



T.C.
BARTIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**İZABELLA ÜZÜMÜ (*Vitis labrusca* L.) MEYVESİNİN FENOLİK BİLEŞENLERİ
VE ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN

Dilek ÜNEŞ

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman : Doç. Dr. İbrahim TÜMEN - Bartın Üniversitesi
Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayhan GENÇER - Bartın Üniversitesi
Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan ÖZDEMİR - Düzce Üniversitesi

BARTIN-2016

KABUL VE ONAY

Dilek ÜNEŞ tarafından hazırlanan “İZABELLA ÜZÜMÜ (*Vitis labrusca* L.) MEYVE VE YAPRAKLARININ FENOLİK BİLEŞENLERİ VE ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, 09.09.2016 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. İbrahim TÜMEN (Danışman)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayhan GENÇER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan ÖZDEMİR

Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. H. Selma ÇELİKAY
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. İbrahim TÜMEN danışmanlığında hazırlamış olduğum “İZABELLA ÜZÜMÜ (*Vitis labrusca* L.) MEYVESİNİN FENOLİK BİLEŞENLERİ VE ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

İmza

09.09.2016

Dilek ÜNEŞ

ÖNSÖZ

“İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) Meyvesinin Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Etkisinin Araştırılması” isimli bu çalışma, Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek araştırma konusunun tespitinde ve laboratuvar çalışmalarında, değerli bilimsel uyarı ve önerilerinden yararlandığım sayın hocam Doç. Dr. İbrahim TÜMEN’e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Gerek HPLC tekniklerinin öğretilmesinde ve gerekse de HPLC ve diğer analizlerimin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam; Arş. Gör. Hasan KESKİN’e teşekkür ederim. Tüm öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olup maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen dedem Salih ÜNEŞ, babam Ahmet ÜNEŞ, annem Hatice ÜNEŞ, kız kardeşim H. Esra ÜNEŞ ve sevgili nişanlım Arş. Gör. Hasan KURBAN’a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmada “İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) Meyve ve Yapraklarının Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Etkisinin Araştırılması” adında, 2016-SEN-CY-003 numaralı proje olarak Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Bartın Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Dilek ÜNEŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İZABELLA ÜZÜMÜ (*Vitis labrusca* L.) MEYVESİNİN FENOLİK BİLEŞENLERİ VE ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dilek ÜNEŞ

Bartın Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İbrahim TÜMEN

Bartın 2016, Sayfa: xvi+68

Bu çalışmada, Bartın ilinin Serdar Köyü mevkiinde doğal olarak yetişen İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) meyveleri taze halde, dış ortamda kurutulmuş ve etüvde kurutulmuş olmak üzere 3 farklı örnek kullanılmıştır. İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) 'nün fenolik bileşenleri HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Toplam Fenolik Madde Miktarı tayini Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile tespit edilmiştir. *V. labrusca* bitkisinin antioksidan özellikleri DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi uygulanarak belirlenmiştir. Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-hidroksibenzoik asit (1.133 mg/L), benzoik asit (0.571 mg/L), protokateşik asit (0.323 mg/L), gallik asit (1.343 mg/L), rosmarinik asit (1.065 mg/L), siringaldehit (0.272 mg/L), trans-Ferulik asit (1.222 mg/L) ve vitamin C (15.191 mg/L) fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Etüvde kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-Hidroksibenzoik asit (1.161 mg/L), benzoik asit (0.353 mg/L), protokateşik asit (0.231 mg/L), gallik asit (1.102 mg/L), rosmarinik asit (1.062 mg/L), siringaldehit (0.253 mg/L), trans-Ferulik asit (1.382 mg/L), kateşin (1.532 mg/L) ve vitamin C (15.160 mg/L) fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Taze haldeki *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-Hidroksibenzoik asit (0.006 mg/L), benzoik asit (0.329 mg/L), protokateşik asit (0.239 mg/L), gallik asit (1.002 mg/L), rosmarinik asit (1.054 mg/L), siringaldehit (0.250 mg/L), trans-Ferulik asit (1.243 mg/L) ve vitamin C (11.205 mg/L) olarak tespit

edilmiştir. *V. labrusca* ekstresinde yapılan analizler sonucunda en yüksek resveratrol miktarı taze halde (1.625 mg/L), en düşük resveratrol miktarı etüvde kurutulan örneklerde (0.289 mg/L) tespit edilmiştir. Gallik asit eşdeğer alınarak Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada toplam fenolik madde miktarı en yüksek 62.686 ± 8.26 mg GAE/g olarak etüvde kurutulan meyvelerde, en düşük 34.781 ± 0.73 mg GAE/g olarak taze haldeki meyvelerde tespit edilmiştir. Antioksidan yüzde inhibisyon değerleri; Dış ortamda kurutulan örneklere ait 50 µg/ml'de %40.98, 100 µg/ml'de % 47.52, 250 µg/ml'de %49.41, 500 µg/ml'de % 50.58 ve 1000 µg/ml'de % 51.74 olarak tespit edilmiştir. Etüvde kurutulan örneklere ait 50 µg/ml'de % 45.05, 100 µg/ml'de % 53.48, 250 µg/ml'de %55.23, 500 µg/ml'de %56.10 ve 1000 µg/ml'de % 56.83 olarak tespit edilmiştir. Taze haldeki örneklere ait 50 µg/ml'de %51.30, 100 µg/ml'de % 57.84, 250 µg/ml'de %60.17, 500 µg/ml'de %61.48 ve 1000 µg/ml'de % 62.93 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak; İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.)'nün fenolik bileşenleri ve antioksidan özellikleri belirlenmiş olup, sağlık alanında (tıp, eczacılık vb.) kullanımının artırılması hedeflenmiştir. *V. labrusca* Türkiye ekonomisine katkı sağlama potansiyeli olan ve ticari yetiştiriciliği yapılması gereken bir türdür.

Anahtar Kelimeler

Antioksidan; fenolik; İzabella üzümü (*Vitis labrusca* L.); resveratrol.

Bilim Kodu

502.06.01

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF ISABELLA GRAPE (*Vitis labrusca* L.) FRUIT

Dilek ÜNEŞ

Bartın University
Graduate School of Applied Sciences
Forest Industry Engineering

Thesis Advisor: Doç. Dr. İbrahim TÜMEN

Bartın 2016, Pp: xvi+68

In this study, three different samples, fresh, oven dried and air dried Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) growing naturally in Serdar village of Bartın province were used. The phenolic compounds of Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) were determined using HPLC method. Total phenol content determination has been identified with Folin-Ciocalteu Reagent (FCR). Antioxidant properties of *V. labrusca* were determined through free radical scavenging activity. As a result of phenolic compound analysis of air dried Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) fruit samples, p-hydroxybenzoic acid (1.133 mg/L), benzoic acid (0.571 mg/L), protocatechuic acid (0.323 mg/L), Gallic acid (1.343 mg/L), rosmarinic acid (1.065 mg/L), siring aldehyde (0.272 mg/L), trans-Ferulic acid (1.222 mg/L) and vitamin C (15.191 mg/L) phenolic compounds were found. And as a result of phenolic compound analysis of oven dried Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) fruit sample, p-hydroxybenzoic acid (1.161 mg/L), benzoic acid (0.353 mg/L), protocatechuic acid (0.231 mg/L), gallic acid (1.102 mg/L), rosmarinic acid (1.062 mg/L), siring aldehyde (0.253 mg/L), trans-Ferulic acid (1.382 mg/L), catechin (1.532 mg/L) and vitamin C (15.160 mg/L) phenolic compounds were identified. And as a result of phenolic compound analysis of fresh Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) fruit samples, p-hydroxybenzoic acid (0.006 mg/L), benzoic acid (0.329 mg/L), protocatechuic acid (0.239 mg/L), gallic acid (1.002 mg/L), rosmarinic acid (1.054 mg/L), siring aldehyde (0.250 mg/L), trans-Ferulic acid (1.243 mg/L) and vitamin C

(11.205 mg/L) phenolic compounds were found. As a result of analyses in *V. labrusca* extract, highest amount of resveratrol was found in fresh samples (1.625 mg/L), whilst the lowest amounts of resveratrol was found in oven dried *V. labrusca* samples (0.289 mg/L). The highest amount of total phenolic compound was found in oven dired fruit samples (62.686 ± 8.26 mg GAE/g) , while the lowest amount of total phenolic compounds was found in fresh fruit samples (34.781 ± 0.73 mg GAE/g)in this study which was carried out using Folin-Ciocalteu method (gallic acid equivalent). Antioxidant % inhibition amounts of air dry grape samples in 50 µg/ml-%40.98, in 100 µg/ml-% 47.52, in 250 µg/ml-%49.41, in 500 µg/ml-% 50.58 and in 1000 µg/ml-% 51.74 were determined. Oven dry grape samples antioxidant % inhibition amounts in 50 µg/ml-% 45.05, in 100 µg/ml-% 53.48, in 250 µg/ml-%55.23, in 500 µg/ml-%56.10 and in 1000 µg/ml-% 56.83 were determined. Antioxidant % inhibition amounts were found as 40.98% in 50 µg/ml in air dried samples; 47.52% in 100 µg/ml, and 49.41% in 250 µg/ml, 50.58% in 500 µg/ml and % 51.74% in 1000 µg/ml. And the same amounts for oven dried samples were % 45.05 in 50 µg/ml, 53.48% in 100 µg/ml, 55.23% in 250 µg/ml, 56.10% in 500 µg/ml and 56.83% in 1000 µg/ml; while it was 51.30% in 50 µg/ml, % 57.84 in 100 µg/ml, %60.17 in 250 µg/ml, %61.48 in 500 µg/ml and % 62.93 in 1000 µg/ml in fresh fruit samples. As a result, phenolic compounds and antioxidant properties of Isabel grape (*Vitis labrusca* L.) were determined in the current study and the aim of doing that to increase the use of the fruit in health (medicine, pharmacy, etc.). *V. labrusca* is a fruit which has a potential to contribute to Turkey's economy and is a plant that needs to be grown as a commercial product.

Key Words

Antioxidant; phenolic; Isabella grape (*Vitis labrusca* L.); resveratrol.

Science Code

502.06.01

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY	ii
BEYANNAME.....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
BÖLÜM 1 GENEL BİLGİLER	1
1.1 Giriş	1
1.2 İzabella Üzümü (<i>Vitis labrusca</i> L.) Hakkında Genel Bilgiler	2
1.3 Çalışmanın Amacı.....	3
1.4 İzabella Üzümü (<i>Vitis labrusca</i> L.) Hakkında Literatür Özeti	4
1.4.1 İzabella Üzümü (<i>Vitis labrusca</i> L.)' nün Etken Bileşikleri	4
1.4.1.1 Pigment ve Tanenler	5
1.4.1.2 Vitaminler	5
1.4.1.3 Azotlu Bileşikler	5
1.4.1.4 Karbonhidratlar	5
1.4.1.5 Terpenler	5
1.4.1.6 Yağ Asitleri	6
1.4.1.7 Antosiyanidinler	6
1.5 Fenolik Bileşikler.....	6
1.5.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması, Önemi ve Doğada Bulunuşu.....	7
1.5.2 Referans Olarak Kullanılan Fenolikler	8
1.5.2.1 p-Hidroksibenzoik Asit	8
1.5.2.2 Benzoik Asit	9
1.5.2.3 Gallik Asit	9
1.5.2.4 Kateşin	10
1.5.2.5 trans-Ferulik Asit	11
1.5.2.6 Rosmarinik Asit	12
1.5.2.7 Vitamin C	12

Sayfa

1.5.2.8 Protokateşik Asit	13
1.5.3 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	14
1.5.3.1 HPLC Cihazı	14
1.5.3.2 Hareketli Faz.....	15
1.5.3.3 Durgun Faz	16
1.6 Antioksidanlar.....	16
1.7 Resveratrolün Kimyasal Yapısı	17
1.7.1 Resveratrolün Biyosentezi.....	17
BÖLÜM 2 MATERYAL VE YÖNTEM	19
2.1 Materyal	19
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
2.1.2 Kullanılan Cihazlar	20
2.2 Yöntem.....	20
2.2.1 Fenolik Bileşen Analizi İçin Numune Hazırlama	20
2.2.2 Fenolik Bileşenlerin HPLC Analizleri	21
2.2.3 Folin–Ciocalteu Ayırıcı Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Tayini	23
2.2.4 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi.....	23
BÖLÜM 3 BULGULAR	25
3.1 Fenolik Bileşen Referansların Kalibrasyon Grafikleri ve Kromatogramları.....	25
3.2 <i>Vitis labrusca</i> L. Fenolik Bileşen Kromatogramları.....	33
3.2.1 Dış Ortamda Kurutulan <i>Vitis Labrusca</i> L. Kromatogramları	33
3.2.2 Etüvde Kurutulan <i>Vitis Labrusca</i> L. Kromatogramları.....	38
3.2.3 Taze Haldeki <i>Vitis Labrusca</i> L. Kromatogramları.....	44
3.3 Toplam Fenolik Madde miktarı	49
3.3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Dış Ortam).....	50
3.3.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Etüv)	51
3.3.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Taze)	52
3.4 <i>V.labrusca</i> DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	54
3.4.1 Askorbik Asit Standardı DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi.....	54

	<u>Sayfa</u>
3.4.2 Gallik Asit Standardı DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi.....	55
3.4.3 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Dış ortam)	56
3.4.4 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Etüv)	58
3.4.5 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Taze)	59
BÖLÜM 4 SONUÇLAR VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
1. <i>Vitis labrusca</i> L. bitkisinin kısımları.....	4
2. p-Hidroksibenzoik asit.	8
3. Benzoik asit.	9
4. Gallik asit.	10
5. Kateşin.....	11
6. trans-Ferulik asit.....	12
7. Rosmarinik asit.	12
8. Vitamin C.....	13
9. HPLC cihazı.....	15
10. Resveratrolün biyosentezi.....	18
11. <i>V. labrusca</i> ekstraksiyon aşamaları.....	21
12. Toplam fenolik madde tayini için uygulanan işlemler.....	23
13. Metanol kromatogramı.....	24
14. p-hidroksibenzoik asit kalibrasyon eğrisi.....	26
15. Benzoik asit kalibrasyon eğrisi.	26
16. Protokateşik asit kalibrasyon eğrisi.....	27
17. Siringaldehit kalibrasyon eğrisi.....	27
18. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	28
19. Vitamin C kalibrasyon eğrisi.	28
20. Fenolik bileşik standartlarının kromatogramları.....	29
21. Kateşin kalibrasyon eğrisi.	30
22. Rosmarinik asit kalibrasyon eğrisi.	30
23. trans-Ferulik asit kalibrasyon eğrisi.....	31
24. Resveratrol kalibrasyon eğrisi.....	31
25. Kateşin standardı.....	32
26. Rosmarinik asit standardı.....	32
27. trans-Ferulik asit standardı.....	33
28. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) p-hidroksibenzoik asit.....	33
29. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) benzoik asit.....	34
30. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) protokateşik asit.....	34
31. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) siringaldehit asit.....	35

Şekil	Sayfa
No	No
32. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) gallik asit	35
33. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) vitamin C	36
34. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) rosmarinik asit	36
35. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) trans-Ferulik asit.....	37
36. Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) resveratrol	37
37. Analiz sonucu belirlenen (etüv) p-hidroksibenzoik asit.....	38
38. Analiz sonucu belirlenen (etüv) benzoik asit	39
39. Analiz sonucu belirlenen (etüv) protokateşik asit.....	39
40. Analiz sonucu belirlenen (etüv) siringaldehit	40
41. Analiz sonucu belirlenen (etüv) gallik asit.....	40
42. Analiz sonucu belirlenen (etüv) vitamin C	41
43. Analiz sonucu belirlenen (etüv) kateşin.....	41
44. Analiz sonucu belirlenen (etüv) rosmarinik asit	42
45. Analiz sonucu belirlenen (etüv) trans-Ferulik asit	42
46. Analiz sonucu belirlenen (etüv) resveratrol	43
47. Analiz sonucu belirlenen (taze) belirlenen p-hidroksibenzoik asit.....	44
48. Analiz sonucu belirlenen (taze) belirlenen benzoik asit	44
49. Analiz sonucu belirlenen (taze) protokateşik asit	45
50. Analiz sonucu belirlenen (taze) siringaldehit.....	45
51. Analiz sonucu belirlenen (taze) gallik asit	46
52. Analiz sonucu belirlenen (taze) vitamin C.....	46
53. Analiz sonucu belirlenen (taze) rosmarinik asit.....	47
54. Analiz sonucu belirlenen (taze) trans-Ferulik asit	47
55. Analiz sonucu belirlenen (taze) resveratrol.....	48
56. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	49
57. Toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.	50
58. Dış ortamda kurutulan toplam fenolik miktarı kromatogramı.	51
59. Etüvde kurutulan toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.....	52
60. Taze haldeki toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.	53
61. Askorbik asit standardına ait DPPH % inhibisyon değerleri.	55
62. Gallik asit standardına ait DPPH % inhibisyon değerleri.	56
63. Dış ortamda kurutulan <i>V. labrusca</i> meyvesine ait DPPH % inhibisyon değerleri.	57

Şekil	Sayfa
No	No
64.	Etüvde kurutulan <i>Vitis labrusca</i> L. meyvesine ait DPPH % inhibisyon değerleri.58
65.	Taze haldeki <i>Vitis labrusca</i> L. meyvesine ait DPPH % inhibisyon değerleri.....60
66.	DPPH % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması61

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
1.	Resveratrolün kimyasal özellikleri.....17
2.	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firmalar.....19
3.	Çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmalar.....20
4.	Gradient Elüsyon Programı.....22
5.	Fenolik bileşik standartlarının çalışıldığı dalga boyları.....22
6.	Belirlenen fenolik bileşen standartlarının bilgileri (Dış ortam).....38
7.	Belirlenen fenolik bileşen standartlarının bilgileri (Etüv).....43
8.	Belirlenen fenolik bileşen standart bilgileri (Taze).....48
9.	Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Dış ortam).....51
10.	Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Etüv).....52
11.	Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Taze).....53
12.	Askorbik asit stardardına ait bilgiler.....54
13.	Gallik asit stardardına ait bilgiler.....55
14.	Dış ortamda kurtulan <i>Vitis labrusca</i> L. meyvesine ait bilgiler.....57
15.	Etüvde kurtulan <i>Vitis labrusca</i> L. meyvesine ait bilgiler.....58
16.	Taze haldeki <i>Vitis labrusca</i> L. meyvesine ait bilgiler.....59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DAD	:	Diiyot Yön Dedektörü (Diode Array Dedector)
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	:	2,2–difenil–1–pikrilhidrazil
HPLC	:	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Co-A	:	Koenzim-A
OH	:	Hidroksil
Max	:	Maksimum
E ₁	:	Etüvde kurutulan
D ₁	:	Dış ortamda kurutulan
T ₁	:	Taze hal
A ₁	:	Askorbik asit
G ₁	:	Gallik asit

BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Genetik yapımızda birçok hastalık programlanmış olarak bulunur. Yanlış beslenme şekli, alkol ve sigara tüketimi, sağlıksız çalışma koşulları, stres, solunan havanın kirli olması, hormonlu besin tüketimi ve uygunsuz çevre koşulları bu hastalıkları tetiklemektedir. Tükettiğimiz besinler ve içeceklerden almış olduğumuz kimyasal maddeler, bakteriler ve virüsler de bunları etkilemektedir. Bu hastalıklara bağlı olarak gerçekleşen ölçümler önemli bir ayrıntıdır. Kalp–damar hastalıkları 2008 yılında ilk sırada yer almaktadır. Daha 1900’lü yıllarda dördüncü sırada yer almakta olan kanser günümüzde ikinci sırada yer almış durumda bulunmaktadır ve 2010’ lu yıllarda ilk sırayı alacağına kesin gözüyle bakılmaktadır. Üçüncü sırada enfeksiyonlardan kaynaklanan ölümler ve dördüncü sırada ise ilaçların yan etkilerine bağlı gerçekleşen ölümler yer almaktadır. AIDS hastalığına yakalanan kişilerin ölümlerinin çoğu, hastalığın kendisinden değil HIV virüsüne karşı başlatılan tedaviden kaynaklanmaktadır (Saraçoğlu, 2008).

Şifalı bitkilerle tedavi uygulaması, 5000 yıllık bir geçmişe sahiptir. İnsanoğlu ilk önce yakın çevresinde bulunan yabancı bitkileri tanımış, deneme yanılma yöntemi ile yemesi ve yememesi gereken bitkileri belirlemiş, hastalıklarını iyileştirmede yakın çevresinde bulunan bitkilerden yararlanmıştır. Bitkiler insanlar tarafından pestisitler, renk verici maddeler, koku verici maddeler, tıbbi bileşikler, lifler, içecek ve yiyecek maddeleri olarak pek çok şekilde ve amaçla kullanılabilirler. Bu bitkilerin insan sağlığı için yararlı ve zararlı olabilmesi; içerdikleri metabolitlerin çeşidine ve miktarına bağlı değişiklik göstermektedir. Bitkiden elde edilmiş bir maddenin kullanılan bir dozunun tedavi edici özelliği olabildiği gibi, bu dozun aşılması veya yanlış kullanılması durumunda da bir toksisite ya da ölüme kadar giden bir durumla karşılaşma olasılığı bulunmaktadır (Baytop, 1984; Abe vd., 2007). Şifalı bitkilerin, gelişim evreleri boyunca bünyelerinde oluşturdukları ve depoladıkları çeşitli etken maddeler bulunmaktadır. Tıbbi bitkilerde bulunan bu etken maddeler; bitkinin türüne, yıl içindeki durumuna, coğrafi bölgesine, iklim şartlarına, toplama ve kurutma

koşullarına ve kuruduktan sonra muhafaza ediliş şekline göre değişiklik göstermektedir (Baytop, 1984).

19. ve 20. yüzyıllarda bilimin ilerlemesi ve eczacılık tekniklerine bağlı olarak, bitkilerin tedavi edici özelliği olan etken maddeler saflaştırılmış ve bu etken maddelerin çoğu sentetik yollarla elde edilmiştir. Son yıllarda sentetik ilaçlarda meydana gelebilen ciddi yan etkilerin olması ve bitkilerle tedavinin yan etkilere yol açmadığı düşüncesi gibi pek çok faktöre bağlı olarak son zamanlarda tekrar popüler hale gelmeye başlamıştır. En son farmasotik teknoloji olanakları ve iyi üretim koşulları sayesinde bitkisel ilaçlara karşı olan rağbet artmıştır (Rates, 2001).

Günümüzde sağlık yararları açısından bitkilerin incelenmesi üzerine yapılan bir çok çalışma bulunmaktadır. Özellikle besinlerde bulunan biyoaktif bileşikler olarak bilinen polifenoller ile ilgili çalışmalar dikkat çekicidir (Villano vd., 2005). Oldukça yüksek miktarlarda Polifenolik bileşikleri içeren üzümün, Dünyanın önde gelen ülkelerinde insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ile ilgili yapılan araştırmalar giderek önem kazanmaktadır (Wulf ve Nagel., 1978; Fauconneau vd., 1997; Jayaparakasha vd., 2001; Murthy vd., 2002; Jayaparakasha vd., 2003; Baydar vd., 2004; Baydar vd., 2006; Abe vd., 2007).

1.2 İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) Hakkında Genel Bilgiler

“Kokulu üzüm, kokulu kara üzüm, çilek üzümü, izabella, Amerikan üzümü, siyah üzüm” gibi isimlerle bilinen *Vitis labrusca* L., Karadeniz bölgesi sahil kesiminde yetişmekte olup, özel aromaya sahip, çekirdekli, kalın kabuklu, kabuğu et kısmından kolay ayrılan, sarılgı gövdeye sahip, yaprak döken, 15 metre ye kadar yükselebilen, oldukça hızlı büyüme ve gelişme gösteren bir bitkidir.

V. labrusca meyve ve yaprakları üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda bu bitkinin fenolik bileşikler, organik asitler, vitaminler ve mineraller, enzimler, monosakkaritler ve türevleri, azotlu bileşikler, terpenik bileşikler ve lipidler açısından oldukça zengin olduğu belirlenmiştir (Abe vd., 2007; Jayaparakasha vd., 2001; Aburjai ve Natsheh 2003; Vaudano vd. 2004; Luan vd., 2005; Kang vd., 1999).

Vitis labrusca L. üzerinde yapılan çalışmalarda bitkinin başta astım olmak üzere çeşitli solumum yolu enfeksiyonlarında akciğerdeki nem oranını artırarak solunuma yardımcı olduğu; kalp krizi riskini önemli ölçüde azalttığı, yağlı bileşiklerin kılcal damarlarda birikmesini önleyerek antikoagulan etki gösterdiği, LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterolün yükseltgenmesini engellediği, sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılabileceği, meme kanseri riskini önemli ölçüde azalttığı, serbest radikallerle savaşarak Alzheimer hastalarında amiloidal beta polipeptitlerin seviyesini düşürdüğü, içerdiği bioflavonoidlere bağlı olarak cildin taze ve temiz bir görüntüye kavuşmasını sağladığı belirlenmiştir (Wulf ve Nagel., 1978; Fauconneau vd., 1997; Jayaparakasha vd., 2001; Murthy vd., 2002; Jayaparakasha vd., 2003; Baydar vd., 2006; Abe vd., 2007). Üzüm kabuğunda bulunan resveratrol olarak adlandırılan maddenin son yıllarda lösemi hastalarında etkili olduğuna ilişkin araştırmalar yayınlanmıştır. Tüm bu etkilere ilave olarak *V. labrusca* kabuklarında bulunan resveratrolün antikarsinojenik etkinliği üzerinde pek çok çalışma yapılmış ve oldukça etkili olduğu, hatta kanser vakalarında kullanılan ilaca (Glivec®) direnci olan hastalarda bile resveratrolün etkili olduğu gözlenmiştir (Güder, 2012).

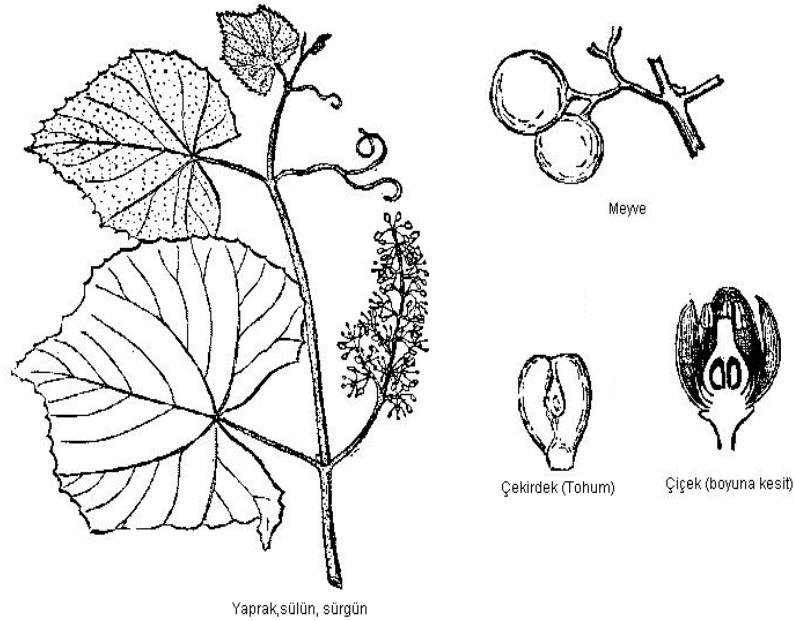
1.3 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın temel amacı, Türkiye’ de Karadeniz Bölgesinin Bartın ilinde yetişen ve halk arasında “Kokulu üzüm” olarak bilinen *Vitis labrusca* L. meyvesinin fenolik bileşenleri ve antioksidan etkisinin araştırılmasıdır. *Vitis labrusca* L. çekirdek, kabuk ve meyve ile ilgili antioksidan özellik ve resveratrolün izolasyon çalışmaları bulunmamaktadır (Fauconneau vd., 1997; Jayaparakasha vd., 2001; Murthy vd., 2002; Baydar vd., 2004; Baydar vd., 2006; Jayaparakasha vd.; 2006; Güder, 2012). Bu sebeple *Vitis labrusca* L. meyvesinin fenolik bileşenleri ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Son yıllarda üzüm kabuğunda bulunan resveratrol adı verilen maddenin lösemi hastalarında etkili olduğuna ilişkin araştırmalar yayınlanmıştır. Kanserli hastalarda kullanılan ilaca (Glivec®) direnci olan hastalarda bile resveratrolün etkili olduğu gözlenmiştir. Renkli üzümlerin kabuklarında bulunan ve fitoaleksinin grubu bileşiklerden olan Resveratrol maddesi içeriği Dünya’ da en fazla oranda Kokulu üzüm (*Vitis labrusca* L.) kabuğunda bulunmaktadır. Günümüz dünyasında doğal gıda kaynaklarının giderek bozulması, kirlilik ve diğer etmenler kanser dokularının oluşumu, gelişmesi ve artmasına yol açmaktadır. Resveratrol hücrelerde değişim sonucunda tüm oluşumuna izin verebilecek hücre içi moleküller üzerine serbest

radikallerin saldırısını bloke eder ve sonuçta kanser oluşumunu engeller. Bu çalışma ile İzabella üzüm (*Vitis labrusca* L.)' ünün fenolik bileşenleri ve antioksidan etkileri belirlenerek tıp, eczacılık ve diğer alanlarda kullanımının artırılması amaçlanmaktadır. Belirlenen bileşimler aynı zamanda litaretüre kazandırılacaktır.

1.4 İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.) Hakkında Literatür Özeti

Karadeniz Bölgesi sahil kesiminde, özel aromaya sahip, çilek tadına benzeyen, kabuğu kalın ve et kısmından kolaylıkla ayrılan, çekirdekli, *Vitis labrusca* L. türüne giren üzüm tip ve varyeteleri yetiştirilmektedir. Kokulu kara üzüm, çilek üzümü, izabella, siyah üzüm veya Amerikan üzümü olarak bilinen bu üzüm tipleri; mantar hastalıklarına karşı dayanıklı oldukları için serin ve nemli iklime sahip yerlerde doğal olarak yetişebilmektedir (Abe ve ark., 2007). Şekil 1' de *V. labrusca* bitkisinin kısımları gösterilmiştir.



Şekil 1: *Vitis labrusca* L. bitkisinin kısımları (Güder, 2012).

1.4.1 İzabella Üzümü (*Vitis labrusca* L.)' nün Etken Bileşikleri

V. labrusca bitkisinin değişik kısımlarında farklı kimyasal bileşikler mevcuttur. Bunlar fenolik bileşikler, organik asitler, vitaminler, mineraller, enzimler, azotlu bileşikler, terpenik bileşikler, lipidler, monosakkaritler ve türevleri şeklinde sınıflandırılabilir. Bunlardan fenolik bileşikler çok önemli bir yer tutmaktadır (Güder, 2012).

1.4.1.1 Pigment ve Tanenler

Pigment ve tanenler, *V. labrusca*'nın başlıca fenolik gruplarını meydana getirirler. Bunlar renk ve tat belirlenmesinde önemli role sahiptirler ve bu fenolik gruplar meyve kabuğu hücrelerinde bulunurlar. Ham meyvenin yeşil rengi ise klorofilden kaynaklıdır. Olgunlaşma tamamlanınca klorofil tamamen kaybolur. Meyvenin kırmızı ve siyah renkli olması, antosiyanidin grubu bileşiklerden (delfinidin, petunidin, malvidin, siyanidin ve peonidin) kaynaklanmaktadır. (Abe vd., 2007).

1.4.1.2 Vitaminler

V. labrusca meyvesinde B grubu vitaminleri bulunmaktadır. Bitkinin meyve ve yapraklarında bulunan B vitamini bileşiklerinin miktarı, bitkinin gelişim evrelerine ve yetiştiği bölgedeki çevresel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Taze üzümde C vitamini düşük miktarda bulunmaktadır. Yaprakları karotenoitler bakımından zengindir. Karotenoit miktarı özellikle bitkinin çiçek açtığı dönemde en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (Abe vd., 2007; Güder, 2012).

1.4.1.3 Azotlu Bileşikler

V. labrusca meyvelerinde, bitkinin yetiştirildiği toprağın yapısı ve kültürüne bağlı olarak değişen miktarlarda azot ve aminoasitler bulunmaktadır. Üzümün suyunda bulunan azotlu bileşiklerin %60–90' ını aminoasitlerden oluşmaktadır (Abe vd., 2007).

1.4.1.4 Karbonhidratlar

V. labrusca taze meyve ağırlığının %9.7–18.9'unu monosakkaritler oluştururlar. Glukoz ve früktoz, monosakkaritler içinde başlıca bileşiklerdir (Abe vd., 2007).

1.4.1.5 Terpenler

İzabella üzümü (*Vitis labrusca* L.) meyvesinde tat ve kokuyu monoterpenik bileşikler sağlamaktadır. Meyvede bulunan monoterpenik bileşiklerin miktarı varyetelere göre değişiklik göstermektedir (Vaudano vd., 2004; Luan ve vd., 2005; Abe vd., 2007).

1.4.1.6 Yağ Asitleri

V. labrusca çekirdeğinde yetiştirme sürecine ve bitki özelliklerine bağlı olarak %11–27 arasında sabit yağ bulunmaktadır. *V. labrusca*'nın meyvesinin kabuğunu mumlu bir tabaka ile sarmaktadır. Bu mum tabakanın temel içeriğini %50–70 oranında oleanolik asit oluşturmaktadır (Kang vd., 1999; Güder, 2012).

1.4.1.7 Antosiyanidinler

Antosiyanidinler kırmızı veya mavi renkli olabilen boya maddeleridir. Örneğin delfinidin mor renkli antosiyanidindir. Kırmızı varyetelerin yaprakları, antosiyanidin nedeniyle renklidir. Ayrıca tanen yönünden zengindir. *V. labrusca* meyve kabuğu ve çekirdeğinde bulunan prosiyanidin gruplarından başka önemli miktarda da resveratrol varlığına göstermiştir. (Jayaprakasha vd., 2001; Aburjai ve Natsheh, 2003).

1.5 Fenolik Bileşikler

Fenolik veya polifenol terimi kimyasal olarak kısaca, sahip olduğu aromatik halkada çeşitli fonksiyonel gruplara (esterler, metil esterler, glikozitler vb.) ilaveten hidroksil grubu taşıyan madde olarak tanımlanır (Dey ve Harborne, 1989). Bitkiler aleminde geniş bir yayılım alanına sahip olan fenolik bileşikler, sekonder metabolitler olarak da bilinmektedirler (Burns vd., 2001).

En basit fenolik bileşik bir adet hidroksil grubu içeren benzendir ve fenol olarak isimlendirilmektedir. Birden fazla hidroksil grubu içeren fenolik maddeler ise polifenoller olarak bilinmektedirler. Fenolik bileşikler, antioksidan ve antiradikal özellikleri oldukça yüksek olan bileşiklerdir (Lu ve Foo., 2001; Murty vd., 2002). Bu sebeple fenolik bileşiklerce zengin doğal ürünlerin değerlendirilmesi için yapılan araştırmalar kapsamında, asmanın da özellikle fenolik asitler, tanenler, antosiyaninler ve flavonoidlerce zengin oldukları tespit edilmiştir (Abe ve vd., 2007). Asmada bulunan fenolik bileşiklerin, antioksidan ve antiradikal etkilerinin yüksek olmasının yanında insanlar üzerinde etkili bakterilere karşı antibakteriyal etkilerinin de olduğu tespit edilmiştir (Jayaprakasha vd., 2003; Baydar vd., 2004; Baydar vd., 2006, Baydar vd., 2007).

1.5.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması, Önemi ve Doğada Bulunuşu

Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerle ilgili ilk modern sınıflandırmada, basit fenoller, fenolik asitler, fenil asetik asitler, sinnamik asitler, kumarinler, izokumarinler, lignanlar, 10 grup flavonoid, ligninler, tanenler, benzofenonlar, ksantonlar, stilbenler, kinonlar ve betasiyaninler bulunmaktadır (Harborne, 1964; Fraga, 2010).

Bitkilerdeki fenolik bileşiklere olan ilgi, günden güne artmaktadır. Bunların doğada bulunuşları, dağılımları, biyosentezi, bitkilerdeki metabolizma ve fonksiyonlarına ait akademik çalışmaların ilerisinde; fenolik bileşikler uygulamalı bilimlerde gittikçe artan bir öneme sahip olmaktadır. Özellikle flavonoidler antikarsinojenik, antialerjik ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle bilim insanlarının ilgisini çekmektedir (Harborne, 1964; Güder, 2012).

Fenol bir doğal üründür. Çoğu fenolik bileşik iki veya daha fazla sayıda hidroksil grubu taşımaktadır. Bitki fenoliklerine ait kimyasal tanımlama ise tam anlamıyla tatmin edici değildir. Çünkü bu tanım ayrıca bir fenolik karotenoit yapısı olan dişi seks hormonu östronu da barındırmaktadır. Bu bileşik terpenoid kaynaklıdır ve biyogenetik oluşumu fenolik bileşiklerden oldukça farklılık göstermektedir. Bu nedenle biyogenetik tanımlama tercih edilmelidir. Bitkilerdeki fenolik bileşikler biyogenetik olarak iki ana yoldan oluşur. (Dey ve Harborne, 1989).

1. Doğrudan hidroksi sinnamik asit ve kumarinler gibi fenil propanoidleri veren şikimik asit yolu.
2. Pek çok kinonları ve basit fenolleri üretebilen poliketit yolu.

Fenolik bileşiklerin en geniş sınıfı olan flavonoidler, biyosentetik olarak bu iki yolun kombinasyonundan türerler. Doğal olarak meydana gelen fenolik bileşiklere, şekerlerin (glukoz, galaktoz, arabinoz, ramnoz, ksiloz, mannoz, apioz, alloz ve galakturonik asit vb.) bağlanmasıyla daha karmaşık bileşikler meydana gelmektedir (Dey ve Harborne, 1989; Güder, 2012).

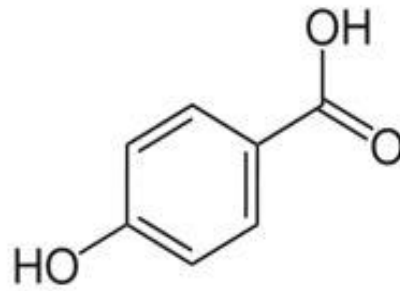
Hidroksi sinnamik asitler doğadaki birçok polifenolden daha yaygın olarak bulunmaktadır. Örneğin kafeik asit; şekerlerle (ramnoz vb.), organik asitlerle (malik asit

vb.), aminlerle, lipidlerle ve diğere fenollerle birleşmiş halde bulunmaktadır. En yaygın bulunan flavonoidlerden olan flavonol kersetinin 135 farklı bağlanma yaptığı bilinmektedir. Fenolik bileşiklere bakteriler, mantarlar ve alglerde sık bir şekilde rastlanılmamaktadır. Klorlanmış gosipetin türevi olan kloroflavonin *Aspergillus candidus* mantarı tarafından üretilmesine karşın; aslında flavonoidler mantarlarda neredeyse hiç bulunmamaktadır. Son zamanlarda, bitki yüzeyindeki, yaprak vakslarındaki ve tomurcuk özsularındaki fenolik bileşikler üzerine araştırmalar yapılmış ve gerçekte buralarda bulunan bileşik tipinin genel olarak bitkide bulunandan farklı olduğu tespit edilmiştir. Örneğin yüzey bileşikleri flavonoidlerinin, çoklu metillenmiş ve şeker substitüsyonundan yoksun olduğu belirlenmiştir (Harborne ve Williams, 2000; Güder, 2012).

1.5.2 Referans Olarak Kullanılan Fenolikler

1.5.2.1 p-Hidroksibenzoik Asit

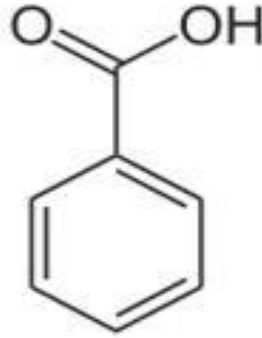
Paraben olarak isimlendirilen gıda maddelerinde, ilaçlarda ve kozmetik ürünlerde mikrop üremesini engellemek amacıyla koruyucu olarak kullanılmaktadırlar. İnsanlar için düşük toksisite potansiyeline sahip olması ve etkili bir antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermesi, ürünlerde koruyucu olarak kullanılan maddeler arasında en çok tercih edilmelerine neden olmuştur. Küf ve mayalara karşı çok etkilidir (URL-1, 2015). Şekil 2'de p-Hidroksibenzoik asidin molekül yapısı verilmiştir.



Şekil 2: p-Hidroksibenzoik asit.

1.5.2.2 Benzoik Asit

Benzoik asit, doğal olarak bazı süt ürünlerinde, kızılılık, yaban mersini, mantar, karanfil ve tarçında bulunur. Yapay olarak ise genellikle toluen ve oksijenin reaksiyonu ile elde edilir. Yoğun olarak gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılsa da nötr ve bazik özellikli gıdalarda etkili değildir. Diğer yandan genellikle gıdalarda % 0,05 oranında kullanılan benzoik asit, tatsız ve zehirsizdir, vücuttan idrar yoluyla atılır. Çok çeşitli kullanım alanları olan benzoik asidin en yaygın kullanıldığı sektör olan gıda sektörü başta olmak üzere; kimyevi, tıbbi malzemelerin üretiminde, kozmetik sektöründe, otomotiv alanında ve tekstil alanında kullanımı da rastlanmaktadır. Daha nadir olarak ise turşu, ketçap, konserve ve salamura ürünlerin içine katılır (URL-2, 2016). Şekil 3’de benzoik asidin molekül yapısı verilmiştir.

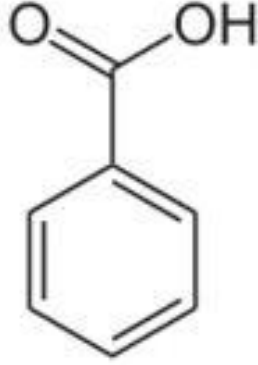


Şekil 3: Benzoik asit.

1.5.2.3 Gallik Asit

Analjesik (ağrı kesici), antiallerjenik (alerjiye karşı), astıma karşı, antibakterial (bakteriyi yok edici), bronşite karşı, antikanser (kansere karşı), antihepatotoksik (karaciğeri toksinden arındırıcı), antioksidant (serbest radikalleri yok edici), immunostimulant (bağışıklık sistemini güçlendirici), antiviral (mikroplara karşı), antiseptik (doğrudan vücudun mikrop bulaşmış bölgelerine sürülerek dıştan uygulanır ve vücut dokularına fazla zarar vermeden o bölgedeki hastalık yapıcı mikropları öldürür), antinitrosaminic (nitrozamin yok edici), bronş genişletici antipolio (çocuk felçine karşı) insan sağlığı üzerinde büyük öneme sahip çok yönlü bir maddedir. Sedef ve basur tedavisinden kullanılan bazı kremler içeriğini oluşturur (URL-3, 2016).

Gallik asit iç kanamayı durdurarak damarların büzüşmesine yardımcı olur. Hücrelerdeki sinirsel ölümlerin engellenmesinde etkilidir. Lösemi, bazı prostat, akciğer kanser hücrelerine karşı anti kanserojen özelliğe sahiptir. Gallik asit iltihaplı alerjik hastalıklar, astım ve sinüzit için tedavi edici etkiye sahiptir. Enflamasyon ve histamin'i serbest kalmasını engelleme özelliğine sahiptir. Ayrıca akciğer, rahim ve nefrotik kanamaların tedavisinde yararlıdır (URL-4, 2016). Şekil 4'de gallik asidin molekül yapısı verilmiştir.



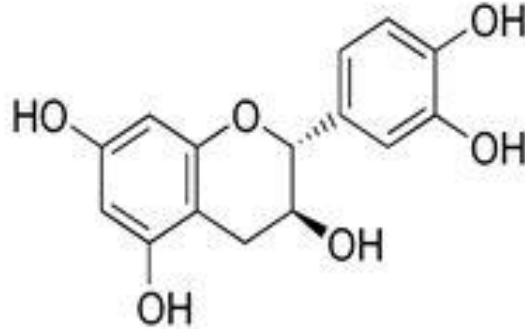
Şekil 4: Gallik asit.

1.5.2.4 Kateşin

Kateşin antikanser aktivite göstermektedir kolestrolü düşürür. Tansiyonu ve kan şekerini ayarlar. Dr. Silvia Mandel'in yürüttüğü araştırma sonuçlarına göre kateşin beyindeki hücrelerin ölümünü engellemekte ve hasar görmüş nöronları da kurtarmaktadır. Fareler üzerinde yapılan deneylerde beyinde hücre ölümlerinin engellendiği ve beyinde doku bozukluğuna neden olan bileşimlerin azaldığı tespit edilmiştir. Fareler üzerinde yapılan bir başka deneylerde, ürokinazı tutan kateşinin tümörleri küçülttüğünü hatta bütünüyle yok edebildiğini göstermiştir (URL-5, 2016).

Hong Kong Chinese Üniversitesi ve Hong Kong Göz Hastanesi tarafından yapılan ve Journal of Agricultural and Food Chemistry dergisinde yayınlanan bir çalışmada yeşil çayda ki kateşin maddesinin mideden gözdeki dokulara geçebildiğini belirtmişlerdir. Ohio Tıp Yüksekokulundan Dr. Jerzy Jankun'ın Nature dergisinde yayınlanan araştırmasında, tümör önleyici etkisi olan kateşin'nin, bu maddenin toksin etkisi olmadığını belirtilmiştir (URL-5, 2016).

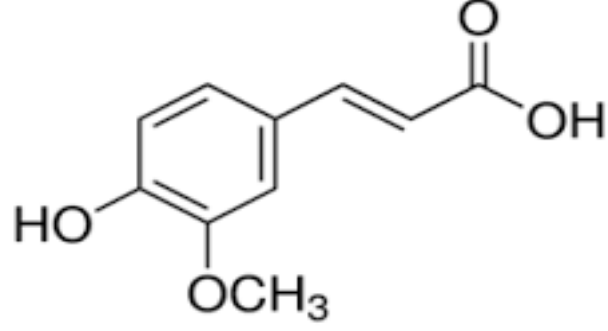
Kateşin lösemi hücrelerini öldürebilmektedir. Pittsburg Tıp Fakültesi tarafından yapılan bir çalışmada kateşinin kanser hücrelerini apoptoza (hücre intiharına) zorladığı ve kateşinin mesane kanserinden koruduğu gözlenmiştir. Bu etkilerin yanı sıra son zamanlarda yapılan çalışmalarda, çok güçlü bir doğal antioksidan olduğu da tespit edilmiştir (Koçyiğit vd., 2000). Şekil 5’de kateşinin molekül yapısı verilmiştir.



Şekil 5: Kateşin.

1.5.2.5 trans-Ferulik Asit

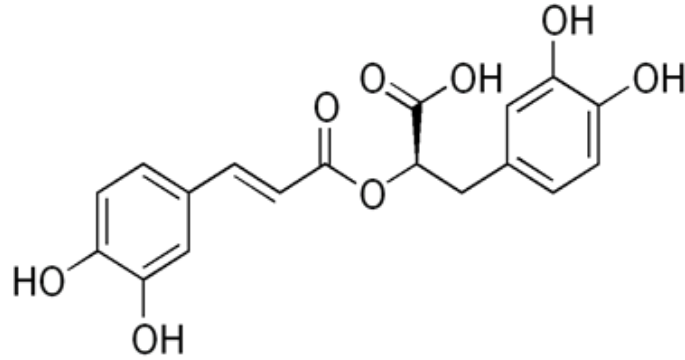
Hidroksisinnamik asit ailesine mensuptur ve kimyasal yapısı kurkumine benzer. Kahve, elma, yer fıstığı, portakal, ananas, enginar gibi bir çok bitkinin yaprak ve tohumlarında bulunur. Fakat en çok tahıllarda özellikle kahverengi pirinç, buğday ve yulafta bulunur. Ferulik asit bir hücre duvarına ve DNA ya zarar veren süper oksit, nitrik oksit ve hidroksil radikal gibi serbest radikalleri etkisiz hale getiren bir antioksidandır. Ultraviyole ışınlarının hücreye zarar vermesini engeller. Ultraviyole ışınlar ferulik asitin antioksidan etkisini artırır. Ferulik asit yaşlanmayı engelleyen ürünlerin içeriğinde yer alır. Araştırmalar ferulik asitin kanda şeker seviyesini düşürdüğünü göstermiştir. Ferulik asit kanser, kemik erimesi ve menopozal semptomlardan korur. Diğer antioksidanlar gibi kötü kolesterolü ve trigliserit seviyesini dolayısıyla kalp krizi riskini düşürür. Ferulik asit mide, kolon, göğüs, prostat, karaciğer, akciğer ve dil kanseri gibi birçok kanser türü riskinden korur (URL-6, 2016). Şekil 6’da trans-Ferulik asitin molekül yapısı verilmiştir.



Şekil 6: trans-Ferulik asit.

1.5.2.6 Rosmarinik Asit

Rosmarinik asit bir çok bitkide bulunan bir polifenoldür. Özellikle kekikotu, biberiye, oğulotu, adaçayı ve merzengüşte bitkilerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu bitkilerdeki aroma bileşenlerinden bir tanesidir. Rosmarinik asit çok güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir. Rosmarinik asitin antioksidan aktivitesi E vitamininkinden daha güçlüdür. Rosmarinik asit kanser ve damar tıkanıklığı riskini azaltırken serbest radikallerden kaynaklanan hücre hasarlarını önler. Rosmarinik asit ayrıca gıda korunmasında da kullanılır. Japonya'da Rosmarinik asitçe zengin olan perilla ekstraktı taze deniz ürünlerinin raf ömürlerini uzatmak için kullanılır (URL-7, 2016). Şekil 7'de rosmarinik asitin molekül yapısı verilmiştir.

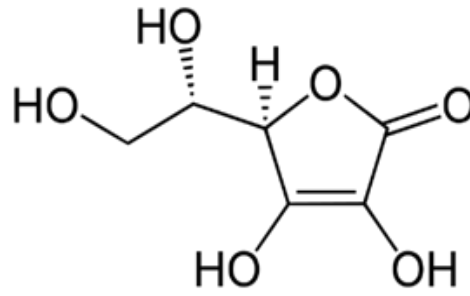


Şekil 7: Rosmarinik asit.

1.5.2.7 Vitamin C

C vitamininin başlıca rolü doku bağlarını tutan ana protein maddesi olan kollajeni üretmek ve bağışıklık sistemi, sinir sistemi, hormonlar ve besinlerin emilimi fonksiyonlarına (E

vitamini ve demir gibi) destek olmaktır. Göz merceği ve akciğer gibi yapılarda antioksidan olarak çalışır. C vitamini ayrıca antioksidan yapıda olan E vitaminine dönüşebilir. Yüksek dozda alınması halinde ne gibi yararlar getireceği yolunda çalışmalar sürmekle birlikte, beta karoten gibi, antioksidan etki nedeniyle, kanser, kalp-damar hastalıkları ve katarakta yakalanma ihtimalini azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca, soğuk algınlığı gibi hastalıklara karşı da direnci arttırmaktadır. Turunçgillerde bol miktarda bulunur. Ayrıca muzda, taze sebzelerde, maydanozda, kabakta, soğanda, domatestede, lahana, ıspanak, kıvırcık salata gibi yeşil yapraklı sebzelerde ve biberde bulunur. Kadınlarda ve erkeklerde her gün alınması gereken en az miktarı, 60 miligramdır. Sigara içenlerin en az 100 mg C vitamini almaları gerekir. Her gün taze sebze ve meyve, özellikle narenciye, lahana, ıspanak, kıvırcık salata gibi yeşil yapraklı sebzeler, yeşilbiber yiyen kişiler, tavsiye edilen en düşük günlük dozun üzerinde C vitamini aldıklarından emin olabilirler (URL-8, 2016). Şekil 8’de vitamin C’nin molekül yapısı verilmiştir.



Şekil 8: Vitamin C.

1.5.2.8 Protokateşik Asit

Protokateşik asit, *Illicium reli-şin*’in amonyum karbonatla 140°C’ta ısıtılmasına dayanır. Floşumun meyvelerinde bulunur. Birçok maddenin ve özellikle reçinelerin bayağı, günlük, rotang, kasnı, mürriaafi, çavşırotu, kino gibi bitkilerin alkali ergitilmesiyle meydana gelir. Kino, protokateşik asidin hazırlanmasında hammadde olarak kullanılır. Sentezi, pirokateşin’in amonyum karbonatla 140°C’ta ısıtılmasına dayanır. Protokateşik asit bir molekül su ile billûrlaşır ve susuz haldeyken, CO₂ ile pirokateşin vererek 199°C’ta ergir. İndirgen olan çözeltisi demir III klorürü yeşile boyar. Protokateşik aldehit, asetallerinin (pipero-nal) veya eterlerinin (vanilin) hidroliziyle elde edilir. Kloroform ve pirokateşin’in sodyum hidroksit eşliğinde yoğunlaştırılmasıyla hazırlanır (URL-9, 2016).

1.5.3 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kromatografi biri sabit diğeri hareketli olmak üzere iki farklı faz arasında karışımdaki maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağılı olarak ayrılması tekniğidir. En basit kromatografi kağıt ve ince tabaka kromatografisi olup günümüzde geliştirilmiş ve hızlı olarak da kabul edilen kromatografi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) sıvı fazda çözünebilen bir kimyasal maddenin kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrılabilirdiğİ oldukça duyarlı bir yöntemdir. Uygun çözücü kullanılarak çözülen örnek karışımı (analitler), yüksek basınç altında kromatografik kolondan geçirilir ve burada bileşenlerine ayrılır. Bileşenlerin birbirinden ayrılması ve bunun derecesi (resolution parameter), analitler ile sabit faz arasındaki etkileşime bağılıdır ve önemlidir. Sabit faz, kolon içerisindeki hareketsiz dolgu materyali olarak tanımlanır. Analitler ile sabit ve hareketli fazlar arasında istenilen etkileşim hareketli faz olarak kullanılan çözücülerin ve sabit fazın değıştirilmesi ile elde edilebilir (Tomruk, 2005; Sarıkaya, 2008).

1.5.3.1 HPLC Cihazı

HPLC cihazı Şekil 2’de de görüldüğü gibi pompa, enjektör, kolon, detektör ve bilgisayar birimlerinden oluşmaktadır. Kromatografik analiz süreci, çözücüde çözülmüş örneğın sisteme enjekte edilmesi ile başlar. Bu sistemin kalbi, ayırmanın gerçekleştiğı kolondur. Hareketli faz ile birlikte kolona pompalanan örnek, kolon içinde bileşenlerine ayrılmaya başlar. Her bileşenin gönderdiği sinyaller detektör tarafından kaydedilir. Detektör tarafından kaydedilen ve bilgisayara aktarılan sinyallerin tamamı kromatogram olarak adlandırılır. Şekil 9’da HPLC cihazının görüntüsü verilmiştir.



Şekil 9: HPLC cihazı.

1.5.3.2 Hareketli Faz

Çözünen olarak adlandırılan maddeleri kolonda sürükleyen çözücü veya çözücü sistemidir. HPLC uygulamalarında hareketli faz (eluent) türü ve bileşimi kromatografik performansı etkileyen faktörlerden biridir. HPLC sistemlerinde birçok hareketli faz kullanılmasına rağmen, bunların bazı ortak özellikleri şunlardır:

- Yüksek derecede saflık
- Detektör ile uyumluluk
- Düşük viskozite
- Örneği çözebilme
- Kimyasal acıdan inert olması

Her bir HPLC türünde kullanılan hareketli fazlar birbirinden farklıdır. Normal-faz sıvı kromatografisinde apolar, ters-faz sıvı kromatografisinde su ve asetonitril karışımı gibi polar çözücüler hareketli faz olarak kullanılır. Büyüklükçe ayırma kromatografisinde (Size-exclusion Chromatography, SEC) ise kullanılan çözücü polimer örneğini

çözebilmeli, ama dolgu materyali ile kimyasal etkileşmeye girmemelidir. Doğru mol kütlesi tayininde bu durum çok önemlidir (Tomruk, 2005; Sarıkaya, 2008).

1.5.3.3 Durgun Faz

HPLC uygulamalarındaki ayırma, yüzey etkileşimlerinden yararlanılarak yapılır ve adsorban çeşidine ve özelliklerine bağlıdır. Modern HPLC adsorbentleri geniş yüzey alanına sahip, küçük, rijit yapıdaki partiküllerdir. Temel adsorban özellikleri şunlardır 3-10 µm tanecik boyutu,

- Olabildiğince eş boyutlu, ortalamanın \pm % 10'una denk gelecek tanecik boyutu dağılımı,
- 70–300 Å gözenek boyutu,
- 50–250 m²/g yüzey alanı.

Yüzeye tutturulan ligant türüne bağlı olarak, adsorban normal faz (-OH, -NH₂) veya ters faz (C₈, C₁₈, fenil) hatta anyon (NH₄⁺ ya da katyon (-COO⁻) değiştirici yapıda olabilir (Tomruk, 2005).

1.6 Antioksidanlar

Geleneksel tanımıyla antioksidan oksidasyona karşı koruyan, oksijen ya da peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyen maddelerdir. Bu antioksidan maddelerin çoğu çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Daha biyolojik olarak ise antioksidan madde, havadaki oksijen ile bozulan ürünlere ilave edilerek bozulmayı engelleyen veya bozulmayı geciktiren sentetik veya doğal madde olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar geniş bir kullanım alanına sahiptir. Oksijen ve nitrojen gibi reaktif türlerin insanlardaki normal fizyolojik fonksiyonları üzerindeki ters etkilerini ciddi bir şekilde azaltan diyetel antioksidanlardan, yağların bozunmasını engelleyen maddeler içeren antioksidanlara kadar geniş bir kullanıma sahiptirler (Huang vd., 2005).

Antioksidanların hikâyesi serbest radikallerle başlamaktadır. Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “oksidan” veya “prooksidan” olarak tanımlanmaktadır (Özyurt, 2005). Serbest radikaller ve oksidanlar ise şu şekilde

tanımlanmaktadır; dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşmaktadır (Karafakoğlu, 2004). Hücre içi ortamda oluşan serbest radikaller, önemli hücresel yapı ve bileşiklere etki ederler. DNA ve proteinler, hücrede zarar gören önemli hedeflerden bazılarıdır. Biyolojik sistemlerde, serbest radikalın saldıracağı diğer bir hedef ise hücre membranındaki lipitlerdir (Naczki ve Shahidi, 2004).

1.7 Resveratrolün Kimyasal Yapısı

Doğada yüksek miktarda üzüm kabuğunda bulunan Resveratrol (3,5,4'-trihidroksi trans stilben yada IUPAC: 5-[(E)-2-(4-hidroksifenil)etenil]benzen-1,3-diol) polifenolik yapıda bir bileşik olup; bitkiyi küf enfeksiyonuna karşı koruyan antioksidan özellikli bir maddedir. *Vitis* cinsinde belirlenen ve ikincil bir metabolit olan bu bileşik sağlık açısından yararları bir çok araştırmacı tarafından kanıtlanmış bir fitoaleksindir (Cleophas, 1999; Cui vd., 2002; İkizler vd., 2003; Olson vd., 2005).

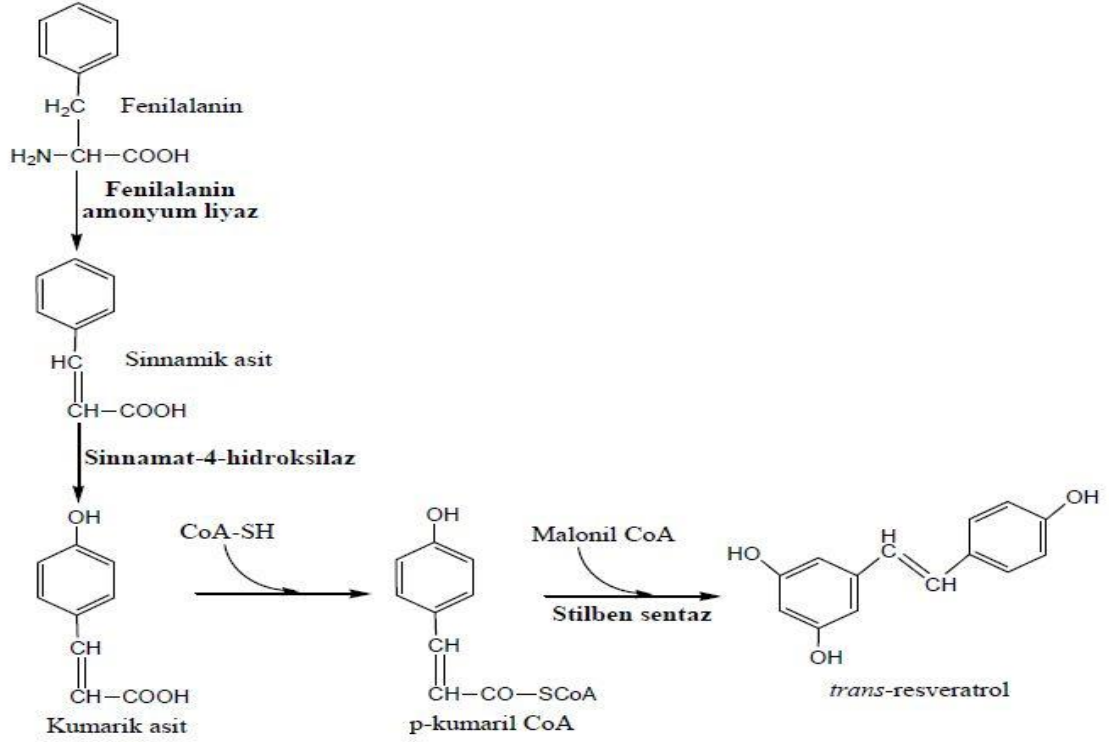
Tablo 1: Resveratrolün kimyasal özellikleri (Haneke, 2002).

Özellik	Açıklama
Açık kimyasal adı	3,4',5-trihydroxy-trans-stilbene
Kapalı formülü	C ₁₄ H ₁₂ O ₃
Molekül ağırlığı	228.25 g/mol
Kaynama noktası	253-255 °C
Fiziksel durumu	Katı, toz
Renk	Hafif grimsi beyaz
Çözünürlük	Metanol, aseton ve suda kolayca çözülür

1.7.1 Resveratrolün Biyosentezi

Resveratrolün sentezi fenil alaninden çok basamaklı bir şekilde gerçekleşmektedir. Fenil alaninden amonyumliyaz enzimiyle, deaminasyon sonucu birinci basamakta sinnamik asit oluşur. Sinnamik asit 4-hidroksilazla, 4-kumarik aside dönüşür. p-kumarik Co-A ile ester yapısına dönüşür. p-Kumaril Co-A, üç adet malonil Co-A ünitesi ile sitilben sentaz enzimiyle resveratrol oluşturur. Ester yapısından sonraki koenzim yardımı ile resveratrol

türevi olan quercetine dönüşebilir (Signorelli ve Ghidoni, 2005). Resveratrolün biyosentezi şematik olarak Şekil 10’da gösterilmiştir.



Şekil 10: Resveratrolün biyosentezi (Güder, 2012).

BÖLÜM 2

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Çalışmada kullanılan meyveler, Bartın ili Merkez ilçeye bağlı Serdar Köyü'nden Eylül-Ekim 2015 tarihleri arasında toplandı ve BÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali Savaş BÜLBÜL tarafından teşhis edildi. Toplanan *V. labrusca* meyvesi 3 kısma ayrıldı. İlk kısım dipfrize konularak -18 °C' de saklandı. İkinci kısım dış ortamda (güneşten korunaklı bir şekilde) 6 hafta kadar kurutulduktan sonra buzdolabında +4 °C' de muhafaza edildi. Üçüncü ve son kısım 25 °C' deki etüvde 2 hafta kadar kurutulduktan sonra buzdolabında +4 °C' de muhafaza edildi. *V. labrusca* meyvesinin meyve (VLM) kısımları analizler için kullanıldı.

2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firma ve özellikleri Tablo 2'de verilmektedir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır ve değişik firmalardan temin edilmiştir.

Tablo 2: Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firmalar.

Madde Adı	Satın Alındığı Firma	Madde Adı	Satın Alındığı Firma
Metanol	Sigma Aldriich, Germany	Resveratrol	“Sigma Aldriich, Germany
Etanol	Sigma Aldriich, Germany	Rosmarinik asit	Sigma Aldriich, Germany
Benzoik asit	Sigma Aldriich, Germany	trans-Ferulik asit	Sigma Aldriich, Germany
Gallik asit	Sigma Aldriich, Germany	Siringaldehit	Sigma Aldriich, Germany
Protokateşik asit	Sigma Aldriich, Germany	Vitamin E	Sigma Aldriich, Germany
p-Hidroksibenzoik asit	Sigma Aldriich, Germany	Folin Reaktifi	Sigma Aldriich, Germany
Kateşin	Merck, Germany	DPPH	Merck, Germany

2.1.2 Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firma ve özellikleri Tablo 3' de verilmektedir.

Tablo 3: Çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmalar.

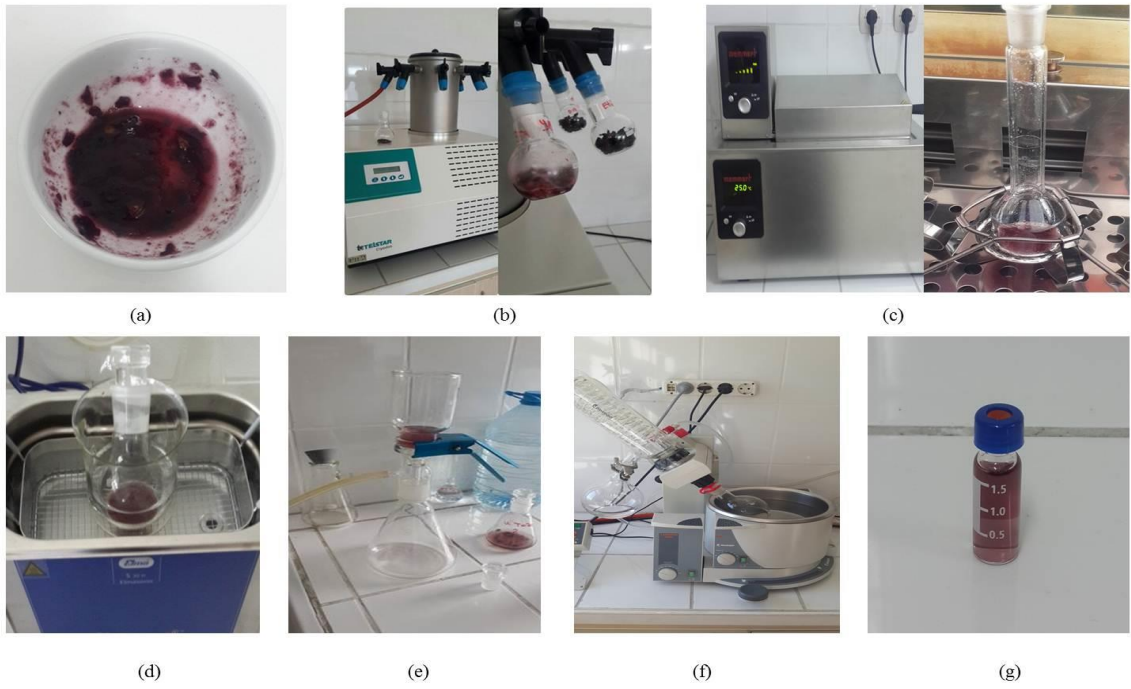
Adı	Satın Alındığı Firma
HPLC Degassing Unit DGU-20A _{5R}	SHIMADZU (JAPAN)
HPLC Auto Sampler SIL-20A _{HT}	SHIMADZU (JAPAN)
HPLC Column Oven CTO-10AS _{VP}	SHIMADZU (JAPAN)
DAD SPD-M20A	SHIMADZU (JAPAN)
Ultrasonik banyo	SHIMADZU (JAPAN)
Evaporatör LABOROTA 4000	HEIDOLPH
Etüv EV 018	NÜVE
Sonikasyon ELMASONIC S 30 H	ELMA
Hassas Terazı XB 220A	PRECISA
Mikro pipet (100-1000 µl.)	BRAND®

2.2 Yöntem

2.2.1 Fenolik Bileşen Analizi İçin Numune Hazırlama

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için Barros vd. (2010) ve Mulero, Pardo ve Zafrilla (2010) metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Dipfrize konularak -18 °C' de saklanan taze *V.labrusca* örneği homojen hale getirildikten sonra 1 gün süreyle freeze dryer 'da kurutulmuştur. 1 gr (tam kuru) örneğe 50 ml etanol eklenmiştir. 25 °C'de 150 rpm'de 15 saat süreyle çalkalamalı su banyosunda ekstrakte edilmiştir. Çalkalamalı su banyosundan alınan örnek, ultrasonik su banyosunda 15 dk sonikasyon işlemine tabii tutulmuştur. Balon içerisindeki ekstrakt Whatman No.4 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir ve darası alınmış balon içerisine aktarılıp buzdolabına konulmuştur. Filtre kağıdının üzerinde kalan kalıntı örnek 50 ml metanol ile aynı balon içerisine yıkanmıştır. Balon tekrardan 25 °C'de 150 rpm'de 15 saat süreyle bekletilmiştir ve sonrasında ultrasonik su banyosunda 15 dk sonikasyona

maruz bırakılmıştır. Daha sonra tekrardan Whatman No.4 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir ve buzdolabına konulan balon içerisine ilave edilmiştir. Etanolik ve metanolik iki farklı ekstrakt birleştirilmiştir (stok çözelti). Elde edilen stok çözeltinin içerisindeki metanol ve etanol kısmı evaporatörde 35 °C’de buharlaştırılmıştır. Evaporatör sonrası balona yapışan ekstrakt konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde metanol ile çözülmüştür ve analizlerde kullanılmak üzere buzdolabında +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Analizlerde kullanılacak numunelerin hazırlanma aşamaları fotoğraflanmış ve Şekil 11’de verilmiştir (Yıldız vd., 2015).



Şekil 11: *V. labrusca* ekstraksiyon aşamaları; a) homojenleştirilmiş taze *V. labrusca*, b) Freeze-Dryer, c) ultrasonik su banyosu, d) sonikasyon, e) filtre, f) evaporatör, g) HPLC viali.

2.2.2 Fenolik Bileşenlerin HPLC Analizleri

Ekstraksiyon aşamasında elde edilen *Vitis labrusca* L. ekstraktları 0.45 µm’lik membran filtreden geçirilerek HPLC viallerine (Agilent, screw tap 5182-0716) aktarılmış ve yüksek performanslı likid kromatografisine (HPLC) enjekte edilmiştir (20 µL). Fenolik bileşiklerin HPLC ile belirlenmesinde Velioglu (2007) metodu bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Asetonitril (A) ve su + % 0.1 fosforik asit (B) çözeltileri mobil faz olarak

kullanılmış ve ters faz gradient elüsyon metodu esas alınmıştır. HPLC gradient elüsyon programı Tablo 4’de özetlenmiştir (Yıldız vd., 2015).

Tablo 4: Gradient Elüsyon Programı.

A (%)	B (%)	Süre (dk)
8	92	0
8	92	10
18	82	57
24	76	78
26	74	80
28	72	92
80	20	98
8	92	115

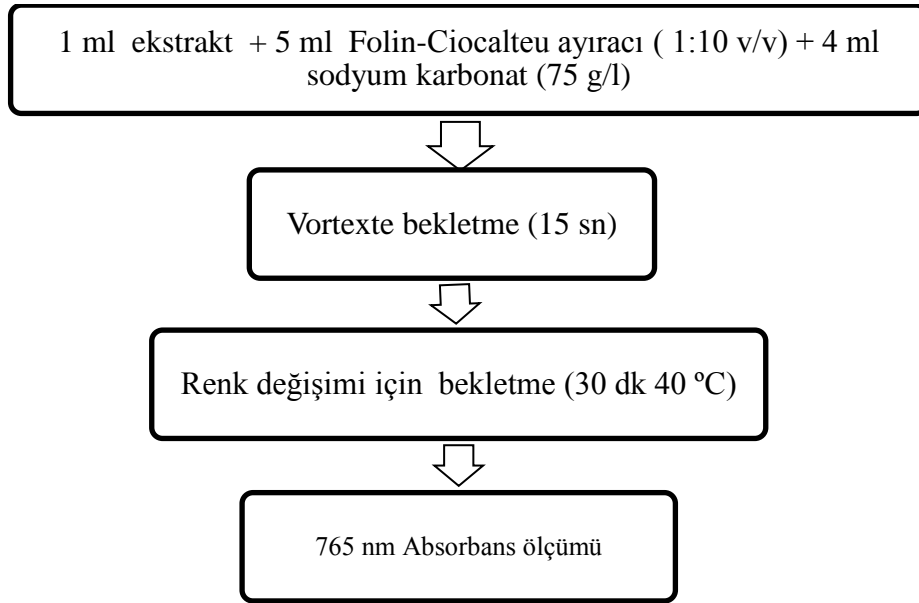
Akış hızı 1 mL/dk ve enjeksiyon miktarı 20 µL olup dedeksiyonun yapıldığı dalga boyları 245, 255, 260, 270, 275, 280, 305, 321, 331,360 nm’dir. 10 fenolik bileşik standart - p-hidroksibenzoik asit, benzoik asit, protokateşik asit, siringaldehit, gallik asit, vitamin C, rosmarinik asit, trans-Ferulik asit, kateşin, resveratrol - öncülüğünde metanolik ekstraktlar kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Çalışmada kullanılan fenolik bileşen standartları, dalga boyları ve alıkonma zamanları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5: Fenolik bileşik standartlarının çalışıldığı dalga boyları.

Fenolik Bileşen Standartları	Dalga Boyu (nm)	Alıkonma Zamanı (Rt)
4-hidroksibenzoik asit	255	21.919
Benzoik asit	275	53.107
Protokateşik asit	260	12.318
Siringaldehit	305	42.538
Gallik asit	270	6.359
Vitamin C	245	3.115
Rosmarinik asit	331	75.996
trans-Ferulik asit	321	51.603
Kateşin	280	25.267
Resveratrol	305	81.862

2.2.3 Folin–Ciocalteu Ayıracı Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik için Wolfe, Wu, and Liu (2003) prosedürü modifiye edilerek kullanılmıştır. Hazırlanan ekstre çözeltisi (1 ml), 5 ml Folin–Ciocalteu reaktifi (1:10 v/v saf su ile seyreltilmiş) ve 4 ml sodyum karbonat (75g/l) eklenmiştir. Vortexte 15 saniye santifürj edilerek 40 °C’de 30 dakika bekletilmiştir. Ölçümler 765 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Gallik asit belirleyici standart (eşdeğer) olarak kullanılmıştır ve sonuçlar buna göre belirlenmiştir (Barros vd., 2010). Şekil 12’de gösterilen işlemler sırasıyla uygulanmış ve örneklerin spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japan) 765 nm’de verdiği absorbans değerleri belirlenmiştir.



Şekil 12: Toplam fenolik madde tayini için uygulanan işlemler.

2.2.4 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi (DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi)

Antioksidan aktivite tayini için en çok tercih edilen yöntemlerden biri DPPH (Sigma) serbest radikal süpürücü aktivite tayinidir. Deneyde kullanılan DPPH, serbest radikal olup, ortaklanmamış bir elektronu nedeniyle 517 nm dalga boyunda güçlü absorpsiyon verir. Bu yöntem Blois (1958) tarafından bulunmuş olup ekstrelelere Hatano (1995) tarafından modifiye edilmiş yöntem uygulanmıştır (Şenol, 2009).

Hazırladığımız *V. labrusca* ekstrelerinden, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, ve 1000 µg/ml, DPPH stok çözeltisi 6×10^{-5} mol/l konsantrasyonda olacak şekilde gerekli miktarlar tartılmış ve etanolde (% 75) çözülmüştür. Her örnekten deney tüplerine, mikropipet yardımıyla 300 µl alınarak üzerlerine 2700 µl DPPH çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra tüpler oda sıcaklığında, karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbansı 517 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede okunmuştur. Örneklerin DPPH serbest radikale karşı % inhibisyonları Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % süpürücü etkilerinin ortalaması \pm standart sapma olarak verilmiştir (Şenol, 2009).

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100 \quad (1)$$

A_1 = DPPH stok çözeltisinin 517 nm dalga boyundaki absorbansı

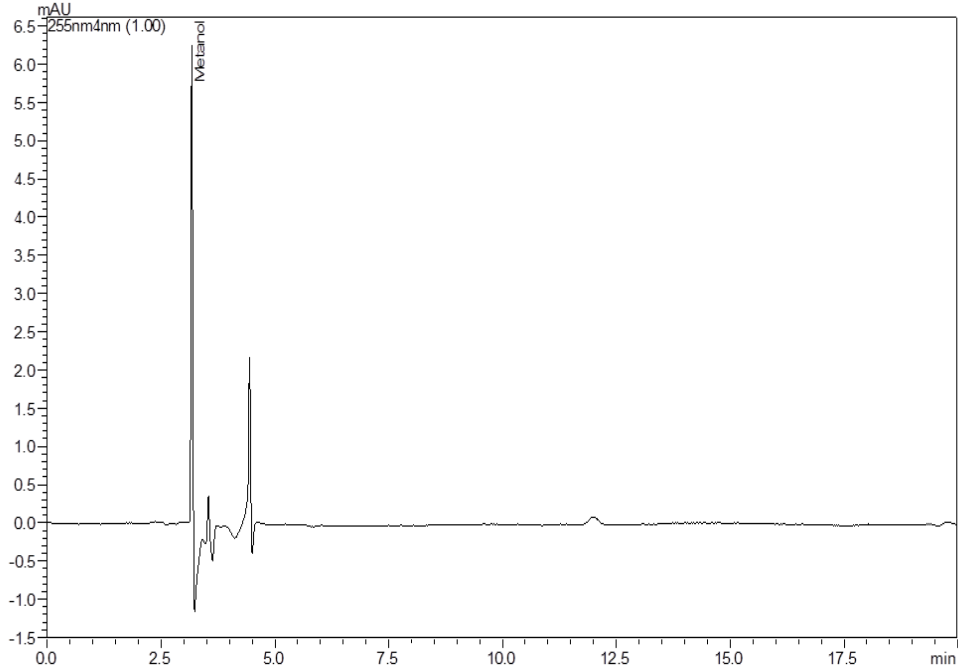
A_2 = Örnek çözeltilerinin 517 nm dalga boyundaki absorbansı

BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1 Fenolik Bileşen Referansların Kalibrasyon Grafikleri ve Kromatogramları

Çalışmada 10 adet fenolik bileşik standardı kullanılmıştır. *V. labrusca* ekstraktlarında 10 adet fenolik bileşen kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan metanol (alıkonma süresi 3,171 dakika) ve olası kirliliklere ait pikleri standart piklerinden ayırt edebilmek için metanol kromatogramı çıkarılmıştır ve Şekil 13’de verilmiştir.

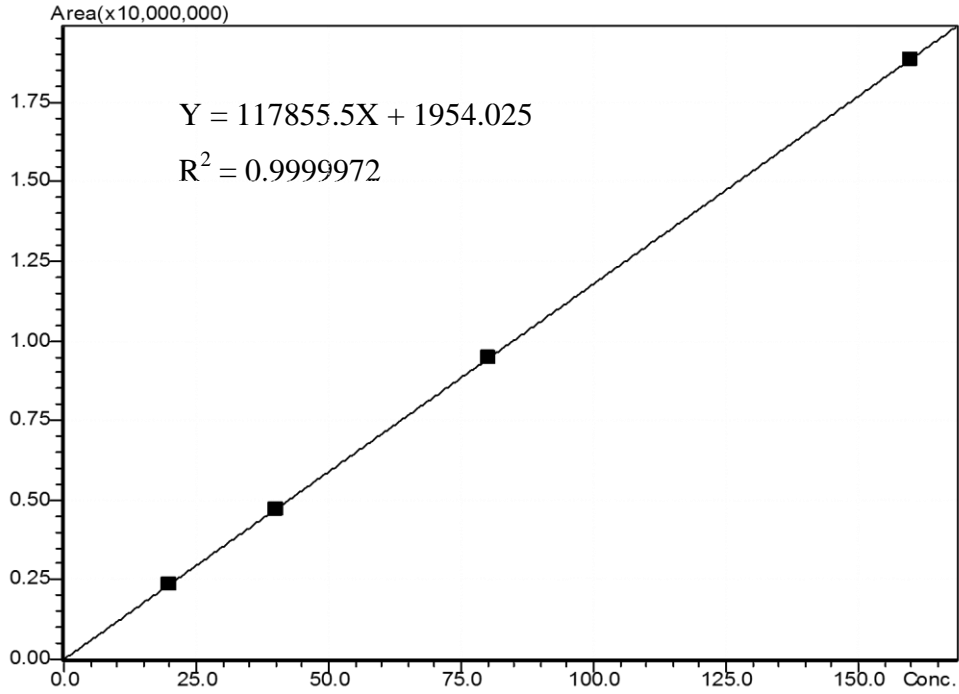


Şekil 13: Metanol kromatogramı.

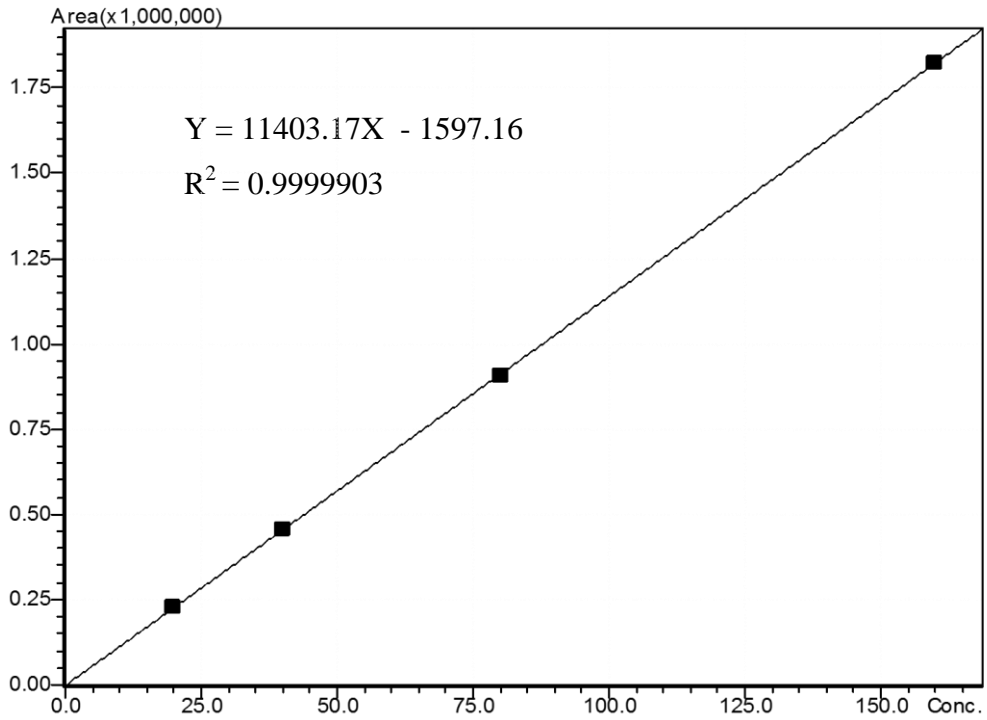
10 farklı fenolik standartı (p-Hidroksibenzoik asit, Benzoik asit, Protokateşik asit, Siringaldehit, Gallik asit, Vitamin C, Rosmarinik asit, trans-Ferulik asit, Kateşin ve Resveratrol) HPLC cihazına verilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ve kromatogramları elde edilmiştir.

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması için farklı konsantrasyonlarda (20, 40, 80 ve 160 ppm (mg/L)) hazırlanan fenolik bileşik standartları (p-Hidroksibenzoik asit, Benzoik asit,

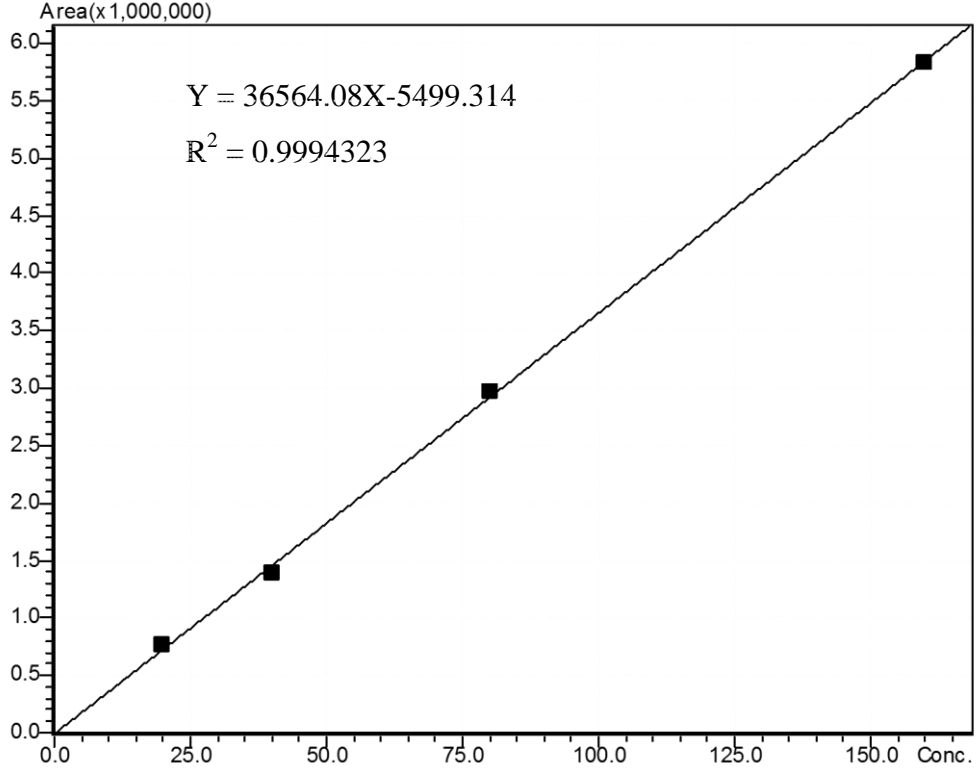
Protokateşik asit, Siringaldehit, Gallik asit, Vitamin C) cihaza enjekte edilmiş olup pik alanları hesaplanmıştır. Fenolik bileşik standartlarının kalibrasyon eğrileri Şekil 14, 15, 16, 17, 18 ve 19' da verilmiştir.



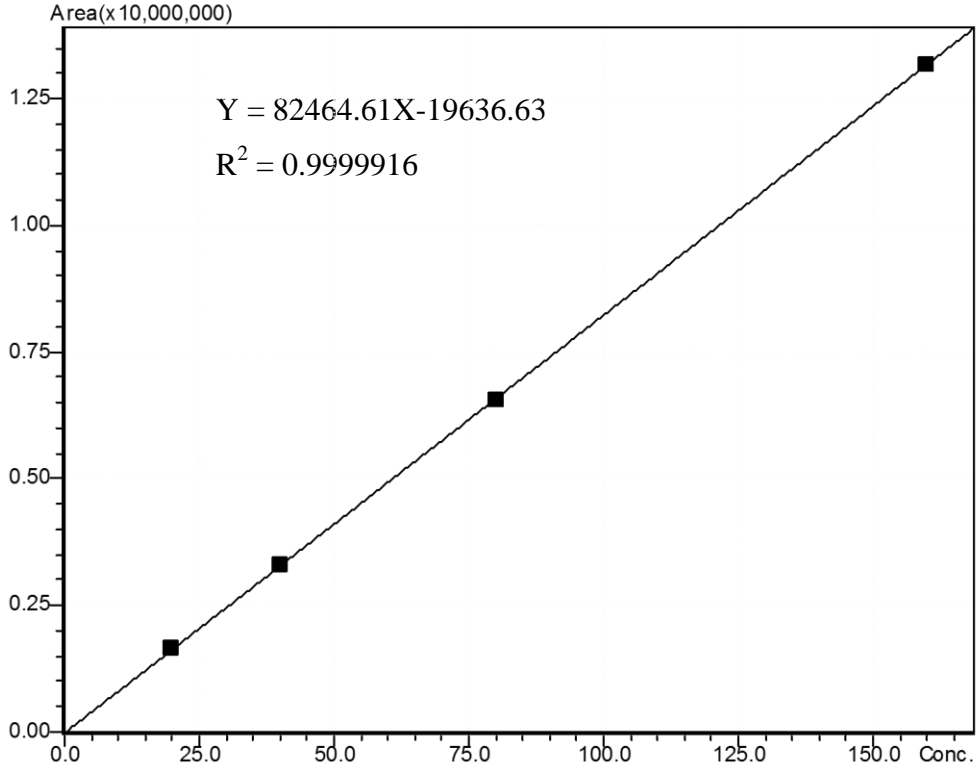
Şekil 14: p-Hidroksibenzoik asit kalibrasyon eğrisi.



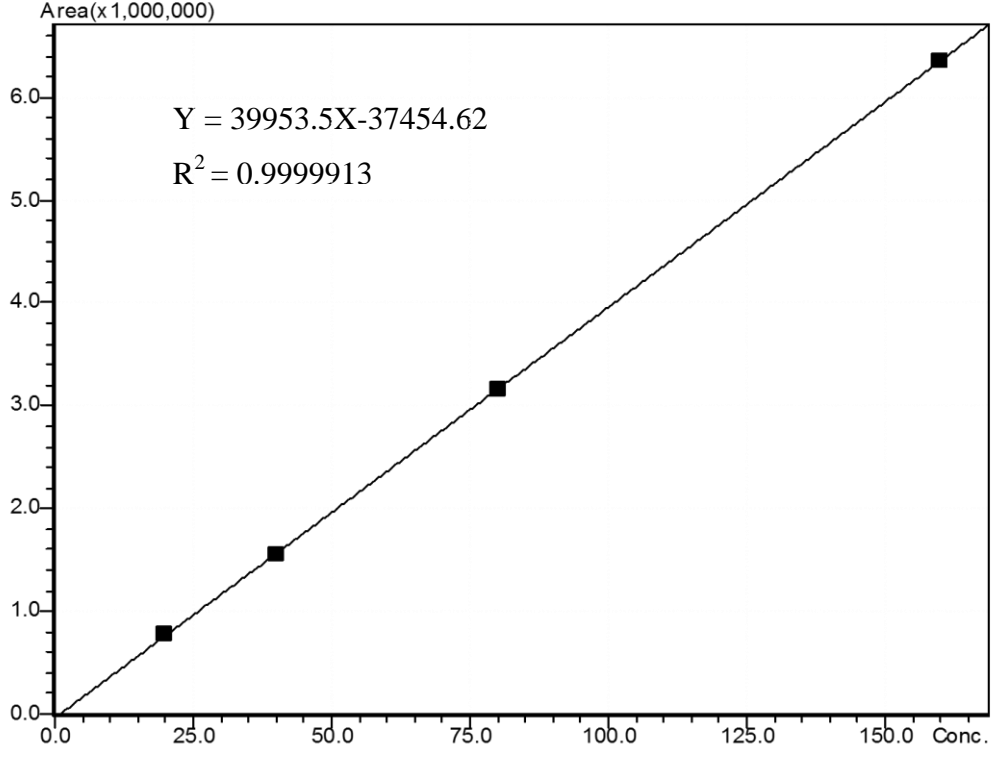
Şekil 15: Benzoik asit kalibrasyon eğrisi.



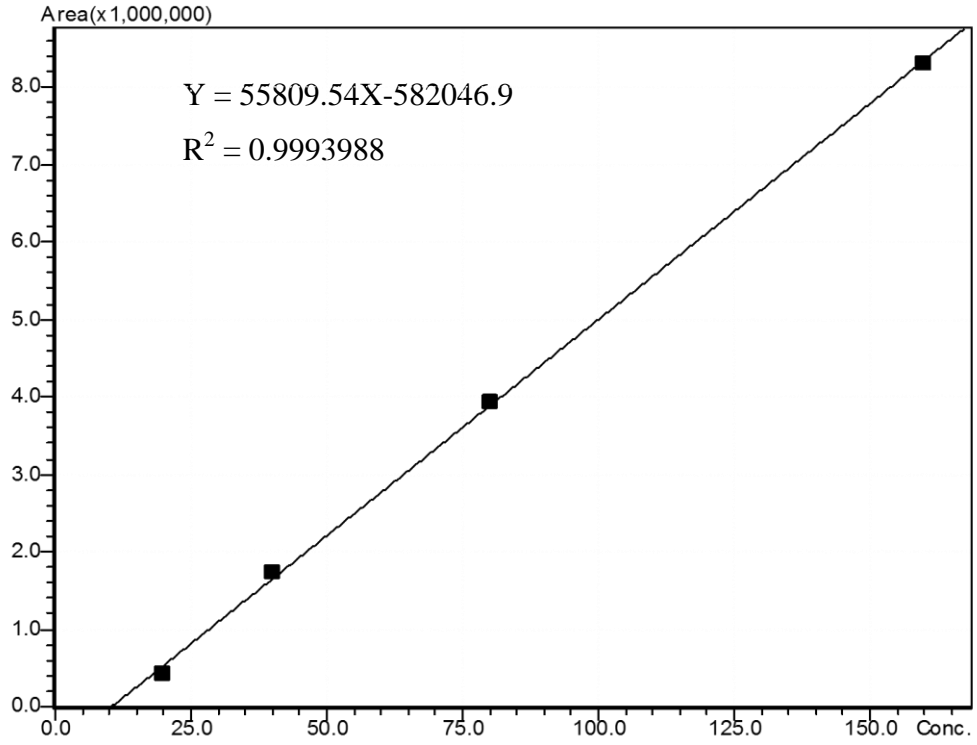
Şekil 16: Protocateşik asit kalibrasyon eğrisi.



Şekil 17: Siringaldehit kalibrasyon eğrisi.

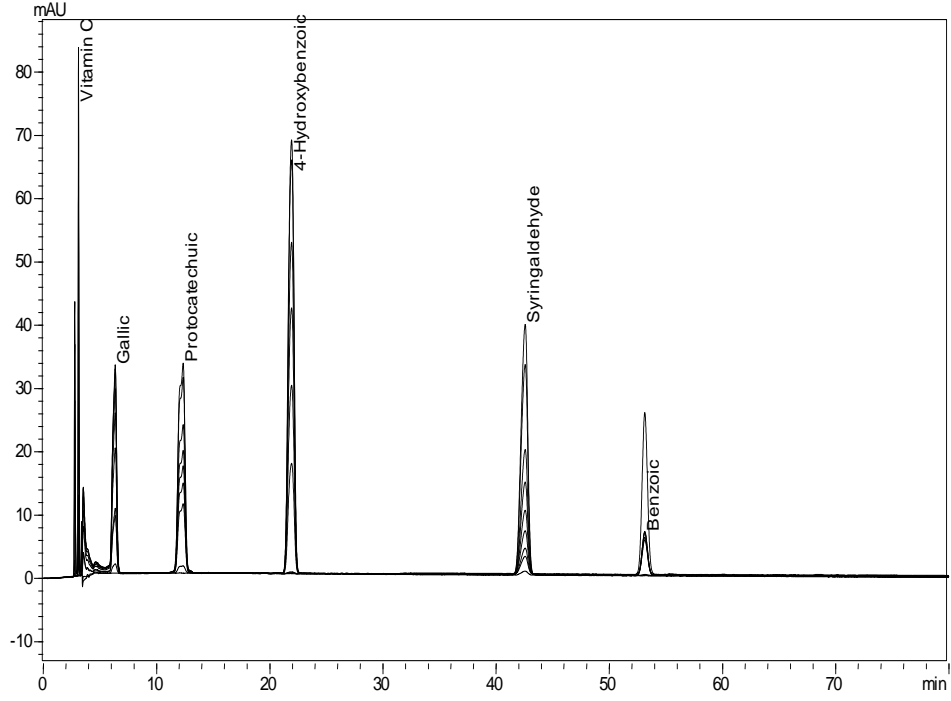


Şekil 18: Gallik asit kalibrasyon eğrisi.



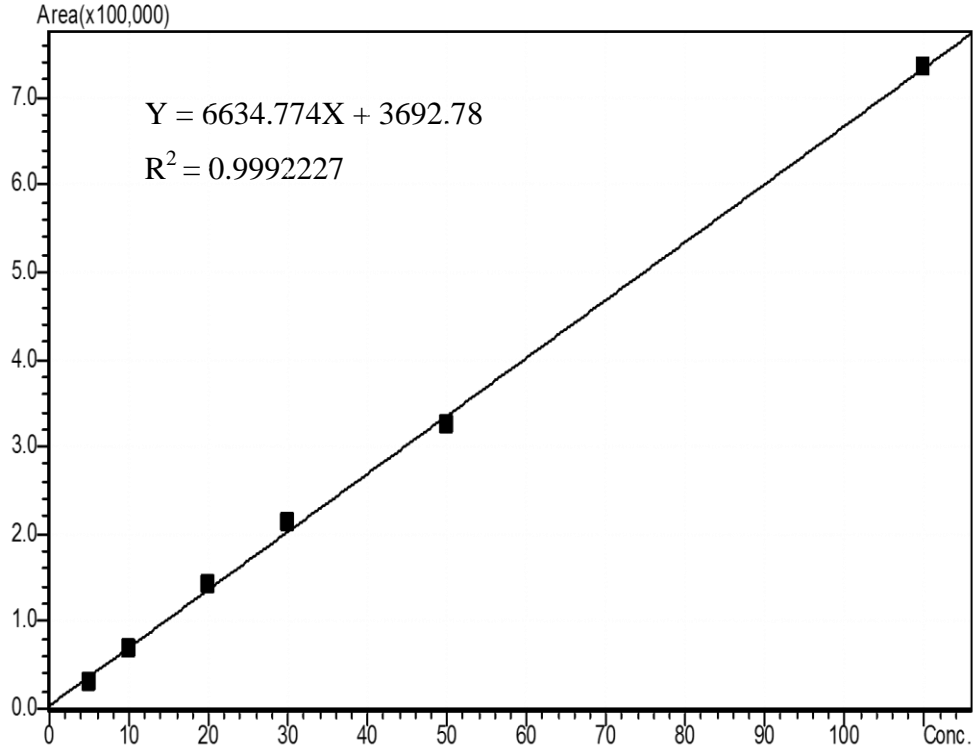
Şekil 19: Vitamin C kalibrasyon eğrisi.

Şekil 20’de referans olarak kullanılan fenolik standartlarının (p-Hidroksibenzoik asit, Benzoik asit, Protokateşik asit, Siringaldehit, Gallik asit ve Vitamin C) 20 ppm (mg/L)’deki kromatogram görüntüleri verilmiştir.

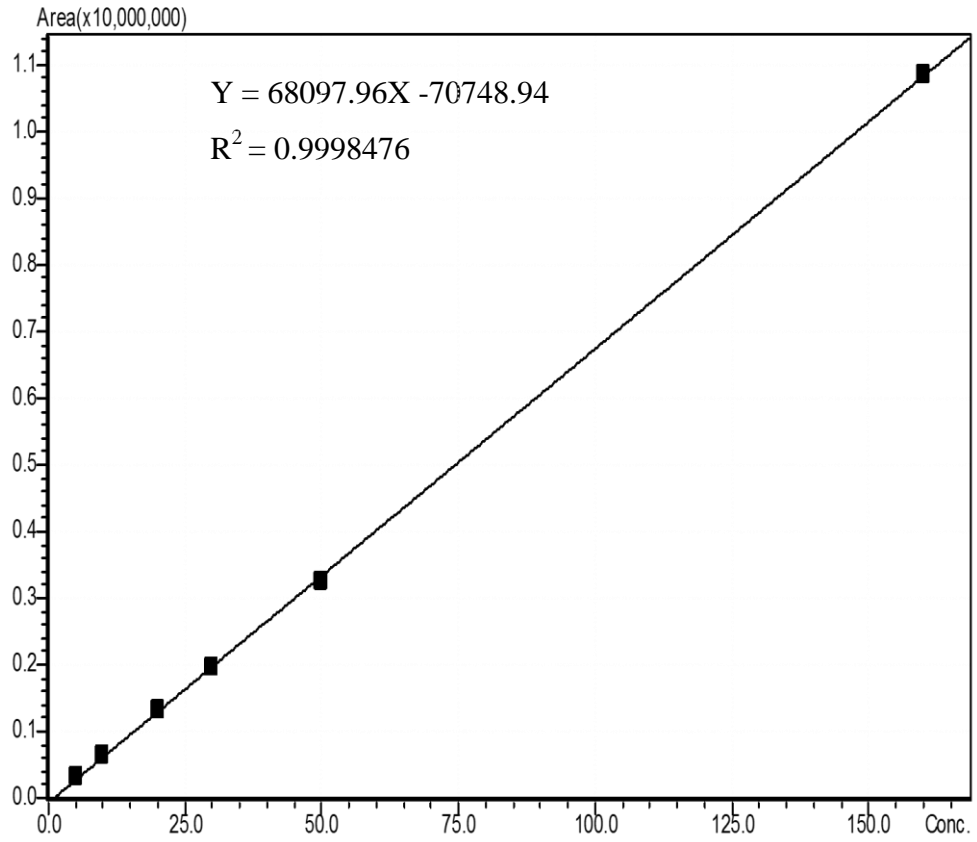


Şekil 20: Fenolik bileşik standartlarının (p-hidroksibenzoik asit, benzoik asit, protokateşik asit, siringaldehit, gallik asit ve vitamin C) 20 ppm (mg/L) kromatogramları.

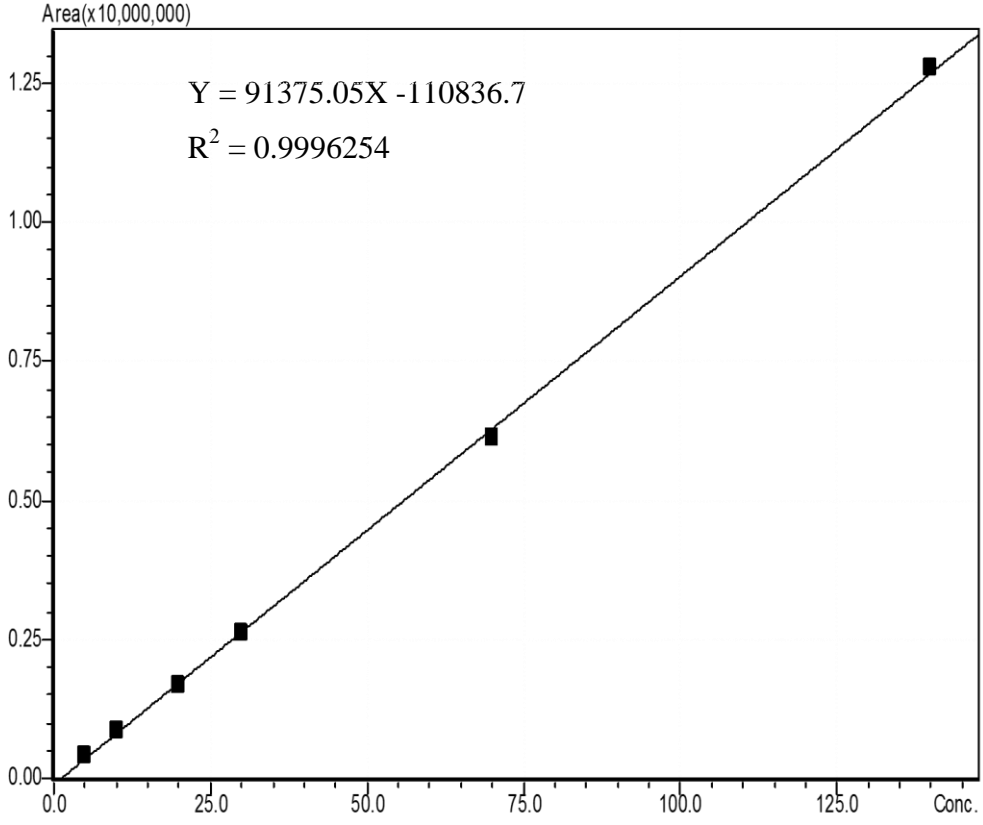
Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan fenolik bileşik standartları (Kateşin 110 ppm, Rosmarinik asit 160 ppm, trans-Ferulik asit 140 ppm, ve Resveratrol 30 ppm) cihaza enjekte edilmiş olup pik alanları hesaplanmıştır. Fenolik bileşik standartlarının kalibrasyon eğrileri Şekil 21, 22, 23 ve 24’ de verilmiştir.



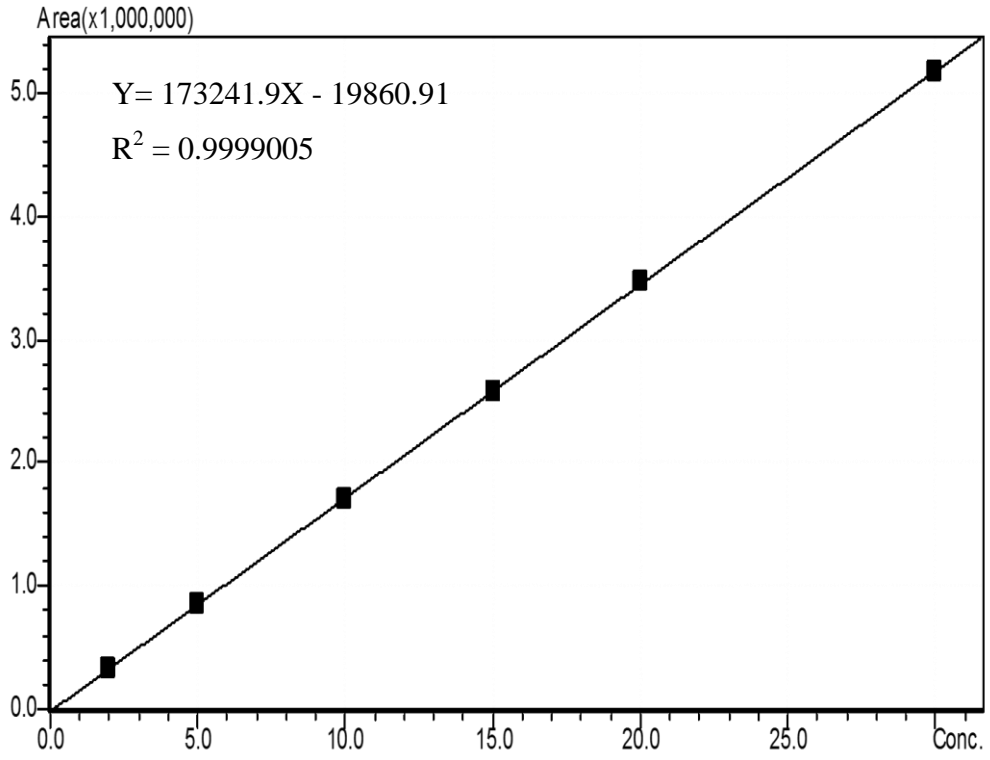
Şekil 21: Kateşin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 22: Rosmarinik asit kalibrasyon eğrisi.

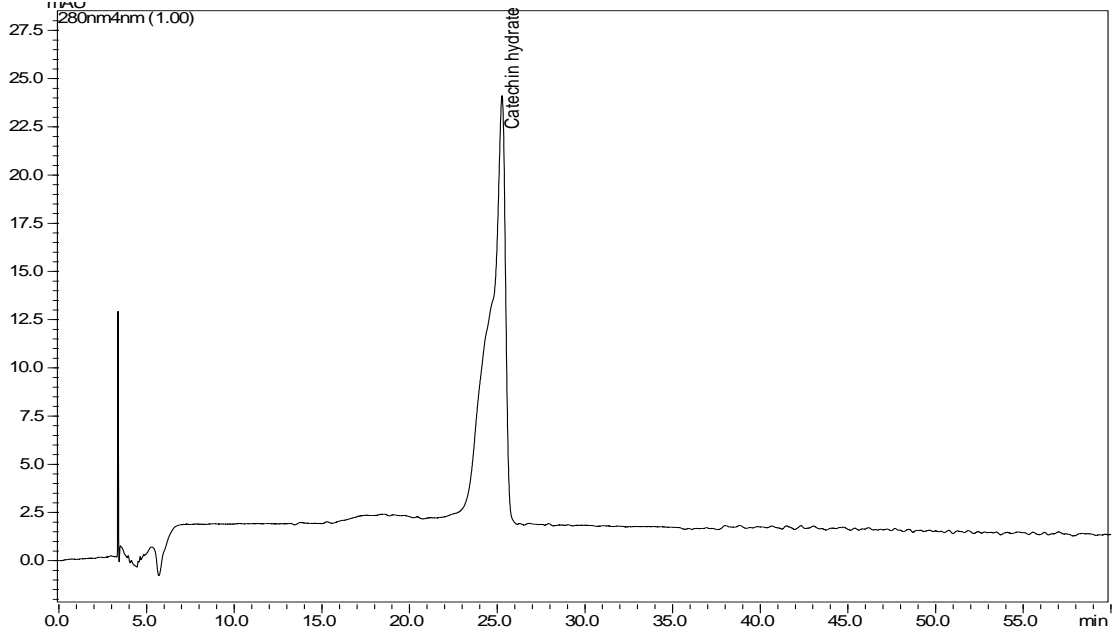


Şekil 23: trans-Ferulik asit kalibrasyon eğrisi.

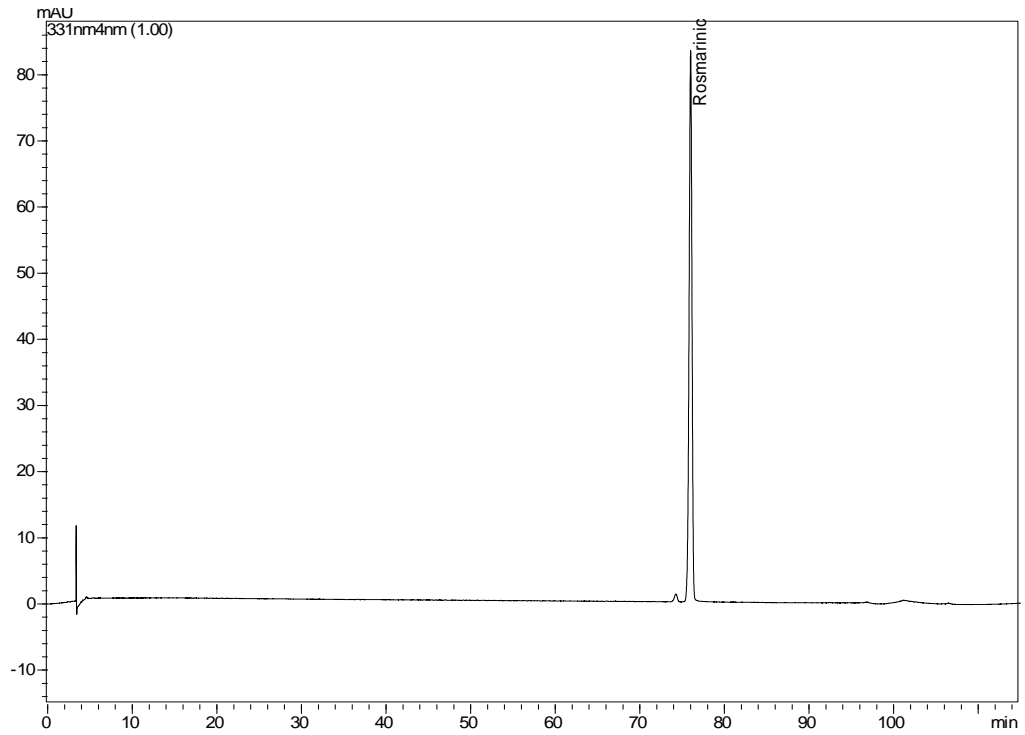


Şekil 24: Resveratrol kalibrasyon eğrisi.

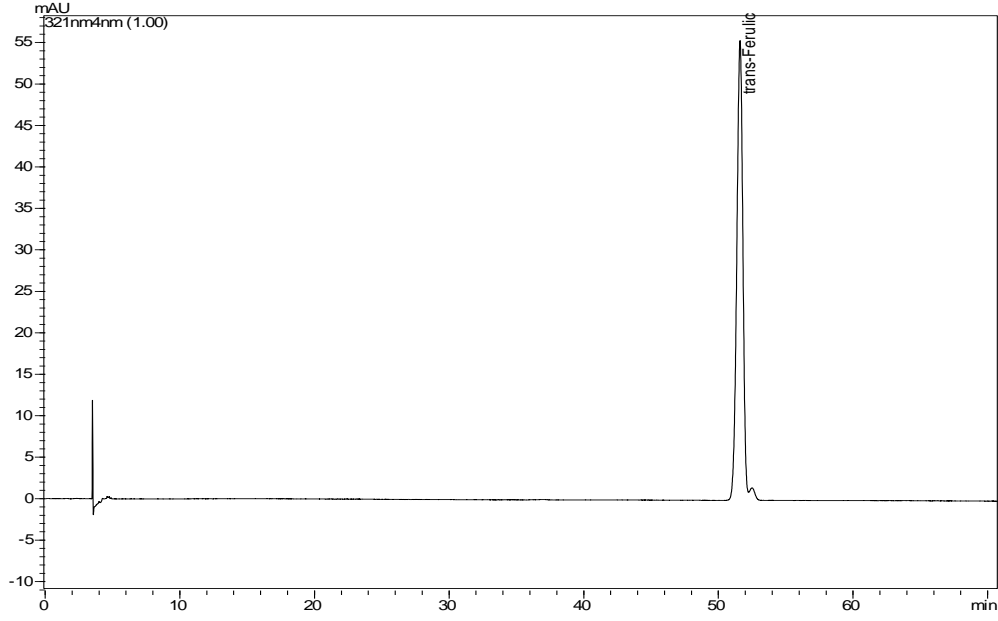
Şekil 25, 26 ve 27’de referans olarak kullanılan fenolik standartlarının (Kateşin, Rosmarinik asit, trans-Ferulik asit) 20 ppm (mg/L)’deki kromatogram görüntüleri verilmiştir.



Şekil 25: Kateşin standardı (280 nm).



Şekil 26: Rosmarinik asit standardı (331 nm).

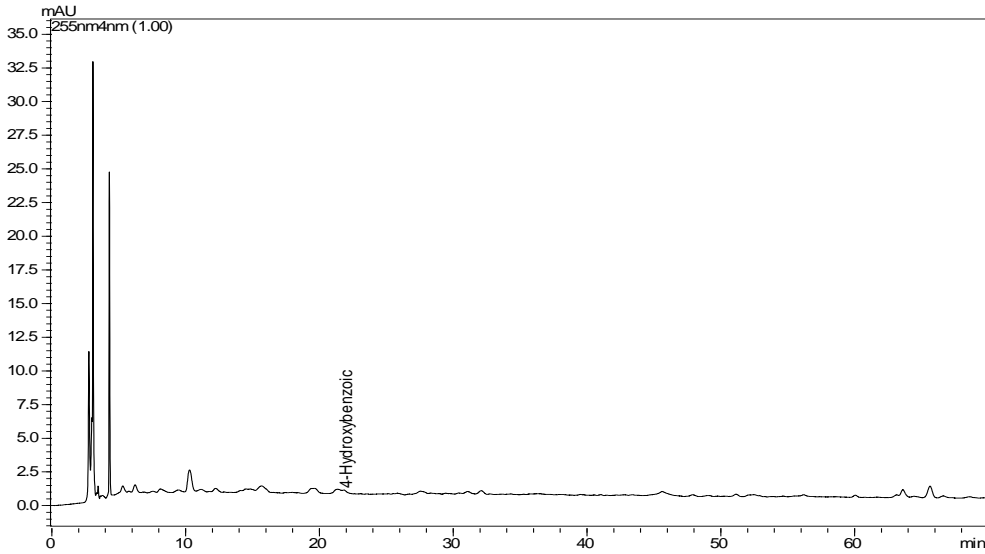


Şekil 27: trans-Ferulik asit standardı (321 nm).

3.2 *Vitis labrusca* L. Fenolik Bileşen Kromatogramları

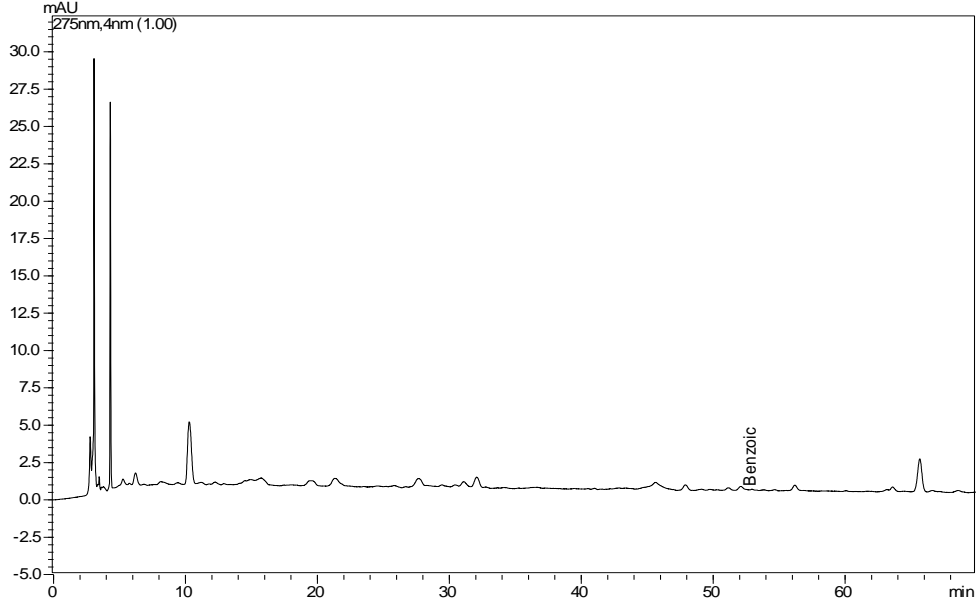
3.2.1 Dış Ortamda Kurutulan *Vitis labrusca* L. Kromatogramları

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen p-hidroksibenzoik asit alıkonma zamanı 21.332 dk olan kromatogram örneği Şekil 28’de verilmiştir.



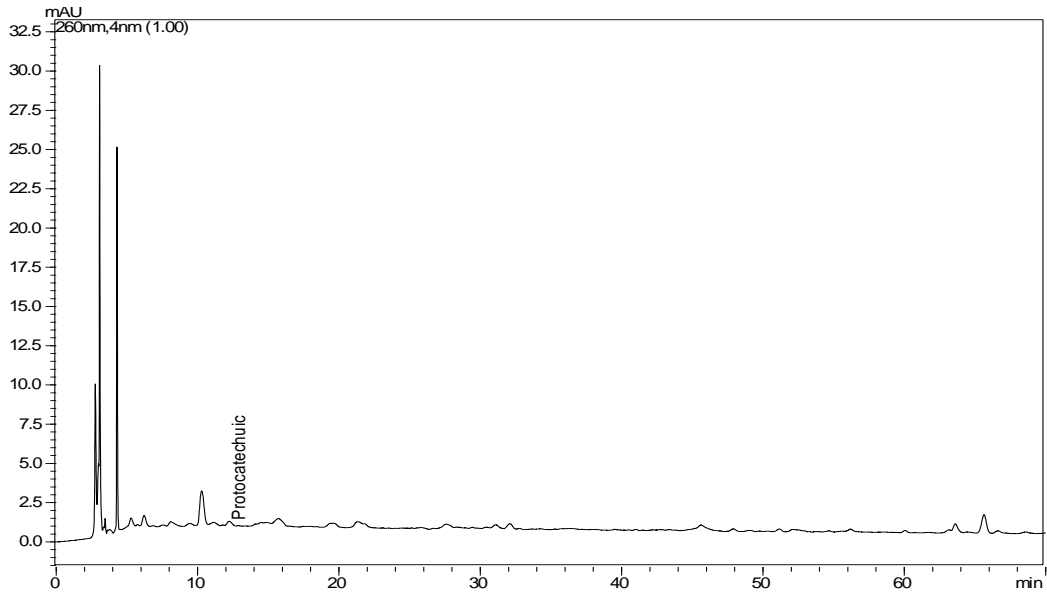
Şekil 28: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) p-hidroksibenzoik asit (255 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen benzoik asit alıkonma zamanı 52.110 dk olan kromatogram örneği Şekil 29’da verilmiştir.



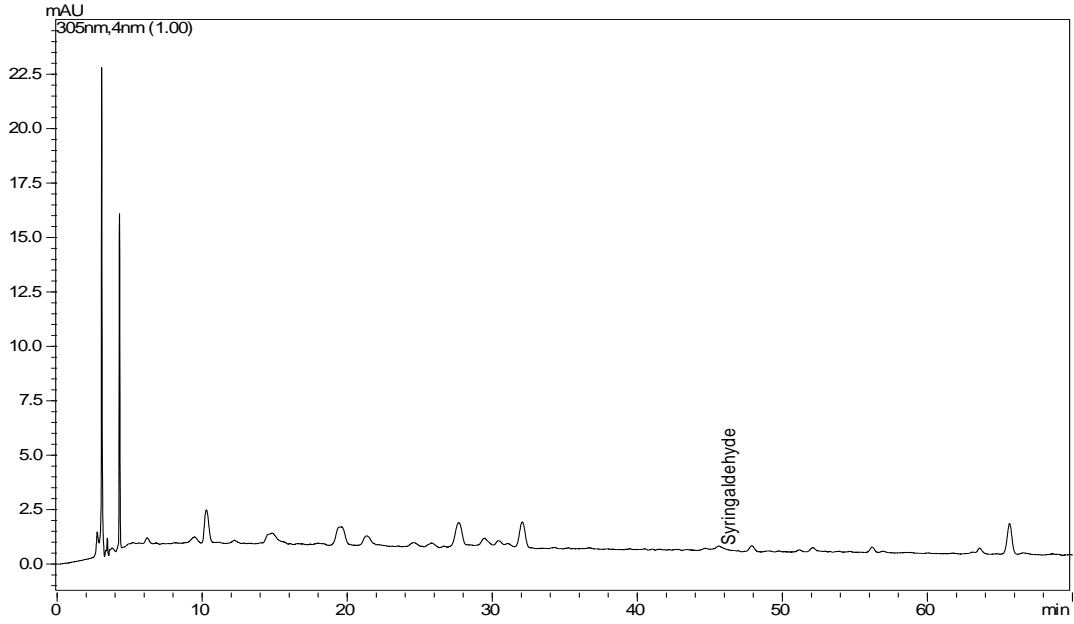
Şekil 29: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) benzoik asit (275 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen protokateşik asit alıkonma zamanı 12.238 dk olan kromatogram örneği Şekil 30’da verilmiştir.



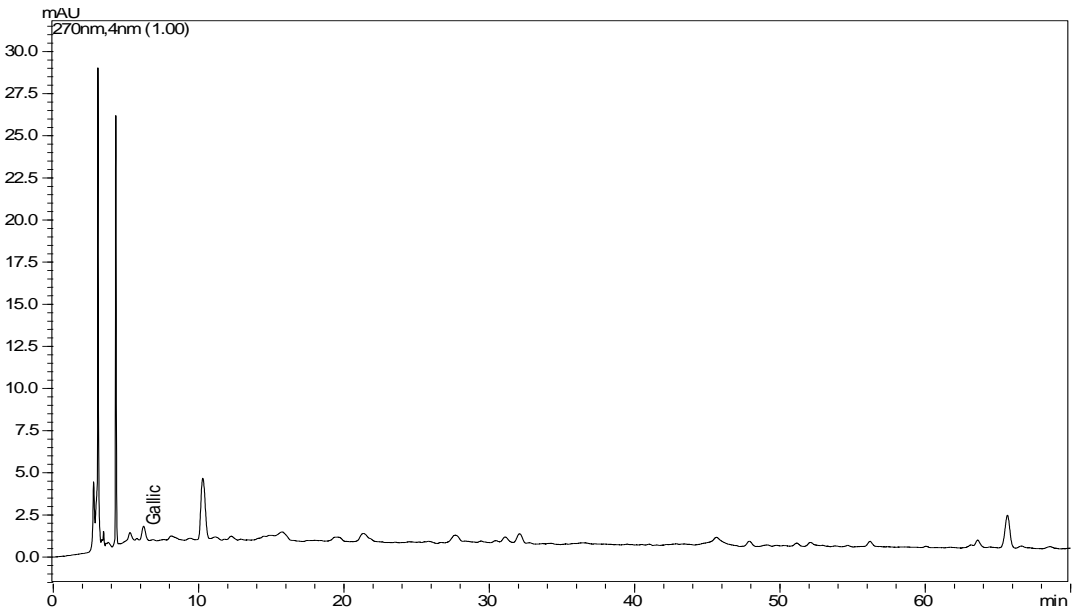
Şekil 30: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) protokateşik asit (260 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen siringaldehidin alıkonma zamanı 45.614 dk olan kromatogram örneği Şekil 31’de verilmiştir.



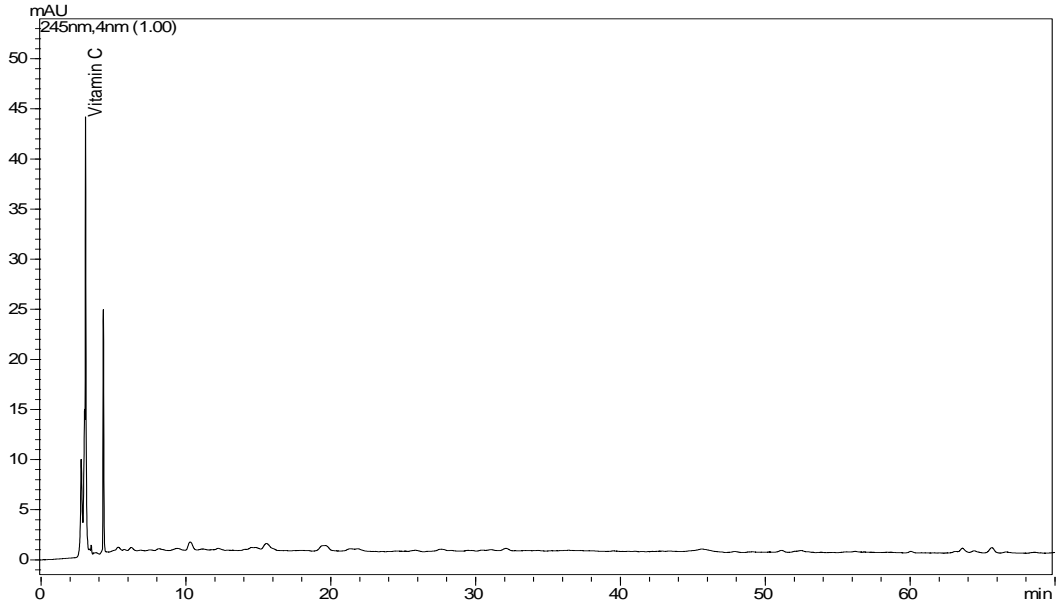
Şekil 31: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) siringaldehit asit (305 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen gallik asit alıkonma zamanı 6.216 dk olan kromatogram örneği Şekil 32’de verilmiştir.



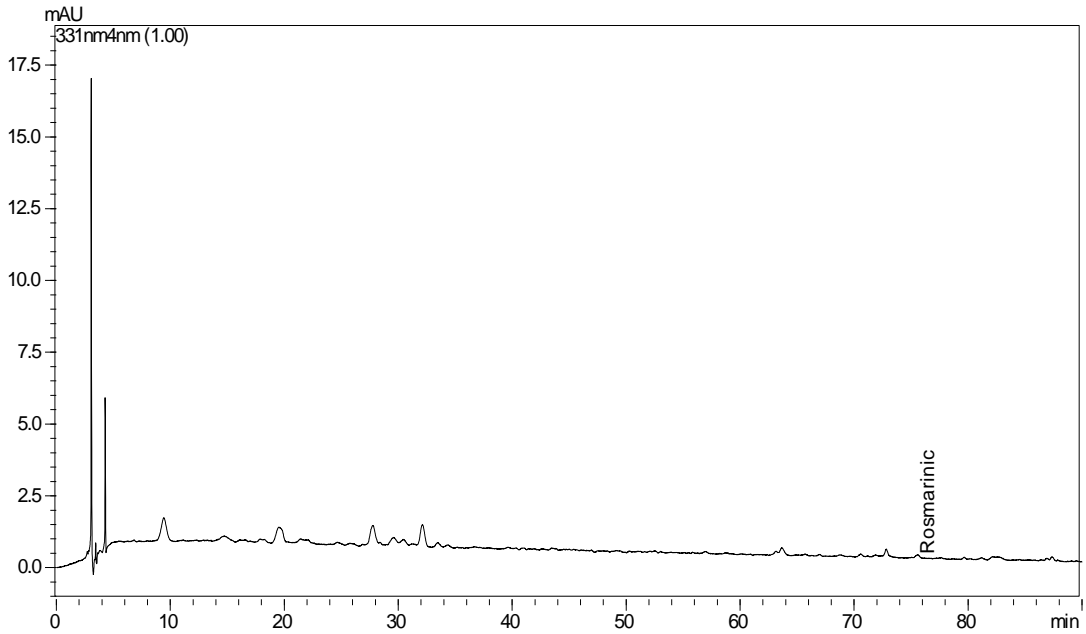
Şekil 32: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) gallik asit (270 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen vitamin C alıkonma zamanı 3.061 dk olan kromatogram örneği Şekil 33’de verilmiştir.



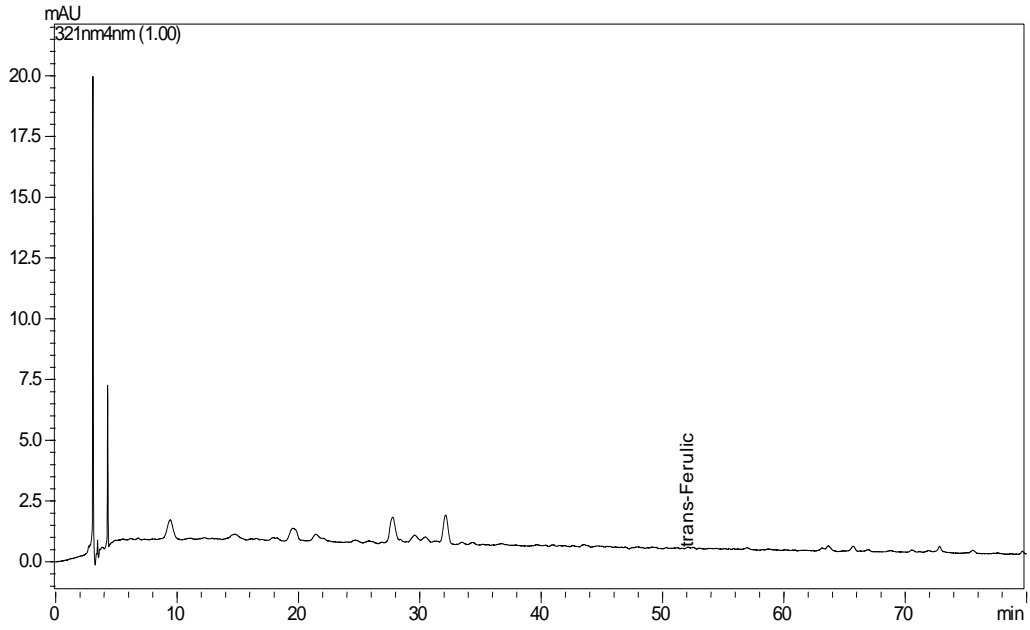
Şekil 33: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) vitamin C (245 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Rosmarinik asit alıkonma zamanı 75.585 dk olan kromatogram örneği Şekil 34’de verilmiştir.



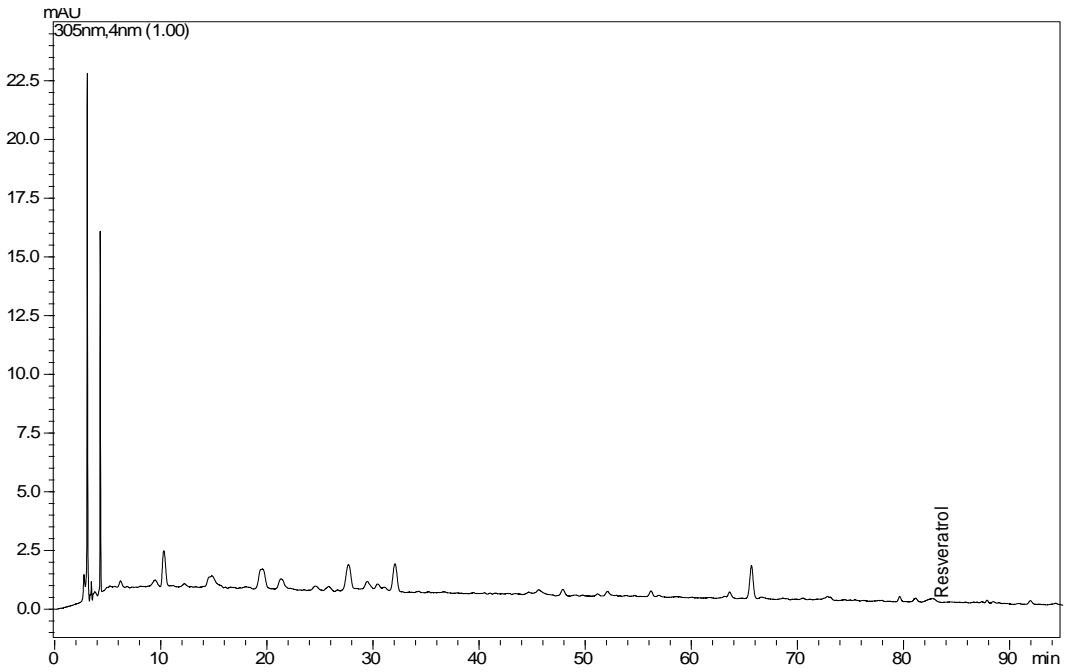
Şekil 34: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) rosmarinik asit (331 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen trans-Ferulik asit alıkonma zamanı 51.228 dk olan kromatogram örneği Şekil 35’de verilmiştir.



Şekil 35: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) trans-Ferulik asit (321 nm).

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Resveratrol alıkonma zamanı 82.652 dk olan kromatogram örneği Şekil 36’da verilmiştir.



Şekil 36: Analiz sonucu belirlenen (dış ortam) resveratrol (305 nm).

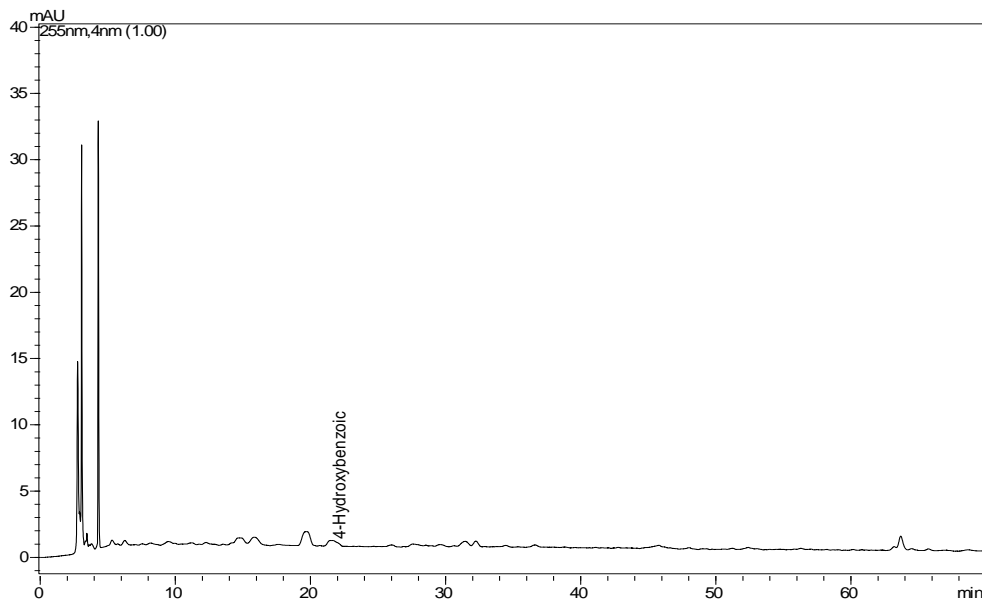
Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait tespit edilen fenolik bileşen standartlarının bilgileri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Belirlenen fenolik bileşen standartlarının bilgileri (Dış ortam).

Fenolik Bileşen Standartları	Dalga Boyu (nm)	Alıkonma Zamanı (Rt)	Konsantrasyon (mg/L)	(%)
p-Hidroksibenzoik asit	255	21.332	1.133	0.902
Benzoik asit	275	52.110	0.571	0.386
Protokateşik asit	260	12.238	0.323	0.661
Siringaldehit	305	45.614	0.272	0.581
Gallik asit	270	6.216	1.343	1.186
Vitamin C	245	3.061	15.191	10.959
trans-Ferulik asit	321	51.228	1.222	0.922
Rosmarinik asit	331	75.585	1.065	0.879
Resveratrol	305	82.652	0.162	0.249

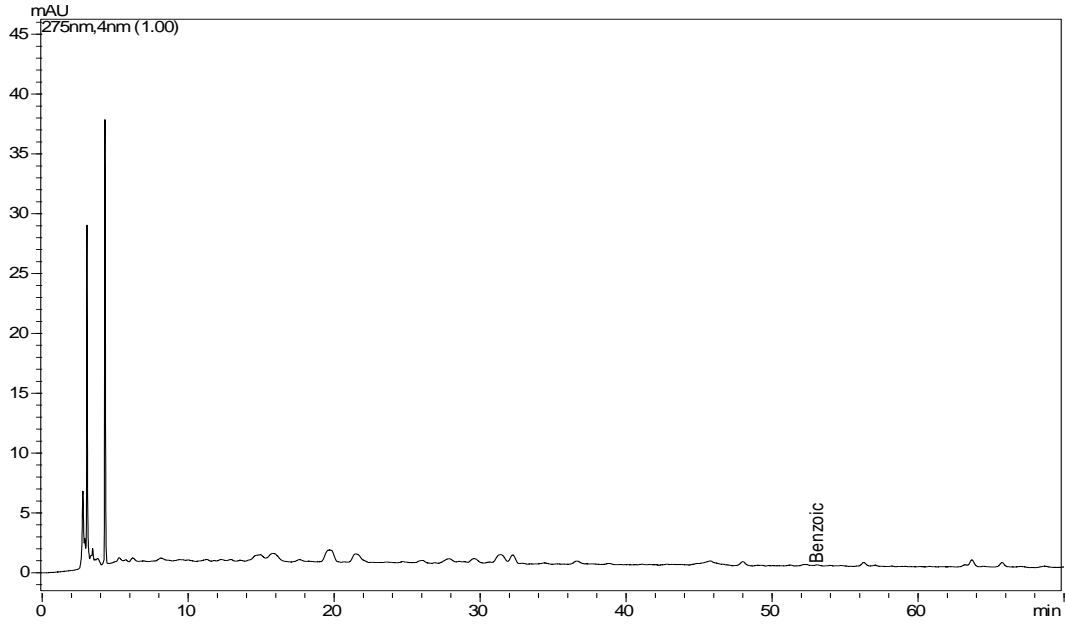
3.2.2 Etüvde Kurutulan *Vitis labrusca* L. Kromatogramları

Etüvde kurutulan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen p-hidroksibenzoik asit alıkonma zamanı 21.460 dk olan kromatogram örneği Şekil 37'de verilmiştir.



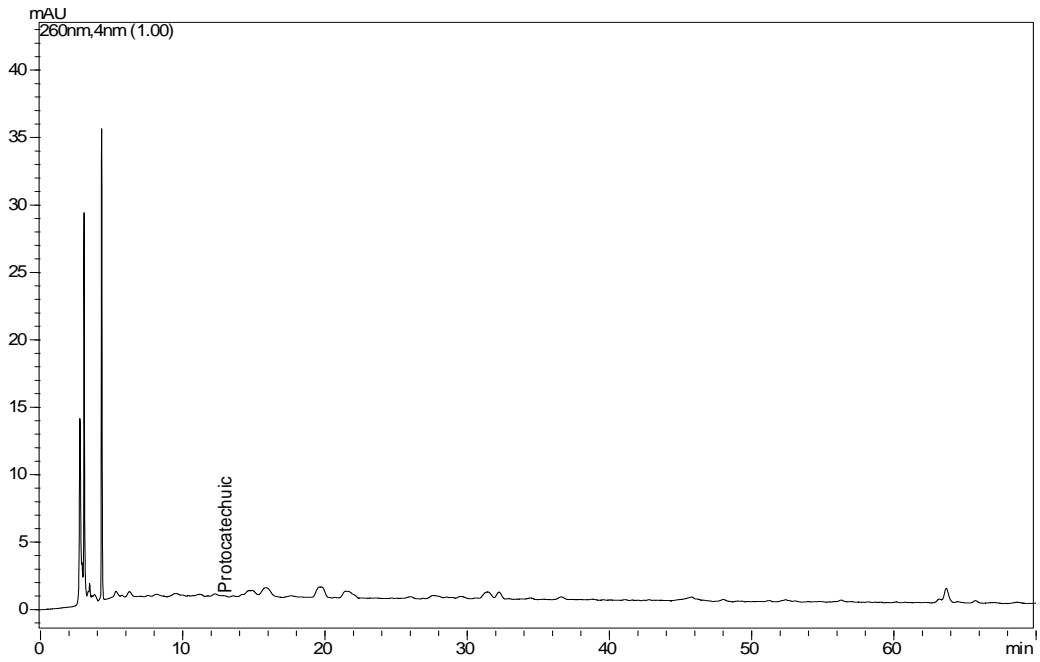
Şekil 37: Analiz sonucu belirlenen (etüv) p-hidroksibenzoik asit (255 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen benzoik asit alıkonna zamanı 53.358 dk olan kromatogram örneğİ Şekil 38’de verilmiştir.



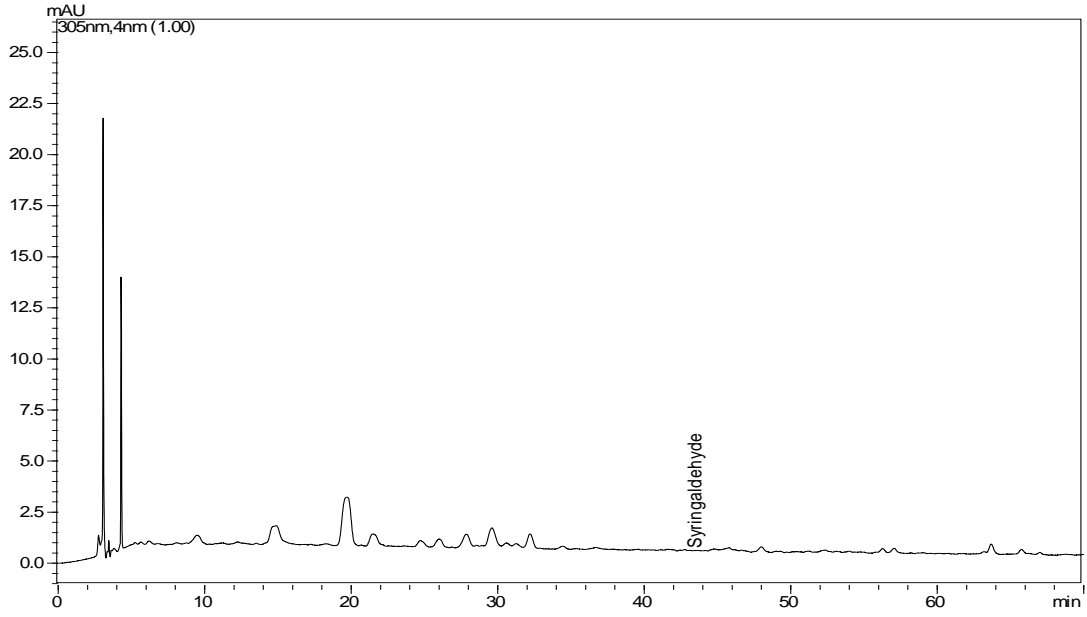
Şekil 38: Analiz sonucu belirlenen (etüv) benzoik asit (275 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen protokateşik asit alıkonna zamanı 12.295 dk olan kromatogram örneğİ Şekil 39’da verilmiştir.



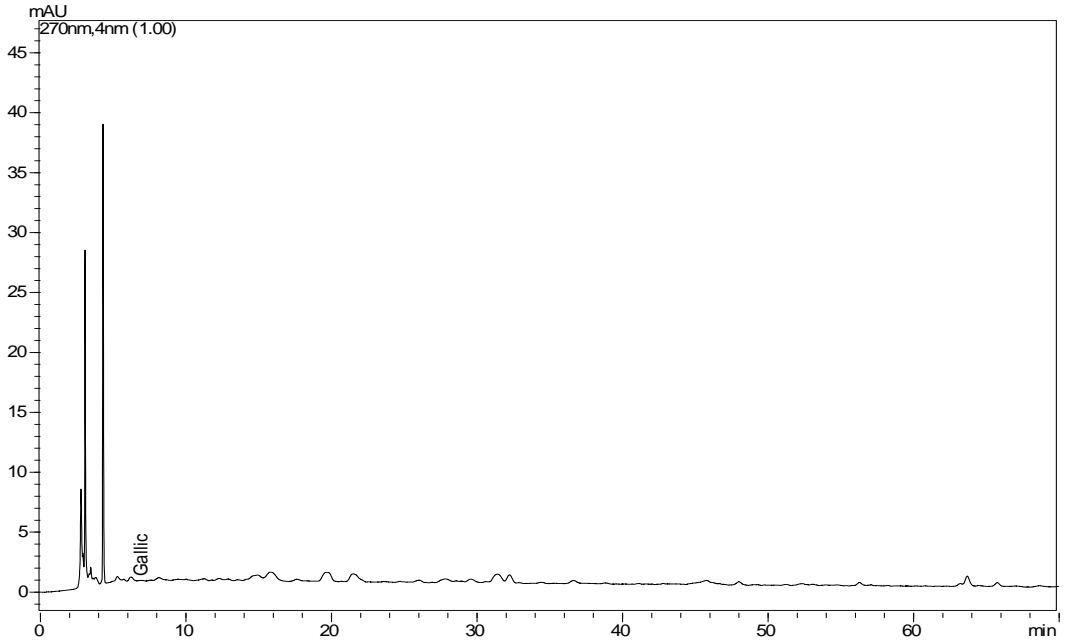
Şekil 39: Analiz sonucu belirlenen (etüv) protokateşik asit (260 nm).

Etüvde kurutululan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen siringaldehit alıkonma zamanı 42.785 dk olan kromatogram örneği Şekil 40’da verilmiştir.



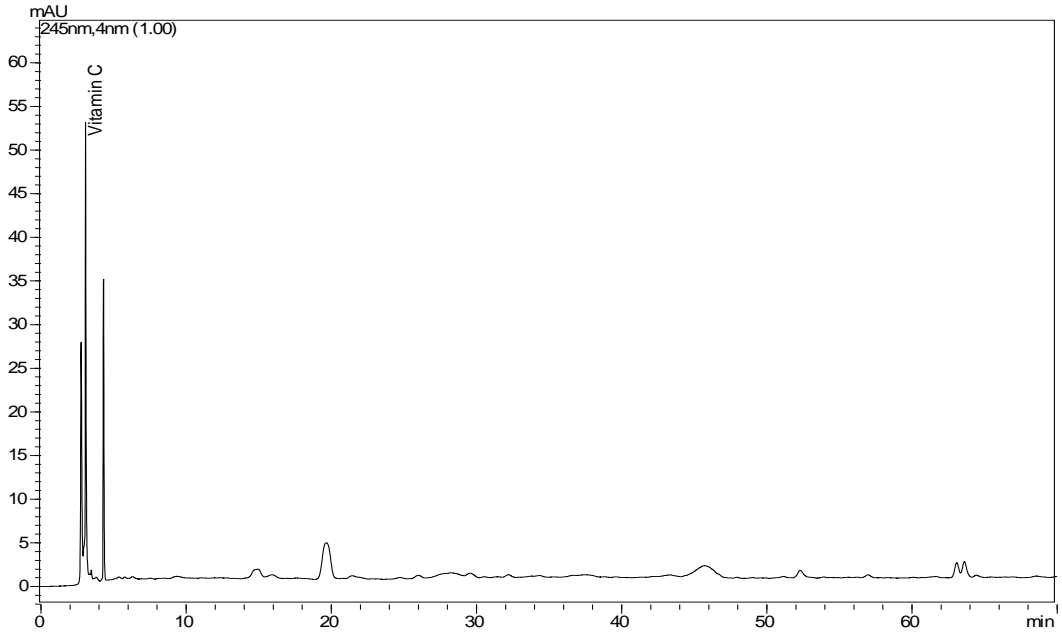
Şekil 40: Analiz sonucu belirlenen (etüv) siringaldehit (305 nm).

Etüvde kurutululan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen gallik asit alıkonma zamanı 6.218 dk olan kromatogram örneği Şekil 41’de verilmiştir.



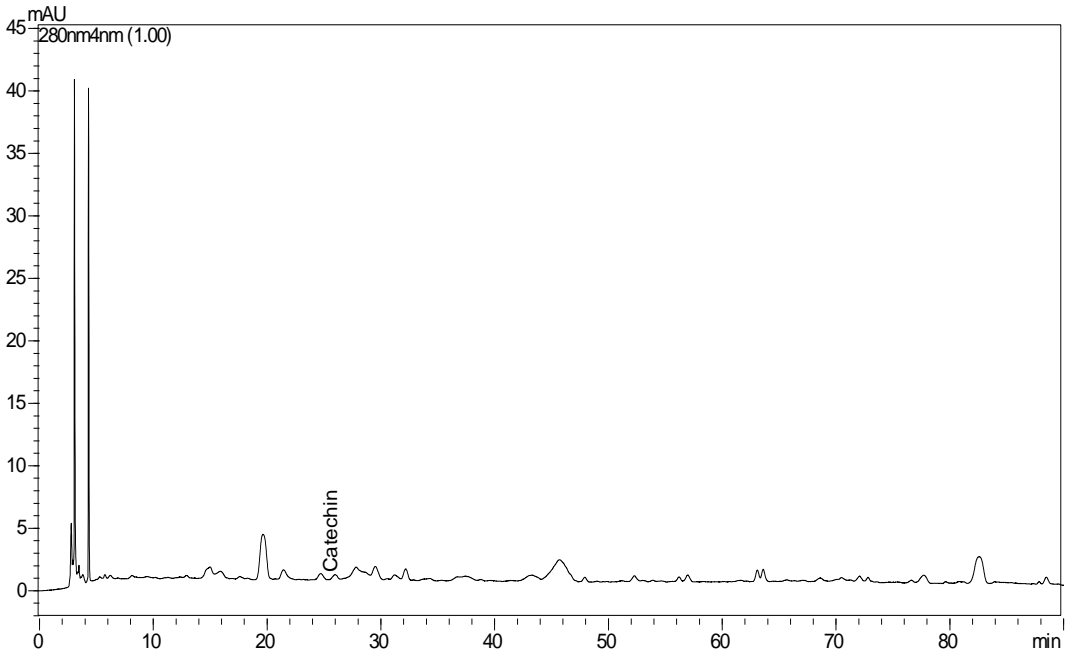
Şekil 41: Analiz sonucu belirlenen (etüv) gallik asit (270 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen vitamin C alıkonma zamanı 3.064 dk olan kromatogram örneği Şekil 42’de verilmiştir.



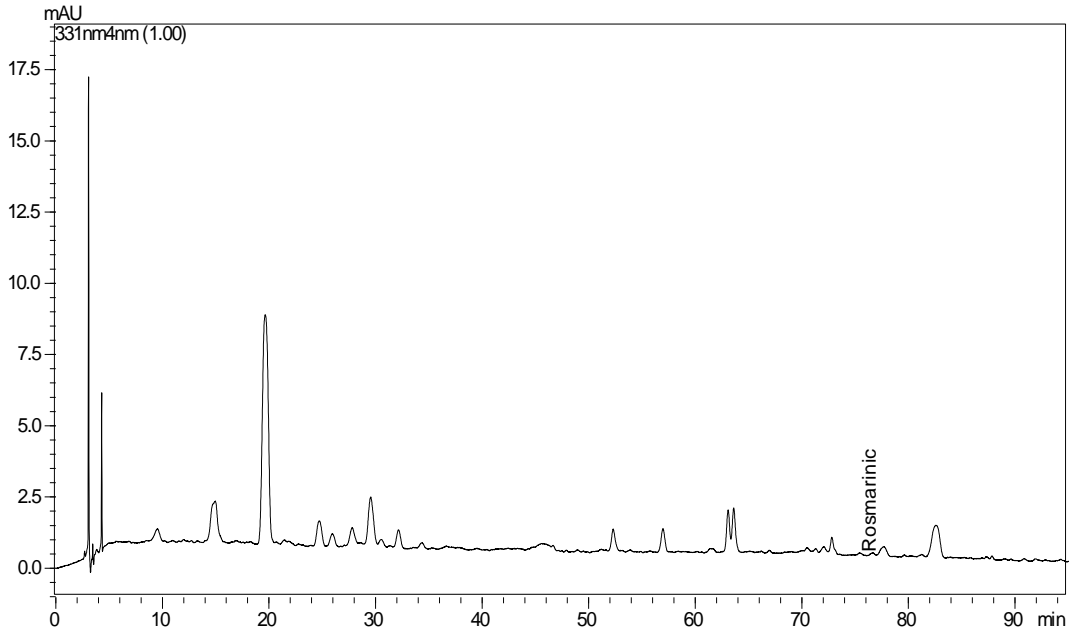
Şekil 42: Analiz sonucu belirlenen (etüv) vitamin C (245 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Kateşin alıkonma zamanı 24.708 dk olan kromatogram örneği Şekil 43’de verilmiştir.



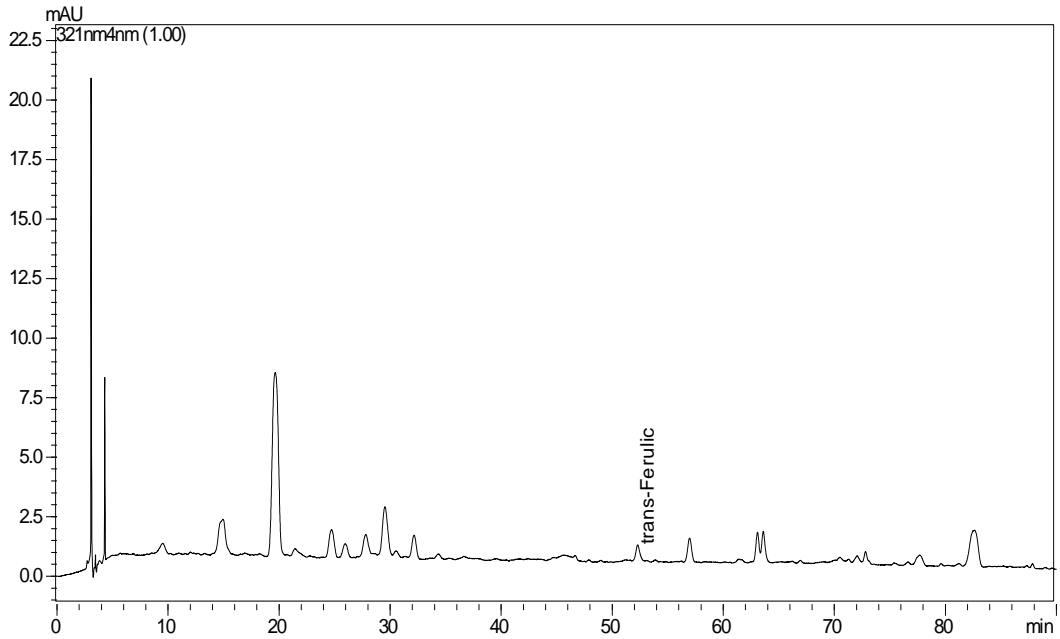
Şekil 43: Analiz sonucu belirlenen (etüv) kateşin (280 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Rosmarinik asit alıkonma zamanı 75.383 dk olan kromatogram örneğı Şekil 44’de verilmiştir.



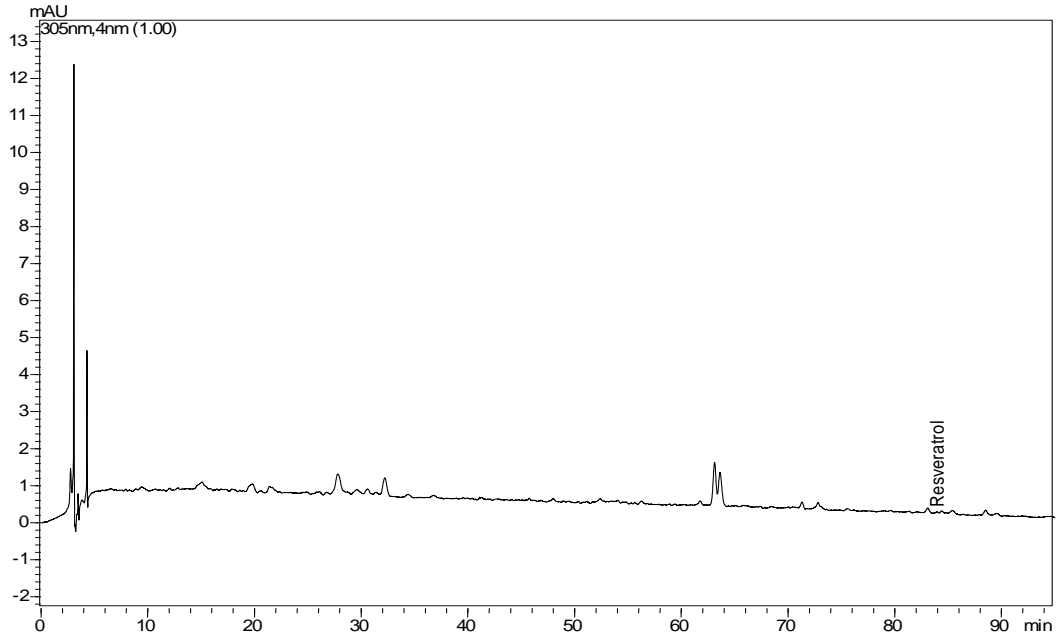
Şekil 44: Analiz sonucu belirlenen (etüv) rosmarinik asit (331 nm).

Etüvde kurutulanan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen trans-Ferulik asit alıkonma zamanı 52.287 dk olan kromatogram örneğı Şekil 45’de verilmiştir.



Şekil 45: Analiz sonucu belirlenen (etüv) trans-Ferulik asit (321 nm).

Etüvde kurutululan *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Resveratrol alıkonma zamanı 82.608 dk olan kromatogram örneği Şekil 46’da verilmiştir.



Şekil 46: Analiz sonucu belirlenen (etüv) resveratrol (305 nm).

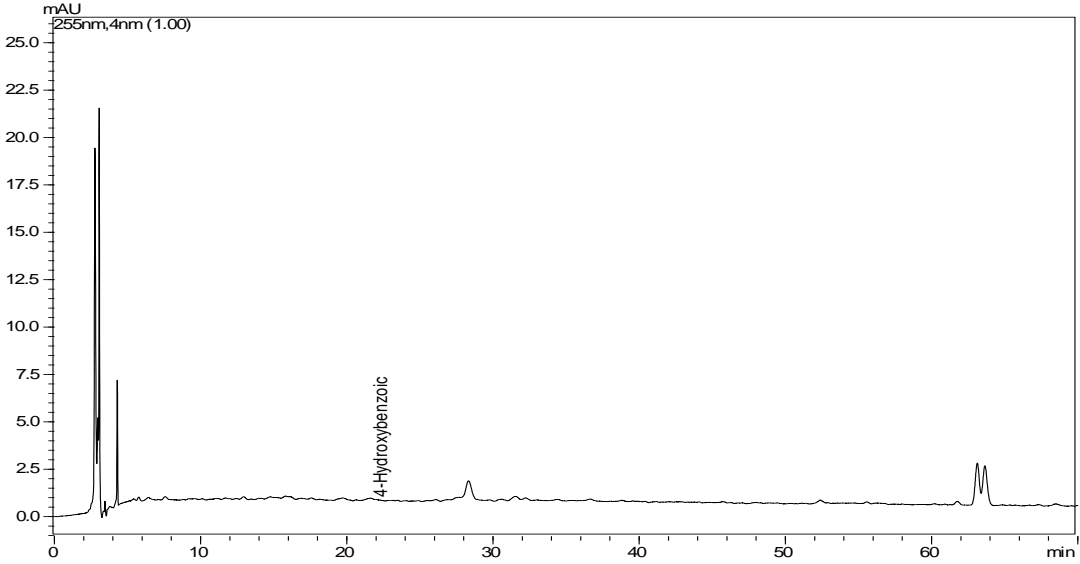
Etüv ortamda kurutululan *V. labrusca* meyvesine ait tespit edilen fenolik bileşen standartlarının bilgileri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Belirlenen fenolik bileşen standartlarının bilgileri (Etüv).

Fenolik Bileşen Standartları	Dalga Boyu (nm)	Alıkonma Zamanı (Rt)	Konsantrasyon (mg/L)	(%)
p-Hidroksibenzoik asit	255	21.460	1.161	0.989
Benzoik asit	275	53.358	0.353	0.613
Protokateşik asit	260	12.295	0.231	0.444
Siringaldehit	305	42.785	0.253	0.460
Gallik asit	270	6.218	1.102	0.869
Vitamin C	245	3.064	15.160	10.901
trans-Ferulik asit	321	52.287	1.382	1.005
Rosmarinik asit	331	75.383	1.062	0.972
Kateşin	280	24.708	1.532	1.109
Resveratrol	305	82.608	0.127	0.224

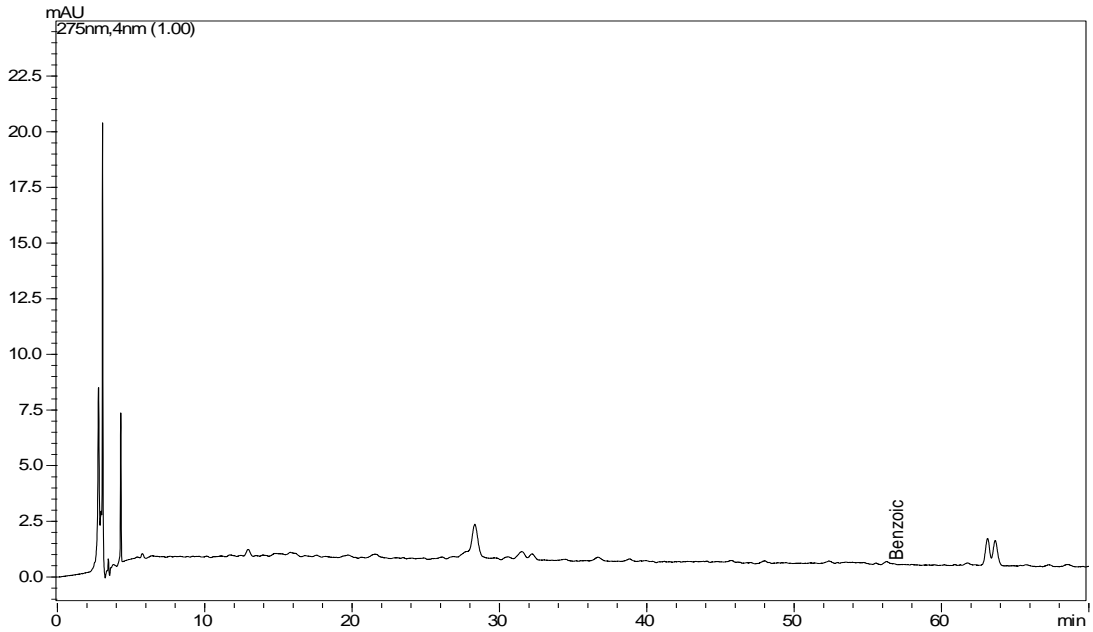
3.2.3 Taze Haldeki *Vitis labrusca* L. Kromatogramları

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen p-hidroksibenzoik asit alıkonma zamanı 21.625 dk olan kromatogram örneği Şekil 47’de verilmiştir.



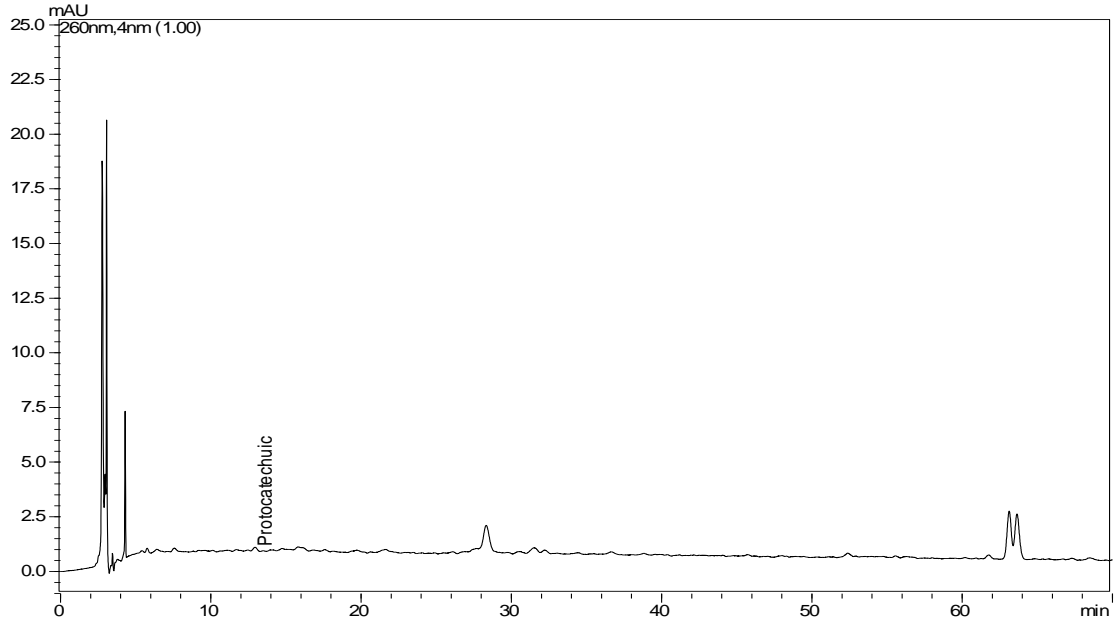
Şekil 47: Analiz sonucu belirlenen (taze) belirlenen p-hidroksibenzoik asit (255 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen benzoik asit alıkonma zamanı 56.266 dk olan kromatogram örneği Şekil 48’de verilmiştir.



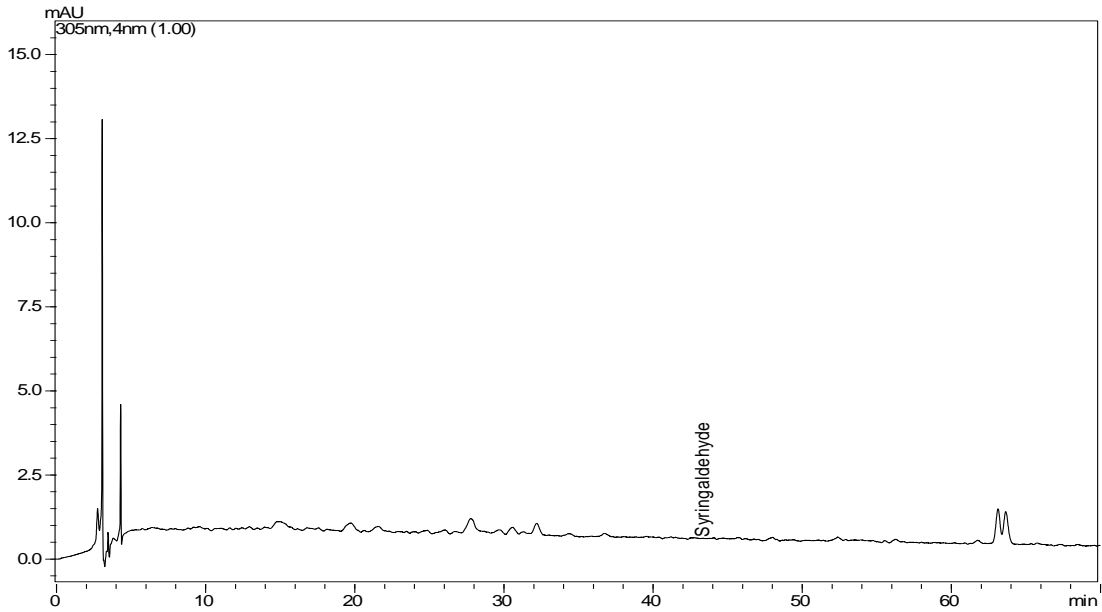
Şekil 48: Analiz sonucu belirlenen (taze) belirlenen benzoik asit (275 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen protokateşik asit alıkonma zamanı 12.941 dk olan kromatogram örneği Şekil 49'da verilmiştir.



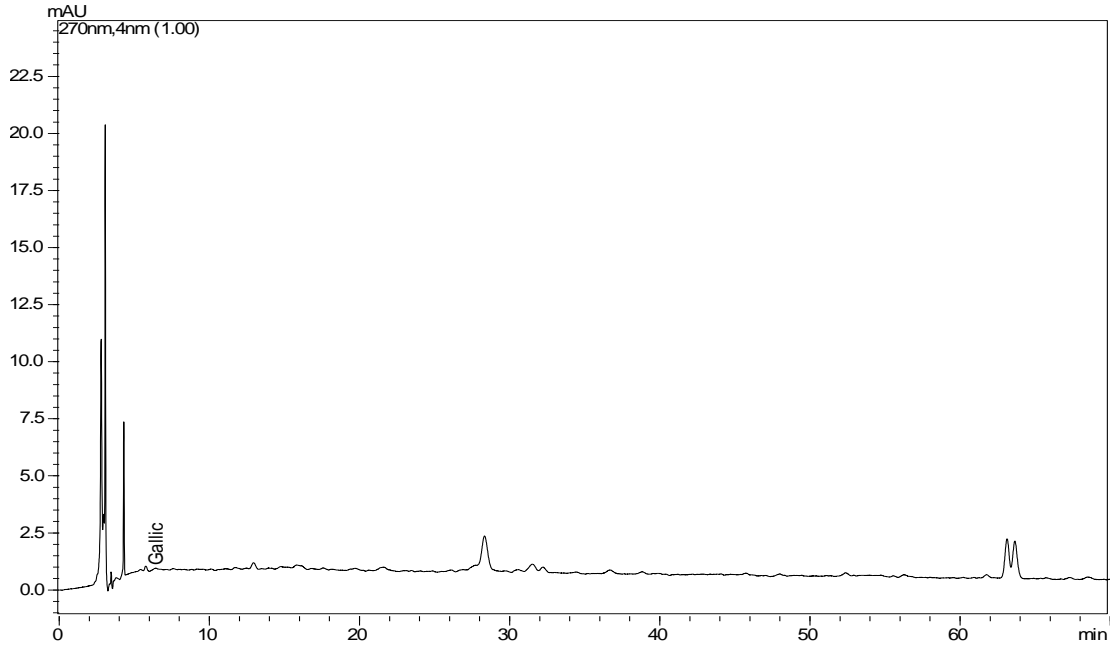
Şekil 49: Analiz sonucu belirlenen (taze) protokateşik asit (260 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen siringaldehit alıkonma zamanı 42.630 dk olan kromatogram örneği Şekil 50'de verilmiştir.



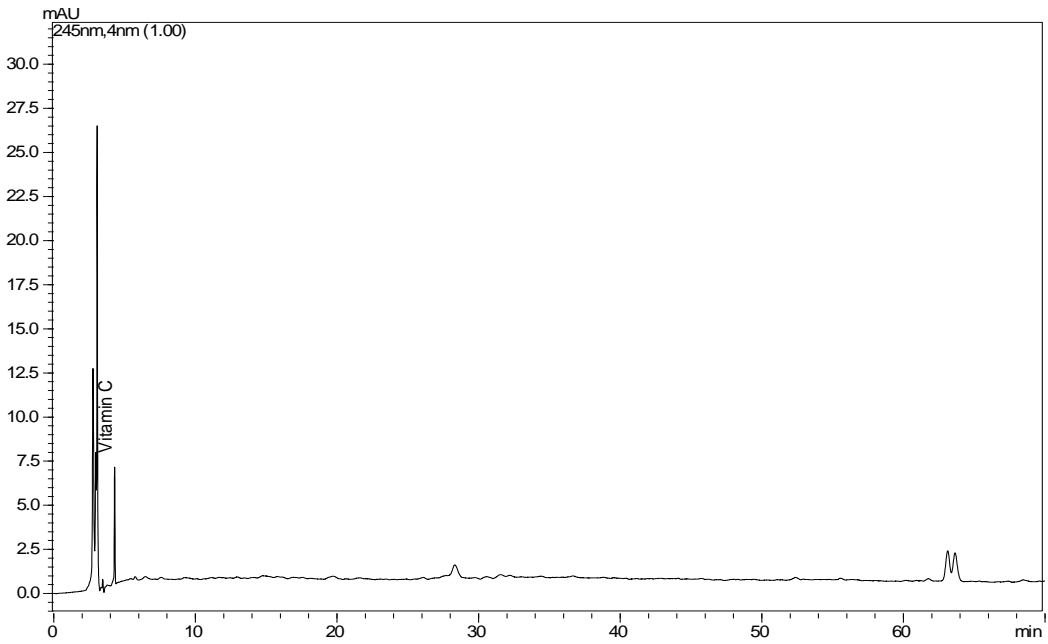
Şekil 50: Analiz sonucu belirlenen (taze) siringaldehit (305 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen gallik asit alıkonma zamanı 5.766 dk olan kromatogram örneği Şekil 51’de verilmiştir.



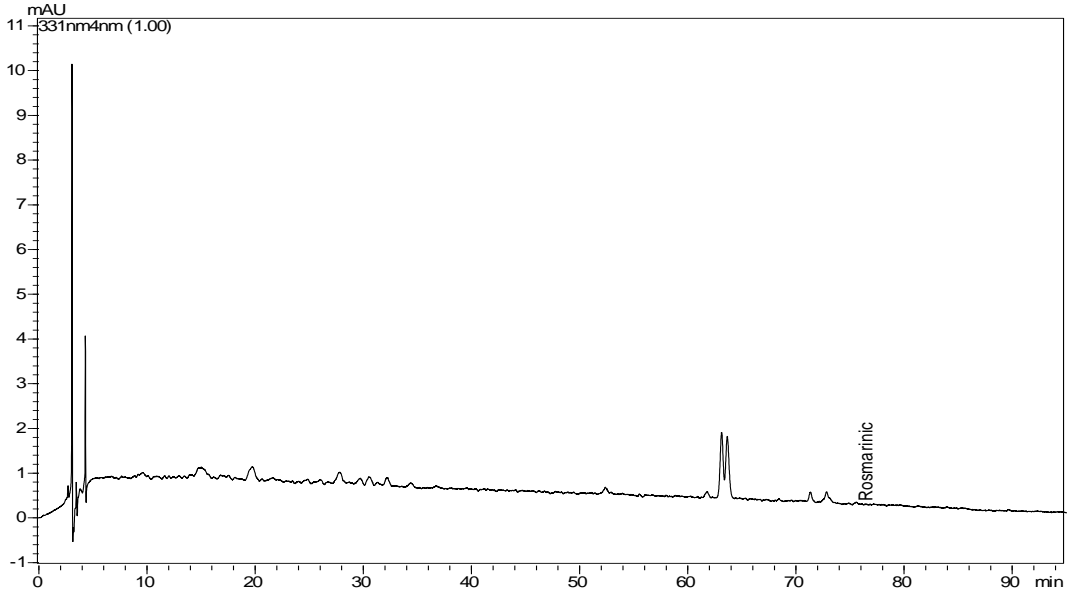
Şekil 51: Analiz sonucu belirlenen (taze) gallik asit (270 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen vitamin C alıkonma zamanı 2.968 dk olan kromatogram örneği Şekil 52’de verilmiştir.



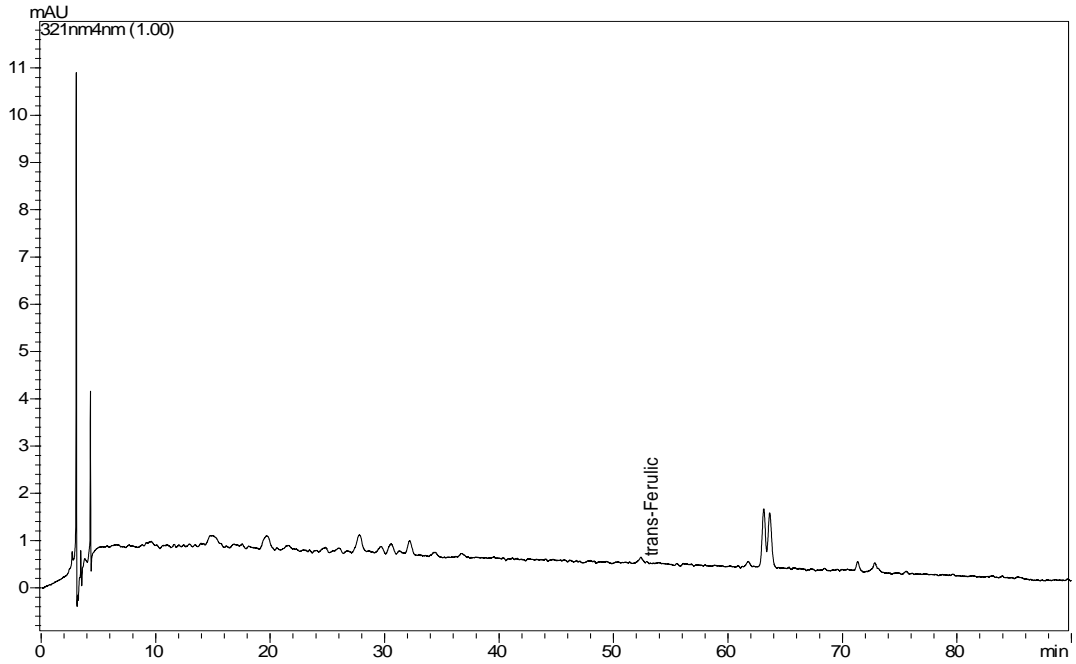
Şekil 52: Analiz sonucu belirlenen (taze) vitamin C (245nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Rosmarinik asit alıkonma zamanı 75.546 dk olan kromatogram örneği Şekil 53’de verilmiştir.



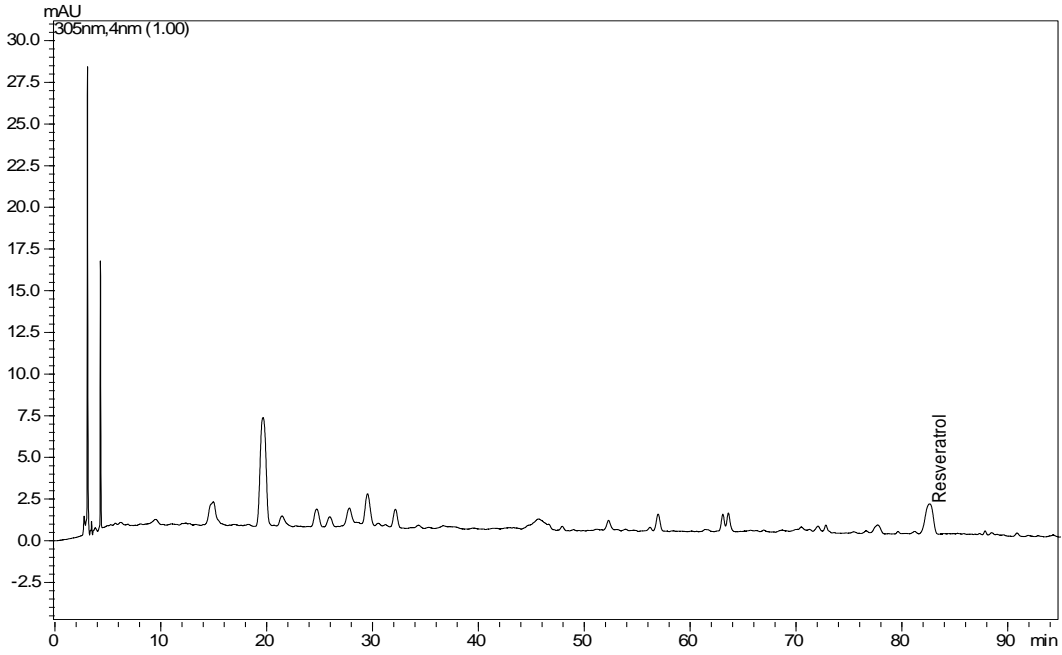
Şekil 53: Analiz sonucu belirlenen (taze) rosmarinik asit (331 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen trans-Ferulik asit alıkonma zamanı 52.398 dk olan kromatogram örneği Şekil 54’de verilmiştir.



Şekil 54: Analiz sonucu belirlenen (taze) trans-Ferulik asit (321 nm).

Taze *V. labrusca* örneğinin analiz sonucu belirlenen Resveratrol alıkonma zamanı 83.056 dk olan kromatogram örneği Şekil 55’de verilmiştir.



Şekil 55: Analiz sonucu belirlenen (taze) resveratrol (305 nm).

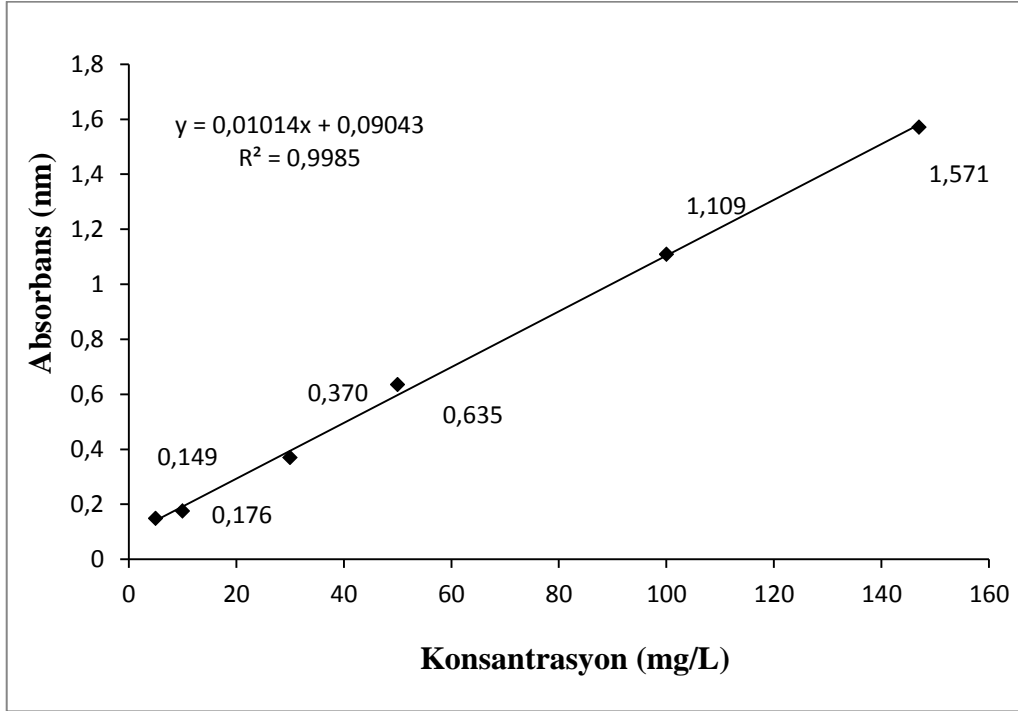
Taze haldeki *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen standartlarının bilgileri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Belirlenen fenolik bileşen standart bilgileri (Taze).

Fenolik Bileşen Standartları	Dalga Boyu (nm)	Alıkonma Zamanı (Rt)	Konsantrasyon (mg/L)	(%)
p-Hidroksibenzoik asit	255	21.625	0.006	0.090
Benzoik asit	275	56.266	0.329	0.698
Protokateşik asit	260	12.941	0.239	0.495
Siringaldehit	305	42.630	0.250	0.528
Gallik asit	270	5.766	1.002	0.970
Vitamin C	245	2.968	11.205	7.098
trans-Ferulik asit	321	52.398	1.243	1.001
Rosmarinik asit	331	75.546	1.054	0.997
Resveratrol	305	83.056	0.636	0.876

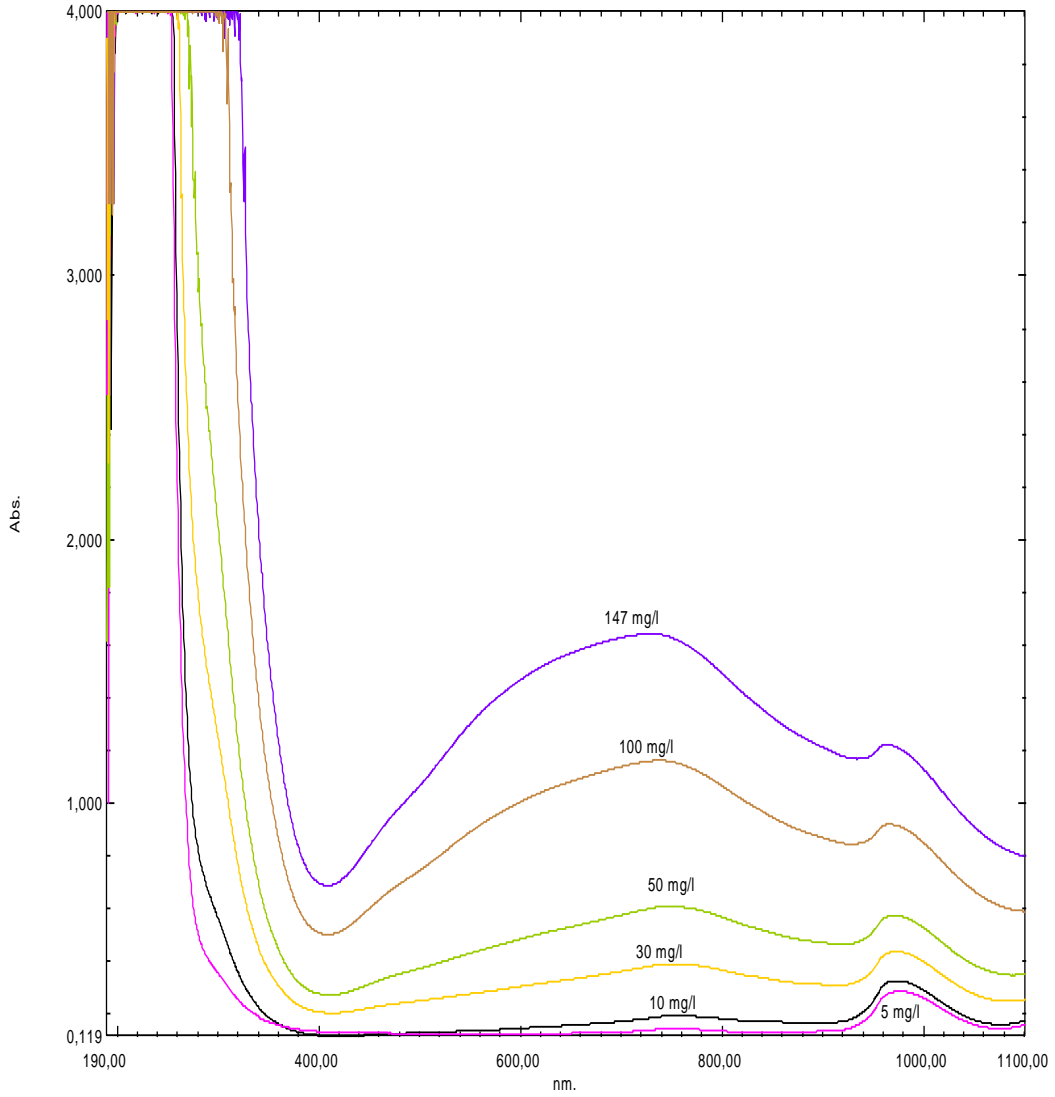
3.3 Toplam Fenolik Madde miktarı

Gallik asit eşdeğer alınarak 5, 10, 30, 50, 100 ve 147 mg/L konsantrasyonlarında hazırlanmış olup 765 nm’de elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 56’da verilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği, mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak mg/L cinsinden ifade edilmiştir ($r^2=0.9985$)



Şekil 56: Gallik asit kalibrasyon eğrisi.

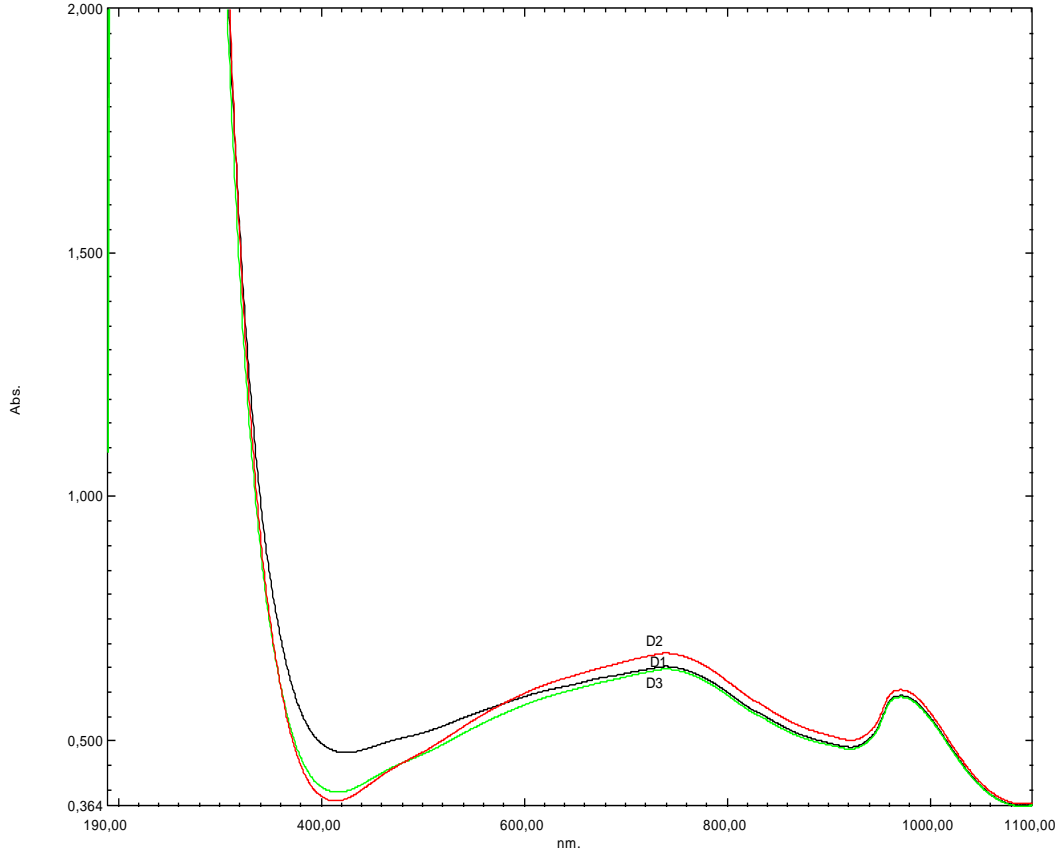
Toplam fenolik madde miktarını gösteren kromatogram Şekil 57’de verilmiştir.



Şekil 57: Toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.

3.3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Dış Ortam)

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesi toplam fenolik madde miktarı kromatogramı Şekil 58’de verilmiştir.



Şekil 58: Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik miktarı kromatogramı.

Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen değerler Tablo 9’da verilmiştir.

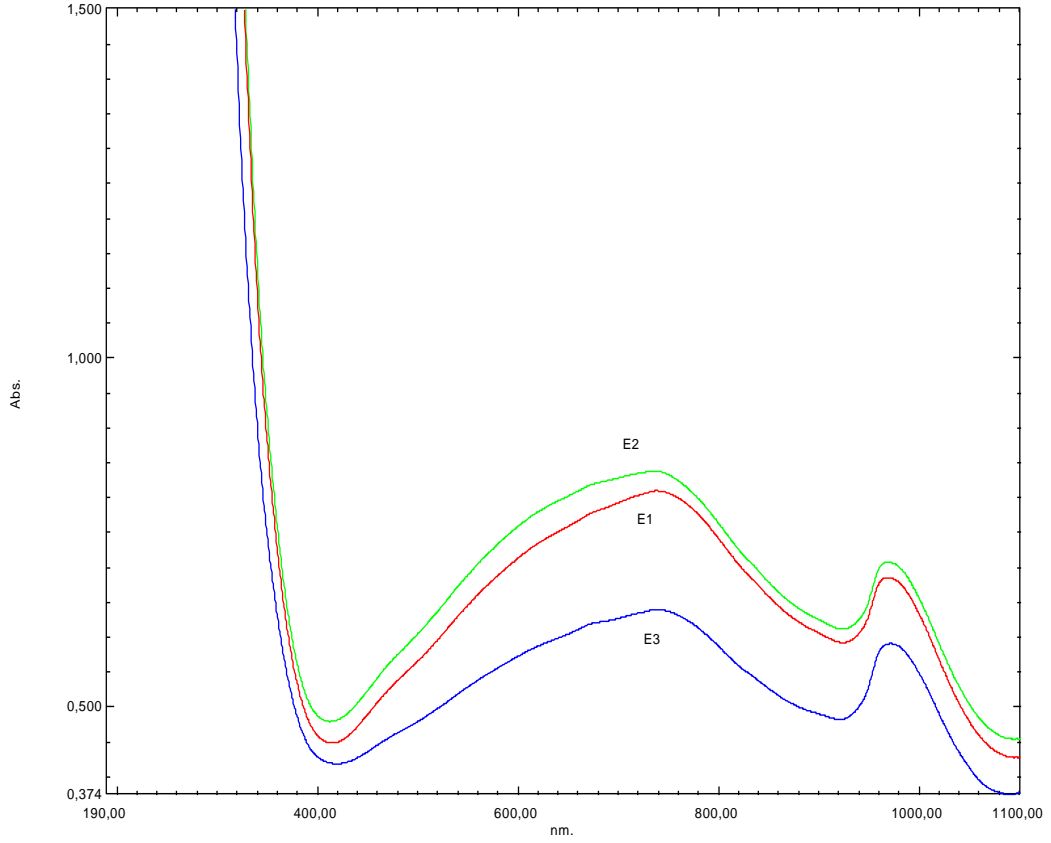
Tablo 9: Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Dış ortam).

Örnek	Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (765nm)
D ₁	54.189	0.640
D ₂	56.665	0.665
D ₃	51.826	0.616
Ortalama	54.226 ± 1.97	0.640 ± 0.02

± Standart sapma

3.3.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Etüv)

Etüvde kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı kromatogramı Şekil 59’da verilmiştir.



Şekil 59: Etüvde kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.

Etüvde kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen değerler Tablo 10’da verilmiştir.

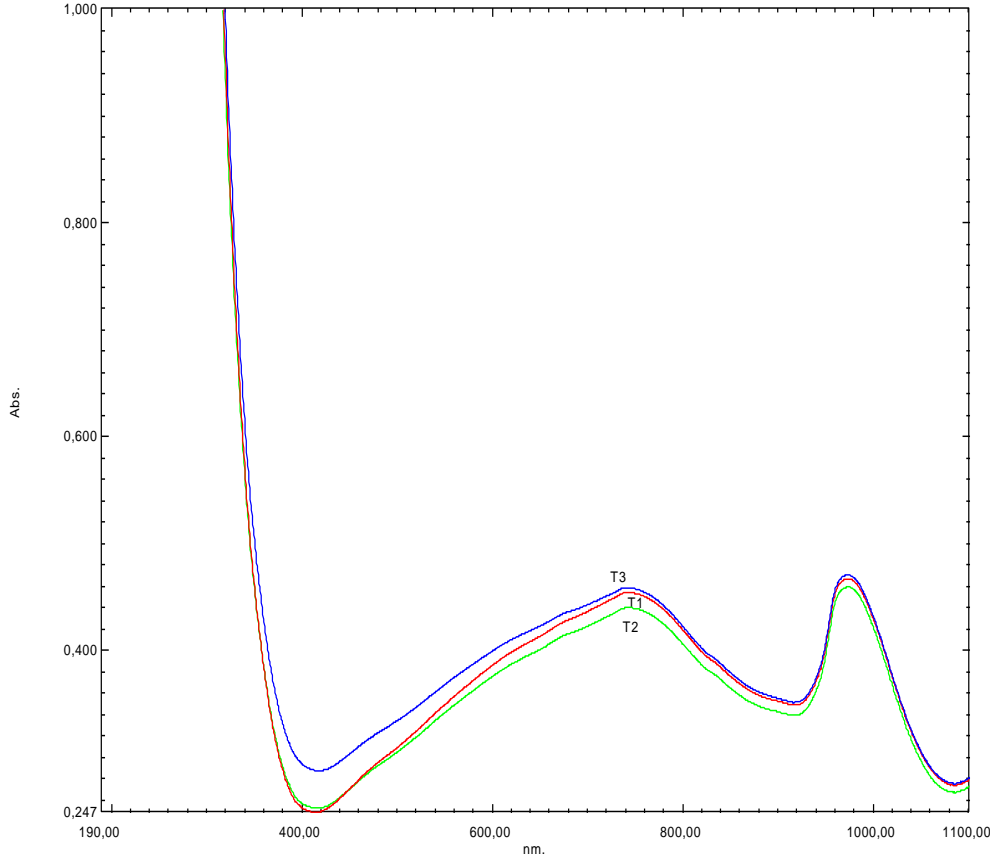
Tablo 10: Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Etüv).

Örnek	Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (765nm)
E ₁	67.385	0.774
E ₂	69.601	0.796
E ₃	51.074	0.608
Ortalama	62.686 ± 8.26	0.726 ± 0.08

± Standart sapma

3.3.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kromatogramı (Taze)

Taze haldeki *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı kromatogramı Şekil 60’da verilmiştir.



Şekil 60: Taze haldeki *V. labrusca* meyvesine ait toplam fenolik madde miktarı kromatogramı.

Taze haldeki *V. labrusca* örneklerinin toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen değerler Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: Belirlenen toplam fenolik madde miktarları (Taze).

Örnek	Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (765nm)
T ₁	35.094	0.446
T ₂	33.764	0.433
T ₃	35.485	0.450
Ortalama	34.781 ± 0.73	0.443 ± 0.01

± Standart sapma

3.4 *V.labrusca* DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

3.4.1 Askorbik Asit Standardı DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi

DPPH radikali doğal antioksidanların serbest radikal yakalama aktivitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan *Vitis labrusca* L. meyvesine (dış ortamda kurutulan, etüvde kurutulan ve taze haldeki) ait ekstraktların serbest radikal giderici etkileri DPPH radikali üzerinden tayin edilmiştir. Standart madde olarak askorbik asit ve gallik asit kullanılmıştır. Askorbik asit ve gallik asit standartları 50, 100, 250, 500 ve 1000 ppm (mg/L) konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

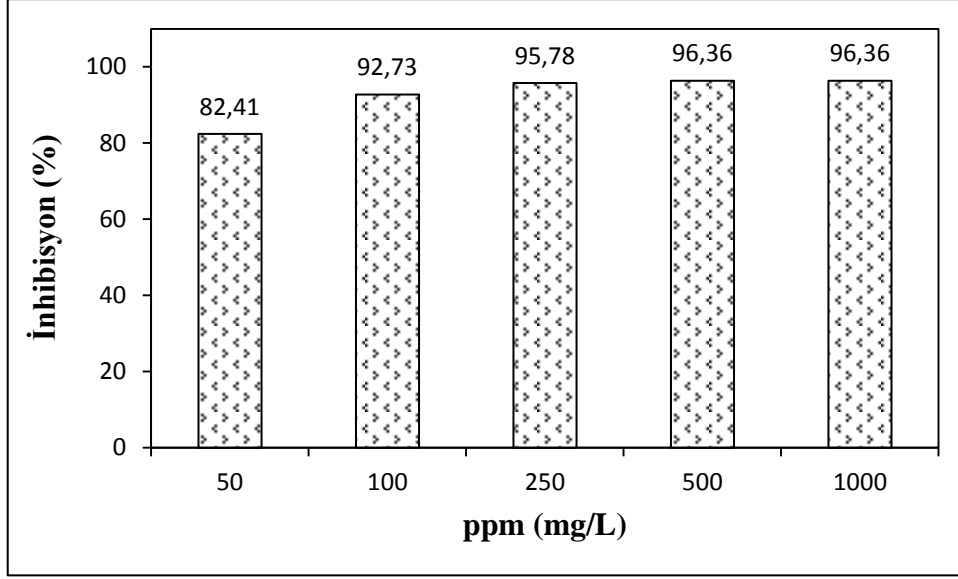
Askorbik asit standardı için DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon, ortalama, standart sapma ve % inhibisyon değerleri Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12: Askorbik asit standardına ait bilgiler.

Konsantrasyon (ppm)	Ortalama	İnhibisyon (%)
50	*0.121 ± 0.007	82.41
100	*0.050 ± 0.008	92.73
250	*0.029 ± 0.002	95.78
500	*0.025 ± 0.000	96.36
1000	*0.025 ± 0.000	96.36

*Ortalama Değer ±Standart sapma

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine sonuçlarına göre askorbik asit standardına ait % inhibisyon değerleri; 50 ppm konsantrasyonda % 82.41, 100 ppm konsantrasyonda % 92.93, 250 ppm konsantrasyonda % 95.78, 500 ppm konsantrasyonda % 96.36 ve 1000 ppm konsantrasyonda % 96.36 olarak tespit edilmiştir. Askorbik asit standardı DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon-% inhibisyon değerleri grafiği Şekil 61’de verilmiştir.



Şekil 61: Askorbik asit standardına ait DPPH % inhibisyon değerleri.

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre askorbik asit standardının 50-1000 ppm arasındaki % inhibisyon değeri en düşük; 50 ppm konsantrasyonda % 82.41, en yüksek 1000 ppm konsantrasyonda % 96.36 olarak tespit edilmiştir.

3.4.2 Gallik Asit Standardı DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi

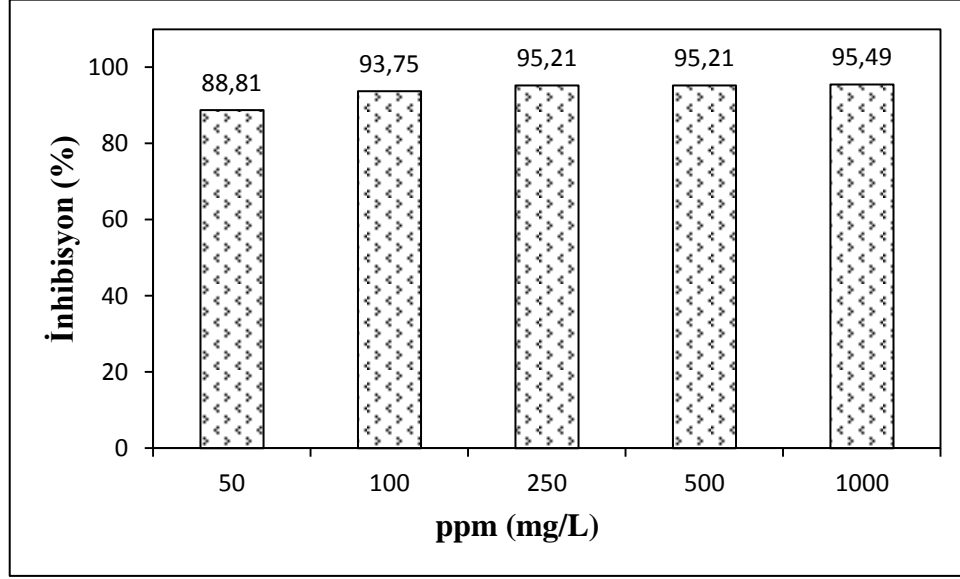
Gallik asit standardı için DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon, ortalama, standart sapma ve % inhibisyon değerleri Tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: Gallik asit standardına ait bilgiler.

Konsantrasyon (ppm)	Ortalama	İnhibisyon (%)
50	*0.077 ± 0.005	88.81
100	*0.043 ± 0.003	93.75
250	*0.033 ± 0.000	95.21
500	*0.033 ± 0.001	95.21
1000	*0.031 ± 0.000	95.49

*Ortalama Değer ±Standart sapma

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine sonuçlarına göre gallik asit standardına ait % inhibisyon değerleri; 50 ppm konsantrasyonda % 88.81, 100 ppm konsantrasyonda % 93.75, 250 ppm konsantrasyonda % 95.21, 500 ppm konsantrasyonda % 95.21 ve 1000 ppm konsantrasyonda % 95.49 olarak tespit edilmiştir. Gallik asit standardı DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon-% inhibisyon değerleri grafiği Şekil 62’de verilmiştir.



Şekil 62: Gallik asit standardına ait DPPH % inhibisyon değerleri.

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre gallik asit standardının 50-1000 ppm arasındaki % inhibisyon değeri en düşük; 50 ppm konsantrasyonda % 88.81, en yüksek 1000 ppm konsantrasyonda % 95.49 olarak tespit edilmiştir.

3.4.3 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Dış Ortam)

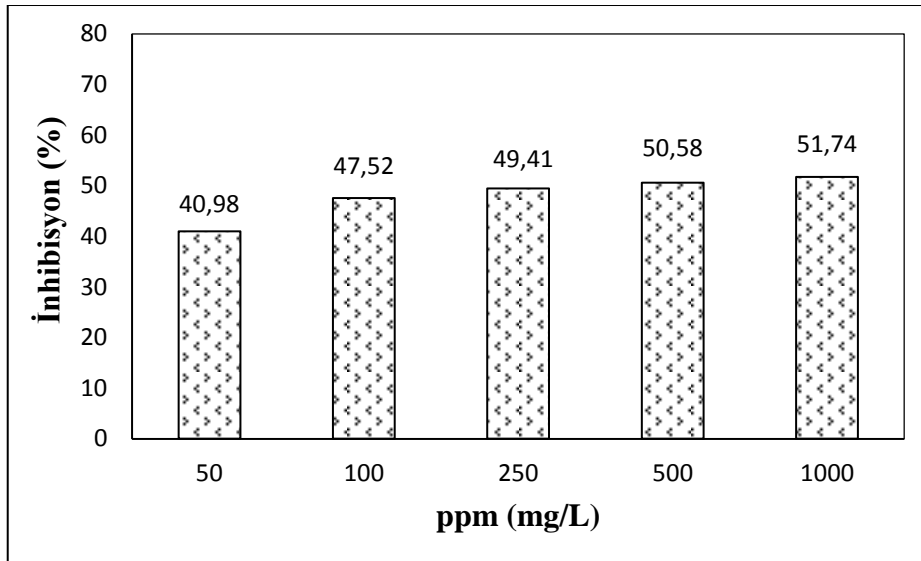
Dış ortamda kurtulan *Vitis labrusca* L. meyvesi için DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon, ortalama, standart sapma ve % inhibisyon değerleri Tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14: Dış ortamda kurtulan *Vitis labrusca* L. meyvesine ait bilgiler.

Konsantrasyon (ppm)	Ortalama	İnhibisyon (%)
50	*0.406 ± 0.000	40.98
100	*0.361 ± 0.001	47.52
250	*0.348 ± 0.001	49.41
500	*0.340 ± 0.000	50.58
1000	*0.332 ± 0.001	51.74

*Ortalama Değer ±Standart sapma

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine sonuçlarına göre % inhibisyon değerleri; 50 ppm konsantrasyonda % 40.98, 100 ppm konsantrasyonda % 47.52, 250 ppm konsantrasyonda % 49.41, 500 ppm konsantrasyonda % 50.58 ve 1000 ppm konsantrasyonda % 51.74 olarak tespit edilmiştir. DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon-% inhibisyon değerleri grafiği Şekil 63’de verilmiştir.



Şekil 63: Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait DPPH % inhibisyon değerleri.

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre dış ortamda kurutulan *Vitis labrusca* L. ekstresinin 50-1000 ppm arasındaki % inhibisyon değeri en düşük; 50 ppm konsantrasyonda % 40.98, en yüksek 1000 ppm konsantrasyonda % 51.74 olarak tespit edilmiştir.

3.4.4 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Etüv)

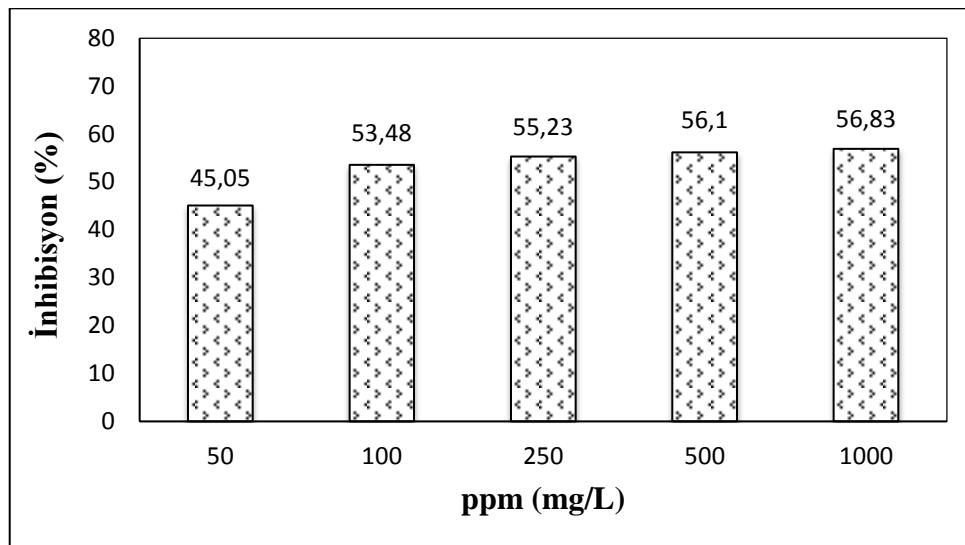
Etüvde kurtulan *Vitis labrusca* L. meyvesi için DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon, ortalama, standart sapma ve % inhibisyon değerleri Tablo 15’de verilmiştir.

Tablo 15: Etüvde kurtulan *Vitis labrusca* L. meyvesine ait bilgiler.

Konsantrasyon (ppm)	Ortalama	İnhibisyon (%)
50	*0.378 ± 0.002	45.05
100	*0.320 ± 0.004	53.48
250	*0.308 ± 0.002	55.23
500	*0.302 ± 0.000	56.10
1000	*0.297 ± 0.002	56.83

*Ortalama Değer ±Standart sapma

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine sonuçlarına göre % inhibisyon değerleri; 50 ppm konsantrasyonda % 45.05, 100 ppm konsantrasyonda % 53.48, 250 ppm konsantrasyonda % 55.23, 500 ppm konsantrasyonda % 56.10 ve 1000 ppm konsantrasyonda % 56.83 olarak tespit edilmiştir. DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon-% inhibisyon değerleri grafiği Şekil 64’de verilmiştir.



Şekil 64: Etüvde kurutulmuş *Vitis labrusca* L. meyvesine ait % inhibisyon değerleri.

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre etüvde kurutulmuş *Vitis labrusca* L. ekstresinin 50-1000 ppm arasındaki % inhibisyon değeri en düşük; 50 ppm konsantrasyonda % 45.05, en yüksek 1000 ppm konsantrasyonda % 56.83 olarak tespit edilmiştir.

3.4.5 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi (Taze)

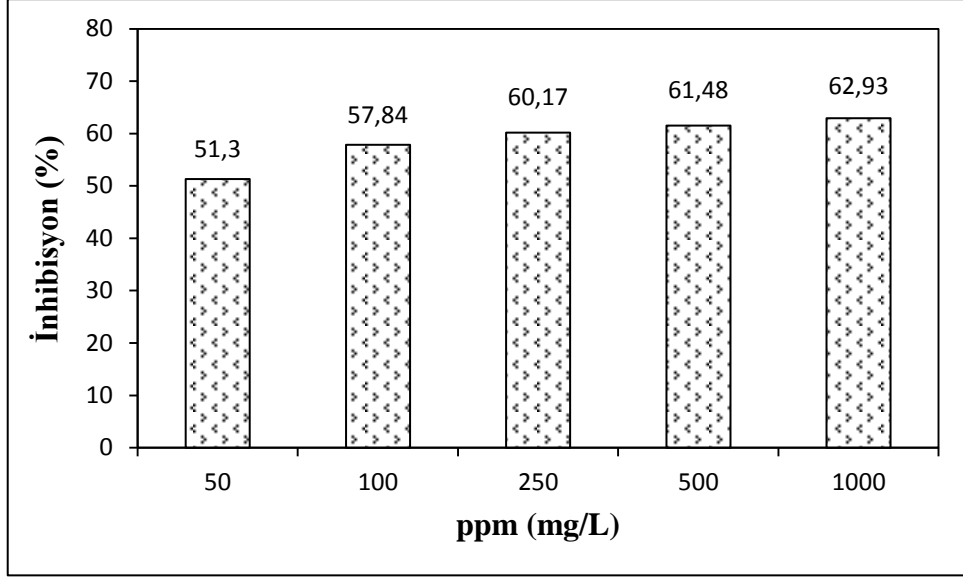
Taze haldeki *Vitis labrusca* L. meyvesi için DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon, ortalama, standart sapma ve % inhibisyon değerleri Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16: Taze haldeki *Vitis labrusca* L. meyvesine ait bilgiler.

Konsantrasyon (ppm)	Ortalama	İnhibisyon (%)
50	*0.335± 0.001	51.30
100	*0.290 ± 0.001	57.84
250	*0.274 ± 0.001	60.17
500	*0.265 ± 0.002	61.48
1000	*0.255 ± 0.002	62.93

*Ortalama Değer ±Standart sapma

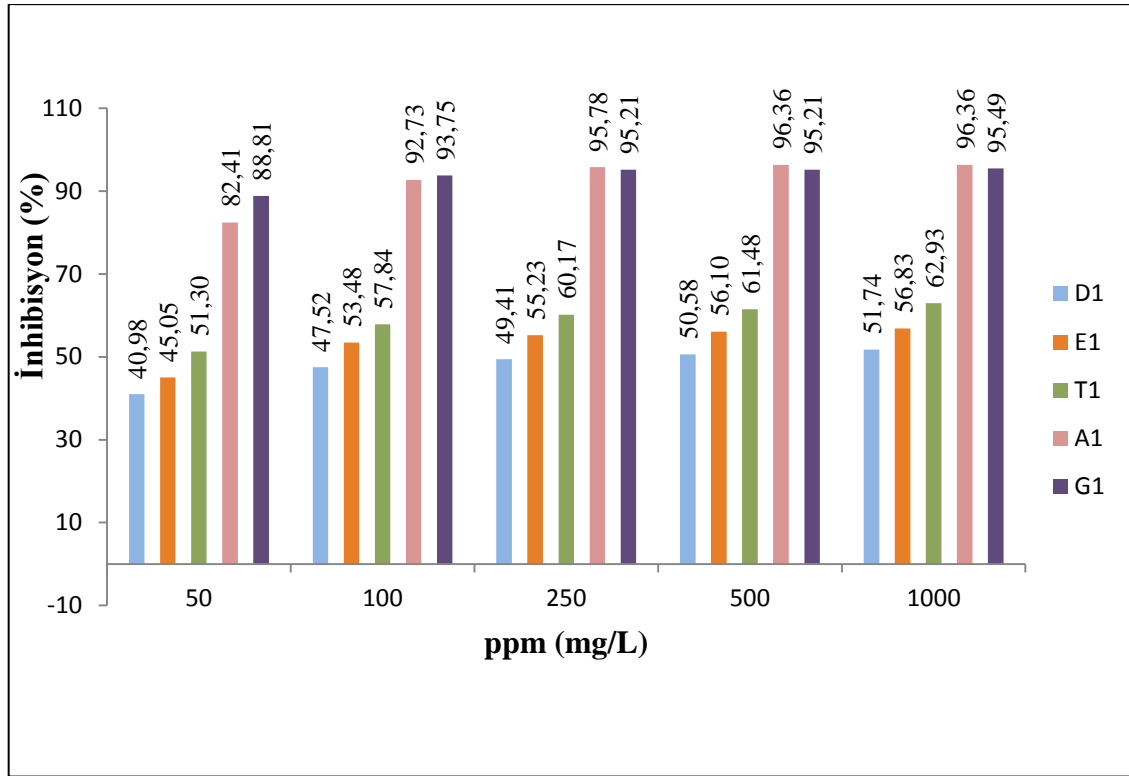
Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine sonuçlarına göre % inhibisyon değerleri; 50 ppm konsantrasyonda % 51.30, 100 ppm konsantrasyonda % 57.84, 250 ppm konsantrasyonda % 60.17, 500 ppm konsantrasyonda % 61.48 ve 1000 ppm konsantrasyonda % 62.93 olarak tespit edilmiştir. DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon-% inhibisyon değerleri grafiği Şekil 65'de verilmiştir.



Şekil 65: Taze haldeki *Vitis labrusca* L. meyvesine ait DPPH % inhibisyon değerleri.

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre taze haldeki *Vitis labrusca* L. meyvesinin 50-1000 ppm arasındaki % inhibisyon değeri en düşük; 50 ppm konsantrasyonda % 51.30, en yüksek 1000 ppm konsantrasyonda % 62.93 olarak tespit edilmiştir.

Vitis labrusca L. meyvesi etüv kurusu (E_1), dış ortamda kurutma (D_1) ve taze haldeki (T_1) örneklerinin % inhibisyon değerleri ile standart olarak kullanılan askorbik asit (A_1) ve gallik asit (G_1) elde edilen % inhibisyon değerleri Şekil 66'da verilmiştir.



Şekil 66: DPPH % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması

- (D₁) Dış ortamda kurutulan *V. labrusca*
- (E₁) Etüvde kurutulan *V. labrusca*
- (T₁) Taze kurutulan *V. labrusca*
- (A₁) Askorbik asit
- (G₁) Gallik asit

Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre; askorbik asit ve gallik asit standartlarının % inhibisyon değerlerine en yakın değerler sırasıyla taze haldeki, dış ortamda kurutulan ve etüvde kurutulan *Vitis labrusca* L. ekstralarında görülmektedir.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada İzabella üzümü (*Vitis labrusca* L.) bitkisinin meyvelerinin fenolik bileşenleri ve antioksidan etkileri irdelenmiştir.

Fenolik bileşenlerin tespit edilmesi için yapılan bu çalışmada HPLC kullanılarak fenolik bileşenlerin kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Dış ortamda kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-Hidroksibenzoik asit (1.133 mg/L), benzoik asit (0.571 mg/L), protokateşik asit (0.323 mg/L), gallik asit (1.343 mg/L), rosmarinik asit (1.065 mg/L), siringaldehit (0.272 mg/L), trans-Ferulik asit (1.222 mg/L) ve vitamin C (15.191 mg/L) fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Etüvde kurutulan *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-Hidroksibenzoik asit (1.161 mg/L), benzoik asit (0.353 mg/L), protokateşik asit (0.231 mg/L), gallik asit (1.102 mg/L), rosmarinik asit (1.062 mg/L), siringaldehit (0.253 mg/L), trans-Ferulik asit (1.382 mg/L), kateşin (1.532 mg/L) ve vitamin C (15.160 mg/L) fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Taze haldeki *V. labrusca* meyvesine ait fenolik bileşen analizi sonucunda p-Hidroksibenzoik asit (0.006 mg/L), benzoik asit (0.329 mg/L), protokateşik asit (0.239 mg/L), gallik asit (1.002 mg/L), rosmarinik asit (1.054 mg/L), siringaldehit (0.250 mg/L), trans-Ferulik asit (1.243 mg/L), ve vitamin C (11.205 mg/L) olarak tespit edilmiştir.

V. labrusca ekstresinde yapılan analizler sonucunda Resveratrol miktarı dış ortamda kurutulan örneklerde 0.162 mg/L, etüvde kurutulan örneklerde 0.127 mg/L ve taze halde 0.636 mg/L olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda en yüksek resveratrol miktarı taze halde, en düşük resveratrol miktarı etüvde kurutulan örneklerde tespit edilmiştir.

Gallik asit eşdeğer alınarak, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada toplam fenolik madde miktarı dış ortamda kurutulan *V. labrusca* örneklerinde 54.226 ± 1.97 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Etüvde kurutulan *V. labrusca* örneklerinde toplam fenolik madde miktarı ortalama 62.686 ± 8.26 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Taze haldeki *V. labrusca* örneklerinde toplam fenolik madde miktarı 34.781 ± 0.73 mg GAE/g

olarak tespit edilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı 62.686 ± 8.26 mg GAE/g olarak etüvde kurutulan meyvelerde tespit edilmiştir.

V. labrusca ekstresinde DPPH tekniği ile 50, 100, 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda spektrofotometre ile yapılan analizlerde örneklere ait yüzde inhibisyon değerleri belirlenmiştir. Dış ortamda kurutulan örneklere ait 50 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 40.98, 100 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 47.52, 250 µg/ml'de 49.41, 500 µg/ml'de 50.58 ve 1000 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 51.74 olarak tespit edilmiştir. Etüvde kurutulan örneklere ait 50 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 45.05, 100 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 53.48, 250 µg/ml'de 55.23, 500 µg/ml'de 56.10 ve 1000 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 56.83 olarak tespit edilmiştir. Taze haldeki örneklere ait 50 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 51.30, 100 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 57.84, 250 µg/ml'de 60.17, 500 µg/ml'de 61.48 ve 1000 µg/ml'de yüzde inhibisyon değeri 62.93 olarak tespit edilmiştir. Yapılan DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri sonuçlarına göre; askorbik asit ve gallik asit standartlarının % inhibisyon değerlerine en yakın değerler sırasıyla taze haldeki, dış ortamda kurutulan ve etüvde kurutulan *Vitis labrusca* L. ekstralarında görüldüğü yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Karadeniz sahil kesiminde doğal gelişme gösteren bir tür olan *V. labrusca* fenolik bileşikler ve antioksidan açısından zengin bir doğal ürün olup; Karadeniz bölgesi *V. labrusca* dikimi, üretimi için çok elverişli bir bölge olması nedeniyle bu değerli ürünün gıda sanayiinde daha yaygın biçimde kullanılması koruyucu tıp açısından yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abe, L.T., Da Mota, R.V., Lajolo, F.M. ve Genovese, M.I. (2007). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27: 394-400.
- Aburjai, T. ve Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17: 987-1000.
- Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S. ve Ferreira, I.C.F.R. (2010). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*, 120(1):247-254.
- Baydar, N.G., Özkan, G. ve Sağdıç, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts, *Food Control*, 15: 335-339.
- Baydar, N.G., Sağdıç, O., Özkan, G. ve Çetin, S. (2006). Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts, *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 799-804.
- Baydar, N.G., Özkan, G. ve Yaşar, S. (2007). Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts, *Food Control*, 18: 1131-1136.
- Baytop, T. (1984). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3255, Ecz. Fak. No: 40, İstanbul.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Burns, J., Gardner, P.T., Matthews, D., Duthie, G.G., Lean, M.E.J. ve Crozier, A. (2001). Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 5797-5808
- Cleophas, T. J. (1999). Wine, beer and spirits and the risk of myocardial infarction: A systematic review. *Biomed & Pharmacother*, 53: 417-423.
- Cui, J., Juhasz, B., Tosaki, A., Maulik, N. ve Das, D.K. (2002). Cardioprotection with grapes. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 40: 762-769.
- Dey, P.M., Harborne, J.B. (1989). *Methods in Plant Biochemistry*, Vol.1, Academic Press, London.
- Fauconneau, B., Waffa–Teguo, W., Huguet, F., Barrier, L., Decendit, A. ve Merillon, J.M. (1997). Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using *in vitro* tests. *Life Sciences*, 61: 2103-2110.
- Fraga, C.G. (2010). *Plant Phenolics and Human Health*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, ISBN 978–0–470–28721–7.

- Haneke, K.E. (2002). Review of toxicological literature, trans-resveratrol (501-36-0). Integrated Laboratory Systems, P.O. Box 13501, Research Triangle Park, North Carolina 27709, Contract No. N01-ES-65402.
- Hatano, T. (1995). Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species - Tannins and related polyphenols. *Natural Medicine*, 49(4): 357-363.
- Harborne, J.B. (1964). *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London.
- Harborne, J.B. and Williams, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481–504.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agricultural Food and Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Güder, A. (2012). *Vitis labrusca L.*' (Kokulu Üzüm) nin Antioksidan Aktivitesi, Resveratrolün İzolasyonu Ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 103s.
- İkizler, M., Dernek, S., Erkasap, N., Kaygısız, Z., Sevin, B. ve Kural, T. (2003). İzole rat kalplerine uygulanan reperfüzyon hasarında resveratrolün hemodinamik etkileri. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 11: 91-95.
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. ve Sakariah, K.K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation model *in vitro*. *Food Chemistry*, 73: 285-290.
- Jayaparakasha, G.K., Selvi, T. ve Sakariah, K.K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *International Food Research*, 36: 117–122.
- Kang, H.C., Min, Y.K., Hwang, J.T., Kim, S.D. ve Kim, T.S. (1999). Extraction and mixing effects of grape (Campbell) seed oil. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 42: 175–179.
- Karafakoğlu, Y.S. (2004). Tütün çalışanlarında oksidant-antioksidan durumu. *The Medical Journal of Kocatepe*, 5:7-10.
- Karaoğul, E. (2011). Bazı Meşe (*Quercus*) Türü Köklerinin Ekstraksiyonu ve HPLC ile Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Koçyiğit A., Arslan O., Erel Ö., Aktepe N., Avcı Ş. ve Gür S. (2000): Ratlarda Katesin Alımının Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve Lipid Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkileri, I. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi, 18-21 Mayıs, Kayseri.
- Lu, Y., Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75: 197–202.

- Luan, F., Mosandl, A., Münch, A., Wüst, M. (2005). Metabolism of geraniol in grape berry mesocarp of *Vitis vinifera* L. cv. Scheurebe: demonstration of stereoselective reduction, E/Z- isomerization, oxidation and glycosylation. *Phytochemistry*, 66: 295-303.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood L.G and Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2046-2056.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L.F.C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, 613: 1-19.
- Murthy, K.N.C., Singh, R.P. ve Jayaprakasha, G.K. (2002). Antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5909-5914.
- Naczki, M. and Shahidi, F.C. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*, 1054: 95-111.
- Olson, E.R., Naugle, J.E., Zhang, X., Bomser, J.A. ve Meszaros, J.G. (2005). Inhibition of cardiac fibroblast poliferation and myofibroblast differentiation by resveratrol. *American Journal of Physiological Heart and Circitory Physiology*, 288:1131-1138.
- Öruç, H.H. (2005). Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. *Uludağ University. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 24(1-2-3-4): 105-110.
- Özyurt, D. (2005). Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Rates, S.M.K. (2001). Plants as source of drugs, *Toxicon*, 39: 603–613.
- Saraçoğlu, İ.A. (2008). *Bitkisel Sağlık Rehberi*. Gün Ofset, İstanbul.
- Signorelli, P. ve Ghidoni, R. (2005). Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16:449-466.
- Şenol, F.S. (2009). Türkiye’de Yetişen Bazı Salvia Türlerinin Asetilkolinesteraz İnhibitör Etkisi Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara.
- Tomruk, E. (2005). Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi için Hidrofilik Destek Materyal Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- URL-1(2015). <http://www.ogm.gov.tr/mese/yo.htm>, 05 Temmuz 2015.
- URL-2(2016). <http://www.orman.istanbul.edu.tr/node/97>, 03 Mart 2016.

- URL-3(2016). <http://yenidendogus07.blogcu.com/keci-boynuzu-harnup-pekmezi/4939597>, 06 Mart 2016.
- URL-4(2016). <http://www.naturalremedies.org/gallic-acid/>, 20 Nisan 2016.
- URL-5(2016).<http://www.beslenmedestegi.com/dogal-urun/katesin-nedir#ixzz1he8LcHSh>, 27 Nisan 2016.
- URL-6(2016).http://www.sifalibitkilervedogalTEDAVI.com/bitki_kimyasallari/Ferulik_Asit.html, 26 Haziran 2016.
- URL-7(2016). <http://www.food-info.net/tr/qa/qa-fi62.htm>, 27 Haziran 2016.
- URL-8(2016). http://www.turkcebilgi.com/c_vitamini, 27 Haziran 2016.
- URL-9(2016). <http://www.ansiklopedi.biz/kimya/protokatesik-asit>, 28 Haziran 2016.
- Vaudano, E., Moruno, E.G. ve Di Stefano, R. (2004). Modulation of geraniol metabolism during alcohol fermentation. *Journal of The Institute of Brewing*, 110: 213–219.
- Villano, D., Fernandez–Pachon, M.S., Troncoso, A.M. ve Garcia-Parrilla, M.C. (2005). Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites *in vitro*, *Analytica Chimica Acta*, 538: 391–398.
- Yıldız, S., Yavaş, H., Gürbüz, O., Değirmencioğlu, N. (2015). Türkiye’de yetişen yaban mersini meyvesinin fenolik bileşiklerinin karakterizasyonu. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 15: 9-18.
- Wolfe, K., Wu, X., ve Liu, R.H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609–614.
- Wulf L.W. ve Nagel, C.W. (1978). High pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *American Journal of Enology Viticulture*, 29: 42–49.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Dilek ÜNEŞ
Doğum Yeri ve Tarihi : Tokat / 03.04.1988

Eğitim Durumu

Ön Lisans Öğrenimi : Karadeniz Teknik Üniversitesi / Mobilya ve Dekorasyon Bölümü
Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi / Orman Endüstri Mühendisliği
Yüksek Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi / Orman Endüstri Mühendisliği A.B.D
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İş Deneyimi

Stajlar : Eroğlu Orman Ürünleri TOKAT (2008)
OYKA Kağıt Ambalaj (2012)

İletişim

E-Posta Adresi : dilekunes@gmail.com

Tarih : 09.09.2016