefgh
K12	434.18 ± 69.09 cdefgh	K26	539.64 ± 65.45 bc
K13	710.55 ± 83.64 a	K27	481.45 ± 29.09 bcd
K14	808.73 ± 7.27 a		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD₅ (TFMM): 109.58

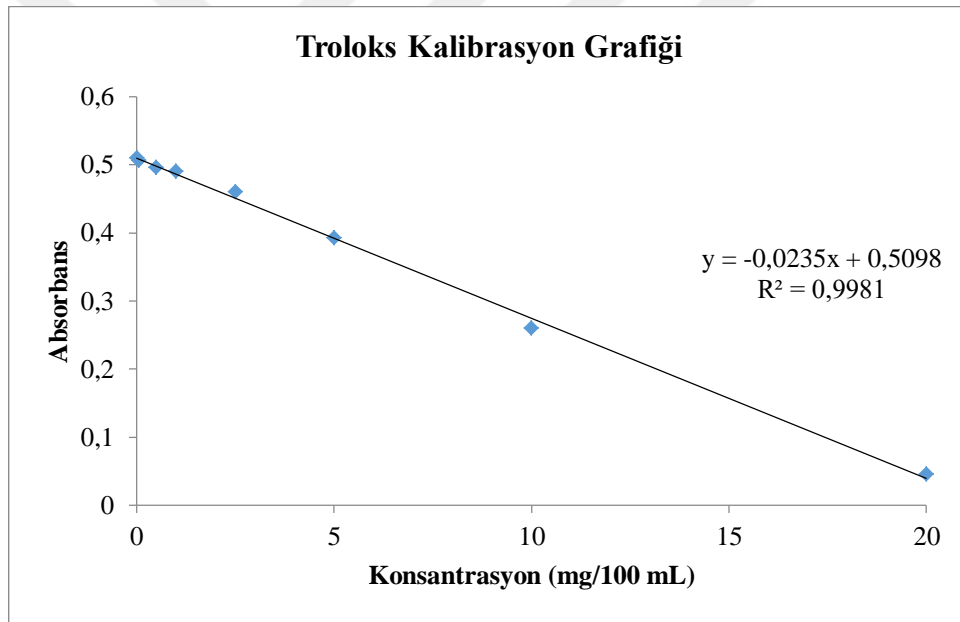


Şekil 4.6. Kızılcık meyve örneklerinin TFMM sonuçları (mg GAE/100 g)

4.3. Antioksidan Kapasite Analiz Sonuçları

4.3.1. DPPH Radikal Süpürme Gücü Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraların antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Bu amaçla DPPH Radikal Süpürme Gücü testi uygulanmış ve sonuçlar troloks eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Troloks standardının 0, 0.05, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 ve 20 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak spektrofotometrede kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.7). Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak kıızılcık meyve örneklerinin DPPH radikal süpürme gücü değerleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.6 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Ayrıca örneklerin DPPH radikal süpürme gücü testine göre antioksidan kapasite sonuçları % inhibisyon olarak da hesaplanmış ve Tablo 4.7 ile Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.7. DPPH Radikal Süpürme Gücü testi tayininde kullanılan troloks standardının kalibrasyon grafiği

Tablo 4.6. Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite DPPH Radikal Süpürme Gücü (mg TEAC /100 g) sonuçları

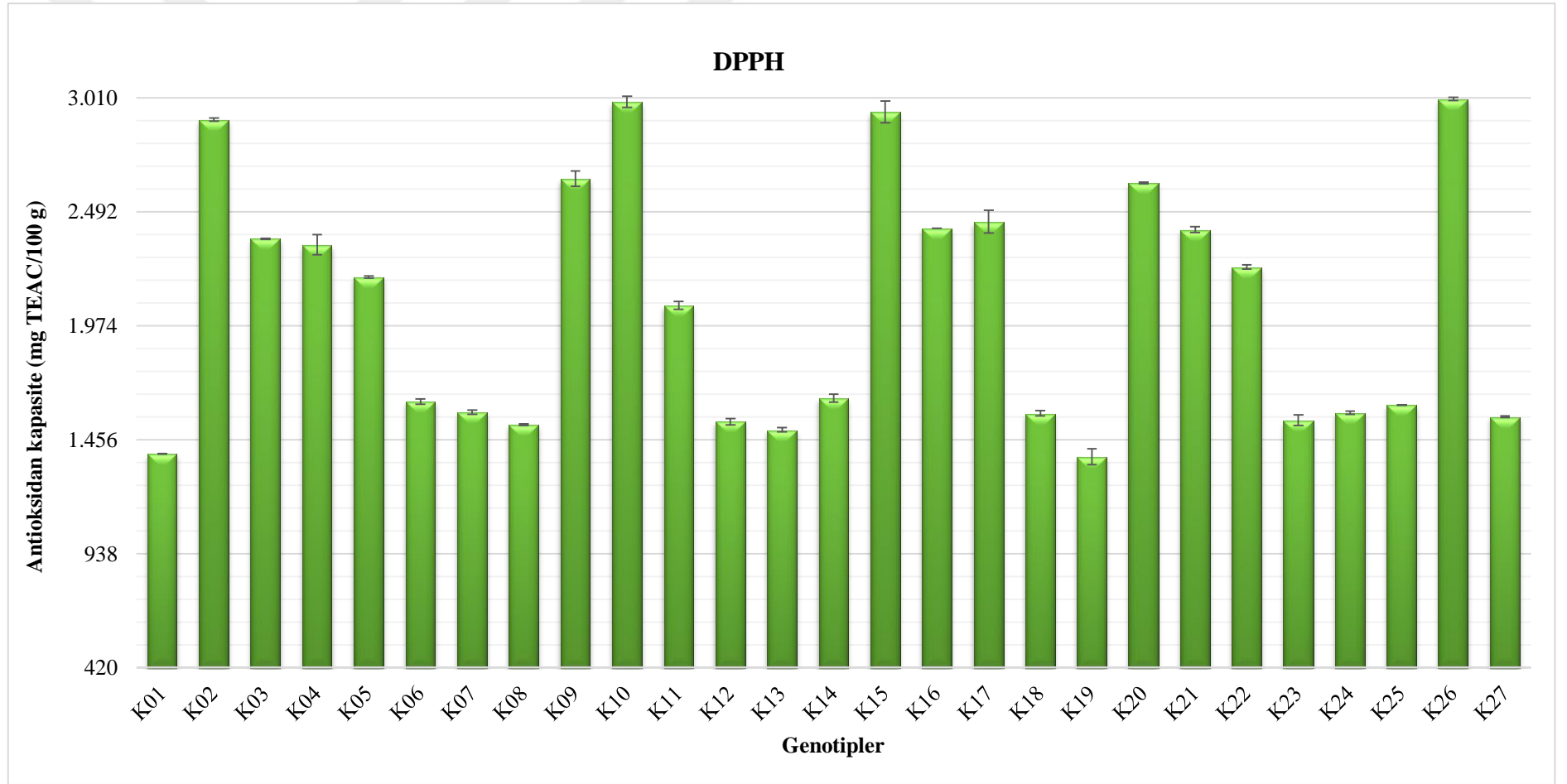
Genotip Adı	Ortalama (DPPH) ^x	Genotip Adı	Ortalama (DPPH) ^x
K01	1391.02 ± 3.52 n	K15	2945.76 ± 99.50 ab
K02	2910.25 ± 14.84 ab	K16	2416.51 ± 2.00 de
K03	2368.44 ± 3.75 ef	K17	2446.46 ± 103.24 d
K04	2340.98 ± 91.17 f	K18	1575.69 ± 25.39 ijkl
K05	2195.43 ± 8.57 g	K19	1377.22 ± 72.28 n
K06	1628.83 ± 22.14 ij	K20	2623.32 ± 6.62 c
K07	1580.96 ± 18.15 ijkl	K21	2411.07 ± 25.11 def
K08	1523.77 ± 6.37 lm	K22	2240.30 ± 19.86 g
K09	2641.52 ± 70.06 c	K23	1544.24 ± 47.55 klm
K10	2991.82 ± 50.47 a	K24	1578.09 ± 15.75 ijkl
K11	2066.55 ± 34.75 h	K25	1613.47 ± 3.90 ijk
K12	1538.15 ± 29.12 lm	K26	3003.91 ± 15.53 a
K13	1500.62 ± 19.74 m	K27	1560.50 ± 8.52 jklm
K14	1644.40 ± 34.45 ı		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (DPPH): 71.07

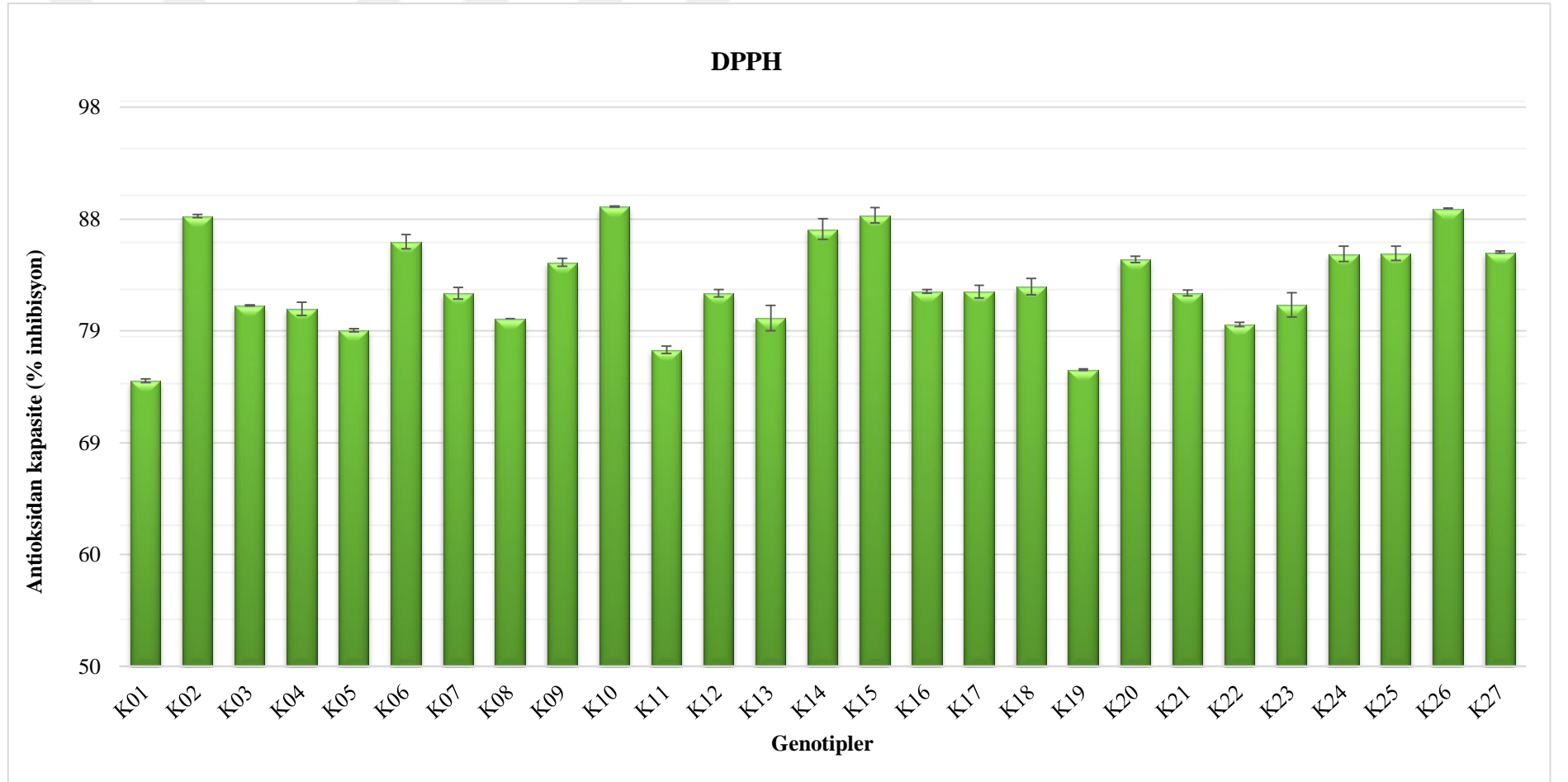
Tablo 4.7. Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite DPPH Radikal Süpürme Gücü (% İnhibisyon) sonuçları

Genotip Adı	Ortalama (DPPH) ^x	Genotip Adı	Ortalama (DPPH) ^x
K01	74.26 ± 0.28 l	K15	88.32 ± 1.27 ab
K02	88.25 ± 0.26 ab	K16	81.86 ± 0.31 fg
K03	80.66 ± 0.05 fgh	K17	81.83 ± 1.11 fg
K04	80.38 ± 1.13 ghi	K18	82.26 ± 1.39 f
K05	78.55 ± 0.25 j	K19	75.22 ± 0.13 l
K06	86.06 ± 1.21 cd	K20	84.57 ± 0.54 de
K07	81.70 ± 0.97 fg	K21	81.72 ± 0.48 fg
K08	79.55 ± 0.01 hij	K22	79.04 ± 0.38 ij
K09	84.31 ± 0.66 e	K23	80.70 ± 2.05 fgh
K10	89.06 ± 0.08 a	K24	85.05 ± 1.32 de
K11	76.91 ± 0.62 k	K25	85.10 ± 1.21 de
K12	81.70 ± 0.61 fg	K26	88.89 ± 0.05 a
K13	79.59 ± 2.19 hij	K27	85.19 ± 0.18 de
K14	87.13 ± 1.75 bc		

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{5%} (DPPH): 1.60



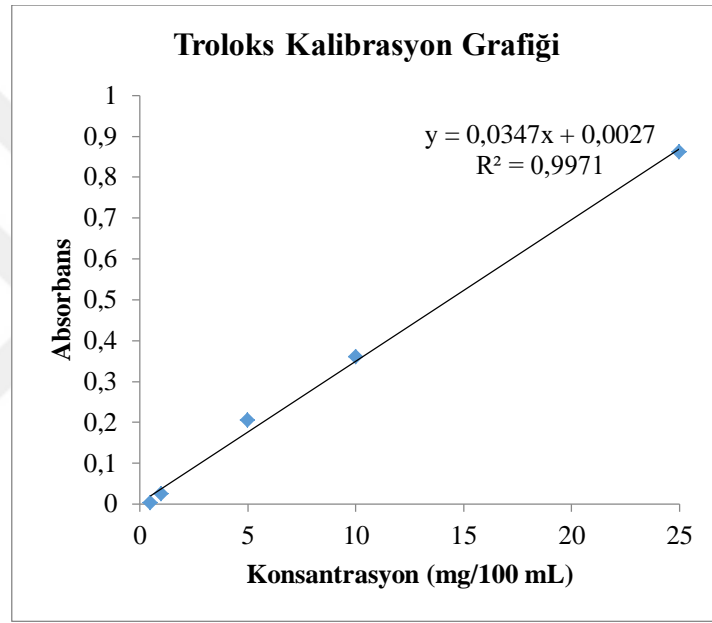
Şekil 4.8. Kızılcık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite DPPH sonuçları (mg TEAC/100 g)



Şekil 4.9. Kızılcık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite DPPH sonuçları (% inhibisyon)

4.3.2. İndirgeme Gücü Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Bu amaçla İndirgeme Gücü testi uygulanmış ve sonuçlar troloks eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Troloks standardının 0,5, 1, 5, 10 ve 25 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak spektrofotometrede kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.10). Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak kıızılcık meyve örneklerinin İndirgeme Gücü değerleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.8 ve Şekil 4.11'de verilmiştir.

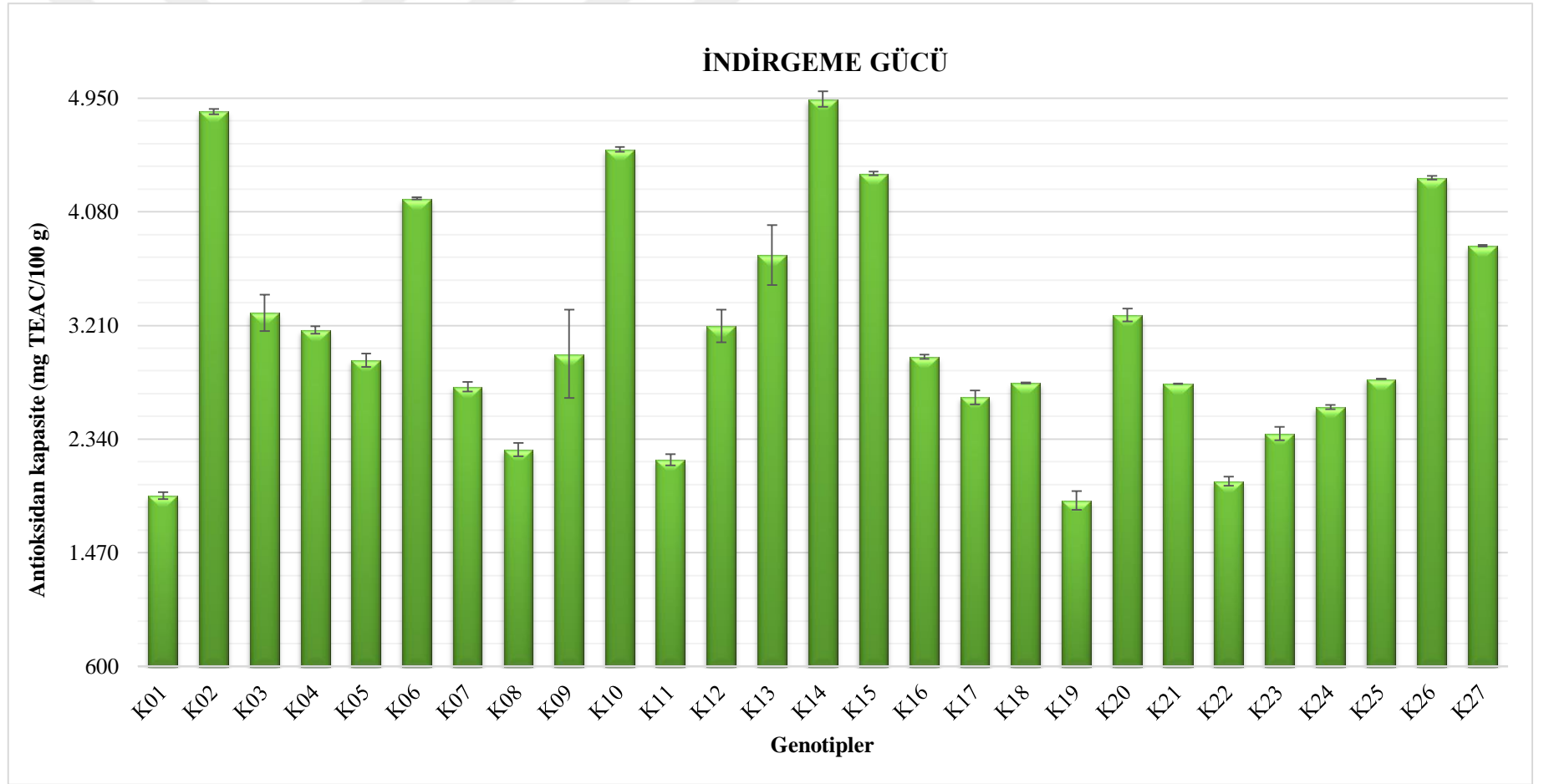


Şekil 4.10. İndirgeme Gücü testi tayininde kullanılan troloks standardının kalibrasyon grafiği

Tablo 4.8. Kızılcık meyve örneklerinin Antioksidan Kapasite İndirgeme Gücü (mg TEAC/100 g) sonuçları (TEAC: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite)

Genotip Adı	Ortalama (İndirgeme Gücü) ^x	Genotip Adı	Ortalama (İndirgeme Gücü) ^x
K01	1905.88 ± 53.21 op	K15	4375.19 ± 28.85 cd
K02	4847.65 ± 43.16 ab	K16	2971.57 ± 32.78 hı
K03	3307.20 ± 281.07 f	K17	2659.50 ± 107.40 jkl
K04	3176.44 ± 55.80 fgh	K18	2771.02 ± 7.98 ıjk
K05	2944.87 ± 104.18 hij	K19	1869.16 ± 142.99 p
K06	4182.77 ± 18.45 d	K20	3290.51 ± 97.01 fg
K07	2740.70 ± 77.10 ijk	K21	2764.81 ± 2.98 ıjk
K08	2258.89 ± 104.50 mn	K22	2018.24 ± 67.35 nop
K09	2992.11 ± 677.06 ghı	K23	2382.80 ± 102.61 lm
K10	4559.67 ± 38.03 bc	K24	2585.40 ± 35.45 kl
K11	2182.45 ± 86.60 mno	K25	2800.18 ± 5.79 ıjk
K12	3206.89 ± 248.09 fgh	K26	4339.88 ± 29.35 cd
K13	3749.07 ± 456.66 e	K27	3821.15 ± 14.88 e
K14	4943.36 ± 119.93 a		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{5%} (İndirgeme Gücü): 303.38



Şekil 4.11. Kızılcık meyve örneklerinin toplam Antioksidan Kapasite İndirgeme Gücü sonuçları (mg TEAC/100 g)

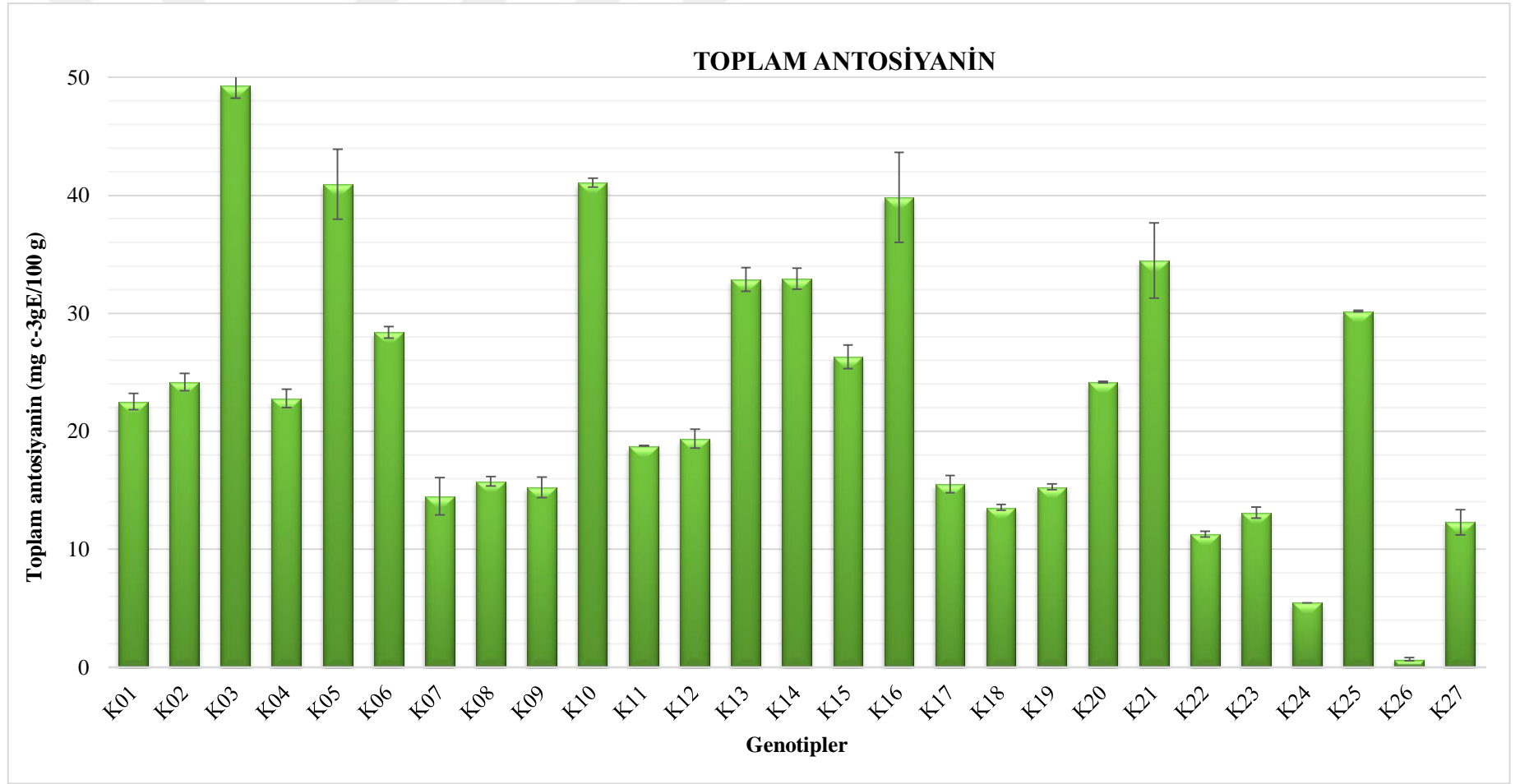
4.4. Toplam Antosiyanin Sonuçları

Kızılıcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstrelerin toplam antosiyanin değerleri belirlenmiş ve sonuçlar siyanidin-3-glikozid eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler sonucu ekstrelerin absorbans değerleri belirlenerek sonuçlar formül yardımıyla hesaplanmıştır. Kızılıcık meyve örneklerinin Toplam Antosiyanin sonuçları Tablo 4.9 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.9. Kızılıcık meyve örneklerinin Toplam Antosiyanin (mg c-3gE/100 g) sonuçları (c-3gE: cynadin-3 glikozid eşdeğeri)

Genotip Adı	Ortalama (Toplam Antosiyanin) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Toplam Antosiyanin) ^x
K01	22.51 ± 1.40 gh	K15	26.32 ± 2.00 efg
K02	24.18 ± 1.47 fg	K16	39.81 ± 7.61 b
K03	49.30 ± 2.14 a	K17	15.50 ± 1.47 ıjk
K04	22.78 ± 1.54 gh	K18	13.56 ± 0.47 jk
K05	40.95 ± 5.94 b	K19	15.30 ± 0.47 ıjk
K06	28.39 ± 1.00 ef	K20	24.18 ± 0.13 fg
K07	14.49 ± 3.14 jk	K21	34.47 ± 6.41 c
K08	15.76 ± 0.80 ij	K22	11.29 ± 0.47 k
K09	15.23 ± 1.74 ıjk	K23	13.09 ± 0.94 jk
K10	41.08 ± 0.73 b	K24	5.48 ± 0.00 l
K11	18.77 ± 0.07 h ₁	K25	30.19 ± 0.13 de
K12	19.37 ± 1.60 h ₁	K26	0.67 ± 0.27 m
K13	32.86 ± 2.00 cd	K27	12.29 ± 2.14 jk
K14	32.93 ± 1.80 cd		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD₅ (Toplam antosiyanin): 4.25



Şekil 4.12. Kızılcık meyve örneklerinin Toplam Antosiyanin sonuçları (mg c-3gE/100 g)

4.5. HPLC’de Tayin Edilen Fenolik Bileşenlerin Konsantrasyonları

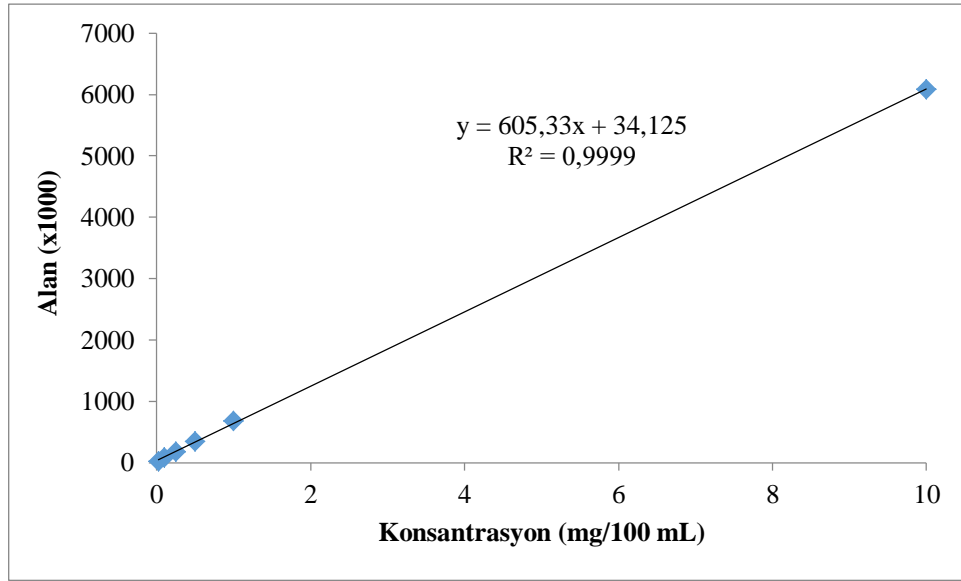
4.5.1. Gallik Asit Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstrelerin gallik asit düzeyleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Stok gallik asit standardından 0.025, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 ve 10.00 mg/100 mL’lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.13). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.10’da, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.11’de ve kıızılcık meyve örneklerinin gallik asit sonuçları ise Tablo 4.12 ve Şekil 4.14’de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen gallik asit sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin gallik asit konsantrasyonlarının 21.91 mg/100 g ile 55.21 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek gallik asit konsantrasyonuna sahip genotipler K12 (55.21 mg/100 g), K14 (54.75 mg/100 g) ve K10 (55.07 mg/100 g)’dur. En düşük gallik asit konsantrasyonuna sahip genotipler ise K16 (21.91 mg/100 g), K07 (22.03 mg/100 g), K21 (22.56 mg/100 g), K09 (22.95 mg/100 g), K08 (23.08 mg/100 g) ve K05 (25.65 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.10. Gallik aside ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.025	18816
0.10	81491
0.25	181646
0.50	349848
1.00	678029
10.00	6083230



Şekil 4.13. HPLC-DAD sistemindeki gallik asit standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.11. Gallik aside ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

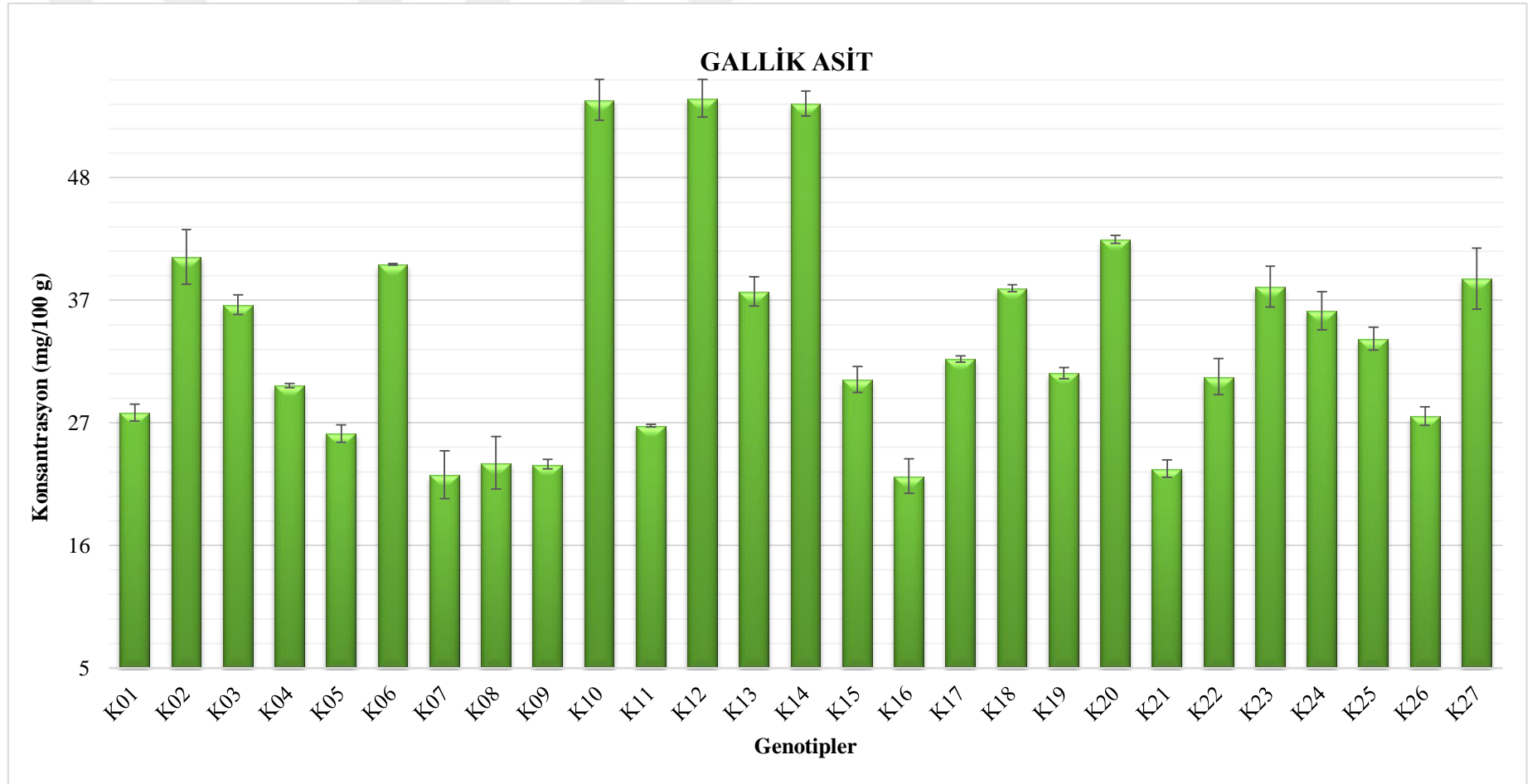
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Gallik Asit	5.44	0.033	0.048	271	90.39

*mg/100 mL

Tablo 4.12. Kızılcık meyve örneklerinin gallik asit sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Gallik Asit) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Gallik Asit) ^x
K01	27.51 ± 1.51 hij	K15	30.42 ± 2.33 ghı
K02	41.23 ± 4.83 bc	K16	21.91 ± 3.06 m
K03	37.02 ± 1.72 cde	K17	32.22 ± 0.53 fg
K04	29.89 ± 0.39 ghij	K18	38.48 ± 0.60 bcd
K05	25.65 ± 1.57 jklm	K19	30.97 ± 0.99 gh
K06	40.58 ± 0.15 bcd	K20	42.77 ± 0.70 b
K07	22.03 ± 4.23 lm	K21	22.56 ± 1.56 lm
K08	23.08 ± 4.61 klm	K22	30.67 ± 3.18 ghı
K09	22.95 ± 0.84 klm	K23	38.60 ± 3.57 bcd
K10	55.07 ± 3.61 a	K24	36.50 ± 3.36 def
K11	26.34 ± 0.22 ijkl	K25	34.01 ± 2.02 efg
K12	55.21 ± 3.34 a	K26	27.19 ± 1.64 hıjk
K13	38.19 ± 2.58 cde	K27	39.31 ± 5.36 bcd
K14	54.75 ± 2.16 a		

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (Gallik asit): 4.40



Şekil 4.14. Kızılcık meyve örneklerinin Gallik Asit analiz sonuçları (mg/100 g)

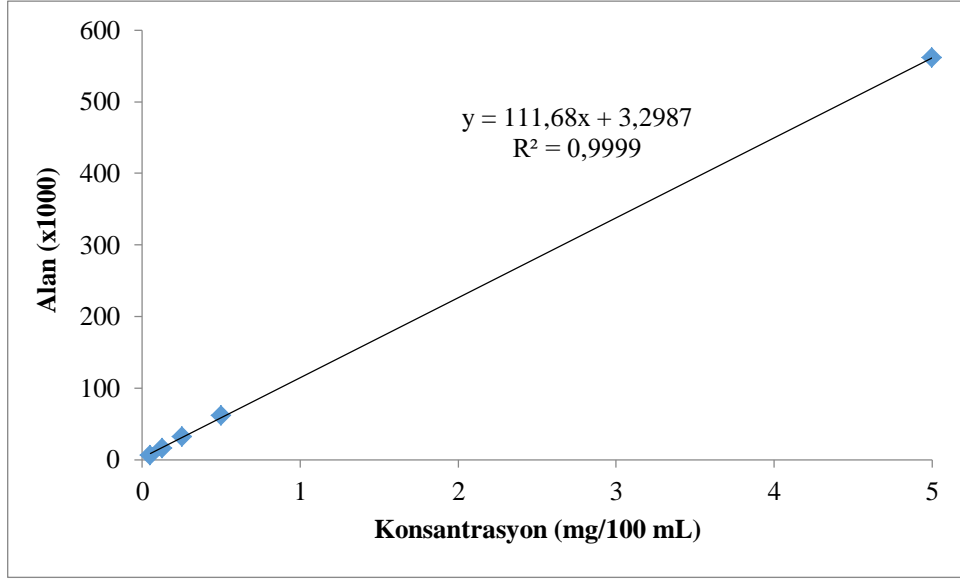
4.5.2. Kateşin Analiz Sonuçları

Kızılıcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların kateşin değerleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Kateşin standardının 0.05, 0.125, 0.25, 0.50 ve 5.00 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.15). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.13'de, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.14'de ve kızılıcık meyve örneklerinin kateşin sonuçları ise Tablo 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

Kızılıcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen kateşin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin kateşin konsantrasyonlarının 6.98 mg/100 g ile 32.48 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek kateşin konsantrasyonuna sahip genotipler K04 (32.98 mg/100 g), K10 (30.41 mg/100 g), K08 (30.12 mg/100 g) ve K11 (29.72 mg/100 g) genotipleridir. En düşük kateşin konsantrasyonuna sahip genotipler ise K24 (6.98 mg/100 g), K21 (9.31 mg/100 g), K22 (9.56 mg/100 g) ve K07 (10.14 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.13. Kateşine ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.05	6614
0.125	16296
0.25	32069
0.50	61777
5.00	561426



Şekil 4.15. HPLC-DAD sistemindeki Kateşin standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.14. Kateşine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

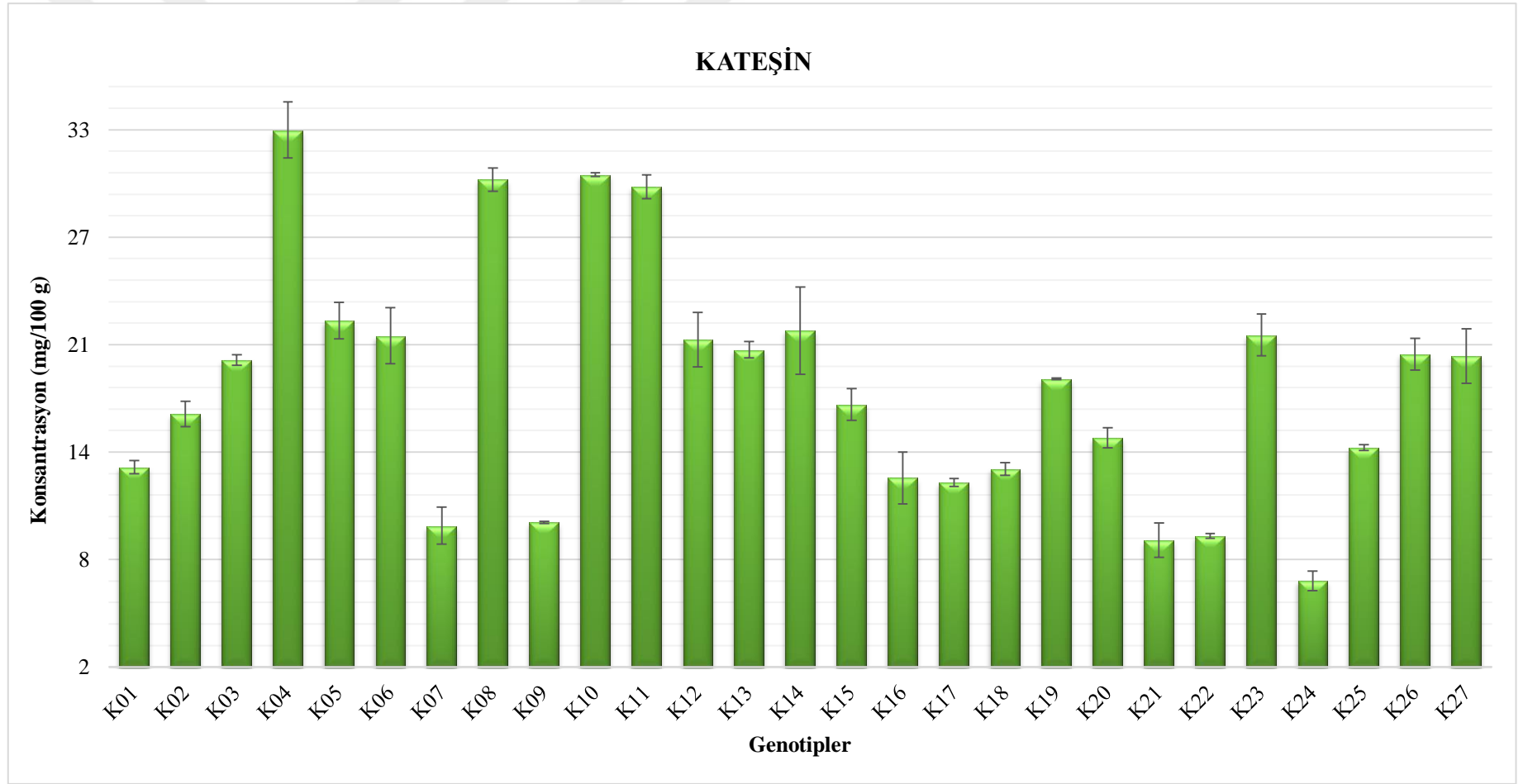
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Kateşin	14.37	0.034	0.060	279	77.47

*mg/100 mL

Tablo 4.15. Kızılılık meyve örneklerinin Kateşin sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Kateşin) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Kateşin) ^x
K01	13.53 ± 0.76 ghı	K15	17.14 ± 1.83 def
K02	16.61 ± 1.45 efg	K16	12.90 ± 2.97 hij
K03	19.72 ± 0.61 bcde	K17	12.63 ± 0.45 hijk
K04	32.98 ± 3.24 a	K18	13.43 ± 0.74 ghij
K05	21.99 ± 2.11 b	K19	18.63 ± 0.09 cde
K06	21.10 ± 3.23 bc	K20	15.22 ± 1.16 fgh
K07	10.14 ± 2.14 jkl	K21	9.31 ± 1.98 kl
K08	30.12 ± 1.32 a	K22	9.56 ± 0.27 kl
K09	10.34 ± 0.13 ijk	K23	21.14 ± 2.40 bc
K10	30.41 ± 0.22 a	K24	6.98 ± 1.13 l
K11	29.72 ± 1.37 a	K25	14.65 ± 0.34 fgh
K12	20.88 ± 3.15 bc	K26	20.04 ± 1.80 bcd
K13	20.30 ± 0.95 bcd	K27	19.94 ± 3.12 bcd
K14	21.41 ± 5.05 bc		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{5%} (Kateşin): 3.33



Şekil 4.16. Kızılılık meyve örneklerinin Kateşin analiz sonuçları (mg/100 g)

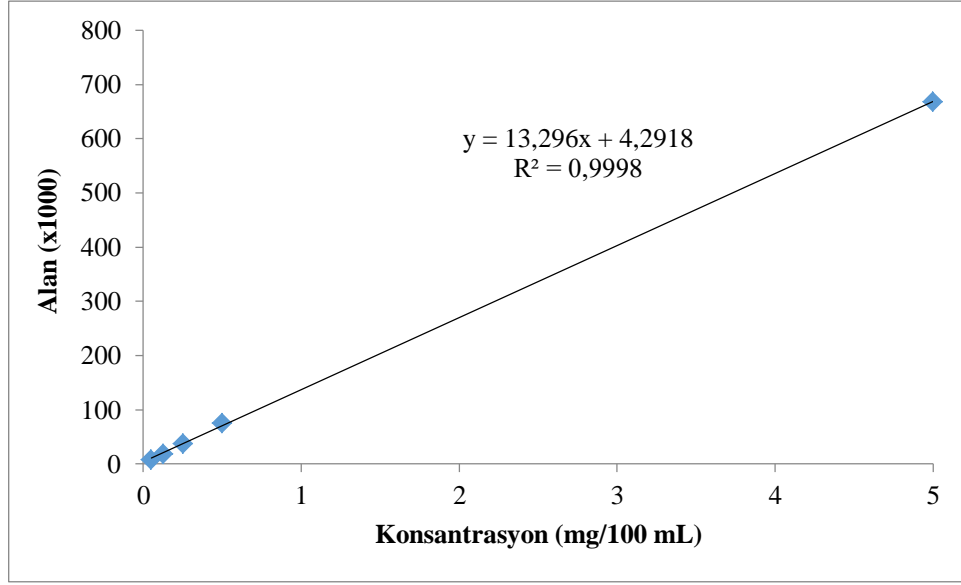
4.5.3. Epikateşin Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstrelerin Epikateşin değerleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Epikateşin standardının 0.05, 0.125, 0.25, 0.50 ve 5.00 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.17). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.16'da, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.17'de ve kıızılcık meyve örneklerinin epikateşin sonuçları ise Tablo 4.18 ve Şekil 4.18'de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen epikateşin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin epikateşin konsantrasyonlarının 4.77 mg/100 g ile 36.33 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek epikateşin konsantrasyonuna sahip genotipler K14 (36.33 mg/100 g) ve K10 (35.13 mg/100 g) genotipleridir. En düşük epikateşin konsantrasyonuna sahip genotipler ise K04 (4.77 mg/100 g), K07 (7.14 mg/100 g), K25 (7.60 mg/100 g) ve K21 (7.93 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.16. Epikateşin ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.050	7717
0.125	19204
0.25	38312
0.50	75346
5.00	668684



Şekil 4.17. HPLC-DAD sistemindeki Epikateşin standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.17. Epikateşine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

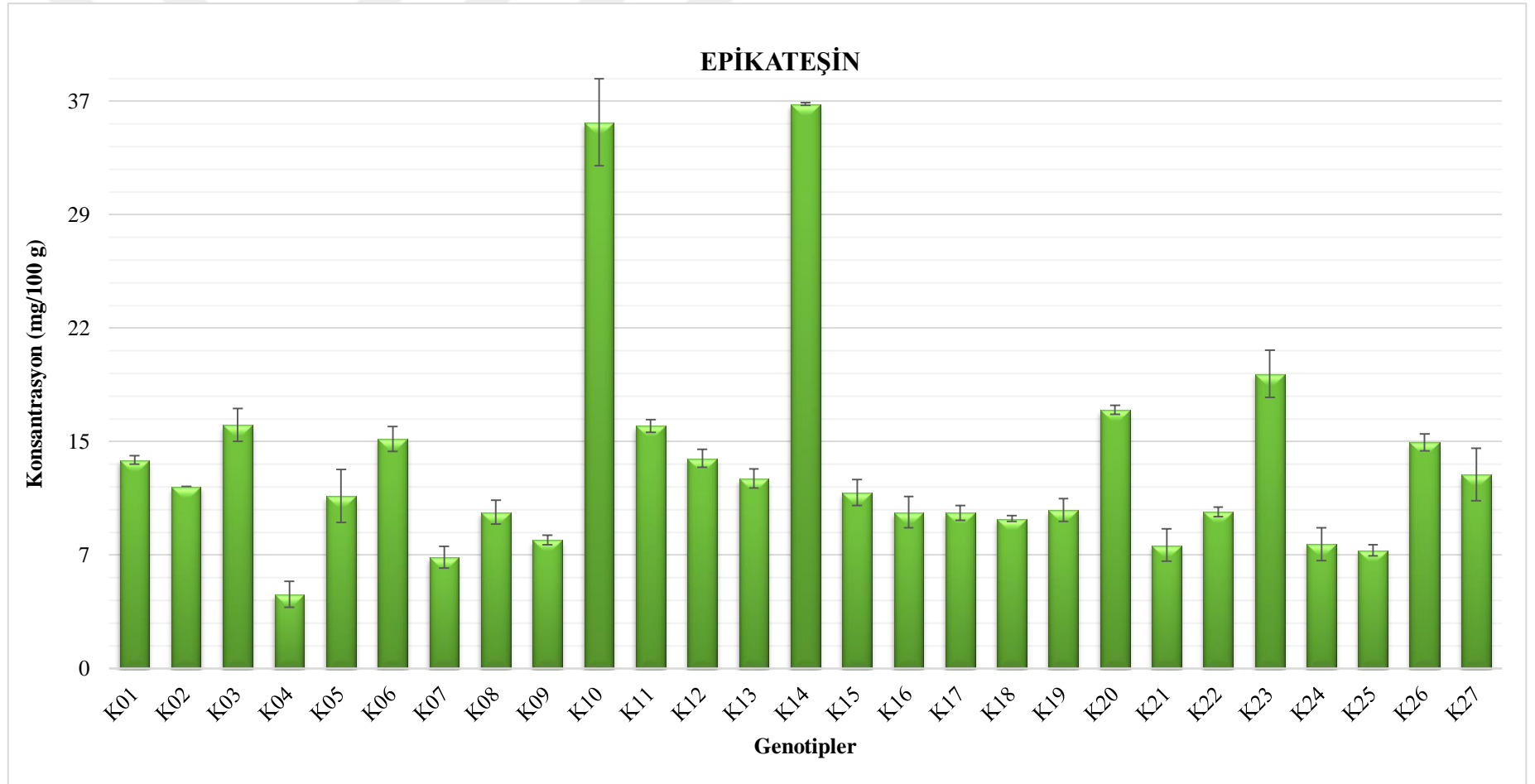
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Epikateşin	16.93	0.026	0.043	278	77.40

*mg/100 mL

Tablo 4.18. Kızılcık meyve örneklerinin Epikateşin sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Epikateşin) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Epikateşin) ^x
K01	13.41 ± 0.53 def	K15	11.31 ± 1.66 fgh
K02	11.70 ± 0.01 efg	K16	10.06 ± 2.02 ghij
K03	15.66 ± 2.08 cd	K17	10.00 ± 0.94 ghij
K04	4.77 ± 1.65 k	K18	9.64 ± 0.40 ghij
K05	11.09 ± 3.40 fghı	K19	10.18 ± 1.47 ghij
K06	14.76 ± 1.63 cde	K20	16.63 ± 0.60 bc
K07	7.14 ± 1.39 jk	K21	7.93 ± 2.10 ıjk
K08	10.05 ± 1.54 ghij	K22	10.07 ± 0.59 ghij
K09	8.26 ± 0.64 hij	K23	18.95 ± 3.04 b
K10	35.13 ± 5.59 a	K24	7.99 ± 2.09 ij
K11	15.59 ± 0.83 cd	K25	7.60 ± 0.70 jk
K12	13.51 ± 1.13 cdef	K26	14.54 ± 1.11 cde
K13	12.22 ± 1.25 efg	K27	12.48 ± 3.40 defg
K14	36.33 ± 0.16 a		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD₀₅ (Epikateşin): 3.20



Şekil 4.18. Kızılıcık meyve örneklerinin Epikateşin analiz sonuçları (mg/100 g)

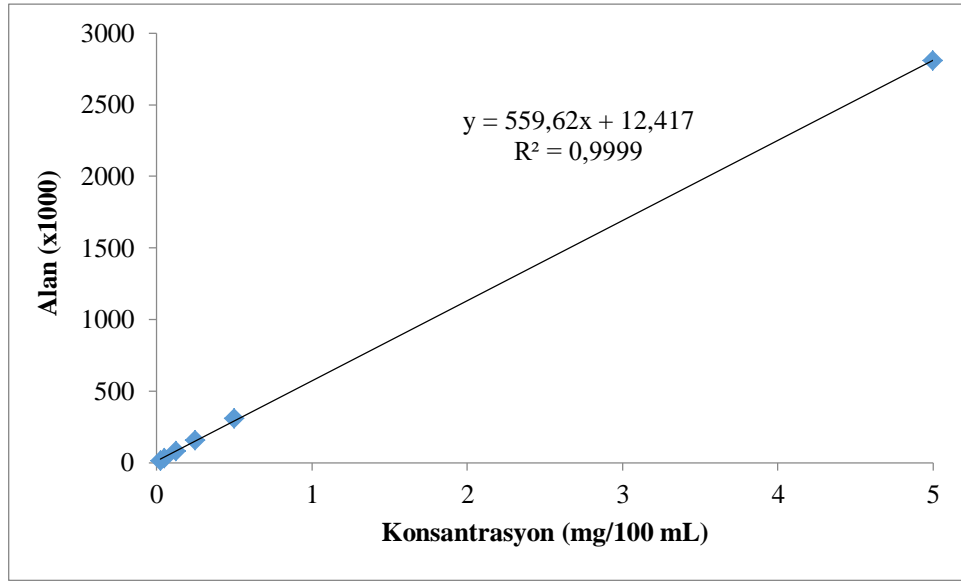
4.5.4. Klorogenik Asit Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların klorogenik asit değerleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Klorogenik asit standardının 0.025, 0.05, 0.125, 0.25, 0.50 ve 5.00 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.19). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.19'da, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.20'de ve kıızılcık meyve örneklerinin klorogenik asit sonuçları ise Tablo 4.21 ve Şekil 4.20'de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen klorogenik asit sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin klorogenik asit konsantrasyonlarının 4.09 mg/100 g ile 33.98 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek klorogenik asit konsantrasyonuna sahip genotipler K14 (33.98 mg/100 g) ve K10 (32.35 mg/100 g) genotipleridir. En düşük klorogenik asit konsantrasyonuna sahip genotipler ise K09 (4.09 mg/100 g), K07 (5.22 mg/100 g) ve K17 (5.69 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.19. Klorogenik Asit'e ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.025	14504
0.05	32550
0.125	80379
0.250	158964
0.50	309160
5.00	2808661



Şekil 4.19. HPLC-DAD sistemindeki Klorojenik asit standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.20. Klorojenik aside ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

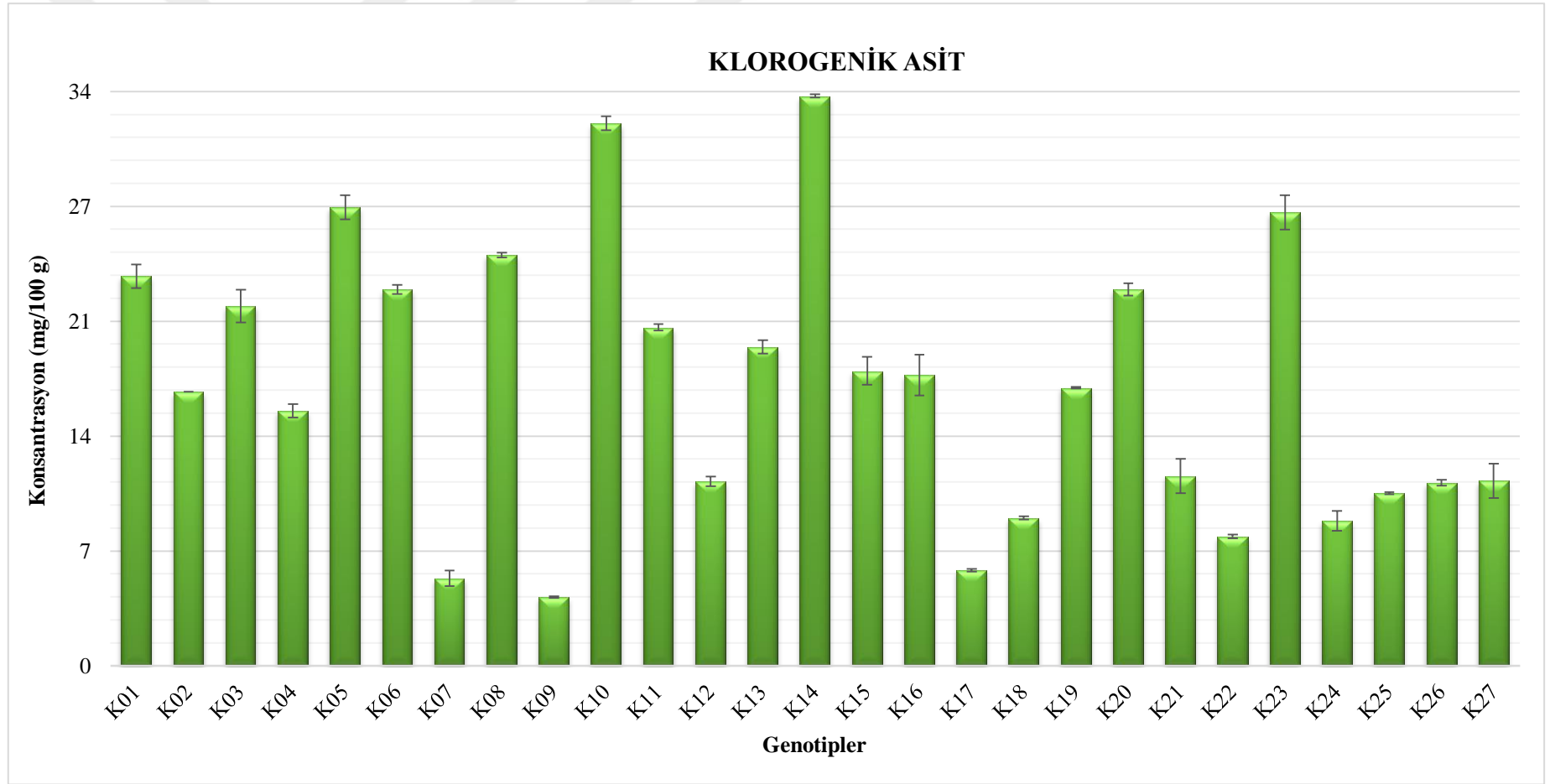
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Klorojenik Asit	15.15	0.005	0.010	325	77.00

*mg/100 mL

Tablo 4.21. Kızılcık meyve örneklerinin Klorojenik asit sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Klorojenik Asit) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Klorojenik Asit) ^x
K01	23.23 ± 1.41 cd	K15	17.57 ± 1.66 gh
K02	16.34 ± 0.00 hı	K16	17.34 ± 2.45 gh
K03	21.45 ± 1.96 de	K17	5.69 ± 0.17 m
K04	15.20 ± 0.80 ı	K18	8.81 ± 0.18 kl
K05	27.34 ± 1.43 b	K19	16.59 ± 0.11 hı
K06	22.43 ± 0.52 d	K20	22.44 ± 0.71 d
K07	5.22 ± 0.93 m	K21	11.32 ± 2.03 j
K08	24.49 ± 0.27 c	K22	7.71 ± 0.21 l
K09	4.09 ± 0.11 m	K23	27.03 ± 2.04 b
K10	32.35 ± 0.83 a	K24	8.64 ± 1.18 kl
K11	20.18 ± 0.39 ef	K25	10.29 ± 0.14 jk
K12	10.99 ± 0.56 j	K26	10.92 ± 0.36 j
K13	19.01 ± 0.81 fg	K27	11.02 ± 2.02 j
K14	33.98 ± 0.17 a		

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (Klorojenik asit): 1.86



Şekil 4.20. Kızılcık meyve örneklerinin Klorogenik Asit analiz sonuçları (mg/100 g)

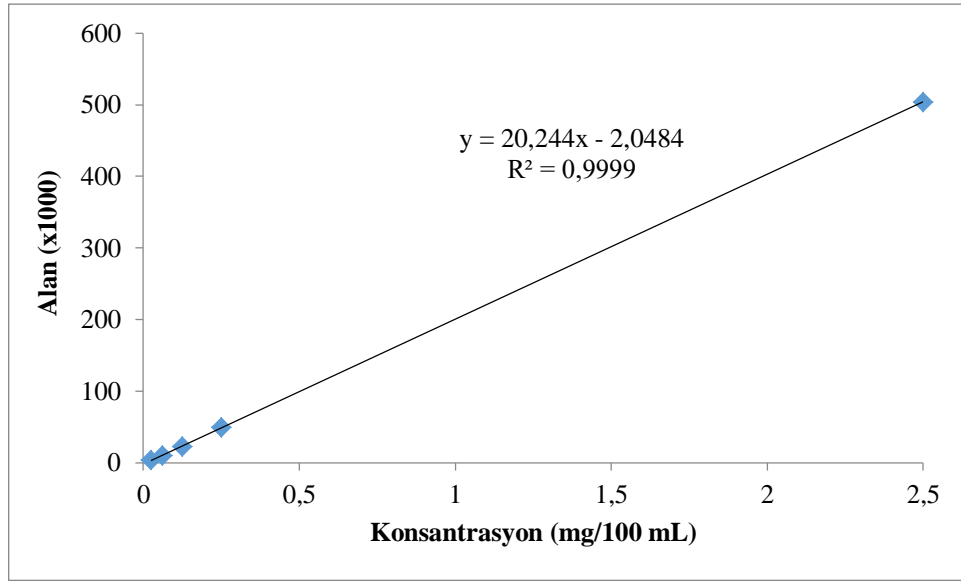
4.5.5. Epigallokateşin Gallat Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların Epigallokateşin gallat değerleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Epigallokateşin gallat standardının 0.025, 0.0625, 0.125, 0.25 ve 2.50 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.21). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.22'de, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.23'de ve kıızılcık meyve örneklerinin epigallokateşin gallat sonuçları ise Tablo 4.24 ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen epigallokateşin gallat sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin epigallokateşin gallat konsantrasyonlarının 4.37 mg/100 g ile 17.57 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek epigallokateşin gallat konsantrasyonuna sahip genotipler K14 (17.57 mg/100 g) ve K10 (17.44 mg/100 g) genotipleridir. En düşük epigallokateşin gallat konsantrasyonuna sahip genotipler ise K24 (4.37 mg/100 g) ve K22 (5.06 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.22. Epigallokateşin Gallat'a ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.25	3315
0.625	9838
1.25	22876
2.50	49460
25.00	503994



Şekil 4.21. HPLC-DAD sistemindeki Epigallokateşin Gallat standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.23. Epigallokateşin Gallat'a ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

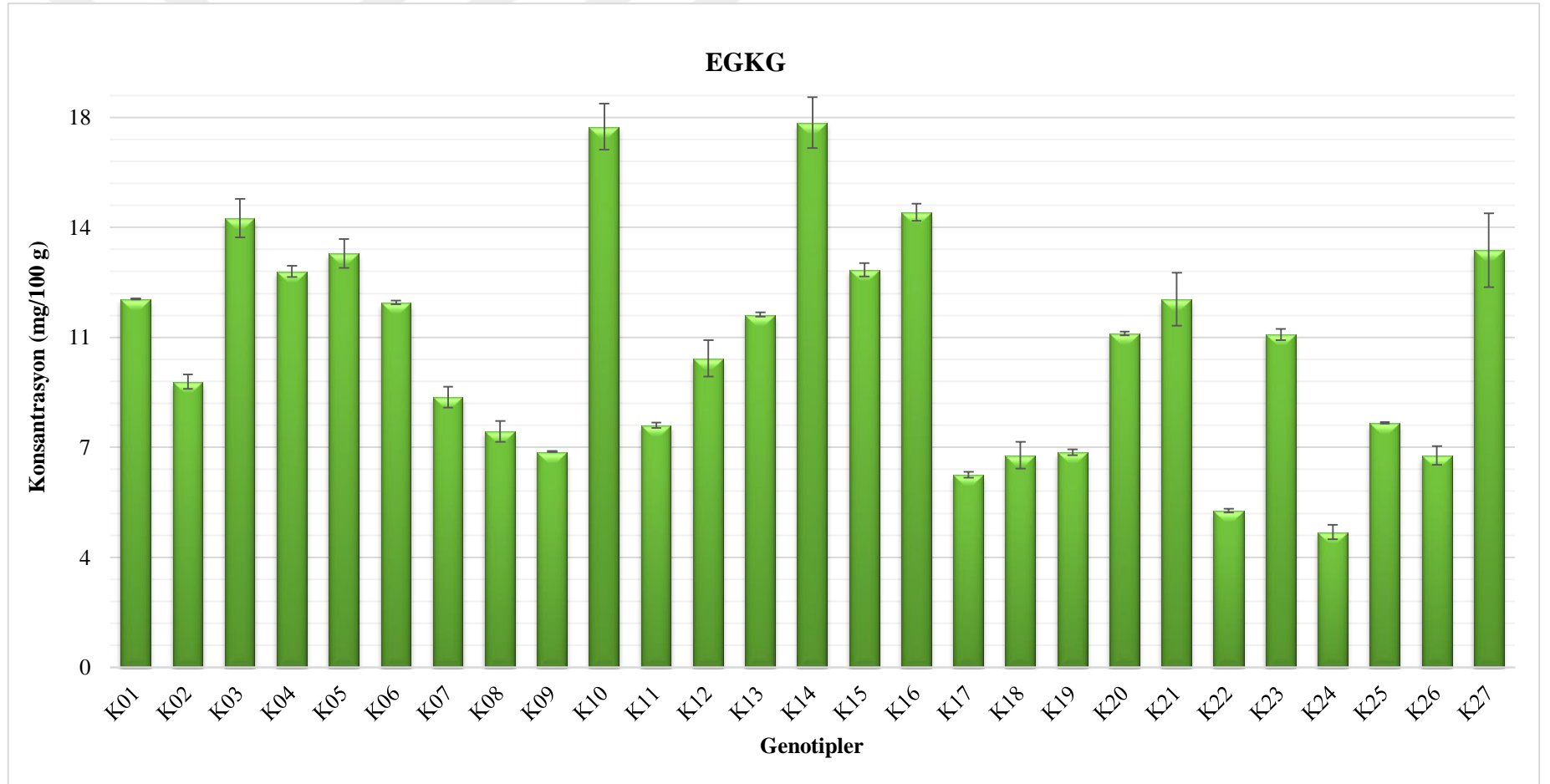
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Epigallokateşin Gallat	16.61	0.044	0.060	273	80.00

*mg/100 mL

Tablo 4.24. Kızılcık meyve örneklerinin Epigallokateşin Gallat sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Epigallokateşin Gallat) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Epigallokateşin Gallat) ^x
K01	11.88 ± 0.02 def	K15	12.83 ± 0.42 cd
K02	9.21 ± 0.47 hı	K16	14.69 ± 0.55 b
K03	14.50 ± 1.24 b	K17	6.21 ± 0.18 lm
K04	12.77 ± 0.35 cde	K18	6.85 ± 0.86 kl
K05	13.36 ± 0.94 bc	K19	6.94 ± 0.18 kl
K06	11.77 ± 0.12 def	K20	10.77 ± 0.11 fg
K07	8.71 ± 0.68 hij	K21	11.88 ± 1.70 def
K08	7.61 ± 0.67 jkl	K22	5.06 ± 0.12 mn
K09	6.96 ± 0.03 kl	K23	10.74 ± 0.36 fg
K10	17.44 ± 1.48 a	K24	4.37 ± 0.46 n
K11	7.80 ± 0.17 ijk	K25	7.88 ± 0.04 ıjk
K12	9.96 ± 1.17 gh	K26	6.83 ± 0.59 kl
K13	11.38 ± 0.13 efg	K27	13.46 ± 2.36 bc
K14	17.57 ± 1.63 a		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD₅ (Epigallokateşin gallat): 1.42



Şekil 4.22. Kızılcık meyve örneklerinin EGKG (Epigallokateşin Gallat) analiz sonuçları (mg/100 g)

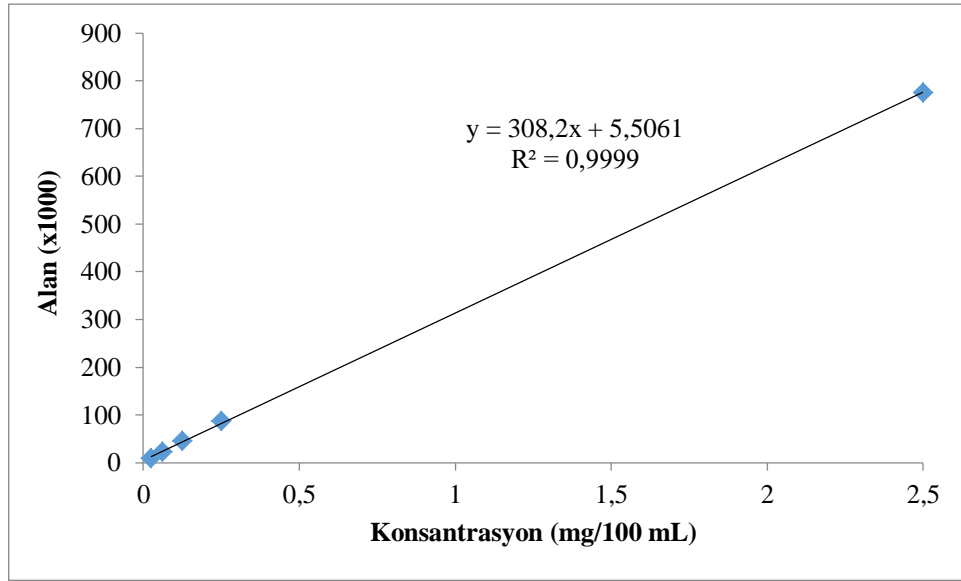
4.5.6. Rutin Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların Rutin değerleri belirlenmiştir. HPLC-DAD sisteminde ölçüm yapılarak sonuçlar mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Rutin standardının 0.025, 0.0625, 0.125, 0.25 ve 2.5 mg/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.23). Konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları Tablo 4.25'de, kalibrasyon grafiğine ait veriler, LOD, LOQ, dalga boyu ile geri alma değerleri Tablo 4.26'da ve kıızılcık meyve örneklerinin rutin sonuçları ise Tablo 4.27 ve Şekil 4.24'de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen rutin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin rutin konsantrasyonlarının 3.69 mg/100 g ile 15.68 mg/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek rutin konsantrasyonuna sahip genotipler K05 (15.68 mg/100 g) ve K04 (15.00 mg/100 g) genotipleridir. En düşük rutin konsantrasyonuna sahip genotipler ise K09 (3.69 mg/100 g), K17 (3.92 mg/100 g) ve K07 (4.29 mg/100 g) genotipleridir.

Tablo 4.25. Rutine ait konsantrasyon ve pik alanı ortalama değerleri

Konsantrasyon, mg/100 mL	Pik alanı
0.025	9853
0.0625	22947
0.125	45157
0.25	87034
2.50	775575



Şekil 4.23. HPLC-DAD sistemindeki Rutin standardı kalibrasyon grafiği

Tablo 4.26. Rutine ait alıkonma zamanı, LOD, LOQ, dalga boyu ve geri alma değerleri

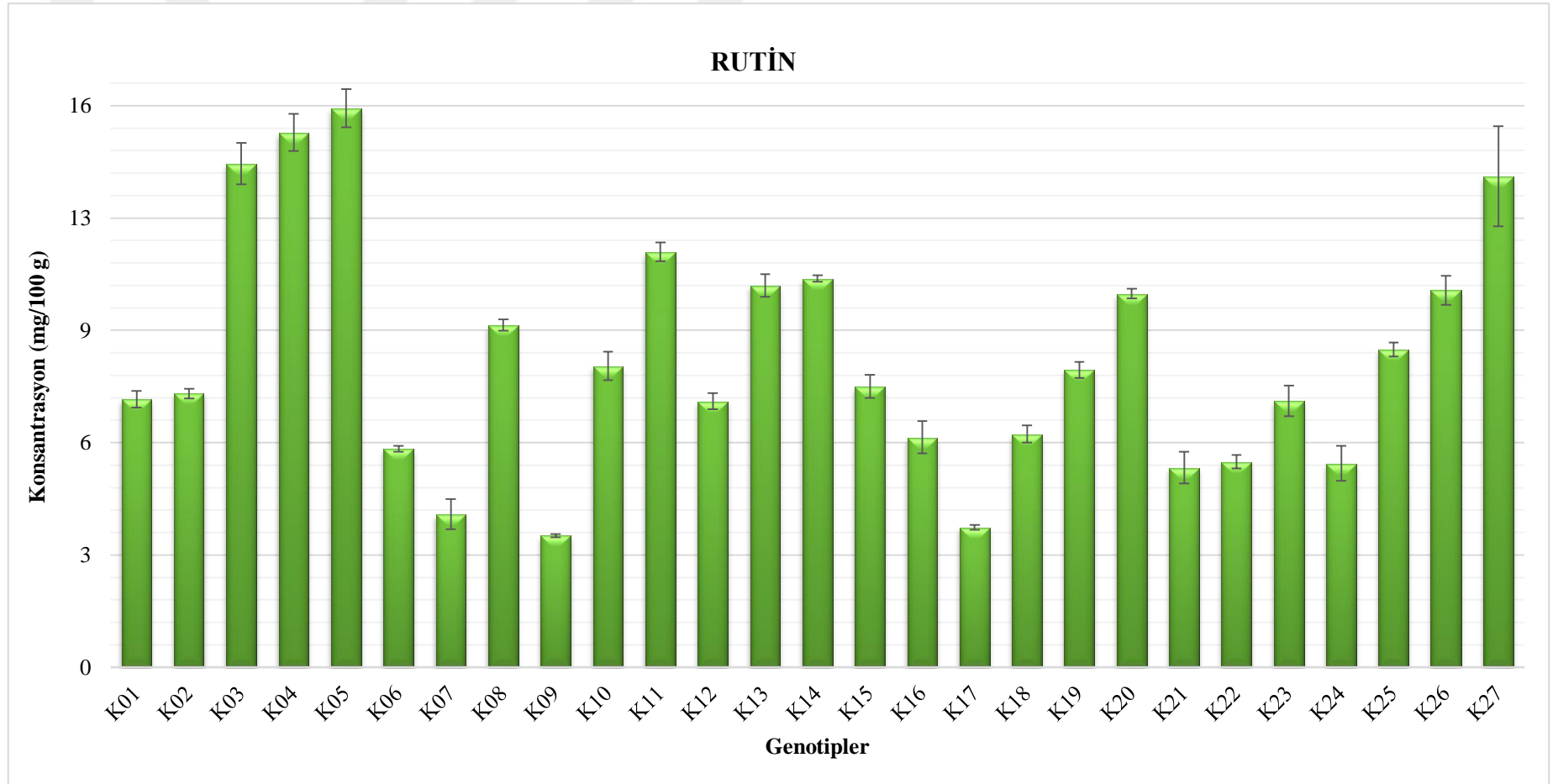
Fenolik Bileşen	Alıkonma Zamanı (dk)	LOD*	LOQ*	Dalga Boyu (nm)	Geri Alma (%)
Rutin	18,94	0,012	0,019	354	98,44

*mg/100 mL

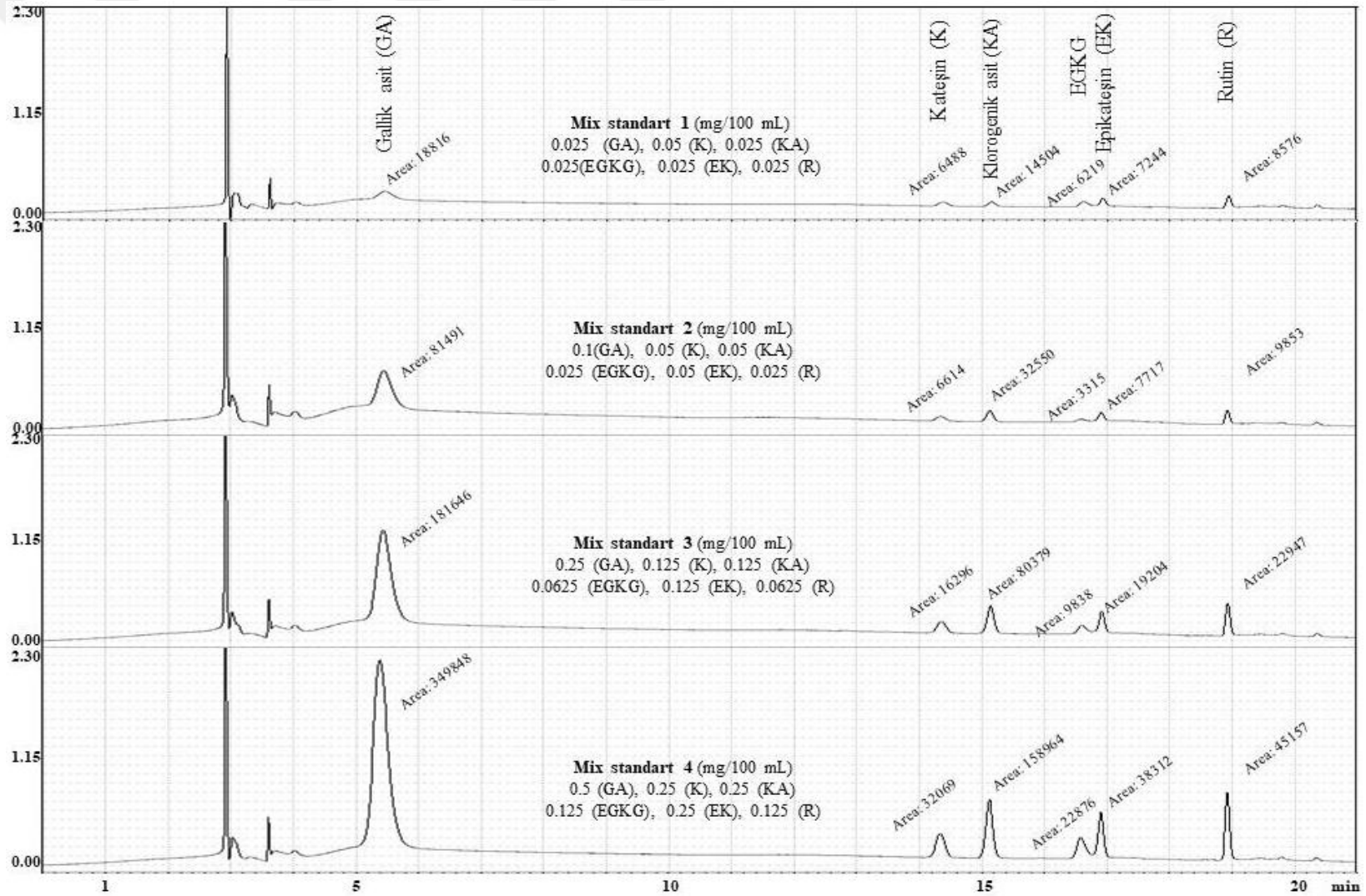
Tablo 4.27. Kızılcık meyve örneklerinin Rutin sonuçları (mg/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Rutin) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Rutin) ^x
K01	7.51 ± 0.45 ghij	K15	7.87 ± 0.65 fgh
K02	7.67 ± 0.27 fghı	K16	6.44 ± 0.90 ıjk
K03	14.13 ± 1.16 b	K17	3.92 ± 0.13 m
K04	15.00 ± 1.04 ab	K18	6.53 ± 0.47 hıjk
K05	15.68 ± 1.08 a	K19	8.34 ± 0.45 efg
K06	6.12 ± 0.17 jk	K20	10.47 ± 0.27 cd
K07	4.29 ± 0.85 lm	K21	5.60 ± 0.88 kl
K08	9.59 ± 0.32 de	K22	5.76 ± 0.38 k
K09	3.69 ± 0.09 m	K23	7.47 ± 0.86 ghij
K10	8.44 ± 0.79 efg	K24	5.71 ± 0.98 k
K11	11.64 ± 0.52 c	K25	8.91 ± 0.39 ef
K12	7.46 ± 0.44 ghij	K26	10.57 ± 0.80 cd
K13	10.70 ± 0.62 cd	K27	13.77 ± 2.81 b
K14	10.90 ± 0.18 cd		

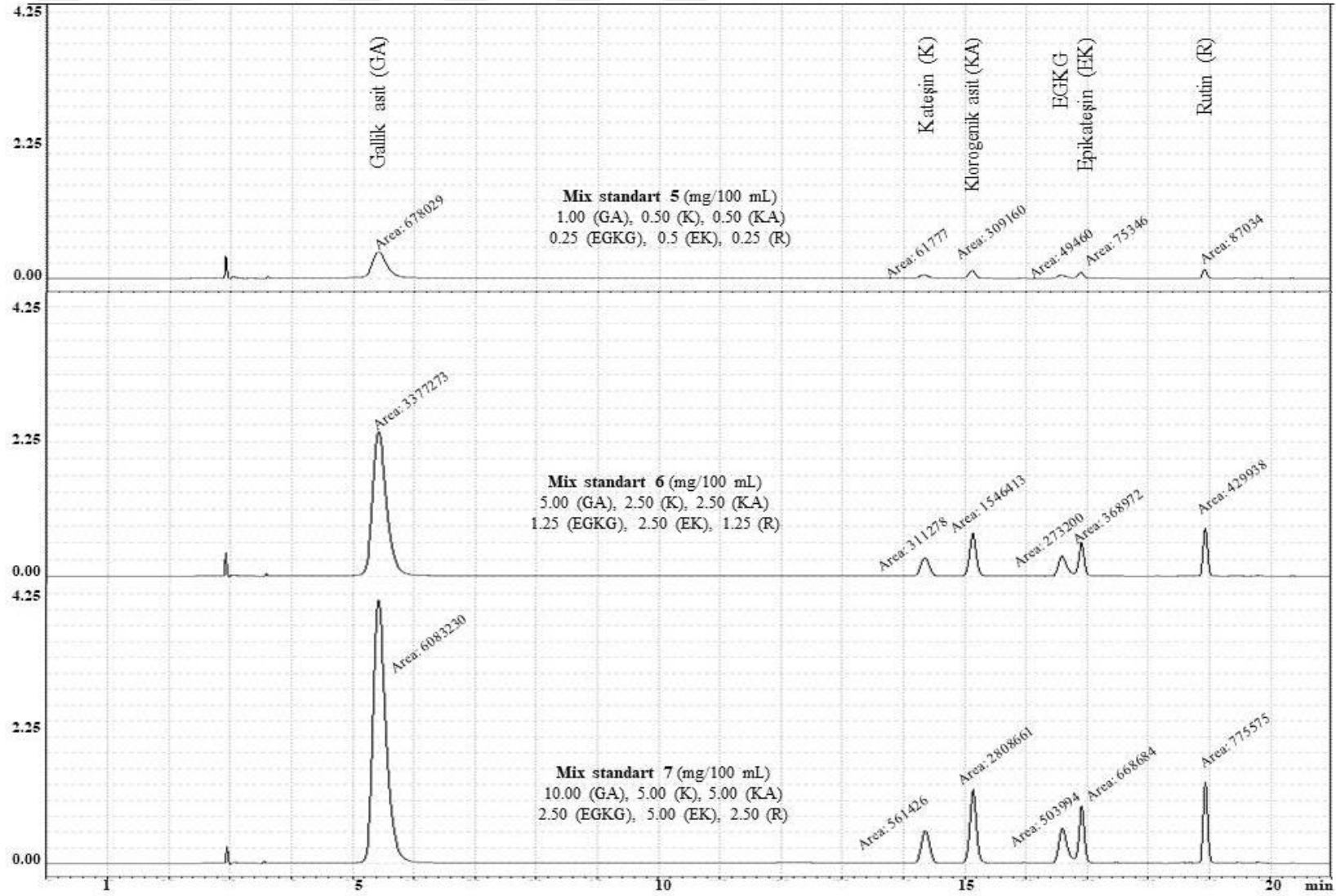
^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD₅ (Rutin): 1.38



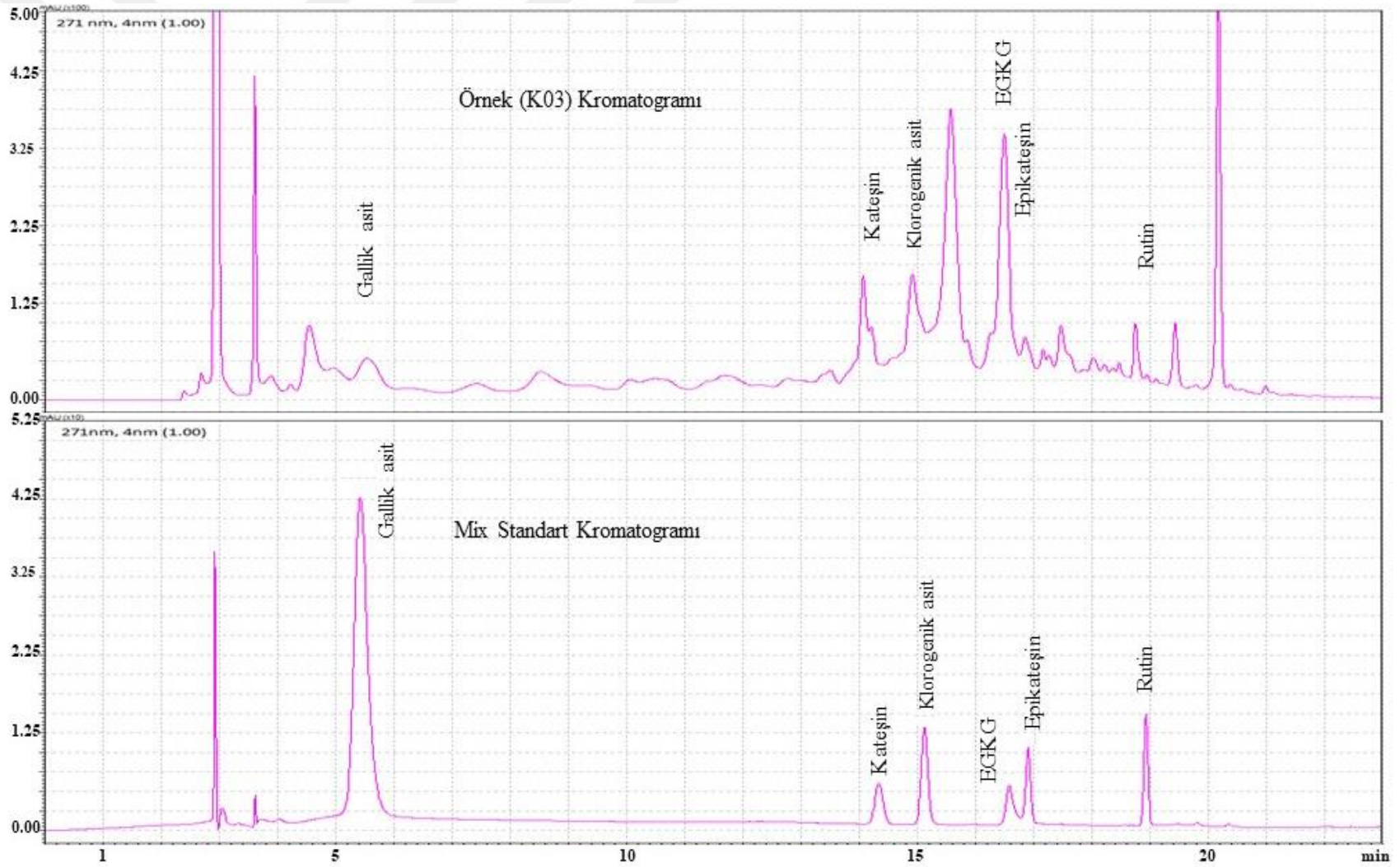
Şekil 4.24. Kızılcık meyve örneklerinin Rutin analiz sonuçları (mg/100 g)



Şekil 4.25. HPLC-DAD ile Gallik Asit, Katesin, Klorogenik Asit, Epigallokateşin Gallat, Epikateşin ve Rutin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltilerine (mix standart 1, 2, 3 ve 4) ait kromatogramlar (EGKG: Epigallaokateşin Gallat)



Şekil 4.26. HPLC-DAD ile Gallik Asit, Kateşin, Klorogenik Asit, Epigallokateşin Gallat, Epikateşin ve Rutin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltilerine (mix standart 5, 6 ve 7) ait kromatogramlar (EGKG: Epigallaokateşin Gallat)



Şekil 4.27. HPLC-DAD ile Gallik Asit (0.10 mg/100 mL), Kateşin (0.50 mg/100 mL), Klorogenik Asit (0.50 mg/100 mL), EGKG (0.25 mg/100 mL), Epikateşin (0.50 mg/100 mL) ve Rutin (0.25 mg/100 mL) bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltisine ve örneğe (K03) ait kromatogramlar (EGKG: Epigallaokateşin Gallat)

4.6. HPLC’de Tayin Edilen Şeker Bileşenlerinin Konsantrasyonları

4.6.1. Fruktoz Analiz Sonuçları

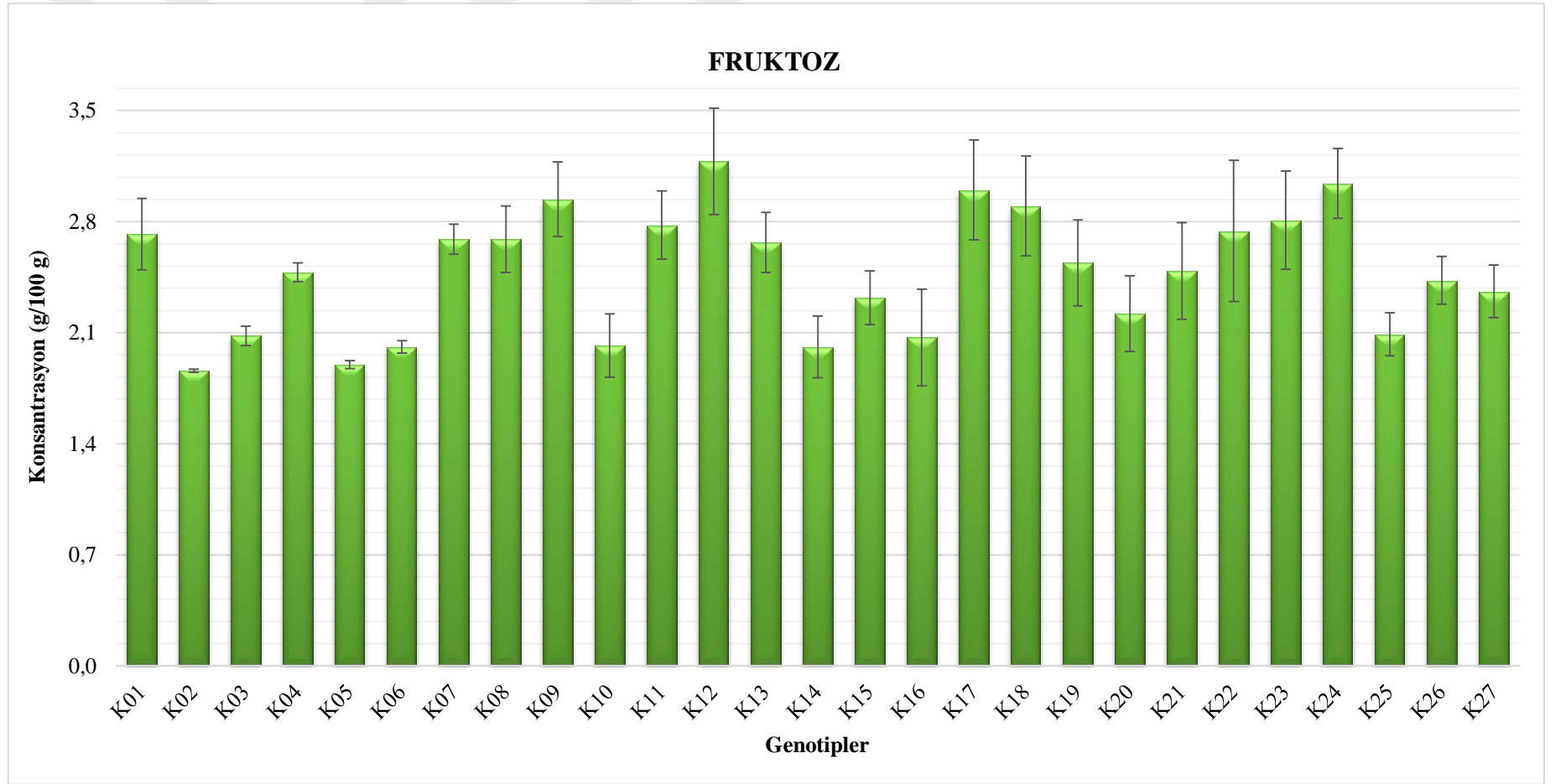
Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin fruktoz değerleri HPLC-RID sisteminde belirlenmiş ve sonuçlar g/100 g olarak ifade edilmiştir. Fruktoz standardının 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 ve 5.00 g/100 mL’lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Kızılcık meyve örneklerinin fruktoz sonuçları Tablo 4.28 ve Şekil 4.28’de verilmiştir.

Kızılcık meyvelerinin HPLC-RID sisteminde tayin edilen fruktoz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 4.28). Genotiplere ait meyvelerin fruktoz konsantrasyonlarının 1.86 g/100 g ile 3.18 g/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en düşük fruktoz içeriğiyle öne çıkan genotipler K02 (1.86 g/100 g), K05 (1.90 g/100 g), K14 (2.01 g/100 g), K06 (2.01 g/100 g) ve K10 (2.02 g/100 g) genotipleridir. En yüksek fruktoz içeriğine sahip genotipler ise K12 (3.18 g/100 g), K24 (3.04 g/100 g), K17 (3.00 g/100 g) ve K09 (2.94 g/100 g) genotipleridir (Şekil 4.28).

Tablo 4.28. Kızılcık meyve örneklerinin Fruktoz sonuçları (g/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Fruktoz) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Fruktoz) ^x
K01	2.72 ± 0.45 abcde	K15	2.32 ± 0.34 bcdef
K02	1.86 ± 0.02 f	K16	2.07 ± 0.61 def
K03	2.08 ± 0.12 def	K17	3.00 ± 0.63 ab
K04	2.48 ± 0.12 abcdef	K18	2.90 ± 0.63 abc
K05	1.90 ± 0.05 f	K19	2.54 ± 0.54 abcdef
K06	2.01 ± 0.08 ef	K20	2.22 ± 0.48 cdef
K07	2.69 ± 0.19 abcde	K21	2.49 ± 0.61 abcdef
K08	2.69 ± 0.42 abcde	K22	2.74 ± 0.89 abcde
K09	2.94 ± 0.47 abc	K23	2.81 ± 0.62 abcd
K10	2.02 ± 0.40 ef	K24	3.04 ± 0.44 ab
K11	2.78 ± 0.43 abcd	K25	2.09 ± 0.27 def
K12	3.18 ± 0.67 a	K26	2.43 ± 0.30 bcdef
K13	2.67 ± 0.38 abcde	K27	2.36 ± 0.33 bcdef
K14	2.01 ± 0.39 ef		

^x Ortalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{0.05} (Fruktoz): 0.74



Şekil 4.28. Kızılcık meyve örneklerinin Fruktöz analiz sonuçları (g/100 g)

4.6.2. Sakkaroz Analiz Sonuçları

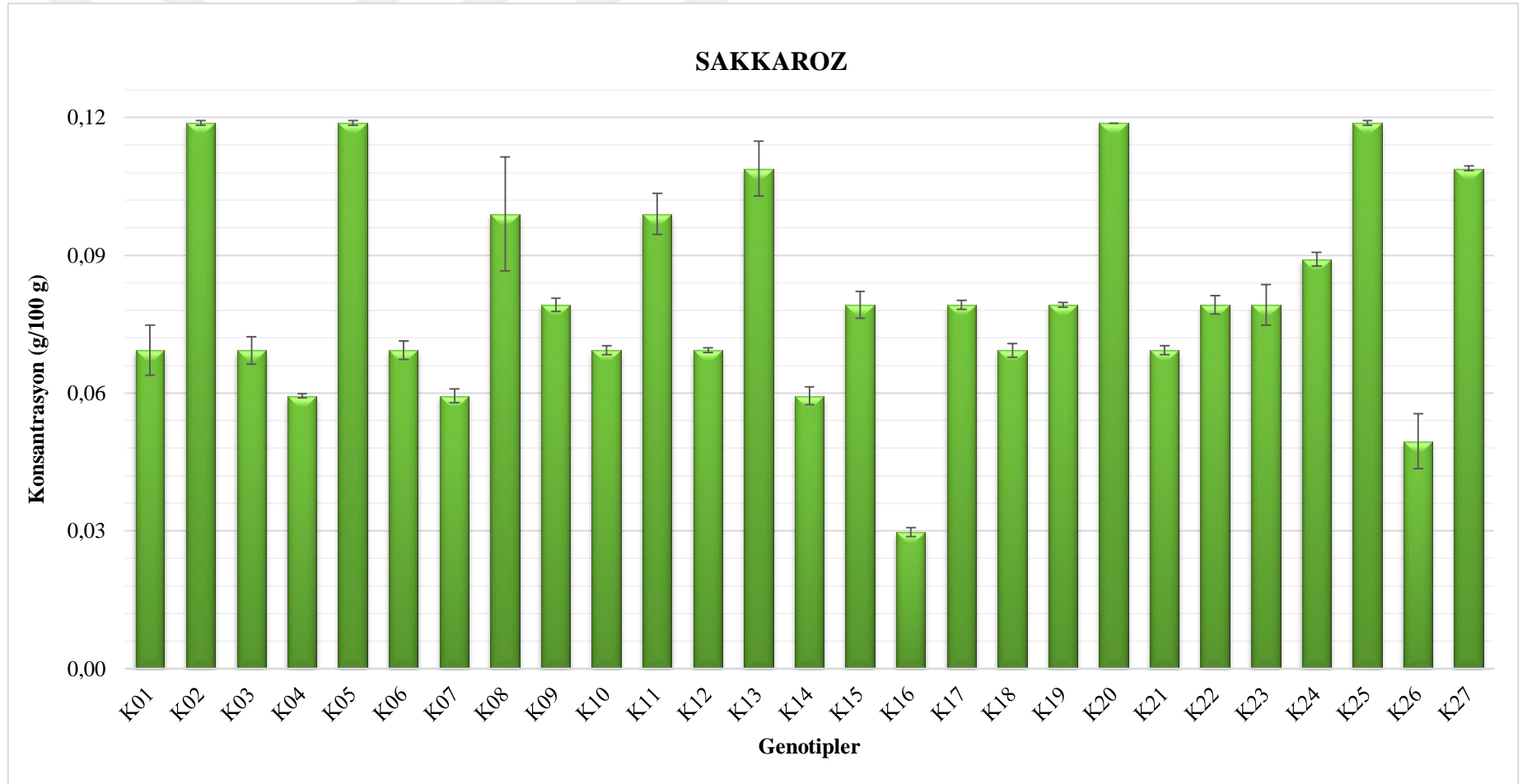
Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin sakkaroz değerleri HPLC-RID sisteminde belirlenmiş ve sonuçlar g/100 g olarak ifade edilmiştir. Sakkaroz standardının 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 ve 5.00 g/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Kızılcık meyve örneklerinin sakkaroz sonuçları Tablo 4.29 ve Şekil 4.29'da verilmiştir.

Kızılcık meyvelerinin HPLC-RID sisteminde tayin edilen sakkaroz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 4.29). Genotiplere ait meyvelerin sakkaroz konsantrasyonlarının 0.03 g/100 g ile 0.12 g/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre en düşük sakkaroz içeriğiyle öne çıkan genotip K16 (0.03 g/100 g) olmuştur. En yüksek sakkaroz içeriğine sahip genotipler ise K02 (0.12 g/100 g), K20 (0.12 g/100 g), K25 (0.12 g/100 g), K05 (0.12 g/100 g) ve K13 (0.11 g/100 g) genotipleridir (Şekil 4.29).

Tablo 4.29. Kızılcık meyve örneklerinin Sakkaroz sonuçları (g/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Sakkaroz) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Sakkaroz) ^x
K01	0.07 ± 0.011 fgh	K15	0.08 ± 0.006 ef
K02	0.12 ± 0.001 a	K16	0.03 ± 0.002 m
K03	0.07 ± 0.006 fgh	K17	0.08 ± 0.002 fgh
K04	0.06 ± 0.001 jkl	K18	0.07 ± 0.003 fgh ₁
K05	0.12 ± 0.001 ab	K19	0.08 ± 0.001 ef
K06	0.07 ± 0.004 hijk	K20	0.12 ± 0.000 a
K07	0.06 ± 0.003 ijkl	K21	0.07 ± 0.002 fghij
K08	0.10 ± 0.025 cd	K22	0.08 ± 0.004 efg
K09	0.08 ± 0.003 ef	K23	0.08 ± 0.009 ef
K10	0.07 ± 0.002 ghijk	K24	0.09 ± 0.003 de
K11	0.10 ± 0.009 d	K25	0.12 ± 0.001 a
K12	0.07 ± 0.001 fgh	K26	0.05 ± 0.012 l
K13	0.11 ± 0.012 ab	K27	0.11 ± 0.001 bc
K14	0.06 ± 0.004 kl		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar $p > 0.05$ düzeyinde önemsizdir. $LSD_{\%5}$ (Sakkaroz): 0.01



Şekil 4.29. Kızılcık meyve örneklerinin Sakkaroz analiz sonuçları (g/100 g)

4.6.3. Glikoz Analiz Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin glikoz değerleri HPLC-RID sisteminde belirlenmiş ve sonuçlar g/100 g olarak ifade edilmiştir. Glikoz standardının 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 ve 5.00 g/100 mL'lik çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Kızılcık meyve örneklerinin glikoz sonuçları Tablo 4.30 ve Şekil 4.30'da verilmiştir.

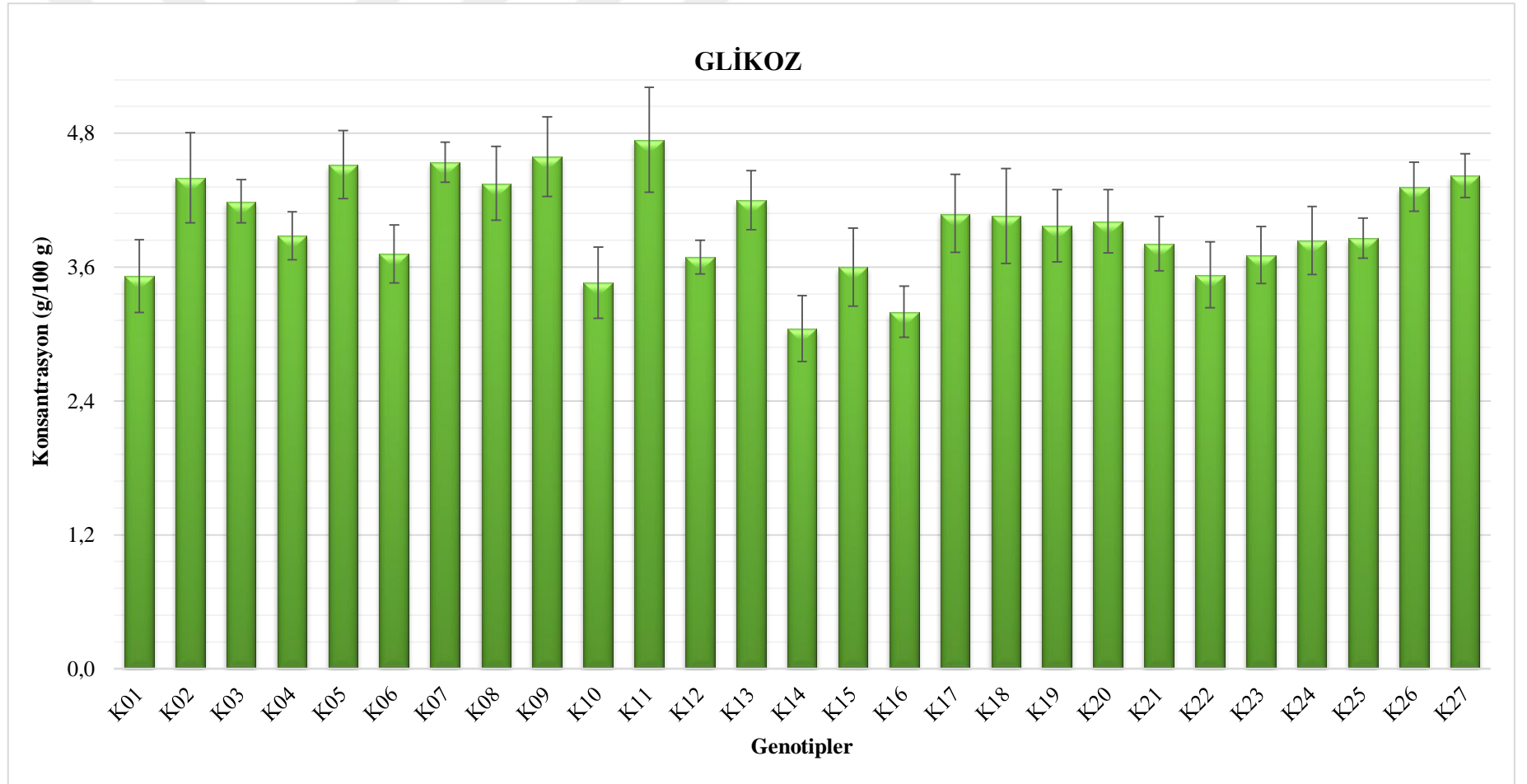
Kızılcık meyvelerinin HPLC-RID sisteminde tayin edilen glikoz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.30).

Tablo 4.30. Kızılcık meyve örneklerinin Glikoz sonuçları (g/100 g)

Genotip Adı	Ortalama (Glikoz*) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Glikoz*) ^x
K01	3.52 ± 0.65	K15	3.60 ± 0.70
K02	4.40 ± 0.81	K16	3.20 ± 0.46
K03	4.19 ± 0.39	K17	4.08 ± 0.70
K04	3.88 ± 0.43	K18	4.06 ± 0.85
K05	4.52 ± 0.61	K19	3.97 ± 0.65
K06	3.72 ± 0.52	K20	4.01 ± 0.57
K07	4.54 ± 0.36	K21	3.81 ± 0.49
K08	4.35 ± 0.66	K22	3.53 ± 0.59
K09	4.59 ± 0.71	K23	3.71 ± 0.51
K10	3.46 ± 0.64	K24	3.84 ± 0.61
K11	4.74 ± 0.94	K25	3.86 ± 0.36
K12	3.69 ± 0.30	K26	4.32 ± 0.44
K13	4.20 ± 0.53	K27	4.42 ± 0.39
K14	3.05 ± 0.59		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır.

*Genotipler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir.



Şekil 4.30. Kızılcık meyve örneklerinin Glikoz sonuçları (g/100 g)

4.7. Sitotoksik Etki Sonuçları

Kızılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak elde edilen ekstrelerin hem sağlıklı fibroblast hücre hattı (L-929) hem de akciğer kanser hücre hattı (A-549) üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Ekstrelerin sitotoksik etkileri MTT testi ile belirlenmiş ve sonuçlar % hücre canlılığı olarak ifade edilmiştir. Negatif kontrol olarak herhangi bir madde uygulanmamış sadece hücre içeren örnekler ve pozitif kontrol olarak da sisplatin kullanılmıştır. Çalışmada ekstrelerden 100 ve 200 µg/mL'lik dozlar kullanılmış ve % hücre canlılığı her doz için ayrı ayrı hesaplanmıştır (Tablo 4.31-34, Şekil 4.31-35).

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların sitotoksik etkileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 4.31-34).

Ekstraktların sağlıklı hücreler (L-929) üzerindeki sitotoksik etkisi Tablo 4.31, 32 ve Şekil 4.31, 32'de verilmiştir. Çalışılan kıızılcık genotiplerinin 100 ve 200 µg/mL'lik ekstrakt dozlarında sağlıklı hücrelerde toksik etki göstermediği belirlenmiştir. Yalnızca K14, K15, K16, K18, K19, K25 ve K27 genotiplerinin 200 µg/mL'lik ekstrakt dozunda sağlık hücrelerde sınırlı düzeyde (yaklaşık %60-70) hücre canlılığını azalttığı tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.31, 32).

Ekstraktların akciğer kanser hücreleri (A-549) üzerindeki sitotoksik etkisi Tablo 4.33, 34 ve Şekil 4.33, 34'de verilmiştir. Çalışılan kıızılcık genotiplerinin 100 µg/mL'lik ekstrakt dozunda K08 (% 94.12) genotipinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite göstermediği belirlenmiştir. Aynı dozda K18 (% 51.20), K14 (% 53.80) ve K16 (% 55.06) genotipleri akciğer kanser hücrelerine karşı önemli düzeyde sitotoksik aktivite göstermiştir. Diğer genotipler ise düşük düzeyde de olsa akciğer kanser hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.33).

Ekstraktların 200 µg/mL'lik dozunda ise K18 (% 51.29) ve K16 (55.99) genotipleri 100 µg/mL'lik dozda gösterdikleri aktiviteye yakın bir etki göstermişlerdir. Doz artışıyla sitotoksik aktivitesi belirgin bir şekilde artan genotip K14 (% 46.32) genotipi olmuştur. Doz artışına bağlı olarak öne çıkan diğer bir genotip ise K01 (% 57.57) genotipi olmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.34).

Tablo 4.31. Kızılcık meyve örneklerine ait 100 µg/mL ekstraktın sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri

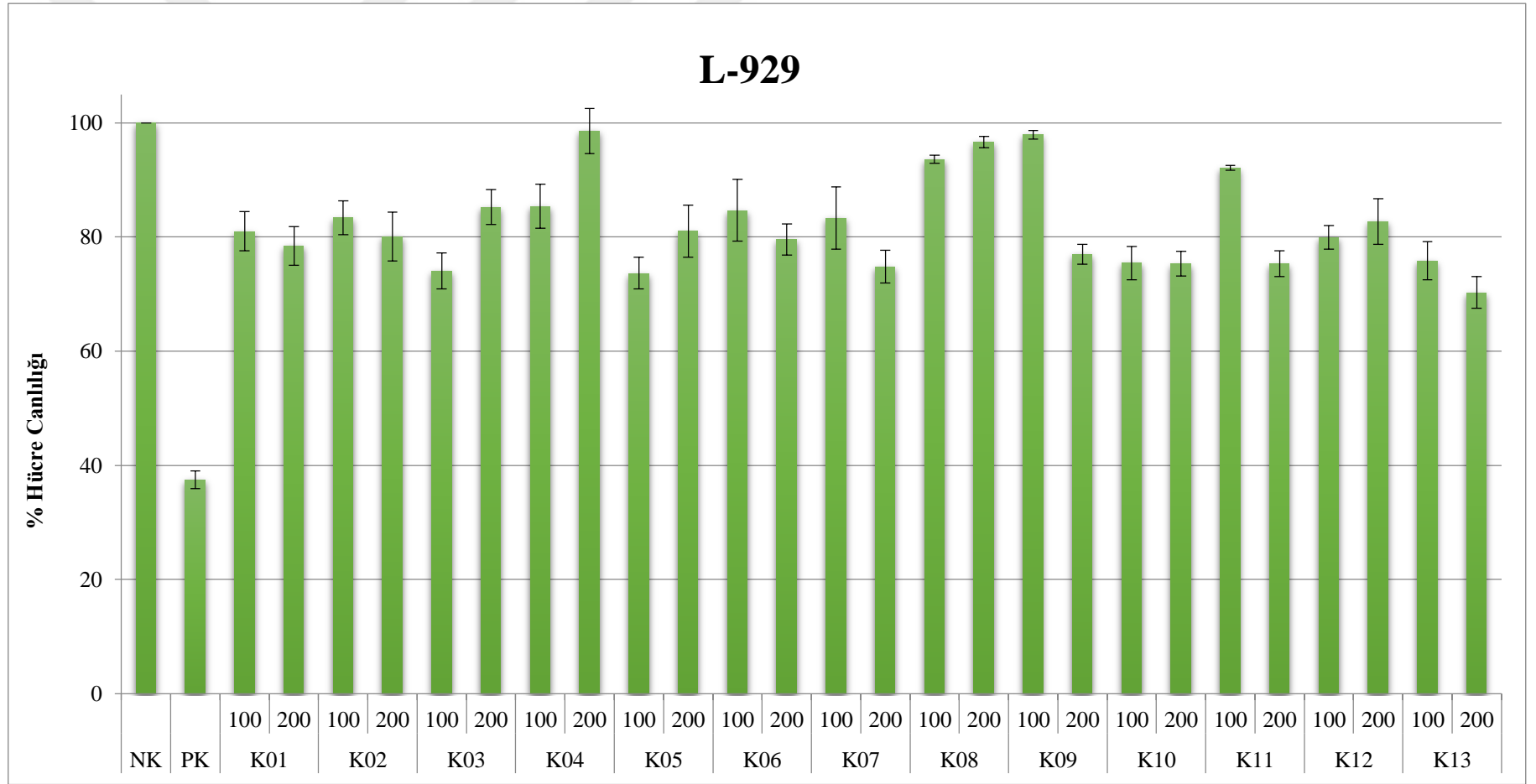
Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x
NK	100.00 ± 0.00 a	K14	65.69 ± 0.59 mn
PK	35.84 ± 2.90 o	K15	73.55 ± 4.33 ijklmn
K01	81.00 ± 6.83 efghi	K16	65.38 ± 4.56 mn
K02	83.40 ± 5.91 defgh	K17	78.99 ± 9.99 efghijk
K03	74.05 ± 6.39 ijklm	K18	68.16 ± 2.02 lmn
K04	85.36 ± 7.69 cdef	K19	65.11 ± 5.40 n
K05	73.65 ± 5.53 ijklmn	K20	80.52 ± 3.35 efghij
K06	84.68 ± 10.78 defg	K21	76.81 ± 6.07 fghijkl
K07	83.31 ± 10.96 defgh	K22	87.46 ± 6.95 cde
K08	93.59 ± 1.40 abc	K23	83.97 ± 6.69 defgh
K09	97.93 ± 1.52 ab	K24	71.80 ± 3.67 jklmn
K10	75.44 ± 5.86 hijkl	K25	73.09 ± 1.70 ijklmn
K11	92.11 ± 0.91 bcd	K26	71.58 ± 6.12 klmn
K12	79.91 ± 4.17 efghijk	K27	65.85 ± 3.35 mn
K13	75.87 ± 6.68 ghijkl		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{5%} (100): 9.60
(NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol)

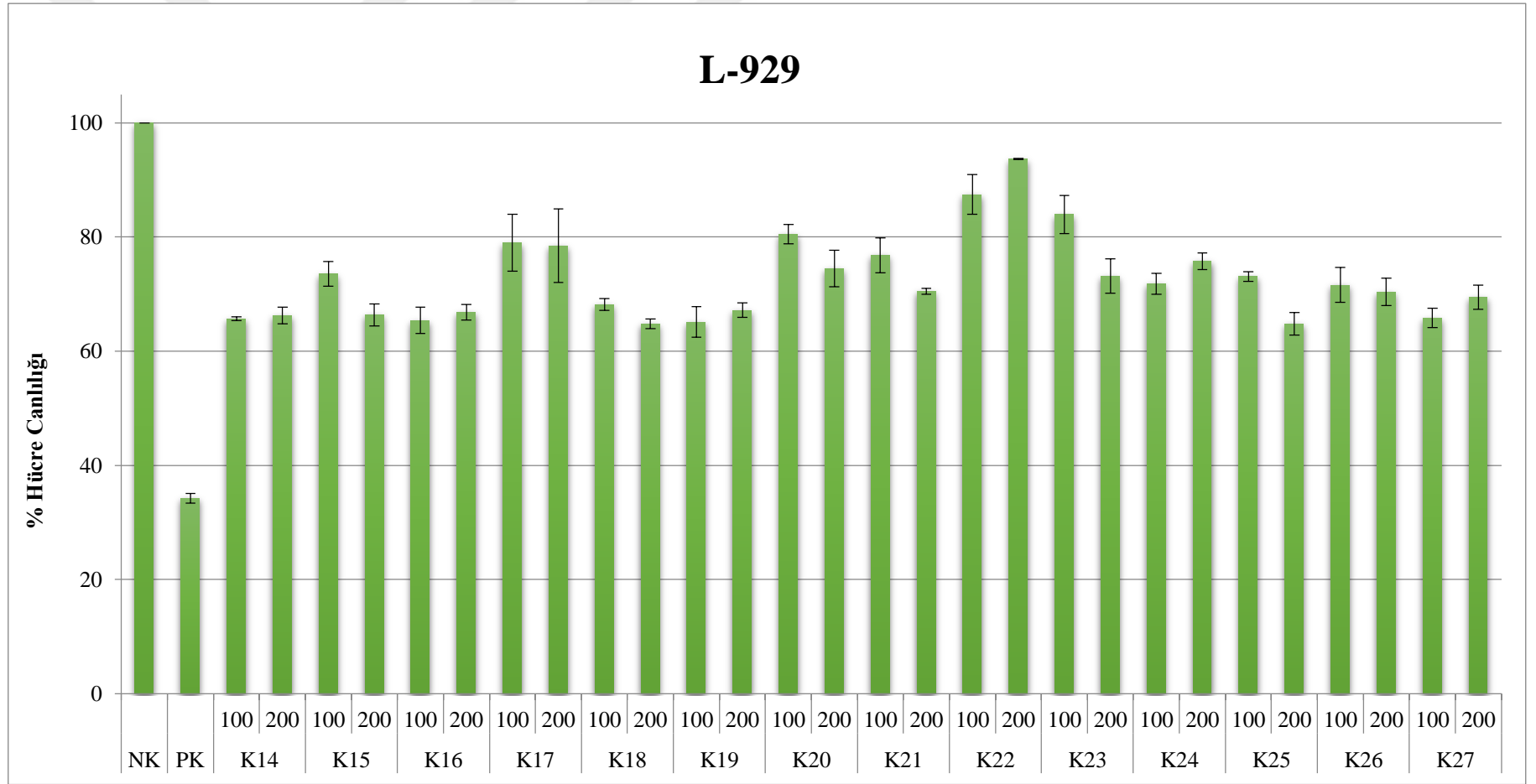
Tablo 4.32. Kızılcık meyve örneklerine ait 200 µg/mL ekstraktın sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri

Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x
NK	100.00 ± 0.00 a	K14	66.27 ± 2.91 jk
PK	35.84 ± 2.90 l	K15	66.36 ± 3.80 ijk
K01	78.44 ± 6.73 cdef	K16	66.78 ± 2.72 hijk
K02	80.09 ± 8.53 cde	K17	78.45 ± 12.88 cdef
K03	85.25 ± 6.03 bc	K18	64.78 ± 1.75 k
K04	98.56 ± 7.87 a	K19	67.20 ± 2.52 hijk
K05	81.03 ± 5.45 cde	K20	74.45 ± 6.39 defghij
K06	79.60 ± 9.09 cde	K21	70.49 ± 0.98 fghijk
K07	74.83 ± 5.77 defgh ₁	K22	93.66 ± 0.24 ab
K08	96.64 ± 2.00 a	K23	73.18 ± 5.97 efghijk
K09	76.97 ± 3.46 cdefg	K24	75.76 ± 2.97 defg
K10	75.29 ± 4.33 defgh	K25	64.77 ± 3.97 k
K11	75.33 ± 4.46 defgh	K26	70.37 ± 4.75 fghijk
K12	82.71 ± 7.94 cd	K27	69.43 ± 4.18 ghijk
K13	70.27 ± 5.59 fghijk		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (200): 9.23
(NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol)



Şekil 4.31. Kızılcık meyve örneklerinin sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K01-K13)



Şekil 4.32. Kızılcık meyve örneklerinin sağlıklı hücre (L-929) hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K14-K27)

Tablo 4.33. Kızılcık meyve örneklerine ait 100 µg/mL ekstraktın akciğer kanser hücre (A-549) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri

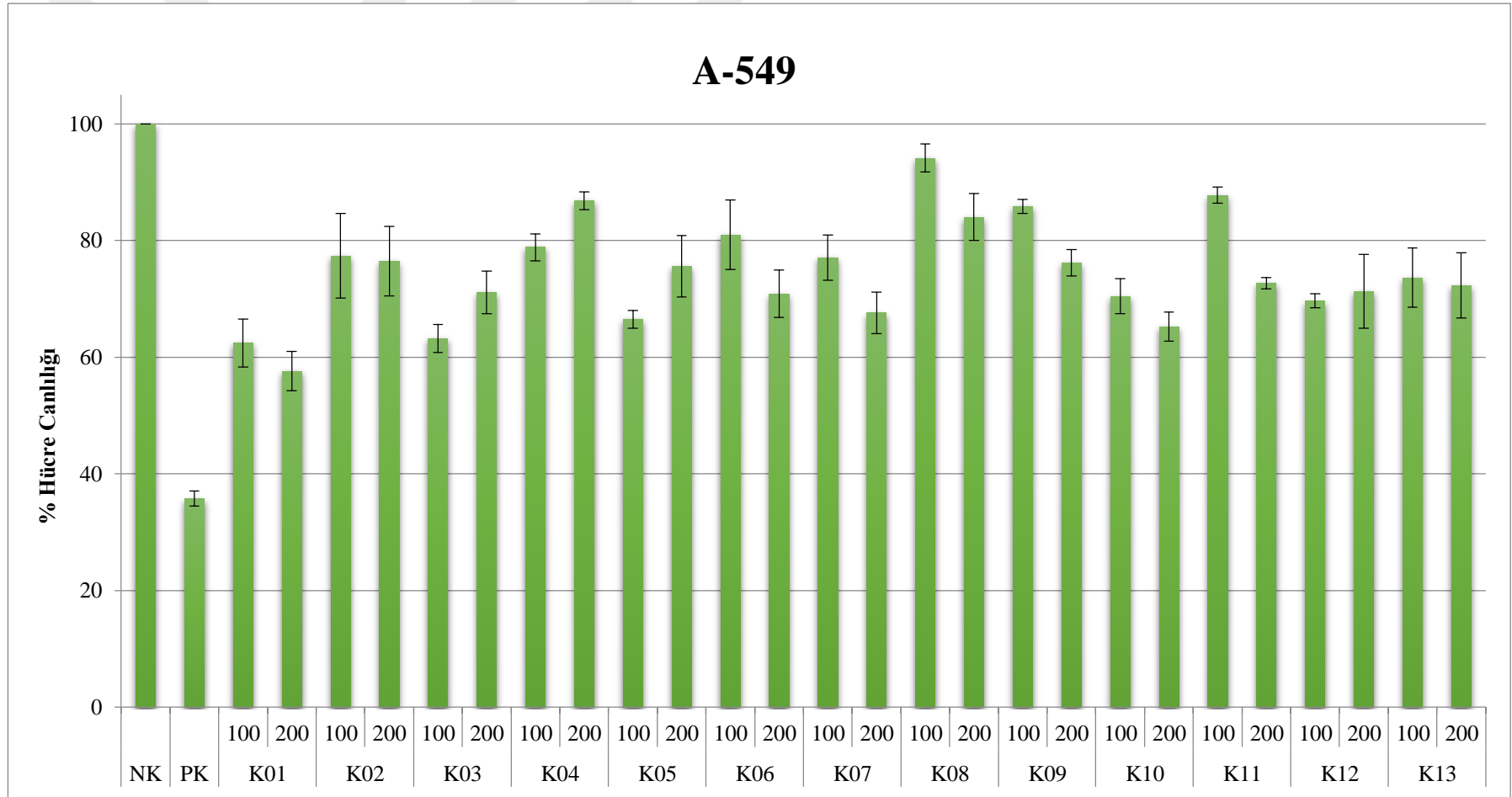
Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x
NK	100.00 ± 0.00 a	K14	53.80 ± 5.60 no
PK	33.91 ± 2.82 p	K15	69.62 ± 5.00 hijkl
K01	62.44 ± 8.17 lmn	K16	55.06 ± 6.25 mno
K02	77.35 ± 14.49 defgh	K17	75.63 ± 1.63 efghı
K03	63.22 ± 4.83 klm	K18	51.20 ± 2.50 o
K04	78.86 ± 4.62 cdefg	K19	64.55 ± 2.74 jkl
K05	66.51 ± 3.06 ijkl	K20	74.08 ± 6.77 fghı
K06	81.00 ± 11.88 cdef	K21	78.19 ± 7.80 defgh
K07	77.04 ± 7.81 defgh	K22	87.91 ± 0.70 bc
K08	94.12 ± 4.80 ab	K23	83.88 ± 2.37 cde
K09	85.84 ± 2.37 bcd	K24	69.42 ± 1.78 hijkl
K10	70.47 ± 5.94 ghijkl	K25	75.27 ± 4.68 efghı
K11	87.78 ± 2.69 bc	K26	72.15 ± 4.91 fghıjk
K12	69.64 ± 2.39 ghijkl	K27	70.52 ± 4.35 ghijkl
K13	73.63 ± 10.20 fghj		

^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{%5} (100): 9.99
(NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol)

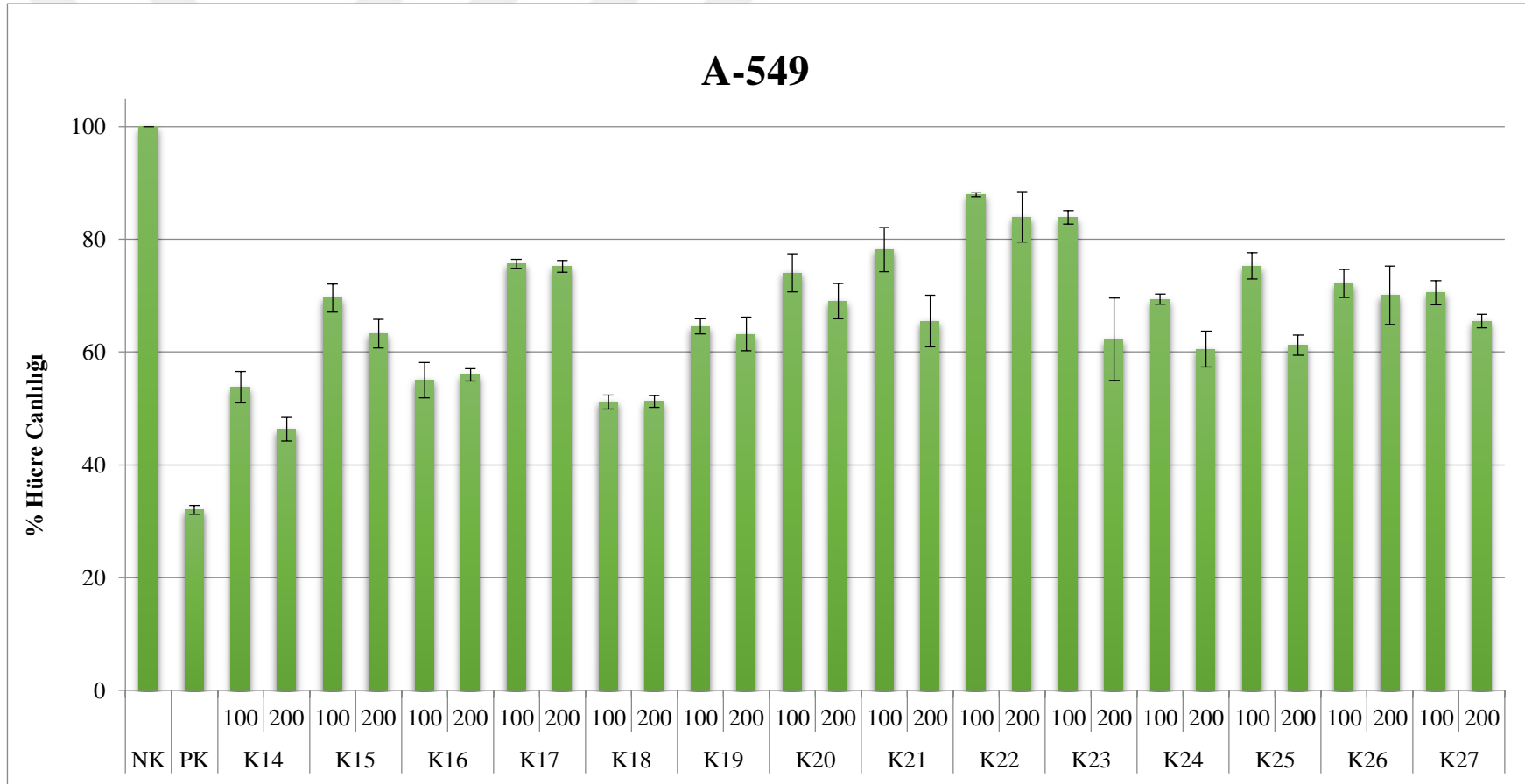
Tablo 4.34. Kızılcık meyve örneklerine ait 200 µg/mL ekstraktın akciğer kanser hücre (A-549) hattı üzerindeki hücre canlılığı % değerleri

Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x	Genotip Adı	Ortalama (Hücre Canlılığı) ^x
NK	100.00 ± 0.00 a	K14	46.32 ± 4.13 k
PK	33.91 ± 2.82 l	K15	63.28 ± 5.06 efghı
K01	57.57 ± 6.76 hijk	K16	55.99 ± 2.20 ıjk
K02	76.46 ± 11.97 bcd	K17	75.18 ± 2.07 cd
K03	71.09 ± 7.33 defg	K18	51.29 ± 2.08 jk
K04	86.81 ± 3.00 b	K19	63.21 ± 5.98 efghı
K05	75.62 ± 10.52 bcd	K20	69.04 ± 6.24 defg
K06	70.84 ± 8.13 defg	K21	65.48 ± 9.13 defghı
K07	67.61 ± 7.10 defgh	K22	83.97 ± 8.91 bc
K08	84.03 ± 8.02 bc	K23	62.29 ± 14.68 efghıj
K09	76.19 ± 4.52 bcd	K24	60.52 ± 6.36 ghıj
K10	65.20 ± 4.97 defghı	K25	61.23 ± 3.52 fghıj
K11	72.68 ± 1.90 cde	K26	70.08 ± 10.42 defg
K12	71.28 ± 12.69 defg	K27	65.52 ± 2.36 defghı
K13	72.31 ± 11.19 def		

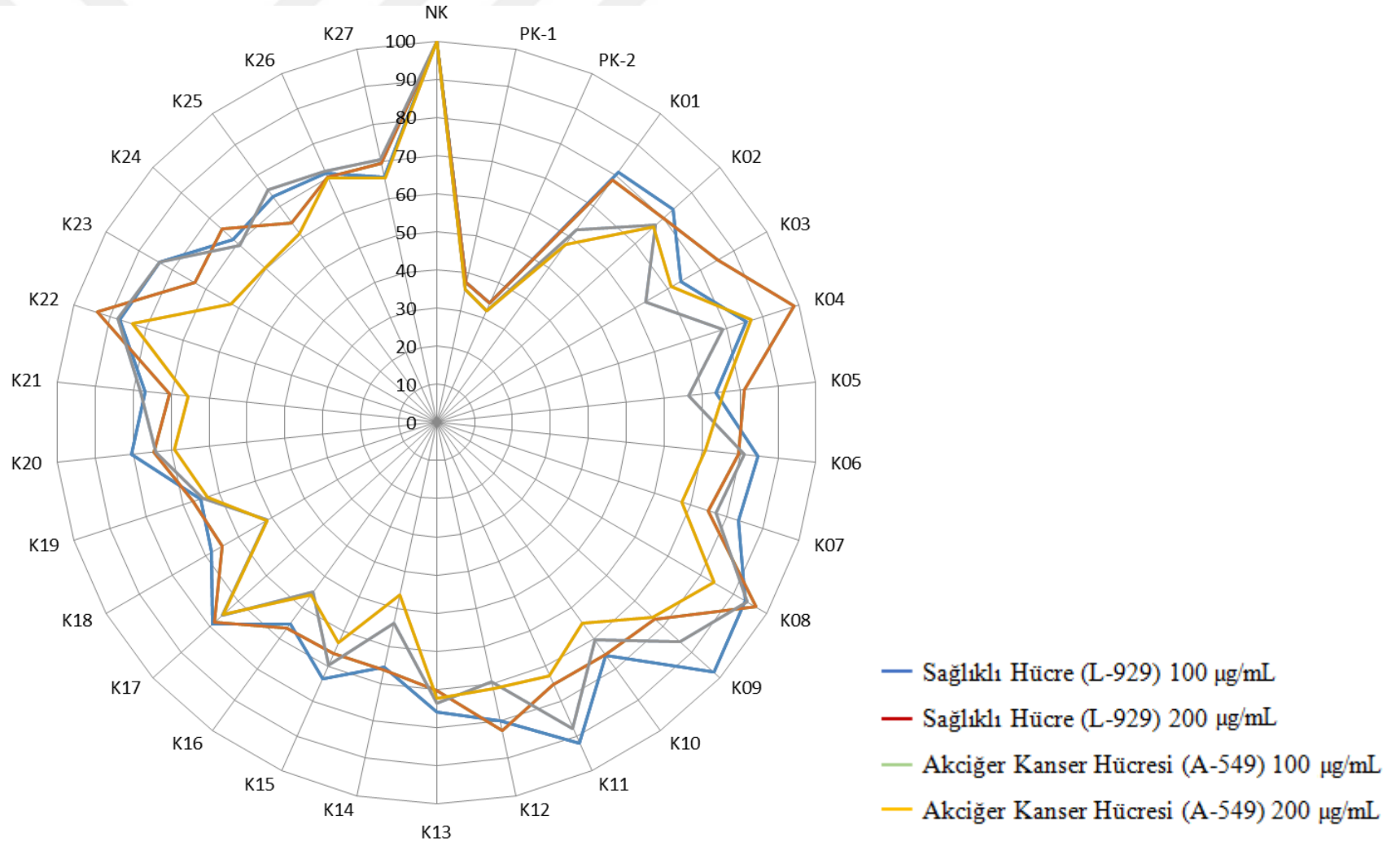
^xOrtalamalar (n=3) LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Aynı harfe sahip ortalamalar p>0.05 düzeyinde önemsizdir. LSD_{0.05} (200): 12.41
(NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol)



Şekil 4.33. Kızılcık meyve örneklerinin akciğer kanseri (A-549) hücre hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K01-K13)



Şekil 4.34. Kızılcık meyve örneklerinin akciğer kanseri (A-549) hücre hattı üzerindeki % hücre canlılığı (Örnekler K14-K27)



Şekil 4.35. Sitotoksik etki sonuçlarının toplu gösterimi

4.8. Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis) Sonuçları

Temel Bileşenler Analizi incelenen bir populasyonda bireyler arasındaki dağılımın ve incelenen karakterler arasındaki korelasyonların incelenmesine katkı sunan çokdeğişkenli bir istatistik metottur (123, 124). Çalışma kapsamında incelenen kıvılcık genotiplerin meyve özelliklerine ait temel bileşenler analizi sonucunda elde edilen toplam 17 bileşenden ilk dört bileşenin eigen ve varyans değerleri Tablo 4.35'te özetlenmiştir.

Analiz sonucunda birinci ve ikinci bileşenin sırasıyla % 39.74 ve % 15.11 olmak üzere ilk iki bileşenin toplam varyansın % 54.85'ini ifade ettiği görülmüştür. Bunu % 11.59 ve % 11.07 ile üçüncü ve dördüncü bileşenler izlemiş, dördüncü bileşen ile birlikte ifade edilen kümülatif varyans % 77.51'e ulaşmıştır. Lu ve ark. (124) tarafından Yeni Zelanda'da yetiştirilen 21 adet kıvılcık çeşidinin incelendiği çalışma kapsamında 6 farklı fiziksel meyve özelliğinde yapılan temel bileşenler analizi sonuçlarında ilk iki bileşenin kümülatif varyansının % 67.9 olduğu bildirilmiştir. Bu değer bu çalışma kapsamında elde edilen değerlere göre yüksek olması incelenen özellikler açısından popülasyondaki varyansın nispeten düşük olmasının yanında incelenen biyokimyasal özellik sayısının azlığından da kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Temel bileşenler analizi sonucunda elde edilen varyansın büyük bir çoğunluğunu ve incelenen karakterlerin tamamına yakını temsil eden ilk iki bileşene ait karakterlerin ve genotiplerin bileşen skor sonuçları Şekil 4.36'daki bi-plot grafikte sunulmuştur. Grafik incelendiğinde Brown ve ark. (123) tarafından bildirilen sonuçlara benzer bir şekilde genotiplerin sınırları keskin bir şekilde belirlenebilecek kümeler halinde dağılım göstermediği görülmüştür. Bununla birlikte, incelenen genotiplerin grafiğin her dört bölümüne de (1. Bölüm: PC1+PC2+, 2. Bölüm: PC1+PC2-, 3. Bölüm: PC1-PC2+, 4. Bölüm: PC1-PC2-) dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

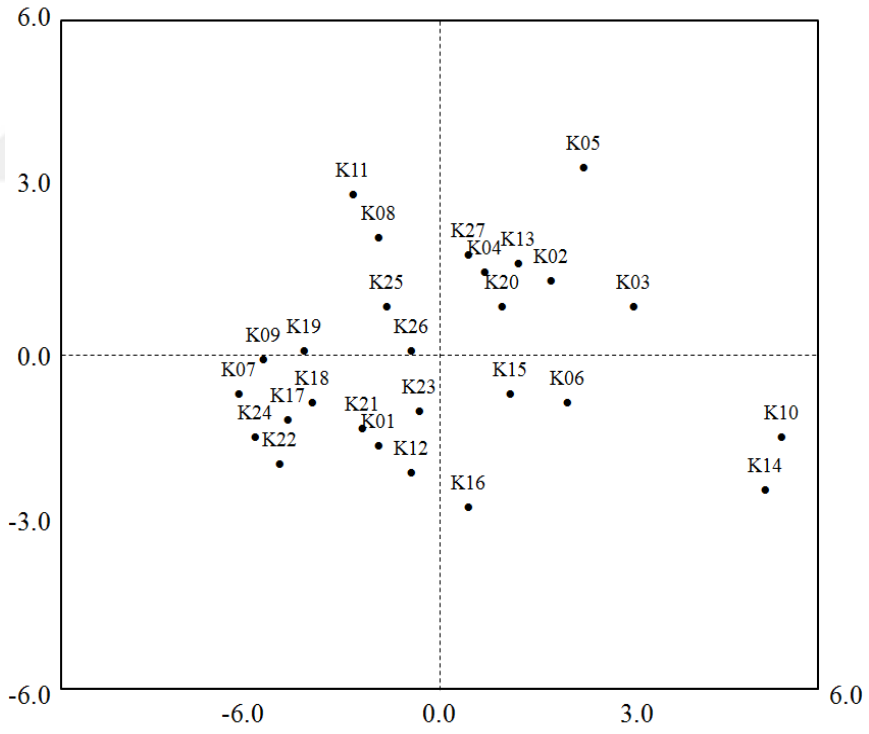
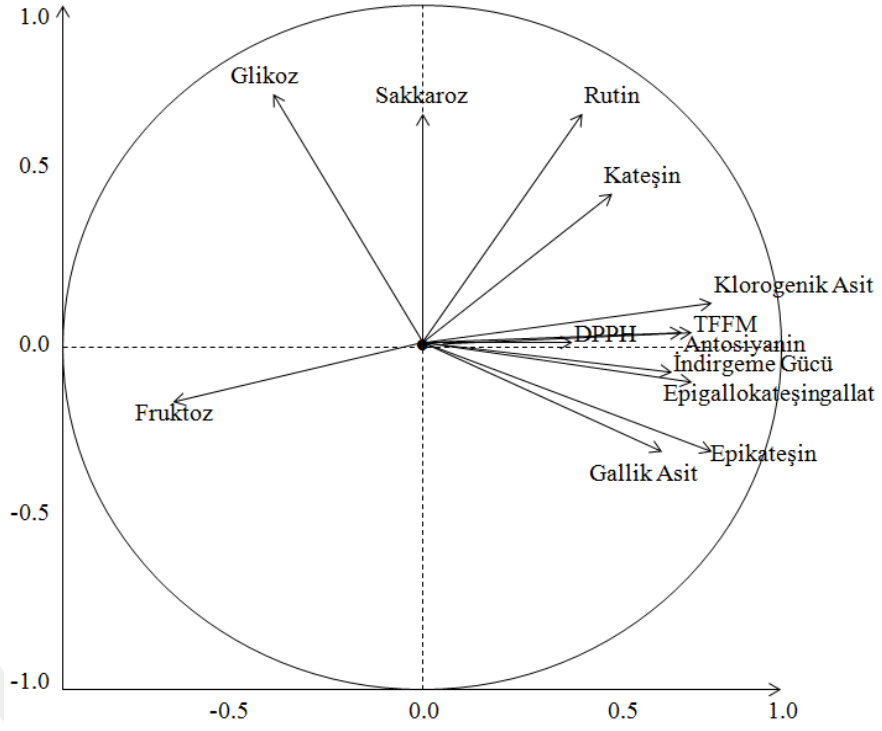
Analiz sonucunda incelenen karakterlerin büyük bir çoğunluğunun birinci bileşen tarafından temsil edildiği görülmüştür. Birinci bileşeni etkileyen en önemli karakterler sırasıyla; epigallokateşin gallat (0.86), klorogenik asit (0.81), epikateşin (0.79), fruktoz (-0.73), indirgeme gücü (0.72), TFMM (0.70), toplam antosiyanin (0.68), gallik asit (0.61), kateşin (0.56) şeklinde olup negatif değer veren fruktoz haricinde pozitif PC1 değerleri bu özellikler açısından yüksek değer veren genotipleri işaret etmektedir. Özellikle 'K10' ve 'K14' kodlu genotiplerin yüksek pozitif PC1 skorları ile öne çıktığı görülmüştür. İkinci bileşeni etkileyen en önemli karakterler sırasıyla; glikoz (0.78),

sakkaroz (0.71) ve rutin (0.67) şeklinde sıralanırken, ‘K05’ ve ‘K11’ yüksek pozitif PC2 değerleri ile öne çıkmıştır. DPPH (-0.80) ise üçüncü bileşeni etkilemiş, ilk iki bileşende incelenen genotiplerin dağılımındaki etkisi zayıf düzeyde gerçekleşmiştir.

Genotiplerin bileşen skorlarına göre dağılımları incelendiğinde karakter skorları ile uyumlu olarak birinci ve ikinci grupta yer alan, dolayısıyla pozitif PC1 değerleri gösteren, genotiplerin özellikle TFMM, indirgeme gücü, toplam antosiyanin, klorogenik asit ve epigallokateşin gallat değerlerinin üçüncü ve dördüncü grupta yer alan genotiplere göre yüksek olduğu, fruktoz değerlerinin ise düşük olduğu görülmüştür. Lu ve ark. (127) tarafından yürütülen çalışmada da biyoaktif bileşikler (Antosiyanin) bu çalışma ile uyumlu olarak PC1 ile ilişkilendirilmiş, ancak bu ilişki negatif yönde olmuştur.

Tablo 4.35. Meyve kalite özelliklerine ait temel bileşen analizi sonuçları

Özellik	PC1	PC2	PC3	PC4
TFMM	0.70	0.03	-0.21	0.50
DPPH	0.25	0.01	-0.80	-0.07
İndirgeme Gücü	0.72	-0.08	-0.47	0.37
Toplam Antosiyanin	0.68	0.03	-0.13	-0.49
Gallik Asit	0.61	-0.27	0.25	0.57
Kateşin	0.56	0.44	0.37	-0.01
Epikateşin	0.79	-0.29	0.22	0.24
Klorogenik Asit	0.81	0.08	0.38	-0.16
Epigallokateşin Gallat	0.86	-0.11	0.03	-0.34
Rutin	0.52	0.67	0.20	-0.18
Fruktoz	-0.73	-0.18	0.36	0.29
Sakkaroz	0.00	0.71	0.02	0.36
Glikoz	-0.36	0.78	-0.20	0.19
<i>Eigen değeri</i>	5.17	1.97	1.51	1.44
<i>Varyans (%)</i>	39.74	15.11	11.59	11.07
<i>Kümülatif varyans (%)</i>	39.74	54.85	66.45	77.51



Şekil 4.36. Kızılıcak genotiplerinin biyokimyasal özelliklerine ait temel bileşen analizi sonuçlarına göre dağılımı

4.9. Korelasyon Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında incelenen Kızılıçık genotiplerine ait biyokimyasal meyve özellikleri ve sitotoksik özellikler arasındaki korelasyon analiz sonuçları Tablo 4.36'da sunulmuştur. Buna göre birçok özellik arasında istatistiki açıdan (0.01 ve 0.05 önem seviyelerinde) önemli olan, farklı seviyelerde korelasyonlar tespit edilmiştir. TF ile TA, KT, RT ve FR düşük seviyede, GA, EP, KA ve EPG orta seviyede, İG ise yüksek seviyede korelasyon göstermiş, bu korelasyonlar da FR dışında ($r = -0.27$) pozitif yönde olmuştur. AA da FR ile negatif yönde korelasyon göstermiş, bununla birlikte İG ile orta seviyede korelasyon göstermiştir. Ayrıca AA ile AK200 arasında düşük seviyede pozitif korelasyon ($r=0.23$) tespit edilmiştir. İG de ağırlıklı olarak pozitif korelasyon eğilimi göstermiş, TA, KT ve KA ile düşük seviyede, GA, EP ve EPG ile orta seviyede pozitif korelasyon gösterirken, FR ile orta seviyede ($r= -0.42$), SH100 ile ise düşük seviyede negatif korelasyon ($r= -0.23$) göstermiştir. TA da benzer şekilde FR ile orta seviyede negatif korelasyon göstermiş, bunun yanında AK100 ile düşük seviyede negatif yönde korelasyon göstermiştir. TA ayrıca KT, EP ve RT ile düşük, KA ile orta, EPG ile ise yüksek seviyede pozitif korelasyon göstermiştir. GA ile KT, KA, EPG arasında pozitif yönde düşük seviyede, EP ile yüksek seviyede, GL, SH100, AK100 ve AK200 ile ise negatif yönde düşük seviyede korelasyon tespit edilmiştir. KT için tespit edilen önemli tüm korelasyonlar pozitif yönde olmuş, KT ile EP, SH200, AK200 düşük seviyede, EPG orta seviyede, KA ve RT ise yüksek seviyede korelasyon göstermiştir. EP, KA ve EPG ile yüksek seviyede korelasyon gösterirken, FR, GL, AK100 ve AK200 ile negatif yönde ve düşük seviyede korelasyon göstermiştir. KA da EPG ile yüksek seviyede pozitif korelasyon ($r= 0.69$) göstermiş, bunun yanında RT ile pozitif yönde, FR ile ise negatif yönde orta seviyede korelasyon göstermiştir. EPG de benzer şekilde RT ile orta seviyede pozitif, FR ile orta seviyede negatif korelasyon göstermiş, bunun yanında GL, SH100, AK100 ve AK200 ile negatif yönde düşük seviye korelasyon göstermiştir. RT, FR ile negatif, SK ile pozitif yönde düşük seviyede korelasyon göstermiştir. FR ile GL arasında da düşük seviyede korelasyon ($r= -0.31$) tespit edilmiş ancak bu korelasyon negatif yönde olmuştur. SK ile GL ile yine düşük seviyede ancak pozitif yönde korelasyon ($r= 0.33$) göstermiş, ayrıca AK100 ve AK200 ile de düşük seviyede korelasyon gösterdiği görülmüştür. Tüm sitotoksik özellikler arasında pozitif yönde önemli korelasyonlar tespit edilmiş, bunlardan SH200 ile AK100 arasında tespit edilen orta seviye korelasyon ($r= 0.55$) dışında tamamı yüksek seviyede gerçekleşmiştir.

Tablo 4.36. Meyve kalite özellikleri ve sitotoksik özellikler arasındaki korelasyon sonuçları

Özellik	TF	AA	İG	TA	GA	KT	EP	KA	EPG	RT	FR	SK	GL	SH100	SH200	AK100	AK200
TF	1	0.19	0.71**	0.34**	0.52**	0.31**	0.53**	0.40**	0.40**	0.23*	-0.27*	0.12	-0.05	-0.07	-0.01	-0.10	-0.06
AA		1	0.45**	0.20	-0.08	0.03	0.11	-0.02	0.15	0.02	-0.26*	-0.10	0.03	0.09	0.05	0.09	0.23*
İG			1	0.28*	0.52**	0.22*	0.50**	0.29**	0.52**	0.21	-0.42**	-0.05	-0.11	-0.23*	-0.21	-0.20	-0.11
TA				1	0.18	0.23*	0.33**	0.54**	0.75**	0.34**	-0.46**	0.01	-0.18	-0.16	-0.03	-0.29**	-0.09
GA					1	0.26*	0.69**	0.39**	0.37**	0.16	-0.11	0.06	-0.26*	-0.23*	-0.12	-0.28*	-0.25*
KT						1	0.39**	0.60**	0.42**	0.65**	-0.16	0.04	0.06	0.15	0.30**	0.16	0.25*
EP							1	0.73**	0.61**	0.21	-0.25*	-0.17	-0.027*	-0.16	-0.18	-0.23*	-0.32**
KA								1	0.69**	0.48**	-0.38**	0.03	-0.22*	-0.08	0.03	-0.15	-0.16
EPG									1	0.46**	-0.44**	-0.20	-0.26*	-0.28*	-0.11	-0.37**	-0.25*
RT										1	-0.30**	0.26*	0.14	-0.17	0.16	-0.12	0.14
FR											1	-0.07	-0.31**	0.13	0.04	0.16	0.07
SK												1	0.33**	0.14	0.03	0.27*	0.24*
GL													1	0.30**	0.13	0.24*	0.23*
SH100														1	0.63**	0.79**	0.61**
SH200															1	0.55**	0.68**
AK100																1	0.68**
AK200																	1

*Korelasyon 0.05 seviyesinde önemlidir. **Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir.

TF: TFMM, AA: DPPH (Antioksidan Kapasite), İG: İndirgeme Gücü (Antioksidan Kapasite), TA: Toplam Antosiyanin, GA: Gallik Asit, KT: Kateşin, EP: Epikateşin, KA: Klorogenik Asit, EPG: Epigallokateşin, RT: Rutin, FR: Fruktoz, SK: Sakkaroz, GL: Glikoz, SH100: Sağlıklı Hücre (100 µg/mL), SH200: Sağlıklı Hücre (200 µg/mL), AK100: Akciğer Kanseri (100 µg/mL), AK200: Akciğer Kanseri (200 µg/mL)

5. TARTIŞMA

Optimum ekstraksiyon çözgeninin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda Çözgen 3 kombinasyonu (Metanol:su) en düşük absorbansı verirken Çözgen 5 kombinasyonunun (Metanol:Su:HCl) ise en yüksek absorbansı verdiği gözlenmiştir. Her iki kombinasyonda da metanol ve su çözgenleri yer almaktadır. Ortamın asitlendirilmesiyle en düşük absorbansı veren kombinasyonun en yüksek absorbansı veren konumuna çıkmasında, hidrojen klorür (HCl)'ün etkili olduğu görülmektedir. Çözgen 1 (Metanol:Etil asetat:Su) ve Çözgen 4 (Metanol:Aseton:Su) kombinasyonları kıyaslandığında farkın etil asetat ve aseton çözgenlerinden kaynaklandığı gözlenmiştir. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda aseton, etil asetata göre ön plana çıkmaktadır. Çözgen 2 (Metanol:Su-50:50) ve Çözgen 3 (Metanol:Su-70:30) kombinasyonlarında su miktarının artırılıp (% 30'dan % 50'ye) metanol miktarının azaltılmasıyla (% 70'den % 50'ye) fenolik ekstraksiyon veriminin arttığı gözlenmiştir. TFMM sonuçlarına göre çözgen kombinasyonları değerlendirildiğinde Çözgen 5 > Çözgen 4 > Çözgen 1 > Çözgen 2 > Çözgen 3 şeklinde bir sıralama ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.1).

Gillani ve ark. (125), üç farklı çözgen kombinasyonu (etanol, etanol:su-50:50, su) ile kıvılcık meyvesinde gerçekleştirdikleri ekstraksiyonda en yüksek toplam fenolik içeriğin etanol:su çözgen karışımı ile yapılan ekstraksiyon sonucu elde edildiğini belirtmişlerdir. Kıvılcık meyvesinin antioksidan özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada % 0.1 HCl içeren aseton, asetonitril, etanol, metanol ve su çözgenleri kullanılarak örneklerin toplam fenolik içerikleri belirlenmiştir. Belirtilen çözgenlere göre sonuçlar sırasıyla 2979.25 mg GAE/100 g, 721.86 mg GAE/100 g, 2006.33 mg GAE/100 g, 2110.29 mg GAE/100 g ve 439.85 mg GAE/100 g şeklinde bulunmuştur (126). Çalışmada kullanılan çözgenler çalışmamızda yer alan çözgen kombinasyonları ile bire bir aynı olmasa da birbirine yakın çözgen gruplarının ekstraksiyon veriminde öne çıkması açısından elde ettiğimiz sonucu destekler niteliktedir. Ekstraksiyon verimi açısından % 0.1 HCl içeren aseton çözeltisi ilk sırada yer alırken, % 0.1 HCl içeren metanol çözeltisi ikinci sırada yer almaktadır. Bizim çalışmamızda çözgenlerde farklılık olsa da aseton içeren Çözgen 4 kombinasyonu ikinci sırada, % 0.1 HCl ve metanol içeren Çözgen 5 kombinasyonu ilk sırada yer almaktadır (Şekil 4.1). Etil asetat, izopropanol, aseton, etanol, metanol ve distile su kullanılarak Mangostan meyvesinden toplam fenolik içeriğin ekstraksiyonunda optimal çözgenin belirlenmesini hedefleyen

bir çalışmada sırasıyla 14.77 mg GAE/g, 44.14 mg GAE/g, 58.92 mg GAE/g, 52.78 mg GAE/g, 75.03 mg GAE/g ve 10.05 mg GAE/g değerleri bulunmuştur (127, 128) kayısı meyvesindeki fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ASE tekniğini kullandıkları çalışmalarında metanol:su (70:30) karışımının ekstraksiyon veriminin saf metanolün ekstraksiyon veriminden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Farklı polaritelere sahip analitleri içeren örneklerin ekstraksiyonunda, farklı polariteli çözümlerden oluşan karışımları kullanmak ekstraksiyon verimini arttırmaktadır. Fenolik bileşenler hidrofiliktir ve alkol-su çözümlerindeki çözünürlükleri yüksektir. Agourram ve ark. (129), içerisinde kıvılcık meyvesinin ve çekirdeğinin de yer aldığı 13 bitkisel ürünü liyofilize ettikten sonra metanol:su:asetik asit (90:9.5:0.5), etanol:su (80:20) ve aseton:su (70:30) çözümlerini kullanarak ultrasonik banyoda 15 dakika süreyle 20°C'de ekstraksiyona tabi tutmuşlardır. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasitenin incelendiği bu çalışmada metanol:su:asetik asit, etanol:su ve aseton:su çözümlerindeki kıvılcık meyvesinin toplam fenolik içerikleri sırasıyla 32.6 mg GAE/g, 26.8 mg GAE/g ve 50.1 mg GAE/g; çekirdeğin ise 36.6 mg GAE/g, 33.3 mg GAE/g ve 37.7 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Asitlendirilmiş metanol:su çözümlerini ekstraksiyon verimi açısından meyve ve çekirdekte ikinci sırada yer almıştır. İlk sırada yer alan aseton:su çözümlerinin farklı versiyonu (metanol:aseton:su) bizim çalışmamızda ikinci sırada yer almıştır. Çalışmamızda öne çıkan 2 çözümler grubu ile bu çalışmada öne çıkan 2 çözümler grubu benzeşmektedir. Aynı çalışmanın antioksidan kapasite ölçümünde ise DPPH Radikal Süpürme Gücü testine göre meyve ve çekirdekte asitlendirilmiş metanol:su çözümlerinin (meyvede %59.03, çekirdekte %81.95) diğer iki çözümlerinden (meyvede %41.98-%54.44, çekirdekte % 76.44-% 77.44) daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.

Baklagiller grubunda yer alan bazı bitkilerde solventlerin ekstraksiyon verimine etkisinin incelendiği bir çalışmada %50 aseton, %80 aseton, %0.5 asetik asit içeren %70 aseton, %70 metanol, %70 etanol ve %100 etanol çözümleri ekstraksiyon çözümleri olarak kullanılmıştır. Toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve antioksidan kapasite parametreleri açısından en yüksek verimin %0.5 asetik asit içeren %70 aseton çözümleriyle elde edildiği belirtilmiştir (130). Awika ve ark. (131), süpürge darısı bitkisinde %70'lik aseton ve %1 HCl içeren metanol çözümlerini kullanarak antioksidan özellik ile antosiyanin içeriği incelemişlerdir. Örneklerin hem un formunda hem de kepek formunda ekstraksiyonları gerçekleştirilmiş ve sonuçlar un örneği için

%70'lik aseton çözgeninde 1.0 mg/g, %1 HCl içeren metanol çözgeninde 2.0 mg/g; kepek örneği %70'lik aseton çözgeninde 3.4 mg/g, %1 HCl içeren metanol çözgeninde 8.1 mg/g olarak belirlenmiştir. Asitlendirilmiş metanolün ekstraksiyon verimi açısından öne çıkması ile bu sonuç çalışmamızı destekler mahiyettedir. Çalışma bulgumuzu destekleyen başka bir araştırma (132) tatlı patatesten yürütülmüş ve ekstraksiyon çözgeni olarak %70 etanol, %70 asitlendirilmiş etanol, %70 metanol ve %70 asitlendirilmiş metanol kullanılmıştır. Hem toplam antosiyanin hem de toplam fenolik içeriği parametreleri açısından ekstraksiyon verimi en yüksekte en düşüğe göre çözgenler %70 asitlendirilmiş metanol > %70 asitlendirilmiş etanol > %70 metanol > %70 etanol şeklinde sıralanmıştır.

Fenolik bileşenlerin polariteleri önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden bütün fenolik bileşenleri kapsayan optimum ekstraksiyon için tek bir metot geliştirmek zordur. Dolayısıyla farklı matrislerden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ekstraksiyon prosedürünün optimizasyonu oldukça önemlidir (133). Bitkisel ürünlerde bulunan fenolik bileşenlerin farklı düzeylerdeki polariteleri, ekstraksiyonda kullanılan çözgenlerin de farklı polariteye sahip olması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu durum, tek çözgen yerine farklı polariteye sahip birden fazla çözgenin farklı oranlarda karıştırılarak ekstraksiyon çözgeni olarak kullanılmasını önemli kılmaktadır. Çözgenlerin düşük düzeyde asitlendirilmesi ise ekstraksiyon verimini arttıran diğer bir husustur.

Optimum sıcaklığı belirlemek amacıyla yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların ölçüm sonuçlarına göre en yüksek absorbans değeri 25°C'lik sıcaklıkta (Şekil 4.2) ortaya çıkmıştır. 40°C'de yapılan ekstraksiyonun verimi en düşük düzeyde kalırken 60°C'de yapılan ekstraksiyonun verimi 25°C'de yapılan ekstraksiyon verimine oldukça yakındır. TFMM sonuçlarına göre sıcaklıklar değerlendirildiğinde 25°C > 60°C > 40°C şeklinde bir sıralama ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.2). Bu sonuca göre optimum sıcaklık olarak 25°C belirlenmiştir.

Kayısı meyvesinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda optimum sıcaklığın belirlenmesi amacıyla 20°C, 40°C, 60°C ve 80°C'lik sıcaklıklarda ekstraksiyon gerçekleştirilmiş ve en iyi ekstraksiyon verimi 60°C'lik sıcaklıkta elde edilmiştir. En düşük ekstraksiyon verimi ise 20°C'lik sıcaklıkta elde edilmiştir (128). Bu sonuç, çalışmamızın sonucuna göre oldukça farklılık göstermektedir. Çalışma materyallerinin

farklı olması, bu farklılığın sebebi olabilir. Kayısı meyvesi yüksek şeker içeriğine (toplam şeker 4.35 g/10 mL) sahipken, kızılıçık meyvesi (toplam şeker 0.80 g/100 mL) kayısıya kıyasla daha düşük düzeyde şeker içermektedir. Şekerlerin fenolik bileşenlerle ilişkisine baktığımızda flavonoidlerin yapısındaki OH gruplarının kolaylıkla glikozitlendiğini ve şekerlerle glikozit halinde bağlanmış olarak bulunduğunu (134) görmekteyiz. Yüksek miktarda şeker içeren bitkisel örneklerden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda yüksek sıcaklığın ekstraksiyon verimini arttırdığını düşünmekteyiz.

Optimum süreyi belirlemek amacıyla yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların ölçüm sonuçlarına göre en yüksek absorban değeri 60 dakikalık sürede (Şekil 4.3) ortaya çıkmıştır. Bu sonuca göre optimum süre olarak 60 dakika belirlenmiştir.

Erdoğan ve Erdemoğlu'nun (128) çalışmasında kayısı meyvesinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimum sürenin 60 dakika olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada (135), ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği kullanılarak kızılıçık meyvesinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimum sonikasyon süresi belirlenmeye çalışılmış ve 20, 40, 60, 80, 100 ve 120 dakikalık süreler değerlendirilmiştir. Çalışma sonucuna göre en iyi ekstraksiyon veriminin 60 dakikalık sürede elde edildiği belirtilmiştir. Bu iki sonuç, çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Optimum basıncı belirlemek amacıyla yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstraktların ölçüm sonuçlarına göre en yüksek absorban değeri 1500 psi'lik basınçta (Şekil 4.4) ortaya çıkmıştır. İstatistiksel olarak 1000 ve 1500 psi basınçlarında herhangi bir fark görülmesi de optimum basınç olarak 1500 psi belirlenmiştir.

Erdoğan ve Erdemoğlu'nun (128) çalışmasında kayısı meyvesinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için 500, 1000, 1500 ve 2000 psi basınç değerleri çalışılmış ve optimum basınç değeri olarak 1500 psi belirlenmiştir. Çalışmamızın sonucu bu literatür verisiyle uyumludur.

Ekstraksiyon parametreleri optimize edildikten sonra bütün meyve örnekleri bu koşullarda ekstraksiyona tabi tutularak ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır. Elde edilen ekstraktların TFMM, antioksidan kapasite ve toplam antosiyanin tayinleri spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin fenolik bileşenleri HPLC-

DAD sisteminde tayin edilmiştir. Aynı ekstraların sağlıklı (L-929) ve akciğer kanser (A-549) hücre hatlarında sitotoksik etkisi in vitro yöntem ile değerlendirilmiştir. Meyve örneklerinin şeker bileşimini belirlemek amacıyla ultra saf su ile ekstraksiyon yapılarak HPLC-RID sisteminde tayin gerçekleştirilmiştir.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların TFMM sonuçlarına göre $p \leq 0.05$ önem düzeyinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.5). Sonuçlar 201.45-808.73 mg GAE /100 g aralığında değişmektedir. En yüksek toplam fenolik içeriğe K02 (710.55 mg GAE /100 g), K10 (739.64 mg GAE /100 g), K13 (710.55 mg GAE /100 g) ve K14 (808.73 mg GAE /100 g) genotiplerinin sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük toplam fenolik içeriğe ise K19 (201.45 mg GAE /100 g), K16 (285.09 mg GAE /100 g) ve K07 (296.00 mg GAE /100 g) genotiplerinin sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.5, Şekil 4.6).

Literatürde kızılcık meyvelerinde toplam fenolik içeriğin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalara konu olan kızılcık genotip sayısı ve yetiştirilme ortamı bakımından çalışmamız farklılık arz etmektedir. Bitkisel ürünlerin yetiştiği toprak, iklim ve beslenme şekli kimyasal içeriği etkilemektedir. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz 27 kızılcık genotipi, toprak yapısı, iklim ve beslenme şekli yönüyle aynı koşullarda yetiştirilmiştir. Dolayısıyla aynı koşullarda yetiştirilen bu genotipler üzerinde yapılan çalışmalar, genotipler arasındaki farklılığı ortaya çıkarma noktasında gerçekliğe daha yakındır.

Stiropoulos ve ark. (136) *Cornus mas* türüne ait iki çeşit ve iki klonda yaptığı çalışmada meyve örneklerinin toplam fenolik içeriğini 280-560 mg GAE/100 g aralığında bulmuştur. Bu sonuçlar, çalışmamızda yer alan genotiplerin toplam fenolik içeriği sonuçlarıyla örtüşmektedir. Literatüre baktığımızda çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu çok sayıda çalışma mevcuttur (81, 93, 100, 137-143). Karaaslan ve ark. (126), Malatya ilinde yerel bir marketten temin ettikleri kızılcık meyvesinde farklı çözenleri kullanarak toplam fenolik içeriği belirledikleri çalışmalarında sonuçların 439.85-2979.25 mg GAE/100 g aralığında olduğunu, Yousefi ve ark. (112) ise sonucu 1310.2 mg GAE/100 g olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada (95), 657-2611 mg GAE/100 g aralığında değişen toplam fenolik içeriğe sahip kızılcık genotiplerinin olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızın sonuçları (en yüksek sonuç 808.73 mg GAE/100 g)

ile kıyaslandığında bu çalışma sonuçlarından elde edilen değerlerin bizim genotiplerin düzeylerinden oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Kızılcık meyvesi genellikle doğal koşullarda yetişen bir bitkidir. Doğal koşullarda yetişen bitkiler birçok stres faktörüyle başa çıkmak zorundadır ve bu noktada bitkilerin doğal savunma mekanizmalarında kullandıkları sekonder metabolitler devreye girmektedir. Bu tür bitkiler varlıklarını sürdürmek için yüksek miktarda fenolik bileşik üretirler. Çalışmamızda kullandığımız kızılcık genotipleri ise kültüre alınmış ve kontrollü koşullarda yetişmektedir. Aradaki farklılığın yetiştirme koşullarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Nitekim Milenkovic-Andjelkovic ve ark. (98) fenolik içeriğin yıldan yıla değiştiğini ve yetiştirme koşullarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Ukrayna'da Cornus mas türüne ait 20 çeşitte yapılan bir çalışmada (144), meyvelerin antioksidan aktivite ve fenolik bileşenleri incelenmiştir. Toplam fenolik içeriklerinin de belirlendiği çalışmada 5 çeşide ait sonuçların 200.00-289.79 mg/100 g aralığında değiştiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Fakat 15 çeşide ait sonuçlar ise 91.34-200.00 mg/100 g aralığında değişmiş olup çalışmamızın sonuçlarına göre düşük bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları ile uyumlu literatür verisi olduğu gibi daha düşük ve daha yüksek sonuçlara sahip literatür verisi de mevcuttur. Çalışmamızın sonuçları ile diğer çalışmaların sonuçları arasındaki farkın bitkinin yetiştirme koşulları ve çeşit özelliğinin yanı sıra, ekstraksiyon metodu, çözücü, süre ve sıcaklık gibi birçok faktörden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Kızılcık meyvelerine ait ekstraktların DPPH radikal süpürme gücü testine göre antioksidan kapasite sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $p \leq 0.05$ önem düzeyinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.6). Sonuçlar Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) değeri olarak verilmiştir. Elde edilen değerler 1377.22-3003.91 mg TEAC /100 g aralığında değişmektedir. % olarak hesaplanan sonuçların ise % 74.26-89.06 aralığında değiştiği gözlenmiştir (Tablo 4.6). Genotipler içerisinde K26 (3003.91 mg TEAC/100 g), K10 (2991.82 mg TEAC/100 g), K15 (2945.76 mg TEAC/100 g) ve K02 (2910.25 mg TEAC/100 g)'nin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.8). K19 (1377.22 mg TEAC/100 g) ve K01 (1391.02 mg TEAC/100 g) genotipleri ise en düşük antioksidan kapasite gösteren genotipler olmuştur.

Farklı ekstraksiyon teknikleri ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunun araştırıldığı bir çalışmada DPPH radikal süpürme gücü testine göre kızılçık meyve örneklerinin 409-451 mg TEAC/100 g arasında değişen miktarlarda antioksidan kapasite gösterdiği belirtilmiştir (135). Çalışmamızın sonuçlarına göre oldukça düşük düzeyde kalan bu sonuçlar kullanılan ekstraksiyon tekniği ve çözen, süre sıcaklık gibi parametrelerin farklılığı ile izah edilebilir. Azerbaycan'da 6 kızılçık genotipinde yürütülen bir çalışmada (84) 3 genotipin antioksidan kapasite değerleri %76.32-82.37 aralığında (çalışmamızın sonuçları ile uyumlu) bulunurken diğer 3 genotipin ise %38.98-%60.86 aralığında (çalışmamızın sonuçlarından düşük) bulunduğu belirtilmiştir (Tablo 4.7, Şekil 4.9). Farklı meyve türlerinde yürütülen başka bir çalışmada (140) kızılçık meyvesinin antioksidan kapasitesi %59.2 olarak bulunmuş ve çalışmamızla kıyaslandığında düşük kalan bir sonuç olduğu görülmektedir (Tablo 4.7, Şekil 4.9). Çalışmamızın sonuçlarıyla kıyaslandığında düşük antioksidan kapasite sonuçları olan başka çalışmalar da mevcuttur (126, 142). Sengul et al., (91) Çoruh vadisinde yetişen 5 kızılçık genotipinde yaptıkları bir çalışmada, meyvenin kimyasal özellikleri, antioksidan aktivitesi ve antosiyanin içeriklerini tayin etmişlerdir. 4 tane genotipin antioksidan aktiviteleri %84.68 ile %88.86 arasında olduğu belirlenmiş ve bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Aynı çalışmada 1 genotipin antioksidan kapasite sonucu ise %94.17 olarak ölçülmüş ve bu sonuç çalışmamızın sonuçlarından yüksek bulunmuştur.

Bitkisel ürünlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde ekstraksiyon tekniği oldukça önemlidir. Literatürde genellikle klasik teknikler kullanılmıştır. Çalışmamızda ise sıcaklık, basınç ve süre gibi parametrelerin kontrol edildiği inert ortamda ekstraksiyon sağlayan hızlandırılmış ekstraksiyon tekniği (ASE) kullanılmıştır. Ayrıca literatür incelendiğinde farklı çözenlerin ekstraksiyon amacıyla kullanıldığı görülmektedir. Kullanılan ekstraksiyon tekniği ve çözen tipi deneysel sonuçların farklılaşmasına neden olmaktadır (145). Kızılçıkların çeşit/genotip özelliği, yetiştirme koşulları, iklim ve meyve hasat olgunluğu, sonuçlar arasındaki farklılığın sebebi olabilecek diğer nedenlerdir.

Kızılçık meyvelerine ait ekstraktların indirgeme gücü testine göre antioksidan kapasite sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $p \leq 0.05$ önem düzeyinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.8). Genotiplerin indirgeme gücü

sonuçlarının 1869.16 - 4943.36 mg TEAC/100 g aralığında değiştiği gözlenmiştir. İndirgeme gücü testine göre en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ilk 5 genotip sırasıyla şoyledir: K14 (4943.36 mg TEAC/100 g), K02 (4847.65 mg TEAC/100 g), K10 (4559.67 mg TEAC/100 g), K15 (4375.19) ve K26 (4339.88 mg TEAC/100 g) (Tablo 4.8, şekil 4.11). En düşük antioksidan kapasite gösteren 5 genotip ise en düşüğe göre sırasıyla şoyledir: K19 (1869.16 mg TEAC/100 g), K01 (1905.88 mg TEAC/100 g), K22 (2018.24 mg TEAC/100 g), K11 (2182.45 mg TEAC/100 g) ve K08 (2258.89 mg TEAC/100 g) (Tablo 4.8, şekil 4.11).

Karaaslan ve ark. (126), kızılıık meyvesinde farklı çözgenlerle yaptıkları ekstraksiyonda indirgeme gücü sonuçlarını etanol ve metanol çözgenleri için sırasıyla 3531.91 mg TEAC/100 g ve 2734.56 mg TEAC/100 g olarak bulmuşlardır. Çalışmamızın sonuçları ile örtüşen bu sonuçta benzer ekstraksiyon çözgeni kullanımının etkili olduğunu düşünmekteyiz. Aynı çalışmada aseton ile yapılan ekstraksiyonda sonucun 5894.99 mg TEAC/100 g olduğu belirtilmiş ve bu sonuç çalışmamızın sonuçlarından yüksektir. Asetonitril ve su ile yapılan ekstraksiyonda ise sonuçlar sırasıyla 1207.73 mg TEAC/100 g ve 920.65 mg TEAC/100 g şeklinde olup çalışmamızın sonuçlarından düşüktür. Bu çalışmanın sonuçları, çözgen tipinin etkisini açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Lim ve ark. (146), kızılıık meyvesinin antioksidan kapasitesini belirlemeye çalıştıkları çalışmalarında indirgeme gücü testini uygulayarak örneklerin 700 nm'de absorbanslarını ölçmüşler ve sonuçları 0.17-0.40 absorbans aralığında bulmuşlardır. Bu sonuç, çalışmamızın sonuçlarının bulunduğu (0.128-0.574 absorbans) aralıkta yer almaktadır. Kurutma ve dondurmanın kızılıık meyvesinin antioksidan özelliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (147), kurutulmuş örneklerin 500 µg/mL dozdaki ekstrelerinin indirgeme gücü sonuçları absorbans cinsinden 0.20-0.40 aralığında bulunmuştur. Dondurulan örneklerin aynı dozdaki indirgeme gücü değerleri ise absorbans cinsinden maksimum 1.0 değerine ulaşmıştır. Dondurulan örneklerin indirgeme gücü sonuçları çalışmamızın sonuçlarından (0.128-0.574 absorbans) yüksek olurken kurutulmuş örneklerin sonuçları çalışmamızın sonuçları ile örtüşmektedir. Bulguları, çalışmamızın sonuçları ile örtüşen diğer bir çalışma Çelik (148)'in Konya yöresinde yetişen kızılıık meyvelerinde antioksidan bileşnlerin analizine yönelik yaptığı çalışmadır. Meyvelerin metonalde ekstraksiyonu yapılarak elde edilen ekstrenin farklı dozlarında indirgeme gücü testleri yapılarak

sonuçlar absorbans cinsinden ifade edilmiştir. Çalışılan bütün ekstre dozlarında sonuçlar 0.189-0.381 absorbans olarak bulunmuştur.

Kızılıcık meyvelerine ait ekstraktların toplam antosiyanin sonuçlarına istatistiksel olarak değerlendirildiğinde $p \leq 0.05$ önem düzeyinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.9). En yüksek toplam antosiyanin içeriği ile K03 genotipi (49.30 mg c-3gE/100 g) ne çıkarken, en düşük toplam antosiyanin içeriğe ise K26 (0.67 mg c-3gE/100 g) genotipinin sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.9, şekil 4.12). Antosiyaninler meyve ve sebzelere pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerini veren pigmentlerdir (23). Renk tonunun koyuluğu antosiyanin içerikle ilişkilidir. Çalışmamızın materyallerinden olan K03 genotipi diğer genotiplere kıyasla daha koyu kırmızı tonlara sahiptir (şekil 4.12). K26 genotipi ise genotipler arasında en açık renk tonuna sahip genotiptir (şekil 4.12). En yüksek toplam antosiyanin içeriğe sahip genotip ile en düşük toplam antosiyanin içeriğe sahip genotip arasındaki renk tonu farklılığı bu sonucun makulluğunu kanıtlar mahiyettedir.

Elazığ yöresinden temin edilen kızılıcık meyvelerinin antosiyanin içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada (23), asitlendirilmiş farklı zgenlerle ekstraksiyon gerçekleştirilmiş ve sonuçlar 12.0-23.3 mg/100 g aralığında bulunmuştur. Farklı zgenlere ait sonuçlar da dahil olmak üzere elde edilen bu değerler, çalışmamızın sonuçlarının bulunduğu aralıkta (0.67-49.30 mg/100 g) yer aldığı görülmektedir. Kantar (135), maserasyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile kızılıcık meyvesinde gerçekleştirdiği ekstraksiyona neticesinde örneklerin toplam antosiyanin içeriğini maserasyon tekniğinde 32 mg/100 g ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniğinde 36 mg/100 g sonucunu bulmuştur. Her iki ekstraksiyon tekniği ile elde edilen sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile örtüşmektedir. Sonuçları, çalışmamızın sonuçları ile uyumlu diğer bir alışma Cetkovska ve ark. (142) tarafından yürütülmüş ve çalışılan genotiplerin toplam antosiyanin sonuçları 6.1-34.7 mg/100 g aralığında bulunduğu rapor edilmiştir. Kazimierski ve ark. (149), *Cornus mas* türüne ait 6 kızılıcık çeşidinin toplam antosiyanin içeriklerini şöyle rapor etmişlerdir. Bir çeşidin toplam antosiyanin içeriği 27.52 mg/100 g iken diğer 5 çeşidin toplam antosiyanin içeriği 50.60-160.51 mg/100 g aralığındadır. Bir çeşidin sonucu çalışmamızın sonuçları ile uyumlu iken diğer 5 çeşide ait sonuçlar çalışmamızın sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Gunduz ve ark. (143), farklı olgunluk dönemlerinde hasat ettikleri kızılıcık meyvesinin suyunu doğrudan

kullanarak toplam antosiyanin içeriği tayin edip hasat olgunluğu döneminde sonucu 0.65 mg/100 g olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda meyvenin suyu uzaklaştırılıp kuru hali kullanıldığı göz önünde bulundurulursa, bu sonuç ile çalışmamızın sonuçları arasında 6-10 kat oranında bir farkın olması normal görülmektedir. Kızılcık meyvesinde suda çözünebilir kuru madde oranının %10-17.80 aralığında değiştiği (150) düşünülürse yukarda bahsi geçen literatür verisinin çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olduğu söylenebilir. Hashempour ve ark. (140), kızılcık meyvesinin toplam antosiyanin içeriğini 90.7 mg/100 g olarak belirlemişlerdir. Bu sonuç, çalışmamızda bulduğumuz sonuçlardan oldukça yüksektir. Çalışmamıza kıyasla toplam antosiyanin içeriğin yüksek olduğu başka çalışmalarda mevcuttur. Hamid ve ark. (84), farklı kızılcık genotiplerinde 106.89-442.11 mg/100 g aralığında ve Sengul ve ark. (91) farklı kızılcık genotiplerinde 239-342 mg/100 mL aralığında sonuçlar bulmuşlardır. Ayrıca literatürde kızılcık meyveleriyle yapılan diğer çalışmalarda da Biaggi ve ark. (93) 134.71 mg /100 g, Moldovan ve ark. (94) 92.23 mg /100 g ve Pantelidis ve ark. (95) 223 mg/100 g olacak şekilde antosiyanin içeriklerini tespit etmişlerdir. Popovic ve ark. (87), 10 farklı kızılcık genotipinde meyve örneklerini 40 °C'de kurularak toplam antosiyanin içerikleri tayin etmişlerdir. Genotiplerin toplam antosiyanin içerikleri 0.00058-0.03 mg /100 g aralığında bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlardan oldukça düşük bir değerdir. Verilen bu literatür bilgilerinin ışığında bir değerlendirme yapıldığında çalışmamızın sonuçlarının (0.67-49.3 mg/100 g) literatürde kızılcık ile ilgili var olan tüm çalışmalardan elde edilen antosiyanin derişim aralığında (0.00058-442.11 mg/100 g) yer aldığı görülmektedir. Sonuçlar arasındaki farklılığa birçok faktör etki etmektedir. Kullanılan çözgen tipi, ekstraksiyon tekniği, meyve çeşit /genotip özelliği, bitkinin yetiştiği toprağın cinsi, iklim, besleme koşulları, doğal koşullarda yetişip yetişmediği gibi çok sayıdaki etmene kadar çeşitli faktörler bu farklılığın nedeni olarak ifade edilebilir. Toplam antosiyanin içeriği, renkle ilişkili olduğundan çeşit/genotipin meyve rengi de bu farklılığa neden olabilmektedir.

27 kızılcık genotipinde optimum ekstraksiyon koşullarında gerçekleştirdiğimiz ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktların HPLC-DAD sisteminde fenolik bileşen tayinleri yapılmıştır. Bütün genotiplerde farklı düzeylerde gallik asit, kateşin, epikateşin, klorogenik asit, epigallokateşin gallat ve rutin bileşenleri tespit edilmiş ve konsantrasyonları belirlenmiştir (Tablo 4.12, 15, 18, 21, 24, 27, Şekil 4.14, 16, 18, 20, 22, 24).

Literatürde *Cornus mas* ve kızılıcığın diğer türlerinde fenolik bileşenlerin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Çalışma materyalimiz olan genotiplerde tespit ettiğimiz fenolik bileşenlerin başka araştırmacılar tarafından da *Cornus mas* türü dahil olmak üzere birçok kızılıcık türünde gallik asit düzeylerinin 0.05-166 mg/100 g aralığında tespit edildiği rapor edilmiştir (92, 93, 98, 100, 151-159). Kateşin düzeyleri 0.39-395 mg/100 g aralığında tespit edilirken (92-94, 98, 156), epikateşinin 0.40-211 mg/100 g aralığında tespit edildiği rapor edilmiştir (92-94, 98, 156). Klorogenik asit içerikleri 1.29-135 mg/100 g aralığında rapor edilmiştir (93, 94, 98, 153, 156, 159-161). Epigallokateşin gallat içeriğinin 19 mg/100 g civarında olduğunu rapor etmişlerdir (162-164) ve Rutin içeriğinin ise 0.29-81 mg/100 g aralığında olduğunu rapor etmişlerdir (92, 93 98, 100, 153, 156, 159).

Çalışmamızda yer alan kızılıcık genotiplerinin meyve ekstraktlarında kalitatif ve kantitatif olarak belirlediğimiz fenolik bileşenlerden gallik asidin 21.91-55.21 mg/100 g aralığında olduğu ve bu sonucumuzun literatürlerde belirtilen değerlerle (0.05-166 mg/100 g) uyumlu olduğu görülmektedir. Kızılıcığın gallik asit içeriğinin geniş bir skalada yer alması birçok faktörle ilişkilendirilebilir. Bitkisel ürünlerde yer alan fenolik bileşenlerin farklı polaritede olmaları, kullanılan her ekstraksiyon çözgenine aynı düzeyde geçişlerine engel bir durumdur. Nitekim kızılıcığın ekstraksiyonunda polariteleri farklı olan birçok çözgen kullanılmaktadır. Önceki ifadelerimizde değindiğimiz gibi ekstraksiyon tekniği de sonuçlardaki değişikliğin önemli nedenlerindedir. Çalışmalarda yer alan kızılıcık çeşit/genotiplerinin farklı lokasyonlarda yetiştirilmeleri, lokasyonların rakımları, çeşit/genotip özelliği, kuru veya taze olarak değerlendirilme şekli gibi etmenler farklı sonuçların alınmasına yol açmaktadır. Kendi çalışmamızda elde ettiğimiz sonucun literatürde belirtilen aralığın ortalamasının (gallik asit literatür ortalaması 82.97 mg/100 g) altında yer almasında genotiplerimizin kültüre alınmış olmasının etkili olacağını düşünmekteyiz.

Kateşin bileşeni için literatür aralığı (0.39 - 395 mg/100 g) oldukça geniş bir skalada olduğu gözlemlendi. Sonuçlarımız her ne kadar bu aralıkta yer alsada, örneklerimizdeki en yüksek kateşin konsantrasyonu (32.98 mg/100 g) olarak tespit edilmiş olup, bu değer kateşin literatür ortalamasından (197.30 mg/100 g) çok düşük olduğu görülmektedir. Epigallokateşin gallat bileşeni için kızılıcık meyvesinde kantitatif tayinine yönelik literatürde bulduğumuz tek çalışma Harnly ve ark. (162)'na ait olup, bu

çalışmada tam olgunlaşmamış kıvılcık meyvesinde bu bileşimin 19 mg/100 g düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Bu sonucun çalışmamızın sonuçlarından (4.37-17.57 mg/100 g) bir miktar yüksek olmasında ham meyvede çalışılmış olmasının etkili olduğu kanaatindeyiz. Nitekim bazı fenolik bileşenlerin olgunlaşmamış meyvelerdeki oranı olgunlaşmış meyveye göre daha yüksektir (39).

Meyve örneklerimizin epikateşin, klorojenik asit ve rutin konsantrasyonlarının gallik asit ve kateşin gibi literatür aralığında yer alması, çalışma sonuçlarımızın bir nevi teyidi anlamındadır. Fakat literatür ortalamasına göre düşük sonuçlar elde etmemizde önceden ifade ettiğimiz gibi doğada kendi başına yetişmesi ya da kültüre alınarak kontrollü şartlarda yetiştirilmesi faktörünün etkili olduğunu düşünmekteyiz.

27 kıvılcık genotipine ait meyvelerin ultra saf su ekstralarının şeker bileşimini HPLC-RID sisteminde tayin edilmiştir. Bütün genotiplerde farklı düzeylerde fruktoz, sakkaroz ve glikoz bileşenleri tespit edilmiş ve konsantrasyonları belirlenmiştir (Tablo 4.28-30, Şekil 4.28-30). Literatürde kıvılcık meyvesinin şeker bileşimini belirlemeye yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Perova ve ark. (165). Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış kıvılcık meyvelerinde %2.2-%3.8 aralığında fruktoz ve %2.5-%7.0 aralığında ise glikoz bulunduğunu rapor etmişlerdir. Kıvılcığın taze ve kurutulmuş meyvelerinde yapılan bir çalışmada (166) taze meyve örneklerinde fruktoz %1.90, glikoz %12.26 ve sakkaroz %0.17 olarak bulunmuştur. Kuru örneklerde ise fruktoz %2.63, glikoz %7.45 ve sakkaroz %0.25 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise kıvılcık meyvelerinde fruktozun %3.7 ve glikozun ise %5.4 düzeylerinde bulunduğu belirtilmiştir (167). Antolak et al. (97) kıvılcık meyve suyunda 5.56 g/100 mL fruktoz ve 2.97 g/100 mL glikoz bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu literatür verilerine göre genotiplerimizin fruktoz ve glikoz konsantrasyonları literatür ile uyum göstermektedir. Fakat genotiplerimizin sakkaroz konsantrasyonları literatür verilerinden düşük bulunmuştur.

Kıvılcık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak elde edilen ekstraların hem sağlıklı hücre hattı (L-929) hem de akciğer kanser hücre hattı (A-549) üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Ekstrelerin sitotoksik etkileri in vitro yöntem ile değerlendirilmiş ve sonuçlar % hücre canlılığı olarak ifade edilmiştir. Çalışmada yer alan bütün genotiplerin hem 100 hem de 200 µg/mL dozlarındaki ekstraktların sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde akciğer kanser

hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisiyle öne çıkan genotipler K18 (%51.20) ve K14 (%53.80) olmuştur. K14 genotipi sağlıklı hücrede ise sınırlı toksik etki (%66.27) göstermiştir. Akciğer kanser hücrelerinde sitotoksik aktivitesiyle öne çıkan diğer genotipler ise sırasıyla K16 ve K01 genotipleridir. K08 ve K 04 genotipleri her iki dozda sağlıklı hücrelerde toksik etkide bulunmazken K09 ve K11 genotiplerinin ekstrakt dozlarının artışıyla aynı hücrelerde toksik etkisinin arttığı gözlenmiştir. K09 ve K11 genotipleri aynı etkiyi akciğer kanser hücrelerinde de göstermiştir. K08 ve K22 genotiplerinin meyve ekstraktları akciğer kanser hücrelerinde en düşük sitotoksik etkiyi göstermiştir (Tablo 4.33, 34, Şekil 4.33, 34).

Literatürde kızılıçık meyvelerinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkilerini belirlemeye yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Yousefi ve ark. (112), kurutulup toz haline getirilen kızılıçık meyve örneğinden 100 g tartarak %80 metanolde ekstraksiyona tabi tutmuştur. Evaporasyonla çözgen uzaklaştırılmış ve kalan kalıntının farklı derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. MTT yöntemiyle bu ekstrelerin akciğer, göğüs, yumurtalık ve prostat kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Sonuçlar ortalama % hücre canlılığı olarak sırasıyla %20.69, %18.15, %18.23 ve %18.39 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre bu çalışmanın materyali olan kızılıçık ekstrelerinin sitotoksik etkileri çalışmamızın sonuçlarından çok daha yüksektir. Bu farkın en belirgin nedeninin çalışmamızda kullanılan meyve ekstre dozunun bu çalışmadaki ekstre dozundan çok düşük düzeyde olmasıdır. Çünkü bu çalışmada 100 g örnek kullanılırken bizim çalışmamızda 0.5 g örnek kullanılmıştır. Kızılıçık meyve ekstraktının sağlıklı hücre ve mide kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada (168), meyve pulpundan 100 g tartılarak %75'lik etanolde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstrakt kuruluğa kadar evapore edildikten sonra kalan kalıntıdan farklı konsantrasyonlarda ekstreler hazırlanmış ve MTT testi ile % hücre canlılığı ölçümü yapılmıştır. Ekstrenin 2 mg/mL dozundan sonraki dozlarda (5, 6, 8 ve 10 mg/mL) sağlıklı hücrelerde ölüm görülürken mide kanser hücrelerinde de benzer durum gözlenmiştir. Ekstre dozuna bağlı olarak kanser hücrelerinde % hücre canlılığının %20'nin altına düştüğü rapor edilmiştir. Radbeh ve ark. (117), kızılıçık meyve ekstraktlarının iki formunu kullanarak kolon kanserinde % hücre canlılığını MTT yöntemi ile belirlemişlerdir. Bağırsak ile kaplanmış nanotaşıyıcı içine kapsüllenmiş formu ve sadece ekstre formu ile yapılan ölçümler sonrasında ekstrelerin artan dozlarına bağlı olarak kolon kanser hücrelerinde hücre canlılığının % 30'a kadar

düştüğü rapor edilmiştir. Forman ve ark. (113), farklı *Cornus* türlerinin yapraklarından elde ettikleri ekstraktların göğüs kanser hücreleri üzerindeki inhibisyonunu inceledikleri çalışmalarında kurutulmuş ve toz haline getirilmiş 10 g yaprak örneğini sıcak suda ekstraksiyona tabi tutmuşlardır. Çözgen tamamen uzaklaştırılarak kalan kalıntıdan farklı dozlarda ekstreler hazırlanmış ve farklı sürelerde % hücre canlılığı ölçölmüştür. Süre ve türler bazında sonuçlar %10.3 ile %24.7 aralığında belirlenmiştir. Bu sonuç bir önceki literatür verisiyle kıyaslandığında kızılıcık yapraklarının göğüs kanser hücrelerine karşı daha yüksek düzeyde sitotoksik etki gösterdiği anlaşılmaktadır. *Cornus kousa* türünün meyvelerinden elde edilen fenolik bileşenlerin kolon, göğüs, akciğer, merkez sinir sistemi ve mide kanser hücrelerinde hücre canlılığını sırasıyla %69, %71, %60, %81 ve %72'ye kadar düşürdüğü rapor edilmiştir (115). *Cornus officinalis* türünün meyvelerinden izole edilen ursolik asit'in prostat kanser hücrelerinde hücre canlılığını %10'un altına kadar düşürdüğü bildirilmiştir (116). Kızılıcık meyve suyunun antiproliferatif ve antioksidant özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada göğüs, karaciğer ve kolon kanser hücrelerinde %40-50 oranında hücre canlılığı gerçekleştiği rapor edilmiştir (169).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Meyve ve sebzeler gıda kaynağı olmanın yanı sıra içerdikleri sekonder metabolitleri sayesinde doğal antioksidanların da kaynağıdır. Günümüzde artarak devam eden kalp ve kanser hastalıkları riskini azaltmada önemli bir potansiyeli olan antioksidan bileşiklerin en önemli olanları polifenoller; kanser, kalp hastalıkları ve diğer birçok hastalığın sebepleri arasında sayılan zararlı serbest radikallere karşı önleyici etkileri nedeniyle, insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri ile dikkat çekmektedir (1). Antikanser ajanların normal doku ve tümör arasında ayırım yapmaksızın etki etmesi, uyarılmış ilaç direncine hassasiyetleri ve şiddetli yan etkileri, bu ajanların ilaç olarak kullanımlarındaki önemli sorunlardandır. Bu tür sorunlardan dolayı, günümüzde kanser önleyici veya iyileştirici ajanlar olarak doğal biyoaktif bileşenlerin kullanımına yönelik ilgi artmaktadır (4).

Kızılcık meyvesi, yaprağı, kökü ve kabuğu geleneksel tedavide ateş düşürücü, ishal kesici ve böbrek taşı düşürücü olarak kullanılmaktadır. Meyvesi antosiyanin, flavonoid ve fenolik bileşenler yönüyle zengin bir içeriğe sahip olmasından dolayı antiseptik, antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal özelliklerinin olduğuna dair yapılan araştırmalar çoğalmakta, kızılcık da bu yönüyle ilgi çekmektedir.

Bu çalışmada; Malatya'da kültüre alınmış 27 kızılcık (*Cornus mas L.*) genotipine ait meyvelerin optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktların biyokimyasal özellikleri ve bu ekstraktların kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkileri belirlendi.

1. Bu kapsamda öncelikle Solvent Ekstraksiyon Sistemiyle (ASE) ile optimum ekstraksiyon parametreleri (ekstraksiyon solventi, basınç, sıcaklık, süre) belirlendi. Değiştirilen her bir parametre için elde edilen ekstraktlarda Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak toplam fenolik madde analizi yapılmış ve hızlandırılmış ekstraksiyon cihazı ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimum değerleri belirlenmiştir.

Ekstraksiyon için en yüksek absorbanı (0.415 ± 0.05) veren çözgen karışımının Çözgen 5 ile gösterilen metanol:su:HCl (70:29.9:0.1) karışımı olduğu gözlenmiştir. Diğer çözgen karışımlarında istenilen düzeyde ekstraksiyon yapılamadığı gözlenmiştir. Diğer çözgen karışımlarının polar özellikleri dikkate alındığında metanol ve suyun polarlığının birbirine yakın olduğu ancak aseton ve etilasetat'ın polarlık özelliklerinin

düşük olduğu bilinmektedir. Bu özelliklerin örneklerden polifenol ekstraksiyonunu etkileyen önemli bir parametre olduğu düşünülebilir.

En uygun ekstraksiyon sıcaklığını belirlemek için metanol:su:HCl çözen karışımı, 1500 psi basınç ve 60 dk süre koşulunda 25°C, 40°C ve 60°C sıcaklıkları ile yapılan denemelerde en uygun sıcaklığın 25°C olduğu bulunmuştur. 25°C sıcaklıkta ekstraktın absorbanı 0.396±0.01 olarak tayin edilmiştir. 60°C’de yapılan ekstraksiyonun verimi 25°C’de yapılan ekstraksiyon verimine oldukça yakındır. Ancak, oda koşullarında yapılan ekstraksiyonun en uygun sıcaklık olduğuna karar verilmiştir (Tablo 4.2).

Etkin bir çözen ekstraksiyonu için süre, en önemli parametrelerden bir tanesidir. En uygun ekstraksiyon süresini belirlemek için 20, 40 ve 60 dakikalık üç farklı süre metanol:su:HCl çözen karışımı 25°C sıcaklık ve 1500 psi basınç ile denenmiştir. Yine her bir ekstraktta toplam fenolik madde analizi yapılmış ve 60 dk süre uygulandığında, toplam fenolik madde miktarının absorbanı 0.467±0.01 ile en yüksek değer bulunmuştur. Düşük sürelerde elde edilen ekstraktların, renklerinden de yeterli bir ekstraksiyonun olmadığı görülmüş ve dolayısıyla kızılçık matriksindeki bileşenlerin yeterli bir şekilde alınamadığı düşünülmüştür (Tablo 4.3).

Basınç ile sıcaklık, ekstraksiyon verimini ve birbirini etkileyen en önemli iki parametredir. Ekstraksiyonda 500-1500 psi arasında üç farklı basınç; metanol:su:HCl çözen karışımı, 25 °C sıcaklık ve 60 dk süre ile uygulandığında toplam fenolik madde miktarının en yüksek absorbanı (0.456±0.01) 1500 psi basınç ile bulunmuştur (Tablo 4.4).

Kızılçık meyve örneklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için çözen karışımı, sıcaklık, süre ve basınç parametrelerinin optimizasyonu yapılarak; metanol:su:HCl (70:29.9:0.1) çözen karışımı, 25°C sıcaklık, 60 dakika süre ve 1500 psi basınç optimum ekstraksiyon parametreleri olarak belirlenmiş ve bundan sonraki yapılacak tüm analizlerde bu ekstraksiyon koşulları kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir.

2. Tüm Kızılçık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonu yapılarak ekstraktların TFMM değeri ölçülmüştür. Buna göre istatistiki açıdan ($p \leq 0.05$ önem seviyesinde) genotipler arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.5). TFMM içeriği en yüksek olan genotiplerin **K02** (710.55±32.73 mg GAE/100 g), **K10** (739.64±10.91 mg GAE/100 g), **K13** (710.55±83.64 mg GAE/100 g) ve **K14** (808.73±7.27 mg GAE/100 g) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Literatürde incelenen

Cornus türlerine ait meyve örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin 91.30-2979.20 mg GAE/100 g aralığında bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda yer alan genotiplerin toplam fenolik içeriği sonuçlarıyla örtüşmektedir (135, 81, 155, 136).

Antioksidan kapasitesi sonuçları arasındaki farklılığa birçok faktör etki etmektedir. Kullanılan çözgen tipi, ekstraksiyon tekniği, meyve çeşit /genotip özelliği, bitkinin yetiştiği toprağın cinsi, iklim, besleme koşulları, doğal koşullarda yetişip yetişmediği gibi çok sayıdaki etmene kadar çeşitli faktörler neden olabilmektedir.

3. Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde fitokimyasalların oldukça karmaşık olan kimyasal yapılarından ötürü tek bir antioksidan kapasite tayin testinin yeterli olmayacağı ve bu yüzden farklı antioksidan testlerin kullanılması gerektiği bilinmektedir. Bu nedenle DPPH radikal süpürme ve indirgeme gücü testleri kullanılarak kıvılcık genotiplerinin antioksidan kapasitesi doğru bir şekilde belirlenmiştir.

Kıvılcık meyvelerine ait ekstraktların DPPH radikal süpürme ve indirgeme gücü testlerine göre antioksidan kapasite değerleri ile toplam antosiyanin içerikleri incelendiğinde genotipler arasındaki farklılıklar $p \leq 0.05$ seviyesinde istatistiki öneme sahiptir (Tablo 4.6-9). Araştırmamızda incelediğimiz genotiplerin DPPH radikal süpürme gücü testine göre antioksidan kapasitelerinin 1377.22-3003.91 mg TEAC/100 g aralığında değiştiği gözlenmiştir. Genotipler arasında **K26** (3003.91±15.53 mg TEAC/100 g), **K10** (2991.82±50.47 mg TEAC/100 g), **K15** (2945.76±99.50 mg TEAC/100 g) ve **K02** (2910.25±14.84 mg TEAC/100 g)'nin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan genotiplerimizin aynı teste göre antioksidan kapasiteleri % olarak 74.26-89.06 aralığındadır (Tablo 4.6,7). Çoruh vadisinde yetişen 5 kıvılcık genotipinde yapılan bir çalışmada, meyvenin antioksidan aktivitesi tayin edilmiş ve incelenen genotiplerin antioksidan aktiviteleri %84.68 ile %88.86 arasında olduğu belirlenmiş ve bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile uyumludur (91). Azerbaycan'da 6 kıvılcık genotipinde yürütülen bir çalışmada 3 genotipin antioksidan kapasite değerlerinin %76.32-%82.37 aralığında, diğer 3 genotipin ise %38.98-%60.86 aralığında bulunduğu rapor edilmiştir (84).

4. Çalışmamızda kullanılan tüm genotiplere ait ekstraktların indirgeme gücü testlerine göre elde edilen değerler; 1869.16 - 4943.36 mg TEAC/100 g aralığındadır. İndirgeme gücü testine göre en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ilk 5 genotip **K14** (4943.36±119.93 mg TEAC/100 g), **K02** (4847.65±43.16 mg TEAC/100 g), **K10**

(4559.67±38.03 mg TEAC/100 g), **K15** (4375.19±28.85 mg TEAC/100 g) ve **K26** (4339.88±29.35 mg TEAC/100 g) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.8).

5. Çalıştığımız genotiplerin ekstraktlarının toplan antosiyanin düzeyleri 0.67-49.30 mg c-3gE/100 g aralığında tayin edilmiştir. En yüksek toplam antosiyanin içeriği sahip olan K03 (49.30±2.14 mg c-3gE/100 g) genotipi öne çıkarken, en düşük toplam antosiyanin içeriği ise K26 (0.67±0.27 mg c-3gE/100 g) genotipinin sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.9, Şekil 4.12). Antosiyaninler meyve ve sebzelere pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerini veren pigmentlerdir (23). Renk tonunun koyuluğu antosiyanin içerikle ilişkilidir. K03 genotipi diğer genotiplere kıyasla daha koyu kırmızı tonlara sahiptir. Literatürde kızılçık ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, toplam antosiyanin içeriklerinin 0.00058-442.11 mg c-3gE/100 g aralığında değiştiği görülmektedir. Elazığ yöresinden temin edilen kızılçık meyvelerinin asitlendirilmiş farklı çözenlerle ekstraksiyonunda ekstraktların antosiyanin içeriklerinin 12.0-23.3 mg c-3gE/100 g aralığında değiştiği rapor edilmiştir (23). Maserasyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise antosiyanin içeriğinin maserasyon tekniğinde 32 mg c-3gE/100 g ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniğinde 36 mg c-3gE/100 g olarak bulunduğu belirtilmiştir (135). Cetkovska ve ark. (142) tarafından yürütülen bir çalışmada genotiplerin toplam antosiyanin sonuçlarının 6.1-34.7 mg c-3gE/100 g aralığında bulunduğu rapor edilmiştir. Elde edilen bu değerlerin çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Tüm genotip ekstraktlarının fenolik bileşen tayinleri HPLC-DAD sisteminde yapılmıştır. Genotiplerde farklı düzeylerde gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, epigallokateşin gallat ve rutin bileşenleri tespit ve tayin edilmiştir. Tüm genotipler içinde; en yüksek gallik asit konsantrasyonuna sahip genotipler **K12** (55.21±3.34 mg/100 g), **K10** (55.07±3.61 mg/100 g) ve **K14** (54.75±2.16 mg/100 g)'dür. En yüksek kateşin konsantrasyonuna sahip genotipler **K04** (32.98±3.24 mg/100 g), **K10** (30.41±0.22 mg/100 g), **K08** (30.12±1.32 mg/100 g) ve **K11** (29.72±1.37 mg/100 g) olurken, en yüksek epikateşin, klorojenik asit, epigallokateşin gallat konsantrasyonuna sahip genotipler ise **K14** ve **K10** genotipleridir. Rutin konsantrasyonu en yüksek genotiplerin **K05** (15.68±1.08 mg/100 g) ve **K04** (15.00±1.04 mg/100 g) genotipleri olduğu tespit edilmiştir. Kızılçık meyvelerine ait ekstraktların HPLC-DAD sisteminde tayin edilen polifenol sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark $p \leq 0.05$ önem düzeyinde anlamlı bulunmuştur. **K04**, **K05**, **K08**, **K10**, **K11**, **K12** ve **K14** genotiplerinin polifenol içerikleri açısından ümitvar genotipler

olduğu tespit edilmiştir. Analizini yaptığımız genotiplerin; gallik asit, epikateşin, epikateşin, klorojenik asit, epigallokateşin gallat ve rutin içerikleri, literatürdeki çalışmalarda elde edilen değerlerle uyumludur.

6. Genotiplere ait meyvelerin şeker içerikleri belirlenmiştir. Örneklerdeki fruktoz konsantrasyonlarının 1.86-3.18 g/100 g arasında değiştiği ve en yüksek fruktoz içeriğine sahip genotiplerin ise **K12** (3.18±0.67 g/100 g), **K24** (3.04±0.44 g/100 g), **K17** (3.00±0.63 g/100 g) ve **K09** (2.94±0.47 g/100 g) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.28, Şekil 4.28).

Sakkaroz konsantrasyonlarının 0.03-0.12 g/100 g arasında değiştiği gözlenmiştir. En yüksek sakkaroz içeriğine sahip genotipler ise **K02** (0.12±0.001 g/100 g), **K05** (0.12±0.001 g/100 g), **K13** (0.11±0.012 g/100 g), **K20** (0.12±0.00 g/100 g) ve **K25** (0.12±0.001 g/100 g) genotipleridir (Tablo 4.29, Şekil 4.29).

Örneklerdeki glikoz konsantrasyonlarının 3.05-4.74 g/100 g arasında değiştiği ve en yüksek glikoz içeriğine sahip genotiplerin ise **K07** (4.54±0.36 g/100 g), **K09** (4.59±0.71 g/100 g), **K11** (4.74±0.94 g/100 g) genotipler olduğu belirlenmiştir. Kızılçık meyvelerinin HPLC-RID sisteminde tayin edilen glikoz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p \leq 0.05$).

7. Kızılçık genotiplerine ait meyvelerin optimum koşullarda ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktların hem sağlıklı fibroblast hücre hattı (L-929) hem de akciğer kanser hücre hattı (A-549) üzerine sitotoksik etkileri MTT testi ile belirlenmiştir. Çalışılan kızılçık genotiplerinin 100 ve 200 µg/mL'lik ekstrakt dozlarında sağlıklı hücrelerde toksik etki göstermediği belirlenmiştir. Yalnızca **K14**, **K15**, **K16**, **K18**, **K19**, **K25** ve **K27** genotiplerinin 200 µg/mL'lik ekstrakt dozunda sağlık hücrelerinde sınırlı düzeyde (yaklaşık %60-70) hücre canlılığını azalttığı tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.31, 32). 100 µg/mL'lik ekstrakt dozunda **K08** (%94.12) genotipinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite göstermediği belirlenmiştir. Aynı dozda **K18** (%51.20), **K14** (%53.80) ve **K16** (%55.06) genotipleri akciğer kanser hücrelerine karşı önemli düzeyde sitotoksik aktivite göstermiştir. Doz artışıyla sitotoksik aktivitesi belirgin bir şekilde artan genotip **K14** (%46.32) genotipi olmuştur. Doz artışına bağlı olarak öne çıkan diğer bir genotip ise **K01** (%57.57) genotipi olmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 4.34).

8. Çalışma kapsamında incelenen kızılçık genotiplerinin meyve özelliklerine ait temel bileşenler analizi sonucunda birinci ve ikinci bileşenin sırasıyla %39.74 ve %15.11 olmak üzere ilk iki bileşenin toplam varyansın %54.85'ini ifade ettiği görülmüştür.

Bunu %11.59 ve %11.07 ile üçüncü ve dördüncü bileşenler izlemiş, dördüncü bileşen ile birlikte ifade edilen kümülatif varyans %77.51'e ulaşmıştır.

Analiz sonucunda incelenen karakterlerin büyük bir çoğunluğunun birinci bileşen tarafından temsil edildiği görülmüştür. Birinci bileşeni etkileyen en önemli karakterler sırasıyla; epigallokateşin gallat (0.86), klorogenik asit (0.81), epikateşin (0.79), fruktoz (-0.73), indirgeme gücü (0.72), TFMM (0.70), toplam antosiyanin (0.68), gallik asit (0.61), kateşin (0.56) şeklinde olup negatif değer veren fruktoz haricinde pozitif PC1 değerleri bu özellikler açısından yüksek değer veren genotipleri işaret etmektedir. Özellikle **K10** ve **K14** kodlu genotiplerin yüksek pozitif PC1 skorları ile öne çıktığı görülmüştür.

9. Çalışma kapsamında incelenen kızılılık genotiplerine ait biyokimyasal meyve özellikleri ve sitotoksik özellikler arasındaki korelasyon analiz sonuçları incelendiğinde, birçok özellik arasında istatistiki açıdan (0.01 ve 0.05 önem seviyelerinde) önemli olan, farklı seviyelerde korelasyonlar tespit edilmiştir. TF ile TA, KT, RT ve FR düşük seviyede, GA, EP, KA ve EPG orta seviyede, İG ise yüksek seviyede korelasyon göstermiş, bu korelasyonlar da FR dışında ($r = -0.27$) pozitif yönde olmuştur.

KT için tespit edilen önemli tüm korelasyonlar pozitif yönde olmuş, KT ile EP, SH200, AK200 düşük seviyede, EPG orta seviyede, KA ve RT ise yüksek seviyede korelasyon göstermiştir. EP, KA ve EPG ile yüksek seviyede korelasyon göstermiştir. EPG de benzer şekilde RT ile orta seviyede pozitif, FR ile orta seviyede negatif korelasyon göstermiş, bunun yanında GL, SH100, AK100 ve AK200 ile negatif yönde düşük seviye korelasyon göstermiştir. RT, FR ile negatif, SK ile pozitif yönde düşük seviyede korelasyon göstermiştir. FR ile GL arasında da düşük seviyede korelasyon ($r = -0.31$) tespit edilmiş ancak bu korelasyon negatif yönde olmuştur. SK ile GL ile yine düşük seviyede ancak pozitif yönde korelasyon ($r = 0.33$) göstermiş, ayrıca AK100 ve AK200 ile de düşük seviyede korelasyon gösterdiği görülmüştür. Tüm sitotoksik özellikler arasında pozitif yönde önemli korelasyonlar tespit edilmiş, bunlardan SH200 ile AK100 arasında tespit edilen orta seviye korelasyon ($r = 0.55$) dışında tamamı yüksek seviyede gerçekleşmiştir.

Özellikle meyvelerin EP, KA ve EPG gibi fenolik kompozisyonlarının varlığı ve artışına bağlı olarak kanser hücrelerine karşı sitotoksik özellikler arasındaki korelasyon incelendiğinde yüksek seviyede gösterdiği tespit edilmiştir ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$).

Sonuç olarak; bulgularımız çalışmada kullanılan ekstraktların antioksidan aktivitenin yanı sıra sitotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle

denenen kızılcık meyvesinden elde edilen ve ümitvar bulunan çeşit ve genotiplerden **K10, K14, K15, K16, K18, K19, K25 ve K27** kodlu genotiplerin ekstrelerinin yüksek sitotoksik etki göstermesi, özellikle son yıllarda yaygın olarak görülen ve gittikçe insanlığı da tehdit etmeye başlayan akciğer, bağırsak ve kolon kanseri tedavisinde kullanılacak yeni fitokimyasal özellikli bileşiklerin araştırılmasına ışık tutabileceği ve anti-kanser özellik taşıyan bileşenlerin belirlenebilmesine önemli katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Shui G, Leong LP. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidants nutraceuticals. *Food Chem* 2006, 97: 277-84.
2. Büyüktünel E. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical J* 2013, 17: 93-103.
3. Ekbül A. Diyetel polifenoller ve kardiyovasküler sistem. *T. Klin. J. Kardioloji* 2004, 17: 48-54.
4. Savikin K, Zdunic G, Jankovic T, Stanojkovic T, Juranic Z, Menkovic N. In vitro cytotoxic and antioxidative activity of *Cornus mas* and *Cotinus coggygria*. *Nat Pro Res* 2009, 23(18): 1731-9.
5. Klimentko S. The cornelian cherry (*Cornus mas* L.): Collection, preservation, and utilization of genetic resources. *J of Fruit and Ornamental Plant Res* 2004, 12: 93-8.
6. Wyma D. *Trees for American Gardens*. New York, The Macmillan Company, 1965: 502.
7. Kalyoncu H. Karadeniz bölgesi modern meyve yetiştiriciliği içinde kızılıcığın (*Cornus mas* L.) yeri ve önemi. *Karadeniz Bölgesinde Tarımsal Üretim ve Pazarlama Sempozyumu*. Samsun, 15-16 Ekim 1999:131-7.
8. Kayacık H. *Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği*. İstanbul. İstanbul Üniv. Orman Fak. Yayınları 1966, 3: 164-9.
9. Chamberlain DF. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (ed. P.H. Davis). Edinburgh, 1972, 4: 540-1.
10. Baytop T. *Türkiye'de Bitkilerle Tedavi*. İstanbul Üniv Ecz Fak Yayınları 1984: 298-9.
11. Browicz K. *Chrology of Tees and Shrubs in South-West Asia and Adjacent Regions*. Ponzan, 1986: 14.
12. Didin M, Kızılaslan A, Fenercioğlu H. Malatya'da yetiştirilen bazı kızılıcık çeşitlerinin nektara, işlenmeye uygunluklarının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Gıda* 2000, 25: 435-41.
13. Gerçekçioğlu R. Tokat merkez ilçede doğal olarak yetişen kızılıcıkların (*Cornus mas* L.) seleksiyonu üzerine bir araştırma, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1997, 15(1): 1-13.

14. Baytop T. *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Ankara, Türk Dil Kurumu Yayınları Öncü Basımevi 1994:176.
15. Anonim. *Sert Çekirdekli Meyve Yetiştiriciliği-2*, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları.
16. Özdemir NE, Kültür Ş. Natural dye plants in Savaştepe (Balıkesir). *J of Faculty of Pharmacy of Istanbul University* 2016, 46 (2):89-95.
17. Polat R, Çakılcıoğlu U, Satıl F. Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey). *J of Ethnopharmacology* 2013, 148: 951–63.
18. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. *J of Ethnopharmacology* 1999, 64: 195–210.
19. Selçuk E. Erzincan Yöresinde Yetiştirilen Kızılcıkların (*Cornus mas* L.) Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2010.
20. Demirci S, Özhatay N. An ethnobotanical study in Kahramanmaraş (Turkey); wild plants used for medicinal purpose in Andırın, Kahramanmaraş. *Turkish J of Pharmaceutical Sciences* 2012, 9 (1): 75-92.
21. Ecevit Genç G, Özhatay N. An ethnobotanical study in Çatalca (European Part Of Istanbul) II. *Turkish J of Pharmaceutical Sci* 2006, 3 (2): 73-89.
22. Korkmaz M, Karakurt E. An ethnobotanical investigation to determine plants used as folk medicine in Kelkit (Gümüşhane/Turkey) district. *Biological Diversity and Conservation* 2015, 8 (3): 290-303.
23. Karaaslan NM. Kiraz (*Prunus avium*), Çilek (*Fragaria vesca*) ve Kızılcık (*Cornus Mas* L.) Meyvelerindeki Antosiyanin Bileşiklerinin HPLC-ESI-MS İle Tayini ve Karakterizasyonu. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Doktora tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2012.
24. Kucharska AZ. Active Compounds of Cornelian Cherry Fruit (*Cornus mas* L.) *Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego Wrocław* 2012.
25. Jayaprakasam B, Olson LK, Schutzki RE, Tai MH, Nair MG. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (*Cornus mas*). *J of Agricultural and Food Chem* 2006, 54: 243–8.

26. Mikaili P, Koohirostamkolaei M, Babaeimarzangou SS, Aghajanshakeri S, Moloudizargari M, Gamchi NS, Toloomoghaddam S. Therapeutic uses and pharmacological effects of *Cornus mas*: a review. *J of Pharmaceutical and Biomedical Sci* 2013, 35: 1732–8.
27. Kucharska AZ, Szumny A, Soko-Letowska A, Piorecki N, Klymenko SV. Iridoids and anthocyanins in cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars. *J of Food Composition and Analysis* 2015, 40: 95–102.
28. Fang YZ, Yang Z, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002, 18: 872-9.
29. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species: its mechanisms and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991, 281(1-2): 9-19.
30. Karabulut K, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sag Bi. Ens. Derg* 2016, 4(1): 50-9.
31. Sies H. Review strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993, 215: 213-9.
32. Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity, *J Sci Food Agric* 2000, 80: 561-6.
33. Şenses SV, Özyazgan S, Akkan AG. Serbest oksijen radikalleri-1: Vücuttaki antioksidan sistemler. *Türk Aile Hek. Derg* 1999, 3(1-2): 5-11.
34. Meral R, Doğan İS, Kanberoğlu GS. Fonsiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Iğdır Üni Fen Bilimleri Enst Der* 2012, 2(2): 45-50.
35. Karabulut H, Gülay MŞ. 2016. Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg* 2016, 1(1): 65-76.
36. Özşahin AD. Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm ve Kayısı Çeşitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2010.
37. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993, 342: 1007-11.
38. Wang H, Cao G, Prior RL. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 1996, 44: 701-5.

39. Erdoğan S. Çeşitli Kayısı Örneklerinde Bakır Spesiasyonu (Türlendirme). Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2008.
40. Freeman BC, Beattie GA. an overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor* 2008 (DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01).
41. Özay C, Kılınçarslan Ö, Mammadov R. *Brassicaceae* familyasında savunma mekanizmaları olarak ağır metaller ve glikozinolatlar arasındaki ilişki. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2016, 9 (1): 12-22.
42. Anonim. *Gıdalardaki Pigmentler ve Fenolik Bileşikler*, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları, 2016.
43. Okcu G, Altuntaş EG, Ayhan K. Laktik asit fermentasyonunda fenolik bileşikler ve önemi. *Ordu Üniv Bil Tek Derg* 2011, 1: 50-63.
44. Halliwell B. How to characterise a biological antioxidant. *Free Radical Res Communication* 1990, 9: 1-32.
45. Satterfield M, Brodbelt JS. Enhanced detection of flavonoids by metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2000, 72: 5898-906.
46. Koch W, Baj T, Koch WK, Marzec Z. Dietary intake of specific phenolic compounds and their effect on the antioxidant activity of daily food rations. *Open Chem* 2015, 13: 869–76.
47. Zavala FAY, Wang SY, Wang CY, Aguilar GAG. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm-Wissu-Technol* 2004, 37: 687–95.
48. Peschel W, Rabaneda FS, Diekman W, Plescher A, Gartzia I, Jimenez D, Raventos RL, Buxaderas S, Codina C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chem* 2006, 97: 137–50.
49. Kolaç T, Gürbüz P, Yetiş G. Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İÜ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi* 2017, 5(1): 26-42.
50. Hidalgo GI, Almajano MP. Red Fruits: Extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A Review. *Antioxidants* 2017, 6(1): 7.

51. Kafkas NE, Kosar M, Öz AT, Mitchell E. Advanced analytical methods for phenolics in fruits. *Hindawi Journal of Food Quality* 2018 (doi.org/10.1155/2018/3836064).
52. Mirdehghan SH, Rahemi M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae* 2007, 111: 12-127.
53. Papagiannopoulos M, Wollseifen HR, Mellenthin A, Haber B. Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived product by HPLC-UV-ESI/MS. *J Agric Food Chem* 2004, 52: 3784-91.
54. Escarpa A, Cabrera CP, Gonzalez MC. Optimization and validation of a fast liquid gradient for determination of prominent flavan-3-ols and flavonols in fresh. *J High Resol Chromatography* 2000, 23: 637-43.
55. Ruiz D, Egea J, Gil MI, Tomas FA. Characterization and quantitation of phenolic compound in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *J Agric Food Chem* 2005, 53: 9544-52.
56. Robards K, Antolovich M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids a review. *Analyst* 1997 122: 11-34.
57. Shi J, Nawaz H, Pohlory J, Mittal G. Extraction of polyphenol from plant material for functional foods. *Food Reviews International* 2005, 21: 139-66.
58. Tura D, Robards K. Sample handling strategies for the determination of biophenols in food and plants. *J of Chromatography A* 2002, 975: 71-93.
59. Ascarp, E, Gonzalez MC. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta* 2001, 427: 119-27.
60. Ruberto G, Renda A, Daquino C, Amico V, Spatafora C, Tringali C, Tommasi ND. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extract from five sicilian red grape cultivars. *Food Chem* 2007, 100: 203-10.
61. Simon BF, Ilzarbe JP, Hernandez T, Cordoves CG, Estrella I. Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices. *J Agric Food Chem* 1992, 40: 1531-5.
62. Aires A. Phenolics in foods: extraction, analysis and measurements. phenolic compounds - natural sources, importance and applications. Chapter 3 London, IntechOpen Limited 2017: 61-88.

63. Delgado AM, Issaoui M, Chammem N. Analysis of main and healthy phenolic compounds in foods. *J of AOAC International* 2019, 102, No. X.
64. Ajila CM, Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Godbout, S, Valero JR. Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Crit Rev Biotechnol* 2010, 31: 227–49.
65. Pueyo IU, Calvo MI. Assay conditions and validation of a new UV spectrophotometric method using microplates for the determination of polyphenol content. *Fitoterapia* 2009, 80: 465–7.
66. Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* 2013, Vol18: 2328-75.
67. Margari MT, Okogeri O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chem* 2001, 7: 377–83.
68. Chirinos R, Campos D, Costa N, Arbizu C, Pedreschi R, Larondelle Y. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) tubers: identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food Chem* 2008, 106: 1285–98.
69. Barros L, Dueñas M, Ferreira ICFR, Baptist P, Buelga CS. Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different portuguese wild mushrooms species. *Food and Chemical Toxicology* 2009, 47: 1076–9.
70. Çelik S. Kanser belirtileri nelerdir? <https://www.medicalpark.com.tr/kanser/hg-1716> 21 Nisan 2020.
71. Jayakiran M. Apoptosis-Biochemistry: A Mini Review. *J Clin Exp Pathol* 2015, 5:1 (DOI: 10.4172/2161-0681.1000205).
72. Anonim, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1083 11 Mayıs 2020.
73. Anonim. Türkiye kanser istatistikleri. Ankara Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018: 21.
74. Akbulut 2015. Kanser ve beslenme ilişkisi, Tüba-Gıda, Beslenme ve Kanserin Önlenmesi Sempozyumu Raporu, Türkiye Bilimler Akademisi, 2015: 33-41.
75. Navo MA, Phan J, Vaughan C, Palmer JL, Michaud L, Jones KL, Bodurka DC, Engquist KB, Hortobagyi GN, Kavanagh JJ, Smith JA. An assessment of the utilization of complementary and alternative medication in women with gynecologic or breast malignancies. *J of Clinical Oncology* 2004, 22(4): 671-7.
76. Çelik AŞ. Introductory Chapter: Cytotoxicity, Cytotoxicity, *IntechOpen* 2018 (DOI: 10.5772/intechopen.77244).

77. Saetung A, Itharat A, Dechsukum C, Keawpradub K, Wattanapiromsakul C, Ratanasuwan P. Cytotoxic activity of thai medicinal plants for cancer treatment. *Songklanakarın J Sci Technol* 2005, 27(2) : 469-78.
78. Tokur O, Aksoy A. In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniv Vet Fak Derg* 2017, 6 (1): 112-8.
79. Duellman SJ, Zhou W, Meisenheimer P, Vidugiris G, Cali JJ, Gautam P, Wennerberg K, Vidugiriene J. Bioluminescent, nonlytic, real-time cell viability assay and use in inhibitor screening. mary ann liebert inc. *Assay and Drug Development Tech* 2015, 13(8): 456-65.
80. Angius F, Floris A. Liposomes and mtt cell viability assay: an incompatible affair. *Toxicology in Vitro* 2015, 29: 314-9.
81. Tural S, Koca I. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae* 2008, 116: 362-6.
82. Pırlak L. Uzundere, Tortum, ve Oltu İlçelerinde Doğal Olarak Yetişen Kızılcıkların (*Cornus mas* L.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerine Bir araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 1993.
83. Kökosmanlı M, Keleş F. Erzurum’da yetiştirilen kıızılcık meyvesinin marmelat ve pulpa işlenerek değerlendirilmesi. *Gıda* 2000, 25(4): 289- 98.
84. Hamid H, Yousef H, Jafar H, Mohammad A. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae* 2011, 129(3): 459–63.
85. Gülçin İ, Beydemir Ş, Şat İG, Küfrevioğlu Öİ. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Aliment* 2005, 34(2): 193–202.
86. Ersoy N, Bağcı Y, Gök V. Antioxidant properties of 12 cornelian cherry fruit types (*Cornus mas* L.) selected from Turkey. *Sci Res and Essays* 2011, 6(1): 98-102.
87. Popović BM, Štajner D, Slavko K, Sandra B. Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.)–comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chem* 2012, 134: 734–41.

88. Tanaka T, Nishikawa K, Ishimaru K. Antioxidative capacity of extracts and constituents in *Cornus capitata* adventitious roots. *J Agric Food Chem* 2003, 51: 5906–10.
89. Sultana N, Lee NH. Antielastase and free radical scavenging activities of compounds from the stems of *Cornus kousa*. *Phytother Res* 2007, 21: 1171–6.
90. Yilmaz KU, Ercişli S, Zengin Y, Şengül M, Kafkas EY. Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chem* 2009, 114: 408-12.
91. Sengul M, Eser Z, Ercişli S, Chemical properties and antioxidant capacity of cornelian cherry genotypes grown in Coruh valey of Turkey. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 2014, 13(4): 73-82.
92. Radovanovic BC, Anelkovic ASM, Radovanovic AB, Anelkovic MZ. Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in southeast serbia. *Tropical J of Pharmaceutical Res* 2013, 12(5): 813-9.
93. De Biaggi M, Donno D, Mellano MG, Riondato I, Rakotoniaina EN, Beccaro GL. *Cornus mas* (L.) fruit as a potential source of natural health-promoting compounds: physico-chemical characterisation of bioactive components. *Plant Foods for Human Nutrition* 2018, 73: 89–94.
94. Moldovan B, Filip A, Clichici S, Suharoschi R, Bolfa P, David L. Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fruits extract and the in vivo evaluation of its anti-inflammatory effects. *J of Functional Foods* 2016, 26: 77-87.
95. Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis G. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chem* 2007, 102: 777-83.
96. Seeram NP, Schutzki R, Chandra A, Nair MG. Characterization, quantification and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. *J Agric Food Chem* 2002, 50: 2519–23.
97. Antolak H, Czyzowska A, Sakac M, Misan A, Duragic O, Kregiel D. Phenolic compounds contained in little-known wild fruits as antiadhesive agents against the beverage-spoiling bacteria *asaia* spp.,. *Molecules* 2017, 22: 1256.

98. Milenkovic-Andjelkovic AS, Andjelkovic MZ, Radovanovic AN, Radovanovic BC, Nikolic V. Phenol Composition, DPPH Radical Scavenging and antimicrobial activity of cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit and leaf extracts. *Hem Ind* 2015, 69 (4): 331–7.
99. Salejda AM, Kucharska AZ, Krasnowska G. Effect of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juice on selected quality properties of beef burgers. *Hindawi Journal of Food Quality* 2018, Article ID 1563651, 8 pages.
100. Cosmulescu S, Trandafir I, Cornescu F. Antioxidant capacity, total phenols, total flavonoids and colour component of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) wild genotypes. *Not Bot Horti Agrobi* 2019, 47(2):390-4.
101. Lee D, Lee SH, Chung SR, Ro J, Lee K. Phenolic components from the leaves of *Cornus controversa*. *H Kor J PharmacogN* 1995, 26(4): 327–36.
102. Slimestad R, Andersen ÓM. Cyanidin-3-(2-glucosylgalactoside) and other anthocyanins from fruits of *Cornus suecica*. *Phytochemistry* 1998, 49(7): 2163–6.
103. Vareed SK, Reddy MK, Schutzki RE, Nair MG. Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. *Life Sciences* 2006, 78: 777–84.
104. Pawlowska AM, Camangi F, Braca A. Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (*Cornaceae*) Fruits. *Food Chem* 2010, 119: 1257–61.
105. Ma H, Li L, Seeram NP. Phenolics from *Cornus amomum* mill. fruit. *Biochemical Systematics and Ecology* 2010, 38: 1083–4.
106. Lin MH, Liu HK, Huang WJ, Huang CC, Wu TZ, Hsu FL. Evaluation of the potential hypoglycemic and beta-cell protective constituents isolated from corni fructus to tackle insulin-dependent diabetes mellitus. *J Agric Food Chem* 2011, 59: 7743–51.
107. Xie X-Y, Wang R, Shi Y-P. Chemical constituents from the fruits of *Cornus officinalis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 2012, 45: 120–3.
108. Lietava J, Beerova N, Klymenko SV, Panghyova E, Varga I, Pechanova O. Effects of cornelian cherry on atherosclerosis and its risk factors. *Hindawi, Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019, Article ID 2515270, 8 pages.
109. Celep E, Aydın A, Kırmızıbekmez H, Yeşilada E. Appraisal of in vitro and in vivo antioxidant activity potential of cornelian cherry leaves. *Food and Chemical Toxicology* 2013, 62: 448-55.

110. Sozanski T, Kucharska AZ, Szumny A, Magdalan J, Bielska K, Merwid-Lad A, Wozniak A, Dzimira S, Piorecki N, Trocha M. The protective effect of The *Cornus mas* Fruits (cornelian cherry) on hypertriglyceridemia and atherosclerosis through ppara activation in hypercholesterolemic rabbits. *Phytomedicine* 2014, 21: 1774-84.
111. Krisch J, Galgóczy L, Tölgyesi M, Papp T, Vágvölgyi C. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of gram-positive and gram-negative bacteria. *Acta Biologica Szegediensis* 2008, 52(2): 267-70.
112. Yousefi B, Abasi M, Abbasi MM, Jahanban-Esfahlan R. Antiproliferative properties of *Cornus mas* fruit in different human cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015, 16 (14): 5727-31.
113. Forman V, Haladova M, Grancai D, Fickova M. Antiproliferative activities of water infusions from leaves of five *Cornus* L. species. *Molecules* 2015, 20: 22546–52.
114. Turker AU, Yildirim AB, Karakas FP. Antibacterial and antitumor activities of some wild fruits grown in Turkey. *Biotech Equipment* 2012, 26(1): 2765-72.
115. Vareed SK, Schutzki RE, Nair MG. Lipid peroxidation, cyclooxygenase enzyme and tumor cell proliferation inhibitory compounds in *Cornus kousa* fruits. *Phytomedicine* 2007, 14: 706–9.
116. Kwon S-H, Park H-Y, Kim J-Y, Jeong I-Y, Lee M-K, Seo K-I. Apoptotic action of ursolic acid isolated from corni fructus in RC-58T/h/SA#4 primary human prostate cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2010, 20: 6435–8.
117. Radbeh Z, Asefi N, Hamishehkar H, Roufegarinejad L, Pezeshki A. Novel carriers ensuring enhanced anti-cancer activity of *Cornus mas* (Cornelian Cherry) bioactive compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020, 125: 109906.
118. Hwang J-Y, Shue Y-S, Chang H-M. Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. *Food Res International* 2001, 34: 639–47.
119. Yen G-C, Hung C-Y. Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tiao (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Food Res International* 2000, 33: 487-92.
120. Senkal CE, Ponnusamy S, Rossi MJ, Bialewski J, Sinha D, Jiang JC, Jazwinski MS, Hannun YA, Ogretmen B. Role of human longevity assurance gene 1 and

- c₁₈-ceramide in chemotherapy-induced cell death in human head and neck squamous cell carcinomas. *Mol Cancer Ther* 2007, 6(2): 712-22.
121. Baran Y, Oztekin C, Yonca BE. Combination of fludarabine and imatinib induces apoptosis synergistically through loss of mitochondrial membrane potential and increases in caspase-3 enzyme activity in human k562 chronic myeloid leukemia cells. *Cancer Investigation* 2010, 28: 623–8.
 122. Baran Y, Ural AU, Gunduz U. Mechanisms of cellular resistance to imatinib in human chronic myeloid leukemia cells. *Hematology* 2007, 12(6): 497-503.
 123. Brown PN, Murch SJ, Shipley P. Phytochemical diversity of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) cultivars by anthocyanin determination and metabolomic profiling with chemometric analysis. *J of Agri and Food Chem* 2012, 60(1): 261-71.
 124. Lu Y, Pekerti BN, Toh ZS, Broom F, Savage G, Liu SQ, Huang D. Physico-chemical parameters and proanthocyanidin profiles of cranberries cultivated in New Zealand. *J of Food Composition and Analysis* 2017, 63: 1-7.
 125. Gillani FÜ, Raftani Z, Kenari RE. The Effect of different solvents and ultrasound on antioxidant properties of extract of *Cornus mas* L. fruit. *Iranian Food Sci and Tech Res J* 2017, 13(4): 517-27.
 126. Karaaslan MG, Karaaslan NM, Ateş B. Investigation of mineral components and antioxidant properties of a healthy red fruit: cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *JOTCSA* 2018, 5(3):1319–26.
 127. Cheok CY, Chin NL, Yusof YA, Law CL. Extraction of total phenolics content from *garcinia mangostana* Linn. hull. I. effects of solvents and UV-Vis spectrophotometer absorbance method. *Food Bioprocess Technol* 2011, 5: 2928–33.
 128. Erdoğan S, Erdemoğlu S. Evaluation of polyphenol contents in differently processed apricots using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography–diode array detector. *International J of Food Sci and Nut* 2011, 62(7): 729–739.
 129. Agourram A, Ghirardello D, Rantsiou K, Zeppa G, Belviso S, Romane A, Oufdaou K, Giordano M. Phenolic content, antioxidant potential, and antimicrobial activities of fruit and vegetable by product extracts. *International J of Food Properties* 2013, 16: 1092–104.

130. Xu BJ, Chang SKC. A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J of Food Sci* 2007, 72(2): 159-66.
131. Awika JM, Rooney LW, Waniska RD. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chem* 2004, 90: 293–301.
132. Bridgers EN, Chinn MS, Truong V-D. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial Crops and Products* 2010, 32: 613–20.
133. Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. Phenolic-compound extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 2010, 15: 8813–8826.
134. Ötleş S. Gıdalarda Şeker ve Flavonoid İnteraksiyonu. <http://www.dunyagida.com.tr/kose-yazisi/gidalarda-seker-ve-flavonoid-interaksiyonu/7554> 06 Haziran 2020.
135. Kantar NK. Kızılcık Meyvesinden (*Cornus mas*) Ohmik Destekli Mikrodalga ve Ultrasonik Yöntemleri İle Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2019.
136. Stiroopoulos T, Petridis A, Koutinas N, Therios I. ‘Ntoulia 1’ and ‘Ntoulia 2’ cornelian cherries (*Cornus mas* L.). *Hort Science* 2011, 46(6): 955-7.
137. Gholamrezayi, A., Yaghubi, E., Ghafouri, A. A review of probable effects of cornelian cherry fruit. *J Biochem Tech* 2019, Special Issue (2): 71-4.
138. Sengül, M., Eser, Z., Ercisli, S., 2014. Chemical Properties and Antioxidant Capacity of Cornelian Cherry Genotypes Grown in Coruh Valley of Turkey. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 2014, 13(4): 73-82.
139. Rop, O., Mlcek, J., Kramaravo, D., Jurikova, T. Selected Cultivars of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) as a New Food Source for Human Nutrition. *African J of Biotech* 2010, 9(8): 1205-10.
140. Hashempour A, Ghazvini RF, Bakhshi D, Ghasemnezhad M, Sharafti M, Ahmadian H. Ascorbic acid, anthocyanins, and phenolics contents and antioxidant activity of ber, azarole, raspberry, and cornelian cherry fruit genotypes growing in Iran. *Hort Environ Biotechnol* 2010, 51(2):83-8.

141. Kucharska, A.Z., Letowska, A.S. Morphological, physical & chemical, and antioxidant profiles of Polish varieties of Cornelian cherry fruit (*Cornus mas* L.). *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 2011, 3 (76): 78 – 89.
142. Cetkovska J, Divis P, Vespalcova J, Porizka J, Reznicek V. Basic nutritional properties of cornelian cherry (*Cornus mas* l.) cultivars grown in the Czech Republic. *Acta Alimentaria* 2015, 44(3):549-57.
143. Gunduz K, Saracoglu O, Özgen M, Serce S. Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (*Cornus Mas* L.) at different stages of ripeness. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 2013, 12(4): 59-66.
144. Klymenko S, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Piórecki N. Antioxidant activities and phenolic compounds in fruits of cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Agr Bio Div Impr Nut Health Life Qual* 2019: 484–99.
145. Boulekbache-Makhlouf L, Medouni L, Medouni-Adrar S, Arkoub L, Madani K. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Industrial Crops and Products* 2013, 49: 668-74.
146. Lim S-H, Choi SH, Oh YI, Kim S-J. Anti-oxidative effects of flavonoids enriched corni fructus extract and the mechanism. *African J of Pharmacy and Pharmacology* 2011, 5(4): 506-14.
147. Piryaei M, Asl MB, Abolghasemi MM. The effect of freezing and drying *cornus mas* l. from phenols, flavonoids, anthocyanins, and total content of ascorbic acid and antioxidant activity in two methods. *BIOLOGIJA* 2019, 65(3): 184–91.
148. Çelik F. Kızılcığın (*Cornus Mas* L) Ekstraksiyonu ve Antioksidan Bileşenlerinin Analizi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi, 2009.
149. Kazimierski M, Regula J, Molska M. Cornelian cherry (*Cornus Mas* L.) – characteristics, nutritional and pro-health properties. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2019, 18(1): 5–12.
150. Gerçekcioğlu R. Tokat merkez ilçede doğal olarak yetişen kızılçıkların (*Cornus mas* L.) seleksiyonu üzerine bir araştırma. *Gaziosmanpaşa Üni Ziraat Fak Dergisi* 1997. 15(1): 1-13.
151. Tian G, Zhang T, Yang F, Ito Y. Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* Sieb. Et Zucc by High-Speed Counter-Current Chromatography. *J of Chromatography A* 2000, 886: 309–12.

152. Du W, Cai H, Wang M, Ding X, Yang H, Cai B. Simultaneous determination of six active components in crude and processed fructus corni by High Performance Liquid Chromatography. *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2008, 48: 194–7.
153. Sochor J, Jurikova T, Ercisli S, Mlcek J, Baron M, Balla S, Yilmaz SO, Necas T. Characterization of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes–genetic resources for food production in Czech Republic. *Genetika* 2014, 46: 915–24.
154. Cao G, Zhang Y, Feng J, Cai H, Zhang C, Ding M, Cong X, Cai B. A rapid and sensitive assay for determining the main components in processed fructus corni by UPLC-Q-TOF-MS. *Chromatographia* 2011, 73: 135–41.
155. Lin MH, Liu HK, Huang WJ, Huang CC, Wu TH, Hsu FL. Evaluation of the potential hypoglycemic and beta-cell protective constituents isolated from corni fructus to tackle insulin-dependent diabetes mellitus. *J Agric Food Chem* 2011, 59: 7743–51.
156. Cosmulescu S, Trandafir I, Nour V. Phenolic acids and flavonoids profiles of extracts from edible wild fruits and their antioxidant properties. *Int J Food Prop* 2017, 20: 3124–34.
157. Liu Z, Zhu ZY, Zhang H, Tan GG, Chen XF, Chai YF. Qualitative and quantitative analysis of fructus corni using ultra sound assisted microwave extraction and high performance liquid chromatography coupled with diode array UV detection and time-of flight mass spectrometry. *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2011, 55: 557–62.
158. Cai H, Cao G, Cai B. Rapid simultaneous identification and determination of the multiple compounds in crude fructus corni and its processed products by HPLC–MS/MS with multiple reaction monitoring mode. *Pharmaceutical Biology* 2013, 51(3): 273–8.
159. Deng S, West BJ, Jensen CJ. UPLC-TOF-MS characterization and identification of bioactive iridoids in *cornus mas* fruit. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2013, Article ID 710972, 7 pages.
160. Begic-Akagic A, Drkenda P, Vranac A, Orazem P, Hudina M. Influence of growing region and storage time on phenolic profile of cornelian cherry jam and fruit. *Eur J Hort Sci* 2013, 78: 30–9.

161. Drkenda P, Spahic A, Begic-Akagic A, Gasi F, Vranac A, Hudina M, Blanke M. Pomological characteristics of some autochthonous genotypes of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in Bosnia and Herzegovina. *Erwerbs-Obstbau* 2014, 56: 59–66.
162. Harnly JM, Doherty RF, Beecher GR, Holden JM. Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. *J Agric Food Chem* 2006, 54: 9966–77.
163. Bhagwat S, Haytowitz DB, Holden M. 2011. USDA Database for the flavonoid content of selected foods, Release 3. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory.
164. Çankaya EN. EGCG (Epigallocatechin Gallate): yararları, dozu ve güvenilirliği, https://www.diyetasistan.com/tr/1515/egcg_epigallocatechin_gallate_yararlari_dozu_ve_guvenilirligi 12 Haziran 2020.
165. Perova IB, Zhogova AA, Poliakova AV, Éller KI, Ramenskaia GV, Samylina IA. Biologically active substances of cornelian cherry fruits (*Cornus Mas* L.). *Vopr Pitan* 2014, 83(5):86-94.
166. Petkova NTr, Ognyanov MH, Phytochemical characteristics and in vitro antioxidant activity of fresh, dried and processed fruits of cornelian cherries (*Cornus Mas* L.). *Bulgarian Chem Communications* 2018, 50: 302 –7.
167. Tarko T, Duda-Chodak A, Satora P, Sroka P, Pogoń P, Machalica J. *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, *Morus nigra* fruits characteristics and their processing potential. *J Food Sci Technol* 2014, 51(12): 3934–41.
168. Hosseini FS, Karimabad MN, Hajizadeh MR, Khoshdel A. Evaluating of induction of apoptosis by *Cornus mas* L. extract in the Gastric Carcinoma Cell Line (AGS). *Asian Pac J Cancer Prev* 2018, 20 (1): 123-130.
169. Kourpeti-Tiptiri A, Fitsiou E, Spyridopoulou, K. Evaluation of antioxidant and antiproliferative properties of *Cornus mas* L. fruit juice. *Antioxidants* 2019, 8: 377

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Yılmaz UĞUR
Doğum Tarihi : 20.12.1977
Doğum Yeri : Malatya

İletişim Bilgileri

Adres : Topsöğüt Mahallesi Fatih Caddesi No: 32 Yeşilyurt/MALATYA
Tel (iş) : 0 422 212 20 00
E-posta : kimyager4401@hotmail.com, yilmaz.ugur@tarimorman.gov.tr

Eğitim Durumu

Lisans : İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 2004
Yüksek Lisans : İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, 2015
Doktora : İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Anabilim Dalı

Yabancı Dil Bilgisi

İngilizce 83.75 (YÖKDİL), 71.25 (YDS)

Mesleki Deneyim

2006-2009 Kimyager Tarım ve Orman Bakanlığı, Adana Gıda Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü
2009- Kimyager Tarım ve Orman Bakanlığı, Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

Yüksek Lisans Tezi

Kükürtlenerle Kurutulmuş Bazı Kayısı Çeşitlerinde SO₂'nin Giderilmesinde H₂O₂ Kullanımının, Kayısının Polifenol İçeriğine ve Antioksidan Kapasitesine Etkisinin Belirlenmesi

Yayınlar

Ulusal ve Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Çöçen E, Macit T, Ernim C, Kokargül R, **Uğur Y**, Kan T, Pırlak L. Malatya yöresinde yetiştirilen mahalli 'Karamehmet' elmasında seleksiyonla verimli ve kaliteli klonların seçimi. *Akademik Ziraat Dergisi* 2019, 8(1): 13-20.
2. **Uğur Y**, Erdogan S, Yılmaz I, Basgel S. Variation of quantitative composition of phenolic compounds in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) leaves during the growth seasons. *J Nat Prod Plant Resour* 2018, 8(1): 33-9.
3. Çöçen E, Ernim C, Macit T, Kokargül R, **Uğur Y**, Kan T, Pırlak L. Malatya yöresinde yetiştirilen "Arapkızı" elma çeşidinde klon seleksiyonu I. *Meyve Bilimi* 2018, 5(2): 43-8.
4. Avcı H, **Uğur Y**, Erdoğan S. Evaluation of fatty acid compositions and physicochemical quality parameters of ancient and recent olive (*Olea europaea* L.) oil varieties of Southeast Anatolia. *International Journal of Chemistry and Technology* 2018, 2(2):76-88.
5. Yıldırım I, **Uğur Y**, Kutlu T. Investigation of antioxidant activity and phytochemical compositions of *Celtis tournefortii*. *Free Radicals & Antioxidants* 2017, 7(2): 160-5.
6. Erdogan S, Karlıdag S, Basgel S, Ulu A, Yilmaztekin M, Karadol G. Uğur Y, Ates B. The effect of heat treatment on sugar, HMF and antioxidant properties of honey obtained from different regions in Turkey. *Journal of Apitherapy and Nature* 2018, 1 (2): 32-45.

Ulusal ve Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

1. **Uğur Y**, Özkan N, Yaman R, Şahin Öİ, Özkaya O. The Ethanol and SO₂ Applications in the Postharvest Storage of "Köhnü" Table Grape. International Biological, Agricultural & Life Science Congress, Lviv-Ukraine, 7-8 November 2019. (Sözlü Bildiri)
2. **Uğur Y**, Erdogan S, Yanar M, Yaman R, Macit T. Comparison of Physicochemical Properties of Cornelian Cherry Genotypes Grown in The Same Conditions. 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, Tarbzon-Turkey, 16-18 April 2019. (Sözlü Bildiri)
3. Öylek HŞ, Karadeniz T, Altun OT, Özkan N, Koç H, **Uğur Y**, Yaman R, Ernim C. Evaluation of Apricot Production in Turkey. International Agriculture Congress, Komrat-Gagauzya- Moldova, 3-6 May 2018. (Sözlü Bildiri)
4. Erdoğan S, **Uğur Y**, Karaaslan NM, İçen MS, Biçim T, Yaman M. Investigation of the Fatty Acid Compositions of *Allium tuncellum* by GC. 8th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, Istanbul-Turkey 09-11 May 2018, (Poster Bildiri)

5. Murat B, **Ugur Y**, Yaman R, Erdoğan S. Research of Bioactive Components of Some Vegetable Fats with Certain Pharmacological Properties. 8th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, Istanbul-Turkey, 09-11 May 2018. (Poster Bildiri)
6. Çulcu Ö, **Ugur Y**, Yaman R, Erdoğan S. Effect of Frying Repeat on Composition of Fatty Acids Species in Different Oils. 8th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, Istanbul-Turkey, 09-11 May 2018. (Poster Bildiri)
7. Yanar M, **Ugur Y**, Macit T, Kokargül R, Bayındır Y, Ernim C. Collection, Conservation and Characterization of Oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) Genetik Resources Grown in Malatya. 1ST International GAP Agriculture and Livestock Congress, Sanliurfa-Turkey 25-27 April 2018. (Sözlü Bildiri)
8. **Ugur Y**, Özkan N, Şahiner H, Kılıçarslan S, Altun OT, Yaman R, Koç H, Nalçacı S, Özkaya O. The Ethanol Vapour Application in the Cold Storage of "Köhnü" Table Grape. 1ST International GAP Agriculture and Livestock Congress, Sanliurfa-Turkey 25-27 April 2018. (Sözlü Bildiri)
9. **Ugur Y**, Erdoğan S, Altun OT, Yaman R, Gültekin N, Ernim C. The Some Chemical Characteristics of The Earliness Apricot Cultivars Growing in Malatya Ecology. 1ST International GAP Agriculture and Livestock Congress, Sanliurfa-Turkey 25-27 April 2018. (Poster Bildiri)
10. **Ugur Y**, Erdoğan S, Özkan N, Kılıçarslan S, Şahiner H, Yaman R, Altun OT, Koç H, Yanar M, Ernim C. The Chemical Characteristics of "Köhnü" Table Grape. 1ST International GAP Agriculture and Livestock Congress, Sanliurfa-Turkey 25-27 April 2018. (Poster Bildiri)
11. **Ugur Y**, Yaman R, Erdoğan S. Determination of Fatty Acids and Sterol Compositions of Some Black Cumin Seed (*Nigella Sativa* L.) Oils with GC-FID. 1ST International GAP Agriculture and Livestock Congress, Sanliurfa-Turkey 25-27 April 2018. (Poster Bildiri)
12. **Ugur Y**, Altun OT, Gultekin N, Ernim C. The Pomological Characteristics of The Earliest Apricot Cultivars Growing in Malatya Ecology, 2nd International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana-Turkey 25-27 October 2017. (Poster Bildiri)
13. Yanar M, **Uğur Y**, Macit T, Çöçen E, Taşkın T. Malatya'da Yetişen Alıç (*Crataegus spp.* L.) Genetik Kaynaklarının Toplanması, Muhafazası ve Değerlendirilmesi, II. Ulusal Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri Sempozyumu, Tokat-Türkiye, 26-28 Ekim 2017. (Sözlü Bildiri)
14. **Uğur Y**, Macit T, Altun OT, Ernim C, Erdoğan S. Malatya Ekolojisinde Yetiştirilen Bazı Badem Çeşitlerinin Yağ Asidi Kompozisyonu, 16. Kromatografi Kongresi, Malatya-Türkiye, 31 Ağustos- 2 Eylül 2016. (Poster Bildiri)

15. Erdoğan S, **Uğur Y**, Macit T. Farklı Kızılcık (*Cornus mas* L.) Genotiplerine ait Meyvelerin Fenolik Bileşenlerinin Belirlenmesi, 16. Kromatografi Kongresi, Malatya-Türkiye, 31 Ağustos- 2 Eylül 2016. (Poster Bildiri)
16. Yıldırım I, **Uğur Y**, Kutlu T. Determination of Phenolic Acid Profile, Total Phenolic and Flavonoid Content of *Rheum Ribes* Fruits Methanol Extracts, The 29th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (ISCNP29) and The International Conference on Biodiversity (ICOB-9), İzmir-Türkiye, 24-27 September 2016. (Poster Bildiri)
17. **Uğur Y**, Ateş S, Erdoğan S, Yanar M, Koç H, Şahiner H, Yılmaz MA. "Kureyş" ve "Tahannebi" Üzüm Çeşitlerinde Farklı Olgunlaşma Dönemlerindeki Fenolik Bileşenlerin Belirlenmesi, VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Çanakkale-Türkiye, 25-29 Ağustos 2015. (Poster Bildiri)
18. **Uğur Y**, Yılmaz MA, Macit T, Sarıtepe Y, Erdoğan S, Ercişli S. The Effect of Different Sulphur Level on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Dried Apricot, XVI. International Symposium on Apricot Breeding and Culture and XV Chinese National Symposium on Plum and Apricot, Shenyang-China, 29 June – 3 July 2015. (Sözlü Bildiri)
19. **Uğur Y**, Erdoğan S. Kükürtlenerak Kurutulmuş Kayısı Meyvesinde Kükürt Gidermede Kullanılan Hidrojen Peroksit'in Meyvenin Fenolik Bileşenlerine Etkisi, 15. Kromatografi Kongresi, Uşak –Türkiye, 8-10 Nisan 2015. (Poster Bildiri)
20. Görgeç VA, Güler Ç, Botsalı MS, **Uğur Y**, Çolak C. Farklı Renklerdeki Kompomerlerin Polimerizasyonu Sonrasında Açığa Çıkan Artık Monomer Miktarının İncelenmesi, 8th International Congress of Mediterranean Societies of Pediatric Dentistry & 21st Congress of Turkish Society of Pediatric Dentistry, Istanbul-Turkey, 13-15 November 2014. (Poster Bildiri)
21. Avcı H, **Uğur Y**, Erdoğan S. Değişik Coğrafi Bölgelere Zeytinyağlarının Yağ asidi Seviyeleri ve Kalite Parametreleri Bakımından Karşılaştırılması. 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş-Türkiye, 1-5 Eylül 2014. (Poster Bildiri)
22. Yumuşakbaş H, **Uğur Y**, Erdoğan S. Malatya'da Yetiştirilen Kırmızı Renkli Meyvelerde Bazı Makro ve Mikro Elementlerin Tayini, 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş-Türkiye, 1-5 Eylül 2014. (Poster Bildiri)

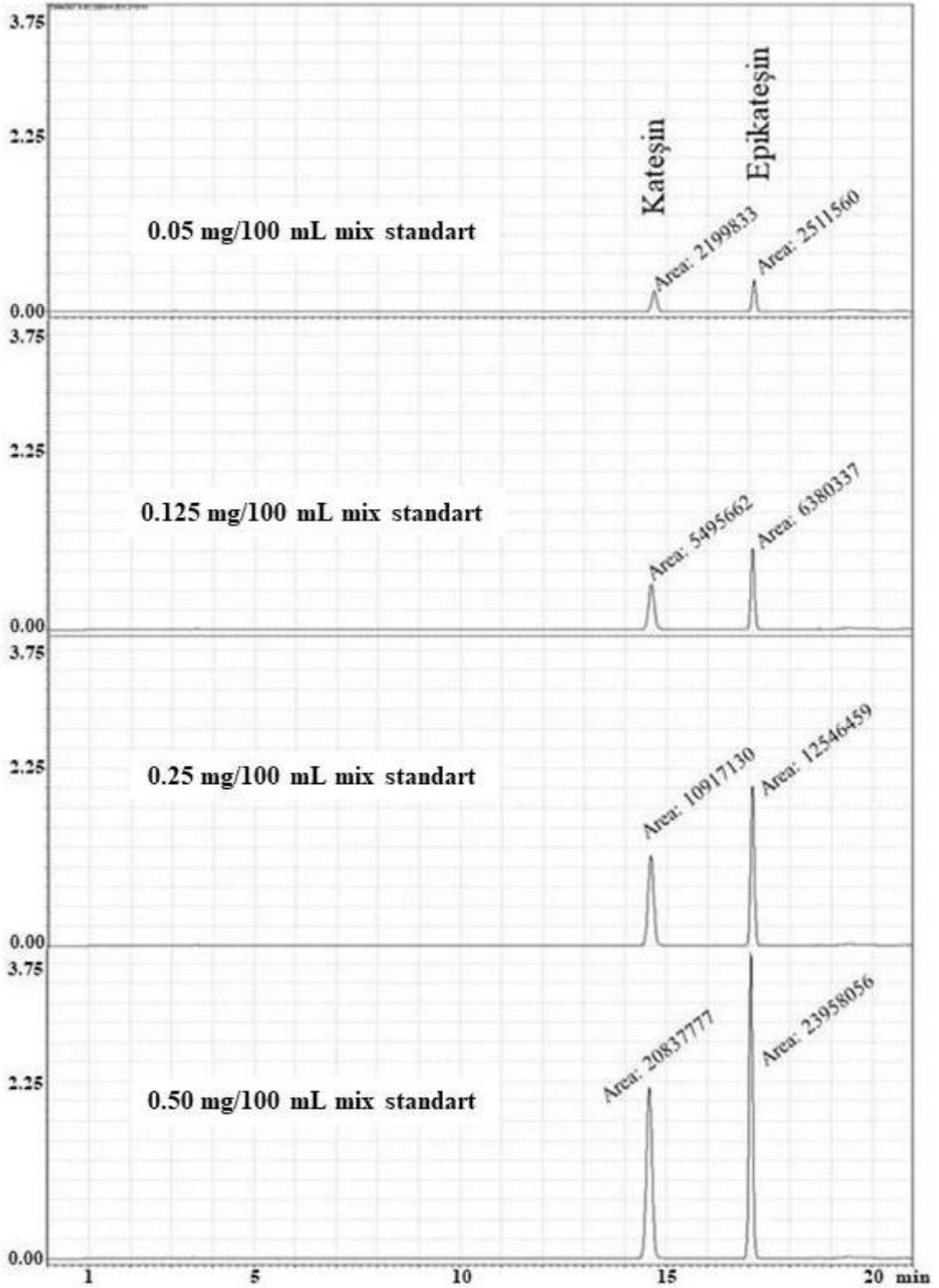
Yürütücü Olarak Yer Aldığı Ulusal Projeler

1. Bazı Modifiye Atmosfer Uygulamalarının 'Köhnü' Sofralık Üzümünün Kalitesi Üzerine Etkileri, TAGEM/BBAD/17/A08/P04/08, 2017-2019.
2. Malatya Koşullarında Yerel Bazı Üzüm Çeşitlerine Uygun Asma Anaçlarının Belirlenmesi, TAGEM/BBAD/14/A08/P04/06, 2014-Devam ediyor.

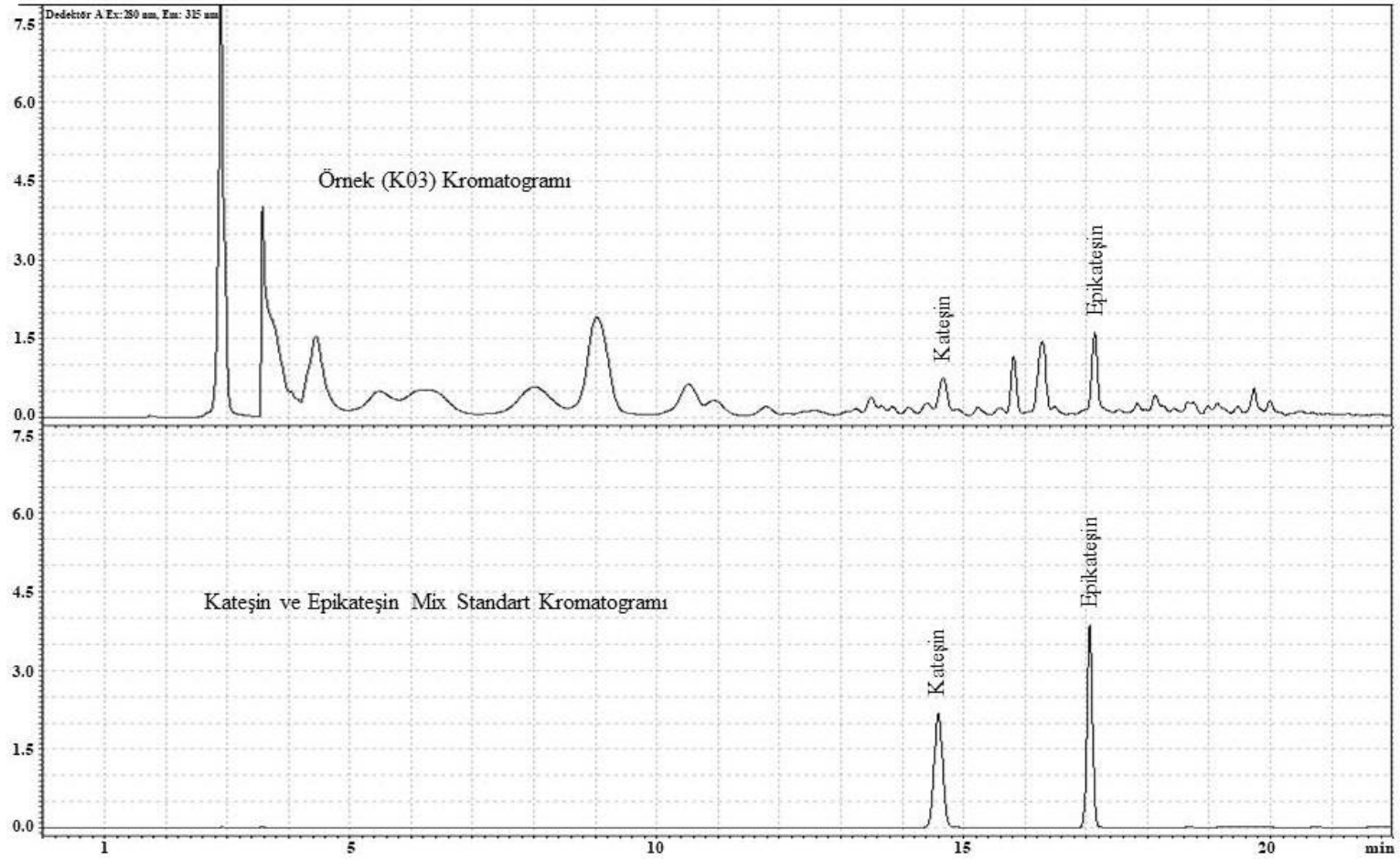
Araştırmacı Olarak Yer Aldığı Ulusal Projeler

1. Kükürtlü Kayısının Sağlık Üzerine Etkilerinin İn Vitro ve İn Vivo Olarak İncelenmesi, BAP TSG-2019-1637, 2019-Devam ediyor.
2. Kızılcık (*Cornus mas* L) Meyve Ekstraktlarının Fenolik İçeriklerinin HPLC İle Belirlenmesi ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması, BAP TDK-2018-1497, 2018-Devam ediyor.
3. Yenilebilir Kaplama Tekniğinin Kontrollü Şartlarda Kurutulmuş Kükürtsüz Kayısıya Uygulanması, TAGEM/HSGYAD/13/A05/P03/40, 2013-2017.
4. Malatya Yöresi Endüstriyel Kayıılardan Sirke Üretimi, TAGEM/HSGYAD/15/A05/P03/92, 2015-2016.
5. Kızılcık Genetik Kaynaklarının Toplanması, Muhafazası ve Değerlendirilmesi, Tagem, 2016-2020.
6. Yaban Mersini ve Kurt Üzümü Ekstraktları İlaveli Kitosan ile Kaplanmış Gökkuşığı Alabalık Filetolarının Raf Ömrü ve Yağ Asidi Kompozisyonunun İncelenmesi, TAGEM/HSGYAD/16/A05/P05/116, 2016-2017.
7. Mutasyon Islahı ile Kayısı Yetiştiriciliğine Uygun Bodur/Yarı Bodur Klonal Anaç Geliştirilmesi, TAGEM/BBAD/17A08/P01/04, 2017-Devam ediyor.
8. Bazı Kayısı Çeşitlerinin Soğuklama Gereksinimleri ve Büyüme Dereceleri Saatleri Toplamının Çeşitli Yöntemlerle Belirlenmesi, TAGEM/BBAD/17/A08/P01/03, 2017-2019.

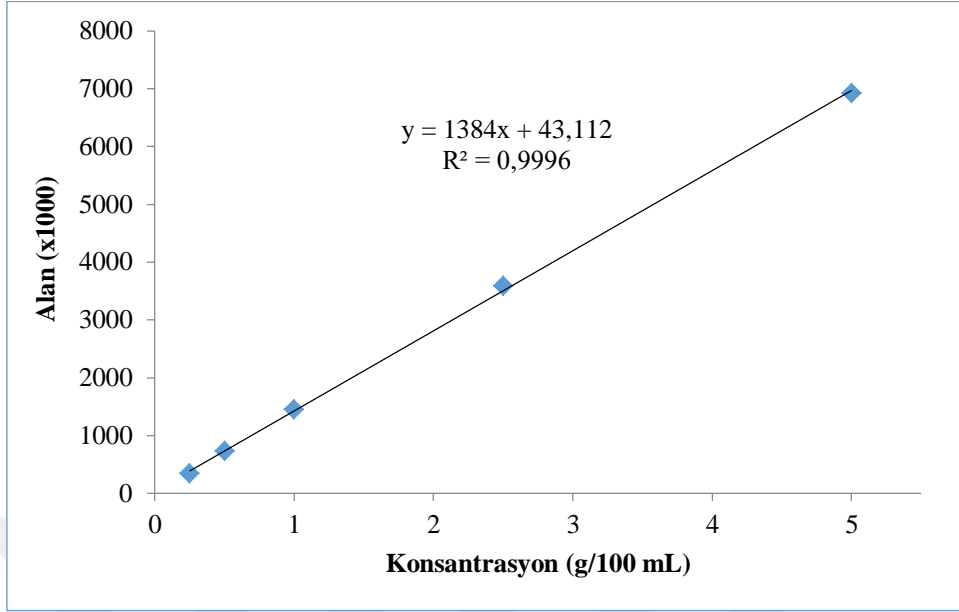
EK-2. HPLC-RF ile kateşin ve epikateşin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltilerine (0.05, 0.125, 0.25 ve 0.50 mg/100 mL) ait kromatogramlar



EK-3. HPLC-RF ile kateşin ve epikateşin bileşikleri için elde edilen mix standart çözeltisi (0.50 mg/100 mL) ve örneğe (K03) ait kromatogramlar

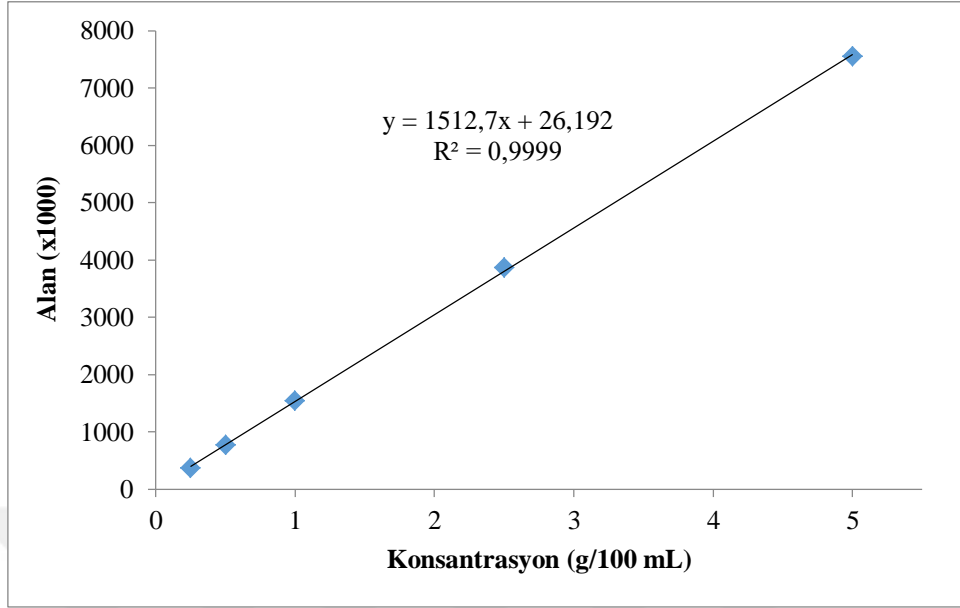


EK-4. HPLC-RID sistemindeki fruktoz standardı kalibrasyon grafiği ve ortalama pik alanları



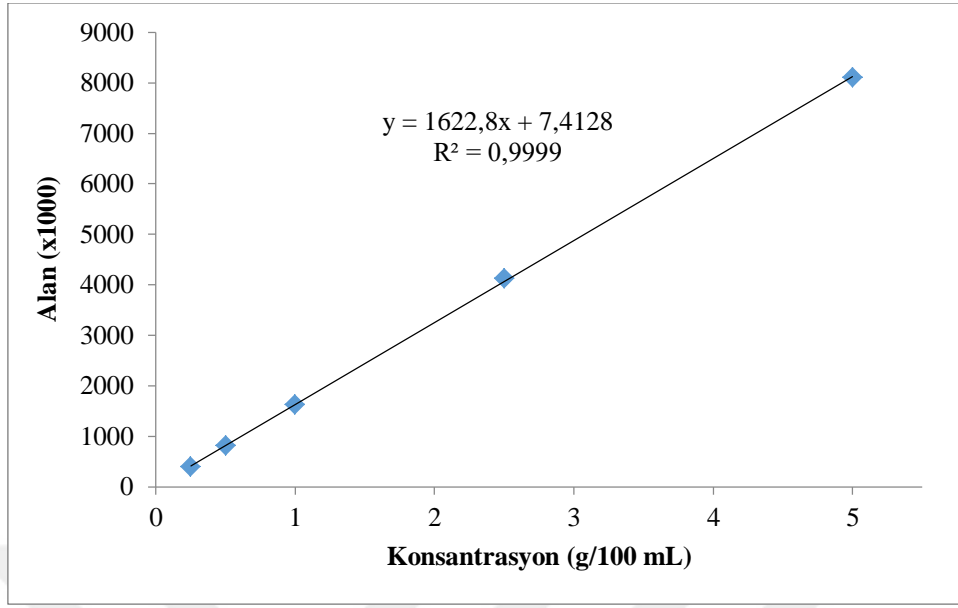
Konsantrasyon, g/100 mL	Pik alanı
0.25	340290
0.50	727329
1.00	1442395
2.50	3585626
5.00	6922250

EK-5. HPLC-RID sistemindeki sakkaroz standardı kalibrasyon grafiği ve ortalama pik alanları



Konsantrasyon, g/100 mL	Pik alanı
0.25	376208
0.50	777917
1.00	1540350
2.50	3867447
5.00	7561530

EK-6. HPLC-RID sistemindeki glikoz standardı kalibrasyon grafiği ve ortalama pik alanları



Konsantrasyon, g/100 mL	Pik alanı
0.25	395512
0.50	818688
1.00	1618633
2.50	4116634
5.00	8098543

EK-7. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge

Evrak Tarih ve Sayısı: 24/07/2020-E.47546

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü
Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Başkanlığı



Sayı : 45057869-100
Konu : Eğitim - Öğretim İşleri (Genel)

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Anabilim Dalımız Öğretim Üyesi Prof.Dr.Selim Erdoğan'ın danışmanlığını yürüttüğü Yılmaz Uğur isimli öğrencinin tez çalışmasında etik kurul izni alınmasına gerek olmadığına dair yazısı ekte bilgilerinize sunulmuştur.
Gereği arz olunur.

e-imzalıdır

Prof.Dr. Kadir BATÇIOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı V.

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 44280 Merkez Kampüsü,
Battalgazi/Malatya
Telefon No: 4223410048 Faks No: 4223410048
E-Posta: sbe@inonu.edu.tr İnternet Adresi:
<https://www.inonu.edu.tr/tr/cms/saglikbilimleri>

Bilgi İçin: Kadir BATÇIOĞLU
(F.Zehra Küçükbay Vekaletiyle)
Unvan: Anabilim Dalı Başkanı
Telefon No: 4223411216-7194

u belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



Sayı : 78253560-302.14.06
Konu : Etik Kurul

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı doktora öğrencisi olan danışmanı olduğum 38150061004 numaralı Yılmaz UĞUR'un doktora tez başlığı "Kızılcık (Cornus Mas L.) Meyve Ekstraktlarının Fenolik İçeriklerinin HPLC İle Belirlenmesi ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması" olup; tez ne insanlar üzerinde ne de insan dışı deney ortamında veya deney hayvanı üzerinde yapılan bir bilimsel araştırma değildir. Bu tez kapsamında sadece Kızılcık (Cornus Mas L.) meyve örnekleri analiz edildiği için herhangi bir Etik Kurul iznine ihtiyaç bulunmamaktadır. Gereğini bilgilerinize arz ederim.

e-imzalıdır

Prof.Dr. Selim ERDOĞAN
Öğretim Üyesi