

**KARADUT (*Morus nigra*) MEYVESİNİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emine YALGI UYGUR

Prof.Dr. Ramazan ŞEVİK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Temmuz, 2015

Bu tez çalışması 13.FEN.BİL.35 numaralı proje ile BAP tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KARADUT (*Morus nigra*) MEYVESİNİN BAZI FİZİKSEL VE  
KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Emine YALGI UYGUR**

**Prof.Dr. Ramazan ŞEVİK**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Temmuz, 2015**

## TEZ ONAY SAYFASI

Emine YALGI UYGUR tarafından hazırlanan “Karadut (*Morus nigra*) Meyvesinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 03/07/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

**Başkan** : Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR  
Afyon Kocatepe Ü. Mühendislik Fakültesi

**Üye** : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK  
Afyon Kocatepe Ü. Mühendislik Fakültesi

**Üye** : Doç. Dr. Yahya TÜLEK  
Pamukkale Ü. Mühendislik Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....  
Prof. Dr. İbrahim EROL  
Enstitü Müdürü

**BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**  
**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**03/07/2015**

**Emine YALGI UYGUR**

**ÖZET**  
Yüksek Lisans Tezi

**KARADUT (*Morus nigra*) MEYVESİNİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Emine YALGI UYGUR  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
**Danışman:** Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

Bu araştırmada, Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesinden temin edilen karadutların bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir. -24°C’de depolanan karadutlarda protein, yağ, kuru madde, kül, pH, renk gibi temel analizlerle birlikte; toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite (AA) tayini ile beraber HPLC kullanılarak bazı fenolik bileşikler (kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin), organik asitler (sitrik asit, ve malik asit) ve askorbik asit tayini yapılmıştır. Kuru madde miktarı % 13,45 ve % 17,61 olarak; kül miktarı % 0,61 ve % 0,89 olarak; protein miktarı % 1,28 ve % 1,79 olarak; yağ miktarlarını % 0,72 olarak; pH değeri 3,63 ve 3,76 olarak; L\* değerleri 12,84 ve 16,41 olarak; a\* değerleri 8,13 ve 8,64 olarak; b\* değerleri 2,05 ve 2,73 olarak saptanmıştır. TFM tayininde karadutta bulunan fenolik bileşenler saf metanol ve % 80 metanol ile ekstrakte edilmiştir. Saf metanol ekstraktlarının daha yüksek TFM içerdiği tespit edilmiştir. TFM miktarı Mersin Anamur ilçesinden temin edilen karadutlarda sırasıyla 1416 mg GAE/L ve 1169 mg GAE/L; Afyonkarahisar Çay ilçesinden temin edilen karadutlarda sırasıyla 1172 mg GAE/L ve 1091 mg GAE/L olarak bulunmuştur. AA tayininde DPPH yöntemi kullanılmıştır ve solvent olarak saf metanol, % 80 metanol, saf etanol, % 80 etanol, saf aseton ve % 80 aseton kullanılmıştır. Bu ekstraktlar karşılaştırıldığında en yüksek AA, saf metanol ekstraktında saptanmıştır. Serbest radikal yakalama aktiviteleri % 27-87; AE değerleri 0,032-0,099 (1/mg); IC<sub>50</sub> değeri 10,078-29,825 mg; Trolox üzerinden AA’si; 1,112-1,858 µmol Troloks/g karadut olarak tespit edilmiştir. HPLC ile yapılan analizlerde Mersin Anamur ilçesinden temin edilen karadutlarda fenolik bileşikler çoktan aza doğru

kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, kuersetin ve rutin; organik asitler ise sitrik asit ve malik asit şeklinde bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin miktarları sırasıyla 162,2 µg/g , 146,4 µg/g , 133,6 µg/g , 6,5 µg/g ve 1,3 µg/g; organik asitlerin miktarları ise sırasıyla 6,758 mg/g ve 1,023 mg/g olarak belirlenmiştir. Afyonkarahisar Çay ilçesinden temin edilen karadutlarda fenolik bileşenler çoktan aza doğru klorojenik asit, p-kumarik asit, kateşin, kuersetin ve rutin; organik asitler ise sitrik asit ve malik asitin şeklinde bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin miktarları sırasıyla 246,6 µg/g, 52,9 µg/g , 9,5 µg/g, 1,7 µg/g ve 0,9 µg/g ; organik asitlerin miktarları sırasıyla 9,808 mg/g ve 0,728 mg/g olarak belirlenmiştir.

**2015, xii + 57 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Karadut, *Morus nigra*, Fenolik bileşikler, Antioksidan aktivite, DPPH yöntemi, Toplam fenolik madde, Organik asit, Klorojenik asit, HPLC, TFM.

## ABSTRACT

M.Sc Thesis

### DETERMINATION OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF BLACK MULBERRY (*Morus nigra*) FRUIT

Afyon Kocatepe University

Institute of Science and Technology

Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof. Ramazan ŞEVİK

In this research, it was investigated some chemical properties of black mulberry which are supplied from Mersin, Anamur district and Afyonkarahisar, Cay district. In black mulberry that are stored at -24 °C, fundamental analyses like protein, fat, dry matter, ash, pH, and color together with total phenolic compound (TFM), antioxidant activity (AA) and by HPLC method some phenolic compounds (catechin, chlorogenic acid, p-coumaric acid, rutin and quercetin), organic acids (citric acid, and malic acid) and ascorbic acid analysis were determined. Quantity of dry matter to be 13,45% and 17,61% ; quantity of ash to be 0,61% and 0,89% ; quantity of protein to be 1,28% and 1,79% ; quantity of fat to be 0,72% ; value of pH to be 3,63 and 3,76; values of L\* to be 12,84 and 16,41; values of a\* to be 8,13 and 8,64; values of b\* to be 2,05 and 2,73 were determined. In TFM analysis, phenolic compounds of black mulberry were extracted with absolute methanol and 80% methanol. Absolute methanol extract was found to contain higher TFM than 80% methanol. TFM quantity of black mulberry which are supplied from Mersin, Anamur district was found respectively 1416 mg GAE/L and 1169 mg GAE/L; TFM quantity of black mulberry which are supplied from Afyonkarahisar, Cay district was found respectively, 1172 mg GAE/L and 1091 mg GAE/L. In determination of AA, DPPH method was used and black mulberry was extracted with absolute methanol, 80% methanol, absolute ethanol, 80% ethanol, absolute acetone and 80% acetone. Compared to those extracts the highest AA was found in pure methanol extract. Free radical scavenging activity (%) of those extracts obtained as 27 to 87; AE values of those extracts 0.032 to 0.099 (1/mg); IC<sub>50</sub> values of those extracts 10.078 to 29.825 mg; AA with Trolox; 1.112 to 1.858 µmol Trolox equivalent/g. The analysis which was done with HPLC, phenolic compounds supplied

from Mersin, Anamur district were obtained as high to low respectively, catechin, chlorogenic acid, p-coumaric acid, quercetin and rutin; organic acids respectively citric acid and malic acid. The amount of phenolic compounds was determined as 162,2 µg/g , 146,4 µg/g , 133,6 µg/g , 6,5 µg/g and 1,3 µg/g; organic acids 6,758 mg/g ve 1,023 mg/g. The analysis which was done with HPLC, phenolic compounds supplied from Afyonkarahisar, Cay district were obtained as high to low respectively chlorogenic acid, p-coumaric acid, catechin, quercetin and rutin; organic acids respectively citric acid and malic acid. The amount of phenolic compounds was determined 246,6 µg/g, 52,9 µg/g , 9,5 µg/g , 1,7 µg/g and 0,9 µg/g; organic acids 9,808 mg/g and 0,728 mg/g.

**2015, xii + 57 pages**

**Key Words:** Black mulberry, *Morus nigra*, Phenolic compounds, Antioxidant activity, DPPH method, total phenolic compound, organic acid, Chlorogenic acid, HPLC, TFC.



## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK, yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Grv. Çiğdem AŐŐIOęLU ve Sayın Arş. Grv. Teslime EKİZ'e, her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm arkadaşım Gülizar GÖRKEM BÜYÜKGÖZ, Ayşe ALTUNBOY ve Neslihan YILDIZ'a; tez çalışmamı 13.FEN.BİL.35 No'lu proje kapsamında destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'ne (BAP) teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı EŐİME VE AİLEME sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Emine YALGI UYGUR  
AFYONKARAHİSAR, 2015

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ .....	xi
EKLER DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	2
2.1 Serbest Radikaller .....	2
2.2 Fenolik Bileşikler .....	2
2.2.1 Fenolik asitler .....	3
2.2.1.1 Hidroksisünamik asitler .....	3
2.2.1.2 Hidroksibenzoik asitler .....	4
2.2.2 Stilbenler .....	4
2.2.3 Flavonoidler .....	4
2.2.3.1 Flavanoller (Kateşinler) .....	5
2.2.3.2 Flavonoller .....	5
2.2.3.3 Flavonlar .....	5
2.2.3.4 Flavanonlar .....	6
2.2.3.5 İzoflavonoidler .....	6
2.2.3.6 Antosiyanidinler .....	6
2.2.4 Taninler .....	7
2.2.4.1 Kondanse Taninler .....	7
2.2.4.2 Kompleks Taninler .....	8
2.2.4.3 Hirolize Taninler .....	8
2.2.5 Lignanlar .....	8
2.3 Fenolik Bileşiklerin Sağlık Üzerine Etkisi .....	9
2.4 Karadut Meyvesi ve Bileşimi .....	10
2.5 Karaduttaki Fenolik Bileşikler .....	12
2.6 Karadutun Antioksidan Kapasitesi .....	14

3. MATERYAL ve METOT .....	16
3.1 Materyal .....	16
3.1.1 Karadut ( <i>Morus nigra</i> ) meyvesi .....	16
3.1.2 Kimyasallar .....	16
3.1.3 Çözeltiler.....	16
3.2 Metod .....	17
3.2.1 Kimyasal Analizler .....	17
3.2.1.1 Kuru Madde Miktarı Tayini.....	17
3.2.1.2 Kül Tayini .....	17
3.2.1.3 Ham Yağ Miktarı Tayini.....	18
3.2.1.4 Protein Miktarı Tayini .....	18
3.2.1.5 pH Tayini .....	18
3.2.2 Renk Ölçümü .....	18
3.2.3 Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini .....	18
3.2.4 Antioksidan Aktivite (AA) Tayini.....	20
3.2.5 Bazı Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi .....	23
Şekil 3.5 Klorojenik asit standardı için kalibrasyon grafiği. ....	25
3.2.5.1 HPLC İçin Örnek Ekstraksiyonu .....	27
3.2.6 Bazı organik asitlerin HPLC ile Analizi.....	27
3.2.6.1 HPLC İçin Örnek Ekstraksiyonu .....	28
3.3 İstatistiksel Analiz .....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	31
4.1 Kimyasal Analizler.....	31
4.2 Renk Ölçümü.....	32
4.3 Karadutlarda Toplam Fenolik Madde Miktarı .....	33
4.4 Karadutlarda DPPH ile Antioksidan Aktivite (AA) Tayini .....	34
4.5 Bazı Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi.....	37
4.6 Bazı Organik Asitlerin HPLC ile Analizi .....	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	41
6. KAYNAKLAR.....	44
6.1. İNTERNET KAYNAKLARI.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	53
EKLER .....	54

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

L	Litre
g	Gram
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
dk	Dakika
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikali
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
Na	Sodyum
Mg	Magnezyum
P	Fosfor
Zn	Çinko

### Kısaltmalar

---

<i>M.nigra</i>	<i>Morus nigra</i>
TFM	Toplam Fenolik Madde
AA	Antioksidan Aktivite
GAE	Gallik asit eşdeğeri
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
TEAC	Troloks eşiti antioksidan kapasite
IC <sub>50</sub>	Radikalin %50'sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon
AE	Antiradikal Etkinlik (1/IC <sub>50</sub> )
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
UV-VIS	Ultraviyole visible (Görünür bölge)
DAD	Fotodiyot array dedektörü
DMBA	7,12-dimethylbenz[a]anthracene
TPA	12-9-tetradecanoylphorbol-13-asetat
IBM SPSS	Veri Analiz programı
PTFE	Polytetrafluoro ethylene

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1 Kuersetin ve Rutinin kimyasal yapıları (İnt. Kyn. 1, 2).....	13
Şekil 2.2 Klorojenik asitin kimyasal yapısı (İnt. Kyn. 3).....	13
Şekil 2.3 Kateşin ve p-kumarik asitin kimyasal yapıları (İnt. Kyn. 4, 5).....	14
Şekil 3.1 Gallik asit standart eğrisi.....	20
Şekil 3.2 Dalgaboyu seçimi .....	21
Şekil 3.3 Standart troloks eğrisi.....	23
Şekil 3.4 Kateşin standardı için kalibrasyon grafiği.....	25
Şekil 3.5 Klorojenik asit standardı için kalibrasyon grafiği.....	25
Şekil 3.6 p-kumarik asit standardı için kalibrasyon grafiği .....	26
Şekil 3.7 Rutin standardı için kalibrasyon grafiği .....	26
Şekil 3.8 Kuersetin standardı için kalibrasyon grafiği .....	27
Şekil 3.9 Sitrik asit standardı için kalibrasyon grafiği .....	29
Şekil 3.10 Malik asit standardı için kalibrasyon grafiği .....	29
Şekil 3.11 Askorbik asit standardı için kalibrasyon grafiği .....	30

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1 DPPH konsantrasyon seçimi.....	21
Çizelge 3.2 HPLC analizlerindeki mobil faz gradiyent sistemi.....	24
Çizelge 4.1 Karadutun bazı kimyasal özellikleri.....	31
Çizelge 4.2 Karadutun renk değerleri.....	33
Çizelge 4.3 Karadutun Toplam Fenolik Madde (TFM, mg GAE/L ) Miktarları.....	33
Çizelge 4.4 Mersin Anamur ilçesine ait karadutta antioksidan aktiviteler (AA).....	35
Çizelge 4.5 Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta antioksidan aktiviteler (AA) ....	36
Çizelge 4.6 Karadutlarda bulunan bazı feneolik bileşiklerin miktarları (µg/g).....	37
Çizelge 4.7 Karadutlarda bulunan bazı organik asitlerin miktarları (mg/g).....	39

## RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

<b>Resim 2.1</b> Karadut meyvesi (İnt. Kyn. 6).....	11
---	----

## EKLER DİZİNİ

Sayfa

<b>EK 1.</b> Bazı Fenolik Bileşiklerin (kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin) Standartlarına ait HPLC Kromotogramı (278nm) .....	54
<b>EK 2.</b> 2014 yılına ait Mersin ve Çay karadutunun kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit ve kuersetin bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (278nm) .....	55
<b>EK 3.</b> Bazı Organik Asitlerin (malik asit, sitrik asit ve askorbik asit) Standartlarına ait HPLC Kromotogramı (210nm).....	56
<b>EK 4.</b> 2014 yılına ait Mersin ve Çay karadutunun malik asit, sitrik asit ve askorbik asite ait HPLC kromatogramları (278nm).....	57



## 1. GİRİŞ

Karadut (*Morus nigra*) *Morus* cinsinin *Moraceae* ailesinin bir üyesi olup, Türkiye’de fazlaca yetiştirilmektedir (Koyuncu 2004a). *M. nigra* halk arasında “Karadut” olarak bilinen ve sıra dışı renke sahip taneli meyvelerdir (Özgen *et al.* 2009). Bu meyvelerin ağaçlarının hemen hemen tüm kısımları (meyve, yaprak, kök vs.) başta Çin olmak üzere dünyada pek çok yerde farmakolojik etkilerinden dolayı kullanılmaktadır (Koyuncu 2004a). Şimdiye kadar yapılmış olan çalışmaların çoğunda (Miodini *et al.* 1999, Ranelletti *et al.* 2000, Pietta 2000, Kozuki *et al.* 2001, Watzl and Rechkemmer 2001, DüNDAR 2001, Surh 2003, Bernhard *et al.* 2003, Safari and Sheikh 2003, Ekman and Patterson 2005, Nomura *et al.* 2005, Fresco *et al.* 2006, Larrosa *et al.* 2006, Nohynek *et al.* 2006, Souza *et al.* 2007, Sayın *et al.* 2008, Özgen *et al.* 2009, Huang *et al.* 2009, Paredes-López *et al.* 2010, Iglesia *et al.* 2010, Ouédraogo *et al.* 2011, Squadrito and Bitto 2013) fenolik bileşenlerin antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptik, antibakteriyel, antiviral, antiallodinik, antianjiyogenez, antiöstrojen, mutajen ve enzim düzenleyici özelliklerinden dolayı diş eti hasatlıklarından, kansere ve kalp damar rahatsızlıklarına kadar pek çok hastalığın oluşma riskini azalttığı hatta yaşlanmayı geciktirdiği gözlemlenmiştir.

Türkiye’de dutlarla ilgili yapılan çalışmaların çoğunda kimyasal özellikleri incelenmiştir. Fakat organik asit, fenolik bileşikler, ve antioksidan aktivite ile ilgili çalışma sayısı azdır. Bu yüzden temin edilen karadutlarda protein, yağ, kuru madde, kül, pH, renk gibi temel analizlerle birlikte; spektrofotometrik yöntemler kullanılarak TFM ve AA (DPPH) tayini ve HPLC kullanılarak fenolik bileşenler (kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin), organik asitler (malik asit ve sitrik asit) ve askorbik asit tayini yapılmıştır.

## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Serbest Radikaller

İki ve daha fazla elementin bir araya gelmesiyle aralarında kimyasal bağ kurulması sonucunda kimyasal bileşikler oluşur. Bu bağların çevresinde bulunan elektronların çiftlenmiş olup olmamasına bağlı olarak bileşikler kararlı ya da kararsız duruma geçerler. Eşlenmemiş elektron içeren, çok kararsız, diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron almaya gereksinim duyan moleküllere serbest radikaller denir. Serbest radikaller organizmada oksijen kullanımı sırasında bir molekülün elektronunu alarak okside eder ve bu yeni molekülün kendisi bir serbest radikal haline dönüşür. Serbest radikaller normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak ve/veya kullanılan ilaçların, diğer zararlı kimyasalların ve radyasyonun etkisi ile oluşur. Hücrelere zarar verdiği bilinen serbest radikal türleri süperoksit anyonları ( $O_2^-$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil serbest radikali ( $OH^{\cdot}$ ) gibi mutajenlerdir. Bunlar farklı da olsa ortaya çıkan zincirleme reaksiyonlar sonucunda proteinler ve diğer makromoleküllerde tahribata hatta hücre ölümüne neden olabilmektedir (Gökpınar *et al.* 2006).

### 2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolikler bir ya da birden fazla hidroksil grubuna sahip aromatik halka bulunduran madde olarak tanımlanmaktadır (Shahidi and Chandrasekara 2010, Nizamlioglu ve Nas 2010). Fenolik bileşikler ikincil metabolit olarak düşünülürler ve fenilalaninden türemiştir (Shahidi 2000). Önceleri ikincil metabolitlerin organizmada biyokimyasal olaylarda özellikle büyümede (fotosentez, solunum ve protein sentezi gibi) kesin bir fonksiyona sahip olmadıkları, bunların artık ürünler olduğu ve bazı metabolik olaylar sonucu oluştuğu zannediliyordu. Günümüzde antimikrobiyal, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri olduğu iddia edilen çok sayıda bitkisel etkin madde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmakta ve hatta bazı bitkisel kaynaklı maddelerin deney hayvanlarında tümör inhibisyonunu sağlayarak kansere karşı kullanılabileceği yönünde iddialar bulunmaktadır (Kafkas *et al.* 2006, Bacanlı *et al.* 2015).

Fenolikler yapısal özelliklerine göre fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler (flavanoller veya kateşinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, isoflavonoidler, antosiyaninler), taninler ve lignanlar olarak sınıflandırılırlar (Seeram 2008, Paredes-López *et al.* 2010).

### **2.2.1 Fenolik asitler**

Fenolik asitler yedi karbon atomu (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) içeren benzoik asitler ve dokuz karbon atomu (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) sinamik asitler olarak iki ana gruba ayrılırlar. Bu bileşikler hidroksillenmiş olarak bulunurlar ve bu yüzden hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler olarak isimlendirilirler (Fresco *et al.* 2006). Bitkilerde bulunan fenolik asitlerin çoğu organik asit ya da şekerlerle esterleşmiştir. Bunlar fiziksel, kimyasal ve beslenme fizyolojisi açısından büyük farklılıklar göstermektedir. Mesela serbest halde bulunan ve esterleşmiş olanların hidrolize edilişleri farklıdır. Serbest halde bulunanlar ince bağırsakta absorbe edilirken, esterleşmiş olanlar ise kalın bağırsakta hidrolize edilerek fenolik asitleri oluştururlar (Watzl and Rechkemmer 2001).

#### **2.2.1.1 Hidroksisinamik asitler**

Hidroksisinamik asitler C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, fenilpropan yapısındadır. Fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre hidroksisinamik asitler farklı özelliklere sahiptir (Acar ve Gökmen 2007). Kafeik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit ve ferrulik asit en yaygın hidroksisinamik asitlerdir ve bitkilerde yaygın bir şekilde dağılmıştır (Robbins 2003, Acar ve Gökmen 2007, Shahidi and Chandrasekara 2010). Fenolikler hücre duvarına bağlı olarak ya da glukoz ve ya kuinik asit esterleri şeklinde ortaya çıkmaktadır (Kylli 2011). Hidroksisinamik asitlerin sadece küçük bir kısmı serbest halde bulunmaktadır (Robbins 2003). Ayrıca hidroksisinamik asitler pek çok reaksiyona girerek klorojenik asit ve türevleri, flavanoidler, lignin ve hidroksibenzoik asitlerin sentezlenmesinde yer almaktadır (Acar ve Gökmen 2007). Kafeik asit ve kuinik asitin esteri klorojenik asit bitkilerde bulunan temel hidroksisinamik asitlerdir (Mattila *et al.* 2006). Ferrulik asit ve p-kumarik asit hemiselüloza ve diğer hücre duvarı materyallerine bağlı temel hidroksisinamik asitlerdir (Niño-Medina *et al.* 2010, Kylli 2011).

### 2.2.1.2 Hidroksibenzoik asitler

Hidroksibenzoik asitler  $C_6-C_1$ , fenilmetan yapısındadır (Acar ve Gökmen 2007). Hidroksibenzoik asitler; p-hydroxybenzoic asit, gallik asit, protokateşik asit, vanilik asit ve syringik asit olarak sayılabilir. (Taruscio *et al.* 2004, Mattila *et al.* 2006, Kylli 2011).

### 2.2.2 Stilbenler

Stilbenler  $C_6-C_2-C_6$  yapısında olup, küçük, herhangi bir zarar, yaralanma ve strese sorumlu olarak bitkiler tarafından sentezlenen fenolik bileşiklerdir. (Wang *et al.* 2002, Crozier *et al.* 2009, Paredes-López *et al.* 2010). Resveratrol ve benzerleri anti-enflamatuar, anti-alerjenik, yaşlanmayı önleyici, anti- mutajenik, antikanserojen ve diğer aktiviteleri kapsayan önemli biyolojik özellikler sunmaktadır (Matsuda *et al.* 2000, Shakibaei *et al.* 2009, Paredes-López *et al.* 2010). Resveratrolün benzeri olan pterostilben antioksidan ve güçlü kemopreventif ajan olarak resveratrol'dan daha etkilidir (Wang *et al.* 2002).

### 2.2.3 Flavonoidler

Flavonoidler  $C_6-C_3-C_6$ , difenilpropan yapısındadır. Temel flavonoid yapısı pek çok sayıda bağlı grup içermektedir. Hidroksil gruplar genelde 4'-, 5'- ve 7'- konumlarında; şekerler yaygın olarak özellikle glikozitler şeklinde bulunmaktadır. Hem şekerler hem de hidroksil gruplar flavonoidlerin suda çözünürlüğünü artırırken, metil ve izoamil gibi diğer gruplar ise flavonoidlere lipofilik özellik sağlamaktadır. Flavonoid türleri arasındaki farklılıklar; bağlanan hidroksil grubu sayısı, doymamışlık derecesi ve üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyidir (Spanos and Wrolstad 1992, Vermerris and Nicholson 2006, Crozier *et al.* 2009, Nizamlioğlu ve Nas 2010). Flavonoidler temel olarak üç halkaya sahiptir. A ve B aromatik halka ve C ise heterosiklik halkadır ve C halkasının yapısal değişimlerine göre; antosiyanidinler, flavonlar, flavononlar, flavonoller, flavanoller (kateşinler) ve izoflavonoidler olarak gruplandırılırlar (Acar ve Gökmen 2007).

### 2.2.3.1 Flavanoller (Kateşinler)

Kateşinler renksiz bileşiklerdir (Acar ve Gökmen 2007). Üçüncü karbon atomunda bir OH grubu bulundurmaktadır ve bu sebeple flavan-3-ol olarak adlandırılırlar. Kateşinler iki asimetrik karbon atomu içerirler ve buna paralel olarak dört izomere sahiptir. Bu izomerler kateşin, epikateşin, gallokateşin ve epigallokateşindir. (Acar ve Gökmen 2007, Nizamlioğlu ve Nas 2010).

Lunder (1992) yaptığı çalışmada yeşil çay özütünün antioksidan aktivitesinin epigallokateşin içeriği ile ilgili olabileceğini göstermiştir. Osawa *et al.* (1992) epikateşin galat ve epigallokateşin gallat'ın sadece hücre membranı lipidlerinin reaksiyonunda serbest radikalleri önlemekle kalmayıp aynı zamanda mutajenisite ve DNA tahrip edici özelliği olabileceğini göstermiştir. Yürütülen laboratuvar çalışmalarında çay ve çaydaki kateşin bileşenlerinin hayvanlarda tümorojenez (tümör oluşumu) ve tümörün büyümesini önleyebildiğini göstermişlerdir (Ito *et al.* 1992, Conney *et al.* 1992, Wang *et al.* 1992, Chung *et al.* 1992, Laskin *et al.* 1992, Yoshizawa *et al.* 1992).

### 2.2.3.2 Flavonoller

Kaemferol, kuersetin, mirisetin ve izoramnetin ve bunların glikozitleri (rutin vs.) başlıca flavonollerdir (Acar ve Gökmen 2007, Huang *et al.* 2009). Konjugasyonlar sıklıkla karbon halkasının 3- konumundadır fakat bazı gruplar 5-, 7-, 4'-, 3'- ve 5'- karbonlarda da olabilir (Crozier *et al.* 2009).

### 2.2.3.3 Flavonlar

En yaygın flavonlar luteolin, apigenin, baicalein, chrysin ve bunların glikozitleridir. Bunların içerdiği flavan halkası dördüncü karbon atomunda okside olmuştur ve bunlar yapısında çift bağ ( $C_2=C_3$ ) bulundurmaktadır (Acar ve Gökmen 2007, Huang *et al.* 2009). Flavonların çoğu 7-O-glikozitleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapısal değişimleri ve dağılımı son yıllarda birçok kapsamlı makalenin konusu olmuştur (Markham 1989, Ho 1992). İnsanların bilinçlenmesiyle yüksek meyve ve sebze tüketiminin artacağı ve bu bileşenlerin günlük alınımının 1 g'a ulaşacağı tahmin

edilmektedir (Ho 1992).

#### **2.2.3.4 Flavanonlar**

Flavononlar düzlemsel olmayıp, ikinci karbon atomunda kiral merkez içerirler. Flavononlar da yine flavonlar gibi C<sub>4</sub> pozisyonunda okside olmuştur, farkları ortadaki halkada çift bağa sahip olmamalarıdır . Flavanonlar özellikle turuncgillerde yaygın olarak bulunurlar. En önemlileri naringenin, hesperidin, eriodictyol ve bunların glikozitleridir (Acar ve Gökmen 2007, Huang *et al.* 2009, Nizamlioğlu ve Nas 2010).

#### **2.2.3.5 İzoflavonoidler**

İzoflavonlar daidzein, genistein, glycitein, formononetin ve bunların glikozitleridir (Huang *et al.* 2009). İzoflavonlar bitkilerde şekerlerle birlikte konjuge halde ve primer olarak glikozit ve glikozit malonat konjugatlar şeklinde bulunmaktadır (Konar *et al.* 2011).

#### **2.2.3.6 Antosiyanidinler**

Doğada serbest halde bulunmazlar, yapısında bulundukları OH grupları sebebiyle şekerlerle glikozitlenmiş olarak bulunurlar ve antosiyanin olarak adlandırılırlar. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir (Acar ve Gökmen 2007, Nizamlioğlu ve Nas 2010). Antosiyaninler de diğer flavonoidler gibi serbest radikal temizleyicisidir (Kähkönen *et al.* 2003).

Antosiyaninler üzümü meyvelerde ve meyvelerin epidermal dokularında bulunan renk verici bileşenlerdir. Antosiyaninler genellikle renkli flavylium katyon şeklinde bulunur, ama buna ek olarak, pH değerine bağlı olarak renksiz formda da bulunabilir. Antosiyaninler C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> flavonoid iskeletine sahiptir ve bunlar çoğunlukla glikoz ile bağlanmışlardır. Glikoz, ramnoz, galaktoz ve arabinoz şekerler 3-glycosides ya da 3,5-diglycosides gibi antosiyanin oluşturmak için glikozitlenmiştir. Ayrıca rutinozitler, sophorozitler ve sambubiozitler de oluşabilir. Glikozilasyon antosiyaninlerin

stabilitesini artırmaktadır. Antosiyanidinler glikozitlendiğinde aglikon antosiyanin formunu oluşturmaktadır. Antosiyanin aglikonları siyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin ve petunidin içermektedir (Acar ve Gökmen 2007, Kylli 2011). Antosiyaninler evrensel çapta bitki renklendiricisidir ve büyük ölçüde çiçek yaprakları ve daha yüksek bitkilerin meyvelerinin parlak turuncu, pembe, kırmızı, leylak rengi mor ve mavi renklerinden sorumludur (Ho 1992). Antosiyaninler gıda renklendiricisi olarak pek çok bitkide incelenmiştir (Francis 1989). Antosiyanidinler B halkasına bağlanan hidroksi ve metoksi gruplarına bağlı olarak farklı özellikler göstermektedir (Acar ve Gökmen 2007).

## **2.2.4 Taninler**

Taninler doğal, suda çözünebilen ve molekül ağırlığı 500-4000 civarında değişen bileşiklerdir. Bu bileşikler yapısına göre proteinlere bağlanma ve çöktürme yeteneklerini ortaya koymaktadırlar. (Vermerris and Nicholson 2006, Huang *et al.* 2009).

Taninler yaygın olarak alkolooidler, polisakkaritler ve proteinlerle birlikte bulunurlar. Taninler üç grupta sınıflandırılabilir. Bunlar kondanse taninler (proantosiyandinler), kompleks taninler ve hidroliz edilebilir (gallo- and ellagi-tanninler) taninlerdir (Vermerris and Nicholson 2006).

### **2.2.4.1 Kondanse Taninler**

Kondanse taninler aynı zamanda proantosiyandinler olarak da adlandırılmaktadır. Bunlar flavan-3-ol (kateşin) birimleri içeren oligomerik ya da polimerik flavonoidlerdir. Asit içinde ısıtma gibi sert koşullar altında hidroliz ile antosiyanidinler oluşmaktadır. Kondanse tanine bir örnek prosiyanidin B2 (epikateşin-(4 $\beta$   $\rightarrow$  8')-epikateşin) verilebilir. Bu durumda flavanyller arası bağlantı “alt” birim C<sub>4</sub> ve “üst” birim C<sub>8</sub> arasındadır. Ayrıca bir bağlantı da C<sub>4</sub> birinci birimi ve C<sub>6</sub> ikinci birimi arasında olabilir. Polimerler asitler ya da enzimlerin faaliyeti sonucu oluşmaktadır. İki ile on birimden oluşan polimerlere flavolanlar denilmektedir. Elli ve daha fazla kateşin biriminden oluşan polimerler de tanımlanmıştır. Polimerizasyonun derecesi proteinleri çöktürme

özelliklerini etkilemektedir. Taninler bağıl olarak yüksek molekül ağırlığına ve protein ve karbonhidratlarla güçlü kompleks oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu durum yüksek oranda kondanse tanin içeren şarap yapımında önemlidir (Vermerris and Nicholson 2006).

#### **2.2.4.2 Kompleks Taninler**

İsminden de anlaşılacağı üzere bu bileşiklerin yapısı çok karmaşık olabilir. Kompleks taninler, kateşin ünitesinin glikozit olarak bir gallotanin veya ellagitanin birimine bağlı tanin olarak tanımlanmaktadır (Vermerris and Nicholson 2006).

#### **2.2.4.3 Hirolize Taninler**

Hidrolize taninler (gallik ve elajik türevleri olan) merkezinde glukoz ve hidroksil grubu gibi polihidrik alkol içerirler (Huang *et al.* 2009). Hidrolize taninler ellagitanin ve gallotanin olarak iki grupta incelenebilir. Ellagitaninler pentagalloylglucose'dan türeyen hidrolize tanindir. Ancak gallotaninlerden farklı olarak, Pentagalloylglucose molekülü bitişik galloyl grupları arasında C-C bağları içermektedir. Bu C-C bağları iki komşu galloyl arasında oksidatif bağlanma yoluyla oluşturulmaktadır. Gallotaninler 10-12 gallik asit ile dallanmış yapıda bir poliol çekirdekli hidrolize taninlerdir. Bazı gallotaninler poliol olarak kateşin ve triterpenoidler içerse de yaygın olarak bulunan poliol D-glukozdur (Vermerris and Nicholson 2006).

#### **2.2.5 Lignanlar**

Lignanlar monolignollerin birleşmesinden dolayı dimer ya da oligomer şeklinde bulunmaktadır. p-kumaril alkol, koniferil alkol ile sinapyl alkol lignan biyosentezinde kullanılan en yaygın monolignollerdir. Lignan, eğrelti otları, açık tohumlular ve kapalı tohumlu bitkilerde mevcuttur. Bu bileşiklerin bazıları tıbbi özelliklere sahiptir. Lignan biyosentezi monolignol radikallerin reaksiyonundan kaynaklanmaktadır. Monolignol radikallerin, p-kumaril alkolden türediği örneğinde, aktifleştirilmiş hücre duvarına bağlı peroksidazlar tarafından enzimatik olarak oluşturulmuştur. Peroksidazlar fenollerin para-hidroksil-grubundaki protonu ortadan kaldırarak monolignol radikalleri



oluşturmaktadır. Radikal elektronlar fenol halka boyunca ve hatta aynı zamanda propan kuyruk boyunca yer değiştirebilir bu yüzden halkanın 1, 3 ve 5 konumlarındaki karbon, propan kuyruğun  $\beta$ -karbonu kadar reaktif hale gelmektedir (Vermerris and Nicholson 2006).

### **2.3 Fenolik Bileşiklerin Sağlık Üzerine Etkisi**

Polifenollerin antialerjik, antiaterojenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiviral, antimutajenik, antikarsinojenik, antiulser, antioksidan ve antitrombotik etki gibi pek çok etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Verma 1992, Deschner 1992, Bravo 1998, Fresco *et al.* 2006, Rao *et al.* 2007, Crozier *et al.* 2009, Huang *et al.* 2009, Bacanlı *et al.* 2015).

Bazı çalışmalar fenolik bileşiklerin bazı patojenlerin spektrumlarını kontrol eden yeni bir antimikrobiyal madde gibi rol alabileceğini ve antibiyotik dirençleri ile sorunların üstesinden gelebileceğini göstermiştir. (Paredes-López *et al.* 2010).

Flavonoidlerin proteinleri bağlayabilme özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Bu yetenekleri sayesinde antiviral proteinleri bağlayabilirler ve antiviral etkiye sahiptirler. Ayrıca flavonoidlerin immün sistem üzerinde protein kinaz ve protein tirozin kinazlar aracılığıyla etki ettikleri düşünülmektedir (Watzl and Rechkemmer 2001).

Aterosklerozis için bilinen risk faktörleri olan hiperlipidemi ve oksidatif stresin polifenoller tarafından azaltılabileceği bildirilmiştir (Li *et al.* 2014). LDL oksidasyonunu inhibe etme kapasitelerine bağlı olarak flavonoidler kalp koruyucu özellikler gösterirler (Heim *et al.* 2002). Flavonoidler 4-hidroksi-2-nonenal üretimini inhibe etmektedir ve bu flavonoidlerin enflamasyonu önlemesinin sebeplerinden biridir (Uchida 2003). Fenolikler aynı zamanda kan damarlarında pıhtı (trombi) oluşumunu azaltırlar. (Ekman and Patterson 2005).

Proantosiyeninler, flavonoid, resveratrol, tanenler, epigallokateşin gallat, gallik asit ve gallik asidin farklı mekanizmalarla kansere karşı koruyucu etki gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Li *et al.* 2014). Yapılan çalışmalar sonucunda elajik asitin

antikanserojen etkisi faz I enziminin aktivasyonunu önlemesinden kaynaklandığı anlaşılmıştır (Ekman and Patterson 2005). Resveratrol muhtemelen kanserojenin faz I aktivasyonuna müdahale ederek, nitrobenzene-bağlı DNA adduct (eklenti) oluşumunu engellemektedir. (Li *et al.* 2003). Kuersetin, kanserojenin aktif formlarına oksidasyonunu önlemektedir (Ekman and Patterson 2005). Ayrıca flavanoidlerin genellikle glikozit yapıda olmalarından dolayı faz II enzimlerini aktive ettiği düşünülmektedir ve nükleotitlerle yapısal benzerlik gösterdiklerinden dolayı DNA'ya zarar vermeden bağlanabilmektedir. Böylece prokanserojenlerin DNA'ya bağlanmasını engellemektedir (Watzl and Rechkemmer 2001). Stavric vd. (1992) kuersetin ve elajik asit ile klorojenik asit gibi diğer polifenollerin kanser, kanserojen biyoyararlanımının azaltılması ve karaciğerde biyotransformasyon ile müdahale edilmesi ile bir çift koruyucu rol oynayadığından bahsetmiştir. Deschner (1992) Kolon kanserini bir deneysel model kullanarak, günlük yağ alımı düşük beslenme koşulları altında, kuersetin ve rutin epitel hücreleri hiperproliferasyonunun bastırılmasında ve böylece displazi odak alanlarının ve sonuçta kolon tümörü görülme sıklığının azaltılması yönünde önemli faaliyet gösterdiğini kanıtlamayı başarmıştır.

#### **2.4 Karadut Meyvesi ve Bileşimi**

Dut ılıman, tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir meyve türüdür. Dut (*Morus spp.*), *Urticales* takımının *Moraceae* familyasının *Morus* cinsine girmektedir. Bu cinsin yaygın olarak bilinenleri *M. alba* (beyaz dut), *M. nigra* (karadut), *M. rubra* (kırmızı dut), *M. australis*, *M. latifolia*, *M. multicaulis*, *M. ihou*, *M. Kagayamae*, *M. bombycis*'tir (Ercişli and Orhan 2007, Tokbaş 2009).

Karadut meyveleri 2-3 cm (Elmacı ve Altuğ 2002) uzunluğunda ve kendine has hafif ekşi lezzetiyle sulu özellikte olup rengi ile ön plana çıkmaktadır (Tokbaş 2009). Resim 2.1'de gösterilmektedir.



**Resim 2.1** Karadut meyvesi (İnt. Kyn. 6).

Meyve temel olarak şeker (fruktoz % 48, glikoz % 52), sitrik asit (% 92) ve malik asit (% 8) gibi organik asitler, fenolik asitler ve antosiyaninlerden oluşmaktadır (Elmacı ve Altuğ 2002). Yapılan çalışmalar incelendiğinde karadut bileşimi şu şekilde özetlenebilir:

- Kuru madde miktarı (%) : 12,5-29,5 (Akbulut *et al.* 2006, Tarko *et al.* 2014).
- Kül miktarı (%): 0,12-1,04 (Hepsağ *et al.* 2012, Koyuncu *et al.* 2014).
- Protein miktarı (%) : 0,9-2,64 (Akbulut *et al.* 2006, Hepsağ *et al.* 2012).
- Ham yağ miktarı (%): 2,5-6,79 (Akbulut *et al.* 2006, İmran *et al.* 2010, Koyuncu *et al.* 2014).
- pH değeri: 3,30-5,65 (Hepsağ *et al.* 2012, Kara and Erçelebi 2013).
- Suda çözünürlük (TSS) (%): 14,30- 30,80 (Ercişli and Orhan 2007, 2008).
- Mineral bileşimi: K en baskın mineral olarak bulunmuştur (Zhumatov 1996, Ercişli and Orhan 2007, İmran *et al.* 2010, Koyuncu *et al.* 2014, Sanchez-Salcedo *et al.* 2015).  
Ca :0,21-6,6 mg/g, P: 0,40-5,8 mg/g  
K: 1,27-15 mg/g , Zn: 0,02-12 mg/g ,  
Na: 0,92-3,29 mg/g , Mg: 0,37-2,40 mg/g
- Şeker içeriği: En baskın şekerin Glukoz ve Fruktoz olduğu belirtilmiştir. (Tokbaş 2009, Gündoğdu *et al.* 2011).  
Glukoz: 6,39- 7,75 mg/100g  
Fruktoz: 3,40-5,77 mg/100g
- Yağ asitleri içeriği: Karadutlarda baskın üç yağ asit içeriği şu şekilde

özetlenebilir: (Elmacı and Altuğ 2002, Ercişli and Orhan 2007, 2008)

Linoleik asit: % 13,6-64,41

Palmitik asit: % 11,36- 22,7

Oleik asit: % 2,33-16,0

- Organik asit içeriği: Karadutlarda baskın iki organik asit malik asit ve sitrik asit olarak verilmiştir (Koyuncu 2004b, Tokbaş 2009, Özgen *et al.* 2009).

Malik asit: 1,4 -218 mg/g

Sitrik asit: 8,80- 670 mg/g

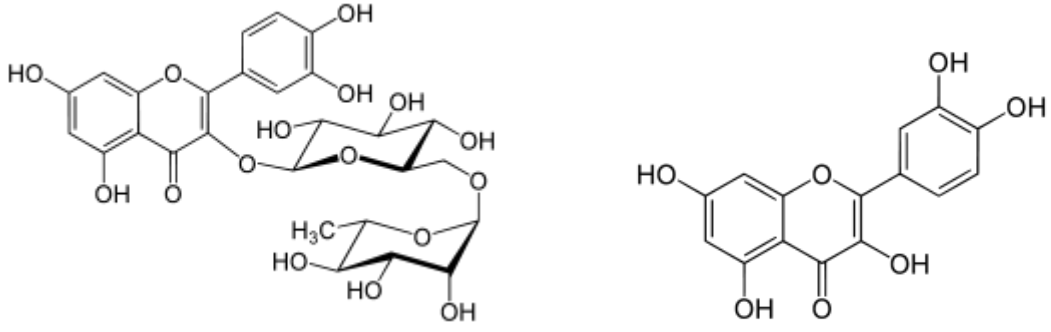
## 2.5 Karaduttaki Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşiklerin büyük çoğunluğu, ürünlerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda buruk bir izlenim bırakmasında etkilidir. Antosiyaninler gibi bazı fenolik maddeler ise meyve ve sebzelerin kendine özgü renklerinin oluşmasından sorumludur (Cemeroğlu 2010).

Karadutun fenolik bileşik içeriği ve bileşimi ekim alanı, ekim şartları, ekolojik koşullar ve genetik farklılıklardan dolayı değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, çoğunlukla karadutlarda toplam fenolik madde ile kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin, kuersetin bileşiklerinin miktarı incelenmiştir.

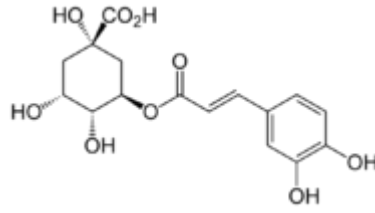
Karadutta TFM miktarı için geniş aralıkta (332-4474 mg GAE/L) sonuçlar bulunmaktadır (Ercişli and Orhan 2008, Ştefanut *et al.* 2011).

Aydın vd. (2011) çalışmasında karaduttaki rutin miktarını 47,80- 76,87 µg/g olarak rapor etmiştir. Aynı zamanda kateşin ve rutin bileşenleri ile toplam fenolik madde miktarı arasında doğru orantılı ama DPPH radikalini yakalama aktivitesi (%) ile ters orantılı ilişki olduğu üzerinde durulmuştur.



**Şekil 2.1** Kuersetin ve Rutinin kimyasal yapıları (İnt. Kyn. 1, 2).

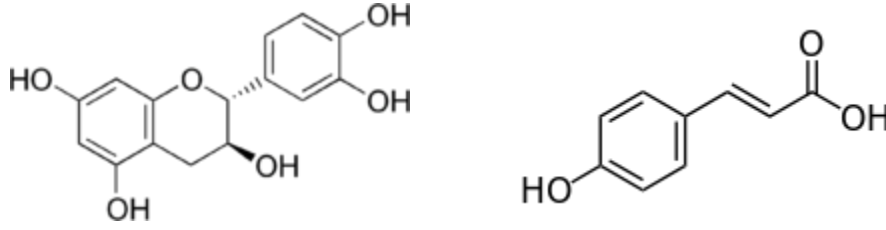
Kuersetin serbest aglikonuna bir disakkarit olan rutinozun bağlanması ile rutin glikoziti oluşmaktadır (Fabjan *et al.* 2003). Kuersetin ve rutin kimyasal yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Literatür verileri incelendiğinde, karadutta kuersetin miktarının 10-186 µg/g aralığında olduğu tespit edilmiştir (Sanchez-Salcedo *et al.* 2015).



**Şekil 2.2** Klorojenik asitin kimyasal yapısı (İnt. Kyn. 3).

Hidroksisinasamik asit grubunda yer alan klorojenik asit meyvelerde ekşi tattan sorumludur (Szajdek and Borowska 2008). Kimyasal yapısı Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Gündoğdu vd. (2011)’nin yaptığı çalışmada karadutta baskın olan fenolik bileşiğin klorojenik asit olduğu belirtilmiştir. Karadutta bulunan klorojenik asit miktarı 70-636 µg/g aralığında saptanmıştır (Sanchez-Salcedo *et al.* 2015).

Kateşin flavanoller grubunda yer almaktadır ve kimyasal yapısı Şekil 2.3’te gösterilmiştir. Karadutta bulunan kateşin miktarı ile ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bir çalışmada kateşin miktarının 75 µg/g olduğu rapor edilmiştir (Gündoğdu *et al.* 2011).



Şekil 2.3 Katesin ve p-kumarik asitin kimyasal yapıları (İnt. Kyn. 4, 5).

p-kumarik asit hidrokisisinamik asit grubunda yer almaktadır. Karadutun p-kumarik asit içeriği hakkında birbirinden farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu değerler 4-569,16 µg/g aralığında değişmektedir (Zadernowski *et al.* 2005, Memon *et al.* 2010, Sanchez-Salcedo *et al.* 2015). Zadernowski vd. (2005) yaptığı çalışmada karadutta bulunan p-kumarik asit miktarını 3 farklı tabloda incelemiştir. Toplam fenolik asit içeriğinde 569,16 µg/g, serbest fenolik içeriğinde 103,5 µg/g ve çözünebilen esterlerden serbest kalan fenolik asit içeriğinde ise 4,38 µg/g p-kumarik asit bulunduğunu rapor etmiştir.

Yapılan çalışmalarda, en baskın antosiyaninlerin siyanidin-3-glucoside (% 64.13) ve siyanidin-3-rutinoside (% 35.21) olduğu ve toplam antosiyanin içeriğinin 1229-2057 µg/g olduğu tespit edilmiştir (Dugo *et al.* 2001, Bae and Suh 2007, Özgen *et al.* 2009, Ştefanut *et al.* 2011).

## 2.6 Karadutun Antioksidan Kapasitesi

Karadutlarda bulunan fenolik yapıda bileşiklerin serbest radikalleri yok ederek ve lipid peroksidasyon oluşturma yeteneğine sahip olan metal iyonlarla şelasyon yaparak antioksidan etki gösterdikleri belirtilmektedir. Ayrıca fenolik bileşiklerin yapılarına göre antioksidan aktivitelerinin farklılık gösterdiği açıklanmıştır. Buna polimerik polifenollerin basit monomerik polifenollere göre daha iyi antioksidan özelliğe sahip olduğu, benzer şekilde antilipoperoksidan etkinin benzen halkasındaki hidroksil ve metoksi gruplarının numarası ve pozisyonuna bağlı olarak farklılık gösterdiği ve flavonollerdeki şeker gruplarının varlığı ve pozisyonlarının da bileşiklerin antioksidan aktivitesini etkilediği örnek olarak verilebilir (Bacanlı *et al.* 2015).

Karadutların antioksidan aktivitesi farklı yöntemlerle saptanmıştır. TEAC yöntemi ile yapılan çalışmalarda 0,016-13.999 µmol Trolox /g aralığında bulunmuştur (Tokbaş

2009, Gündoğdu *et al.* 2011, Ştefanut *et al.* 2011) . Karadutun antioksidan aktivitesi bazı çalışmalarda DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. IC<sub>50</sub> değeri üzerinden değerlendirme yapılan çalışmalarda 23,22-250 µg/ml olarak saptanmıştır (Sıvacı and Sökmen 2004, Mazimba *et al.* 2011).

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Karadut (*Morus nigra*) meyvesi**

Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesinden, üreticiden temin edilen 2014 yılına ait karadutlar ile çalışma yapılmıştır. Karadutlar ellişer gram tartılarak paketlenmiş ve analiz edileceği zamana kadar -24 °C’de depolanmıştır.

##### **3.1.2 Kimyasallar**

TFM tayininde kullanılan standart gallik asit, Folin Ciocalteu’s phenol ayırıcı ve sodyum karbonat Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis, MO, ABD), örnek ekstraksiyonu için kullanılan saf etil alkol, saf aseton, saf metil alkol Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

AA tayininde radikal çözeltilinin hazırlanmasında kullanılan DPPH ve Trolox standardı Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis, MO, ABD), örnek ekstraksiyonu için kullanılan saf etil alkol, saf aseton, saf metil alkol Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

Flavanoid bileşikler olan kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetinin HPLC ile analizinde daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır. Bunların standart maddeleri Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir.

Organik asitlerden sitrik asit, malik asit ve askorbik asitin HPLC ile analizinde daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır. Bunların standart maddeleri Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir.

##### **3.1.3 Çözeltiler**

Çözeltiler aksi belirtilmedikçe distile su kullanılarak hazırlanmıştır.

*Sodyum Karbonat Çözeltisi:* 35 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılarak, üzerine 100 mL damıtık su



eklendikten sonra iyice karıştırılarak bir gece bekletilmiştir. Elde edilen doymuş çözeltiye  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  kristali eklenerek kristalizasyon başlatılmıştır. Kristalizasyon tamamlanınca çözelti cam pamuktan filtre edilerek doymuş karbonat çözeltisi elde edilmiştir.

*1mM DPPH-metanol çözeltisi:* 39,433 mg DPPH tartılarak bir miktar absöü metal alkolde çözüdüürülmüştür ve daha sonra hacmi metanol ile 250 ml'ye tamamlanarak 1 mM DPPH metanol çözeltisi elde edilmiştir.

*Gallik asit stok çözeltisi:* 25 mg gallik asit 50 mL absöü etil alkolde çözüdüürülerek 500 mg/L konsantrasyonda gallik asit stok çözeltisi elde edilmiştir.

*% 80 etil alkol çözeltisi:* 80 ml absöü etil alkol, hacmi 100 ml'ye tamamlanarak % 80 etanol çözeltisi elde edilmiştir.

*% 80 metil alkol çözeltisi:* 80 ml absöü metil alkol, hacmi 100 ml'ye tamamlanarak % 80 metanol çözeltisi elde edilmiştir.

*% 80 aseton çözeltisi:* 80 ml absöü aseton, hacmi 100 ml'ye tamamlanarak % 80 aseton çözeltisi elde edilmiştir.

## **3.2 Metod**

### **3.2.1 Kimyasal Analizler**

#### **3.2.1.1 Kuru Madde Miktarı Tayini**

Karadutların kuru madde miktarı, içinde kuru hava dolaşan etüv içerisinde  $103 \pm 2$  °C' de sabit tartıma gelene kadar tutulması sonucu serbest suyunun uzaklaştırılması esasına dayanan AOAC 1984 tarafından önerilmiş yöntem ile belirlenmiştir (Ercişli and Orhan 2007).

#### **3.2.1.2 Kül Tayini**

Gıdanın yakılması sonucu geride kalan kül miktarı, gıdanın toplam mineral miktarını

ifade eder. Kül krozelerine alınan belli miktarda örnek, bek alevi üzerinde ön yakma işlemi yapıldıktan sonra kül fırınına yerleştirilmiştir. 8 saatlik yakma işlemi sonucu % ağırlık kaybı üzerinden hesaplama yapılmıştır (Cemeroğlu 2010) .

### **3.2.1.3 Ham Yağ Miktarı Tayini**

Karadutta yağ miktarı hekzan çözgeni kullanılarak Soxhelet düzeneği yardımıyla % yağ olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu 2010).

### **3.2.1.4 Protein Miktarı Tayini**

Karadutta protein miktarı Kjeldahl yöntemi ile azotlu bileşikler üzerinden, Bremner (1965) tarafından önerilen 6,25 faktörü ile çarpılarak % olarak belirlenmiştir (Koyuncu *et al.* 2014).

### **3.2.1.5 pH Tayini**

AOAC (1995) tarafından önerildiği gibi ölçümler 20°C' de potansiyometrik olarak digital pH metre ( HI-2215-02 Hanna, Germany) ile yapılmıştır (Elmacı and Altuğ 2002).

### **3.2.2 Renk Ölçümü**

Karadutların renk ölçümleri CR-400 (Konica Minolta Chroma Meter, Japan) reflektans kolorimetresi kullanılarak ölçülmüştür. Kolorimetre cihazı her kullanım öncesi beyaz seramik plakaya karşı standardize edilmiştir. CIE-L\*a\*b\*renk sistemine göre; L (100: beyaz, 0: siyah), a (+: kırmızı, -: yeşil), b (+: sarı, -: mavi) değerleri saptanmıştır (Ercişli and Orhan 2007).

### **3.2.3 Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini**

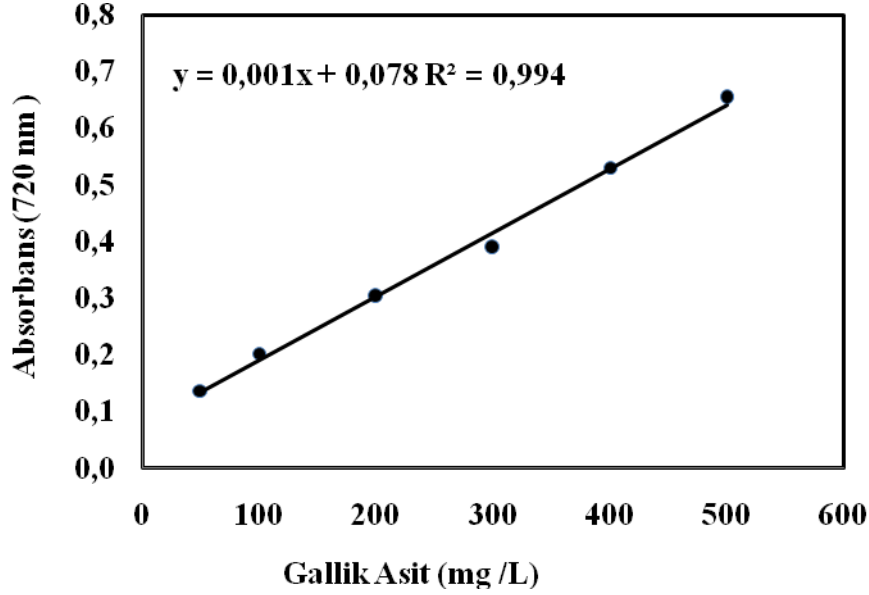
Folin-Ciocalteu çözeltisinde bulunan fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile fenolik bileşiklerin oksidasyonu sonucu oluşan mavi

renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun uygun bir dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanan Folin-Ciocalteu yöntemi ile yapılmıştır (Barut Uyar *et al.* 2013).

Karadutlarda TFM tayini Cemeroğlu (2010) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. 2 tekrarlı ekstraksiyon yapılmıştır. 50 g örnek tartılarak 100 ml çözücü ile waring blendırda yüksek devirde 2 dk homojenize edilmiştir. Sıcaklık 40 °C' yi geçmeyecek şekilde 5 dk buharlaştırma işleminin ardından Whatman 4 ile filtre edilmiştir. Üstte kalan kısım tekrar 100 ml çözücü ile yıkanarak, sıcaklık 40 °C' yi geçmeyecek şekilde 10 dk buharlaştırma işleminin ardından ikinci kez Whatman 4 ile filtre edilmiştir. Süzülen kısmın son hacminin 250 ml' ye tamamlanmasıyla örnekler analize hazır hale getirilmiştir.

100 ml'lik ölçü balonuna konulan 1 ml karadut ekstraktının üzerine 75 ml damıtık su eklenmiştir. Daha sonra, balon içeriği üzerine 5 ml Folin-Ciocalteu ayraç eklenerek balon iyice çalkalanmıştır. 3 dk. kendi haline bırakıldıktan sonra, üzerine 10 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklenip, balon 100 ml' ye tamamlanmış ve bir kez daha iyice çalkalanmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon sonunda spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer, Kyoto, Japan) aynı şekilde hazırlanmış şahide karşı 720 nm' de okuma yapılmıştır.

Karadut ekstraktlarının TFM içeriği gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Hazırlanmış olan gallik asit stok çözeltisinden 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 ve 8.0 ml alınarak her biri 10 ml'lik ölçü balonlarına aktarılmış, balonlar absöü alkol ile çizgisine tamamlanmıştır. Bu şekilde sırasıyla 50, 100, 200, 300 ve 400 mg gallik asit/L konsantrasyonda çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltilere örneklere uygulanan analiz aşamaları uygulanmıştır ve yine 720 nm dalga boyunda bu altı çözeltilinin absorbans değerleri saptanmıştır. Bu absorbans değerleri gallik asit konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak gallik asit standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır . Bu eğri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



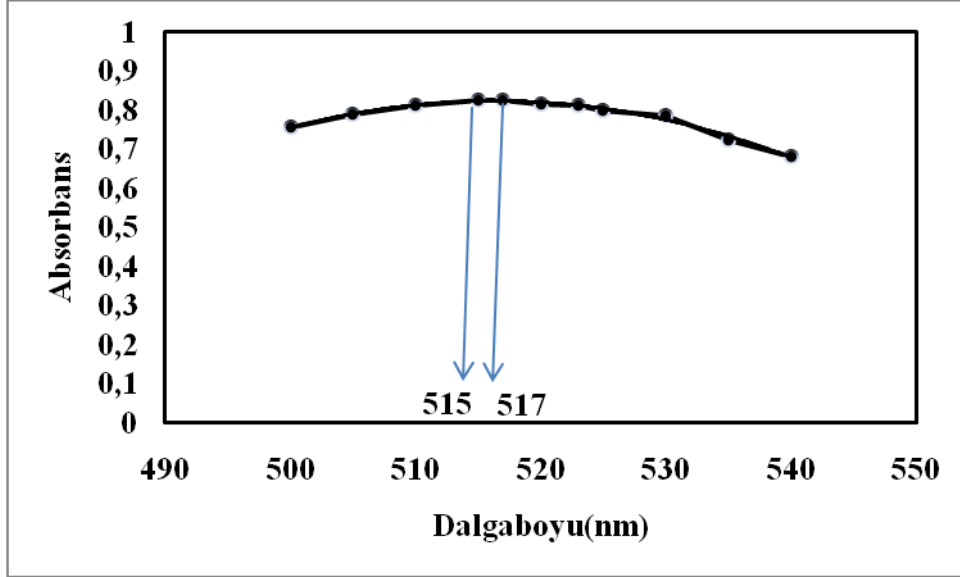
Şekil 3.1 Gallik asit standart eğrisi.

Örnekler için elde edilen absorbans değerleri gallik asit standart eğrisini tanımlayan regresyon eşitliğinde yerine konularak TFM miktarı gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.4 Antioksidan Aktivite (AA) Tayini

Antioksidan bileşiklerin mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH (2,2-di-fenil-1-pikrilhidrazil) radikalini indirgeme yeteneklerinin ölçümüne dayananan DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir. İndirgeme reaksiyonu UV-VIS spektrofotometrede radikal çözeltilisinin absorbans değerindeki değişimin izlendiği dekolorizasyon yöntemi kullanılmıştır. Yoğun mor renkli DPPH\* radikal çözeltilisi, antioksidan ativiteye sahip ekstrakt ile karıştırılınca, antioksidan bileşik ortama bir hidrojen atomu vererek stabil, radikal olmayan DPPH formuna dönüşmektedir. Bu dönüşüm esnasında yoğun mor renk (DPPH\*) kaybolmakta ve sarı renk (DPPH) oluşmaktadır. Bu renkteki değişim 515-520 nm dalgaboyunda kuvveti bir absorbsiyon göstermektedir (Cemeroğlu 2010).

Çeşitli dalga boylarında okuma yapılarak max absorbans veren dalga boyu seçilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Dalgaboyu seçimi.

DPPH-metanol çözeltisi değişik konsantrasyonlarda spektrofotometrik olarak 515 ve 517 nm’de okutularak uygun olan konsantrasyon belirlenmiştir (Çizelge 3.1):

Çizelge 3.1 DPPH konsantrasyon seçimi.

C (µM)	515 nm	517 nm
10	0,206	0,205
20	0,357	0,363
30	0,576	0,577
40	0,720	0,722
50	1,000	1,000

Örnekler saf halde ve % 80 olarak hazırlanmış metanol, etanol ve aseton çözeltileri kullanılarak altı farklı çözücü ile ekstrakte edilmiştir. Toplam fenolik madde analizinde yapılan ile aynı ekstraksiyon yapılmıştır. Antioksidan aktivitenin DPPH radikalini yakalama aktivitesi üzerinden belirlenmesinde (40mM) 100µl DPPH-metanol çözeltisi

ve 400 µl örnek ilave edilmiş ve metanol ile tamamlanmıştır. Örneklerin absorbans değerleri 20 dakikalık reaksiyon süresinden sonra, şahid olarak metanole karşı UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer, Kyoto, Japan) 517nm dalgaboyunda belirlenmiştir. DPPH radikalini yakalama aktivitesi (%) sonuçları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}})] \times 100 \quad (3.1)$$

$A_{\text{kontrol}}$  = Kontrolün absorbans,

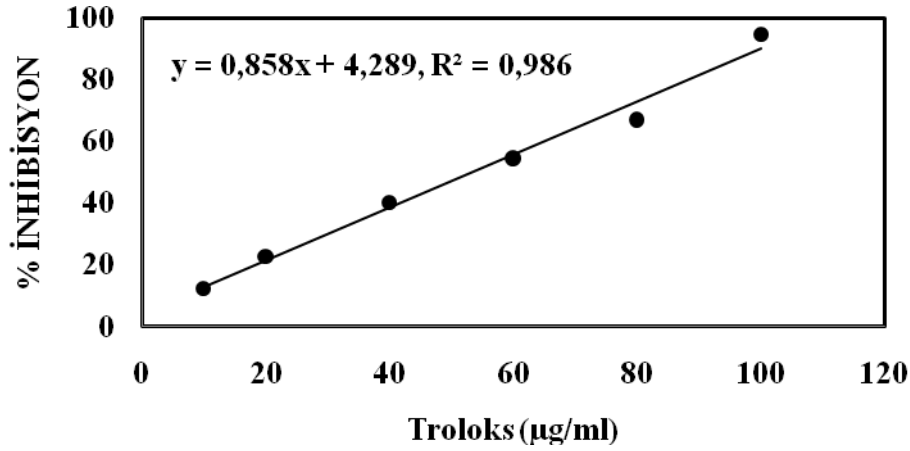
$A_{\text{örnek}}$  = Örneğin absorbansı

Değişen ekstrakt hacimlerine karşılık okunan absorbans değerlerinden yukarıdaki formül kullanılarak DPPH radikalini yakalama aktivitesi elde edilmiştir. Bu % İnhibisyon değerleri ekstrakt hacimlerine karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örnekte bulunan antioksidan bileşiklerin konsantrasyonunun DPPH radikalinin inhibisyon üzerine etki ettiği eğriyi ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Karadutlara ait  $IC_{50}$  (radikalin % 50'sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon) değerini hesaplamak için, elde edilen eşitlikten faydalanılmıştır. Düşük  $IC_{50}$  değeri yüksek antioksidan aktiviteyi ifade ettiği için değerlendirilmede genelde  $1/IC_{50}$  terimi kullanılmaktadır (Molyneux 2004, Brand-Williams *et al.* 1995).

$$IC_{50} = (a \times \text{örnek miktarı}) + b \quad (3.2)$$

$$\text{Örnek miktarı} = (50 - b) / a$$

Ayrıca örneklerin antioksidan aktivitesi, Troloks'un (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) DPPH radikalini indirgeme özelliğine göre hesaplanmıştır. Troloksa ilişkin % İnhibisyon grafiği Şekil 3.3'te görülmektedir. % İnhibisyon değeri, yine aynı eşitlikten hesaplanmıştır.



Şekil 3.3 Standart troloks eğrisi.

Elde edilen bu eğriden faydalanılarak antioksidan miktarları “µmol trolox/ g karadut” cinsinden hesaplanmıştır.

### 3.2.5 Bazı Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi

Karadutlarda kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin bileşiklerinin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında “yüksek performanslı sıvı kromatografi” cihazından (HPLC Shimadzu-Prominence 10A-Japan) yararlanılmıştır. HPLC cihazı; Shimadzu marka LC 10AD pompa ve SPD-M20A model DAD dedektör (max 278 nm’de) ve CTO-10Avp model kolon fırınından oluşmaktadır. Analit ve standartların kromatografik ayrımlarında Agilent Eclipse XDB-C18 (250x4.60 mm, 5 µm) kolon kullanılmıştır. Bu amaçla, Chen vd. (2001) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Mobil faz olarak metil alkol (HPLC grade, B) ve % 3’lük asetik asit/ultra saf su (A) Çizelge 3.2’deki mobil faz gradiyent sistemi pompa programı kullanılarak uygulanmıştır. Analiz boyunca mobil faz akış hızı 0,8 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. Numune ve standartlar cihaza 20 µl olarak enjekte edilmiştir. Kolon sıcaklığı ise 30°C’ye ayarlanmıştır.

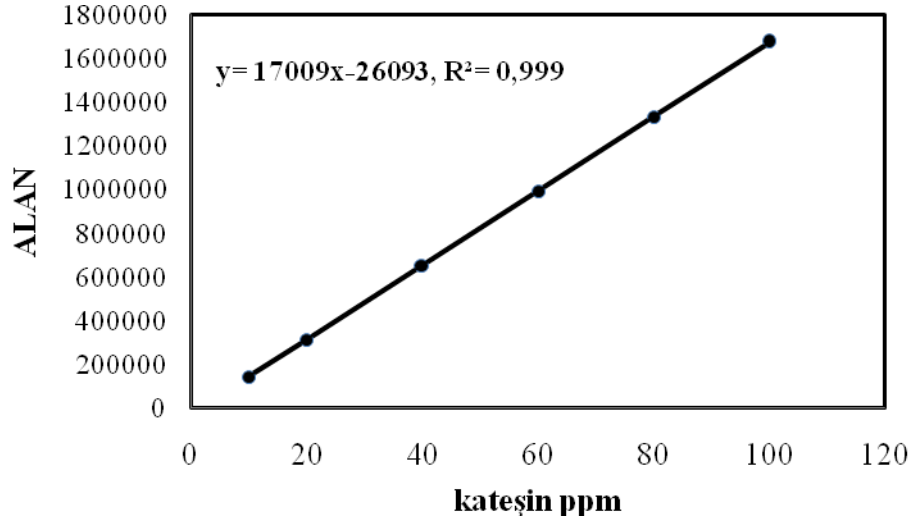
**Çizelge 3.2** HPLC analizlerindeki mobil faz gradiyent sistemi.

Süre (dk)	% A	% B
0	93	7
20	72	28
28	75	25
35	70	30
50	70	30
60	67	33
62	58	42
70	50	50
73	30	70
75	20	80
80	0	100
81	93	7

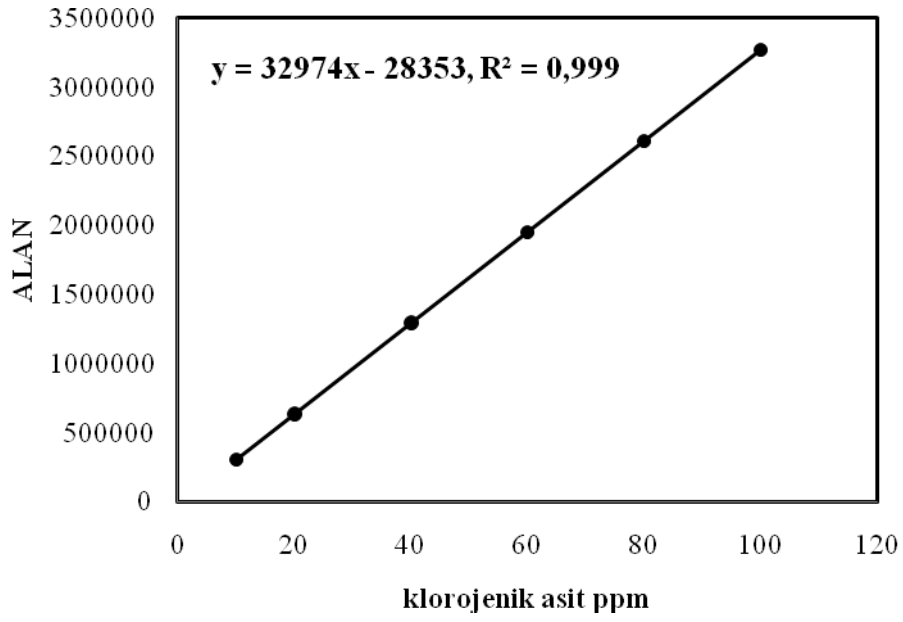
Analizde kullanılan kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin standartlarının her biri 1000 ppm olacak şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 100, 80, 60, 40, 20 ve 10 ppm'lik derişimlerde seyreltme metodu ile elde edilen çözeltileri kullanarak, her bir standart için kalibrasyon grafikleri ve regresyon doğruları çizilmiştir. Standart stok çözeltileri dört paralel olarak hazırlanmış olup, kalibrasyon grafikleri paralellerin ortalamaları alınarak çizilmiştir. Kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin standartlarına ait kalibrasyon grafikleri Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de gösterilmiştir.

Numunedeki miktarlar ise LC-Solution yazılımı ile değerlendirilmiştir. Yapılan HPLC analizinde kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin standartlarına ait HPLC kromatogramları Ek 1'de gösterilmiştir.

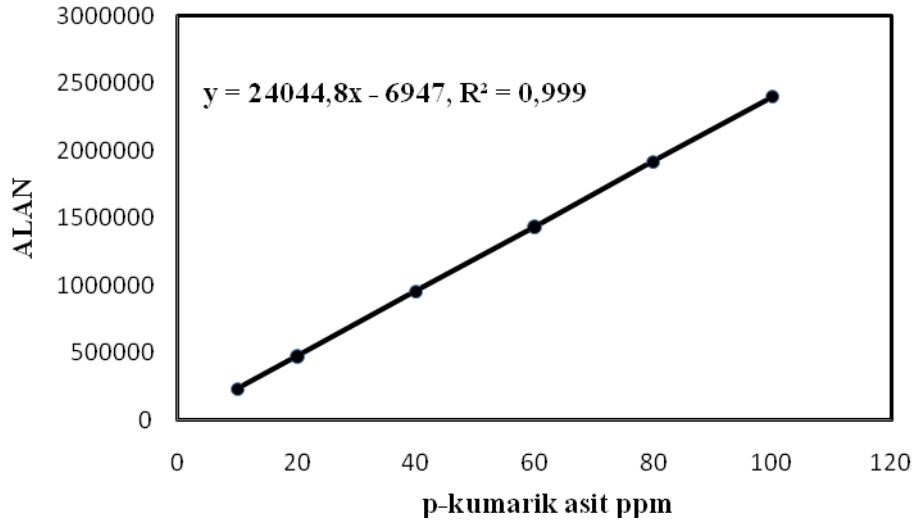




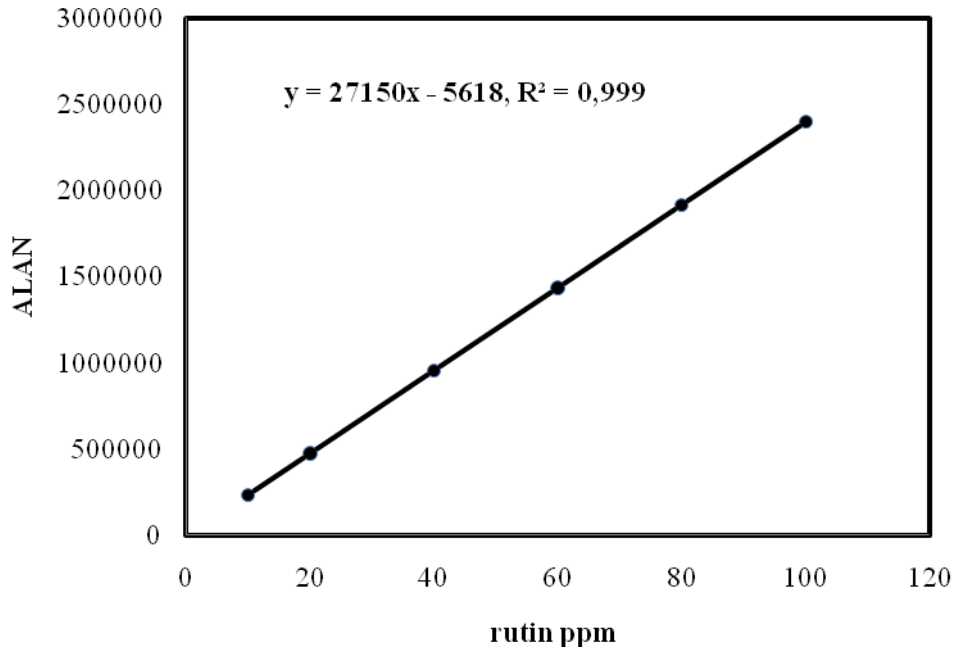
Şekil 3.4 Kateşin standardı için kalibrasyon grafiği.



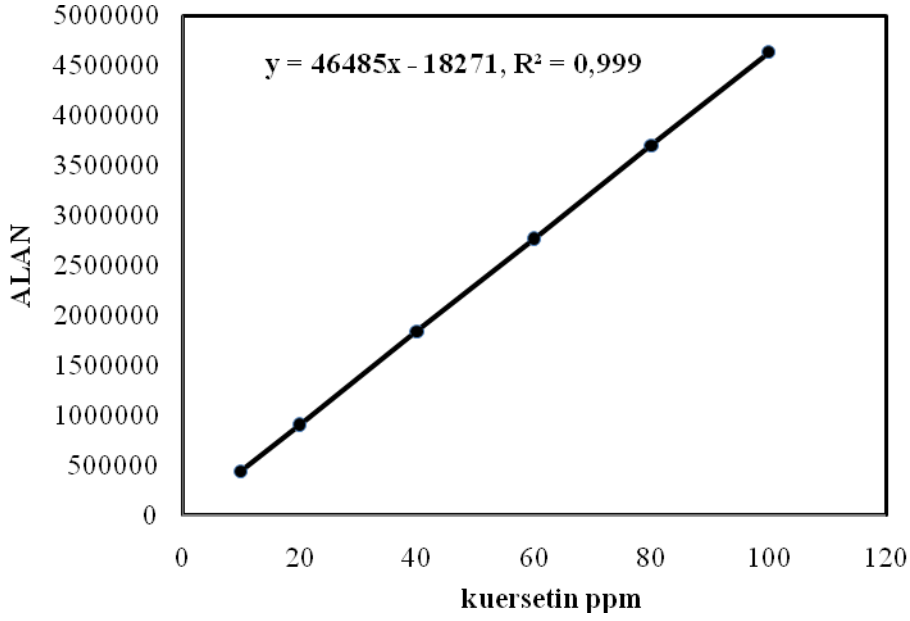
Şekil 3.5 Klorojenik asit standardı için kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.6 p-kumarik asit standardı için kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.7 Rutin standardı için kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.8 Kuersetin standardı için kalibrasyon grafiği.

### 3.2.5.1 HPLC İçin Örnek Ekstraksiyonu

Örnek 10 g tartılıp üzerine 50 ml metanol eklenerek, homojenizatörde 3 dk homojenize edildikten sonra 1 saat ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Kaba filtre kağıdı ile süzülüp evapore edilmiştir. Son hacim 5 ml'ye metanolla tamamlanarak çözeltinin 20 mikrolitresi HPLC'ye enjekte edilmiştir. Hazırlanan ekstraktlar HPLC cihazına enjekte edilmeden önce 0.45 µm gözenek büyüklüğüne sahip PTFE filtreden (Merck Milipore, İrlanda) geçirilmiştir.

Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadut örneklerindeki kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin bileşiklerini gösteren HPLC kromatogramları Ek 2'de gösterilmiştir.

### 3.2.6 Bazı organik asitlerin HPLC ile Analizi

Karadutlardaki sitrik asit, malik asit ve askorbik asit tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında "yüksek performanslı sıvı kromatografi" cihazından (HPLC Shimadzu-Prominence 10A-Japan) yararlanılmıştır. HPLC cihazı; Shimadzu marka LC

20AT pompa ve SPD-10Avp model UV-VIS dedektör (210 nm'de) ve CTO-10Asp model kolon fırınından oluşmaktadır. Analit ve standartların kromatografik ayrımları Luna C18 (250 x 4,6 mm) 5µm kolon ile yapılmıştır. Bu amaçla, Koyuncu (2004b) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Mobil faz olarak 0.05 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> distile suda pH değeri NaOH kullanılarak 2,2 ye ayarlanarak kullanılmıştır. Analiz boyunca mobil faz akış hızı 0,8 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. Numune ve standartlar cihaza 20 µl olarak enjekte edilmiştir. Kolon sıcaklığı ise 30°C'ye ayarlanmıştır.

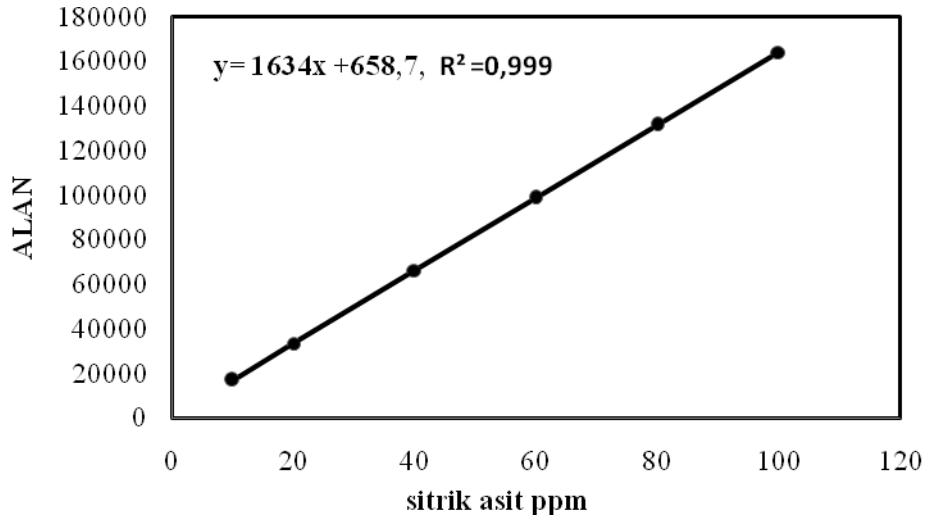
Sitrik asit, malik asit ve askorbik asit standartlarının her biri 1000 ppm olacak şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 100, 80, 60, 40, 20 ve 10 ppm'lik derişimlerde seyreltme metodu ile elde edilen çözeltileri kullanılarak, her bir standart için kalibrasyon grafikleri ve regresyon doğruları çizilmiştir. Standart stok çözeltileri dört paralel olarak hazırlanmış olup, kalibrasyon grafikleri paralellerin ortalamaları alınarak çizilmiştir. Sitrik asit, malik asit ve askorbik asit standartlarına ait kalibrasyon grafikleri Şekil 3.9, Şekil 3.10 ve Şekil 3.11'de gösterilmiştir.

Numunedeki miktarlar ise LC-Solution yazılımı ile değerlendirilmiştir. Yapılan HPLC analizinde sitrik asit, malik asit ve askorbik asit standartlarına ait HPLC kromatogramları Ek 3'te gösterilmiştir.

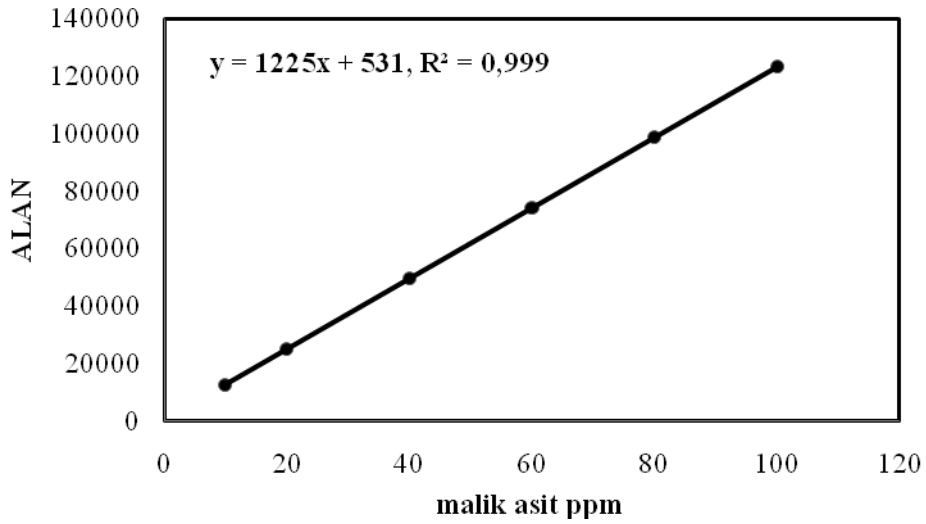
### **3.2.6.1 HPLC İçin Örnek Ekstraksiyonu**

Süpelco C18 katı faz kartuşu önce 3 mL metanol ile şartlanmış daha sonra 10 mL saf su ile yıkanmıştır. 10 g tartılan karadut numunesi 25 mL % 2' lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ile homojenize edilip, kaba filtre kağıdı ile süzölmüştür. Üst fazın 1 mililitresi, 3 mL ekstraksiyon çözeltisi ile seyreltilmiştir. Ekstraksiyon çözeltisi olarak pH'sı 8,00'e ayarlanmış olan 0,01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözeltilerin 1 mililitresi, kartuştan geçirilmiş ve eluat bir tüpe alınmıştır. Kartuş, 2 mL ekstraksiyon çözeltisi ile yıkanmıştır. Eluatlar birleştirilmiş ve enjeksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde HPLC'ye uygulanmıştır.

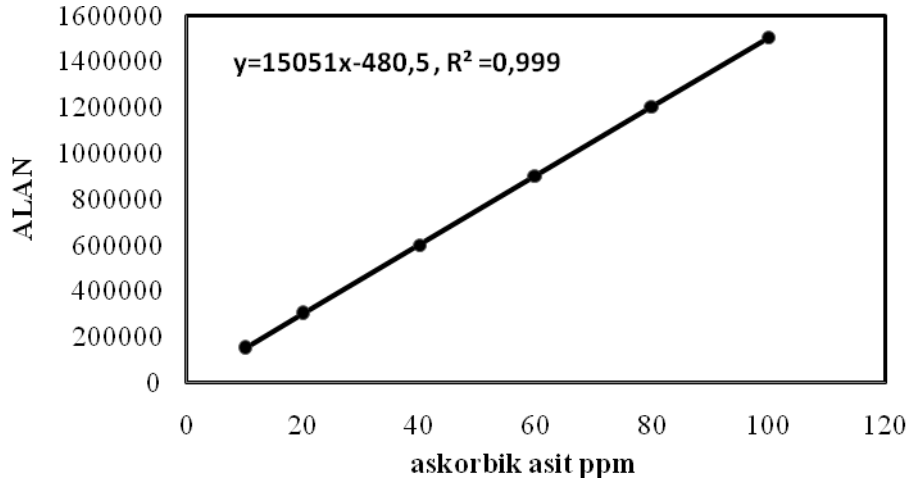
Mersin Anamur ilçesi ve Afyon Çay ilçesine ait karadut örneklerindeki sitrik asit, malik asit ve askorbik asit miktarını gösteren HPLC kromatogramları Ek 4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.9 Sitrik asit standardı için kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.10 Malik asit standardı için kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.11 Askorbik asit standardı için kalibrasyon grafiği.

### 3.3 İstatistiksel Analiz

Tüm analizler paralelli olarak yürütülmüş ve sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası şeklinde verilmiştir. Analiz sonuçları IBM SPSS Statistics 20.0 istatistik analiz paket programından faydalanılarak çok yönlü varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar çizelgeler şeklinde verilmiştir ve daha önceden yapılmış benzer çalışmalardaki sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma esnasında o çalışmalarda kullanılan farklı birimlerle karşılaştırıldığında, bu çalışmada kullanılan birimler ile benzer olması için her analiz için ekstraksiyon aşamasında kullanılan miktarlar üzerinden birim çevirmesi yapılmıştır.

##### 4.1 Kimyasal Analizler

2014 yılında hasat edilen Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutların bazı kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1** Karadutun bazı kimyasal özellikleri\*.

<b>Karadutlar</b>	<b>Kurumadde (%)</b>	<b>Kül (%)</b>	<b>Yağ (%)</b>	<b>Protein (%)</b>	<b>pH</b>
Mersin Anamur	13,45±0,17	0,64±0,02	0,72±0,02	1,28±0,02	3,63±0,16
Afyonkarahisar Çay	17,61±0,04	0,89±0,00	0,72±0,01	1,79±0,01	3,76±0,03

\*Ortalama (n=2) ± standart sapma.

Literatür verileri incelendiğinde, kuru madde miktarının % 15-22 aralığında (Göğüş *et al.* 2011) olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada % 17,60 olarak bulunmuştur (İmran *et al.* 2010). Diğer bir çalışmada ise % 12,5 olarak bulunmuştur (Tarko *et al.* 2014). Bu çalışmada, Mersin Anamur ilçesine ait karadutta % 13,45 ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise % 17,61 olarak saptanmış olup, literatürdeki veriler ile benzerlik göstermektedir.

Kül miktarı Mersin Anamur ilçesine ait karadutta % 0,64 ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise % 0,89 olarak bulunmuştur. Özdemir ve Topuz’a göre karadutta kül miktarının % 0,63-1,04 aralığında olduğu belirtilmiştir (Hepsağ *et al.* 2012). Kül analizinde elde edilen sonuçlar da verilen aralıkta yer almaktadır.

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi Mersin Anamur ilçesine ait karadutun % 1,28 ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutun ise % 1,79 oranında protein içerdiği saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada % 2,08 olarak bulunmuştur (Sanchez-Salcedo *et al.*

2015). Akbulut vd. (2006) ise çalışmasında % 2,64 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmadaki protein miktarı bu değerlerden daha az bulunmuştur. Cemeroğlu vd. (2009) meyvelerin azotlu bileşik içeriğini % 0,2-1 aralığında belirttiği için protein aralığının % 1,25-6,25 olması beklenmektedir ve sonuçlarımız bu aralıkta yer almaktadır.

Yağ miktarı ise Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutların her ikisinde de % 0,72 olarak saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada % 2,5 olarak rapor edilmiştir (Akbulut *et al.* 2006). İmran vd. (2010) yaptığı çalışmada yaklaşık % 2,75 olarak tespit etmiştir. Ercişli ve Orhan (2007) yaptığı çalışmada bu çalışmadaki gibi daha düşük (% 0,95) bulmuştur. Cemeroğlu vd. (2009) taze meyvelerde yağ miktarının % 0,1-0,3 aralığında olduğundan bahsetmiştir. Hem bu çalışmada hem de önceden yapılmış olan çalışmalarda daha yüksek (% 0,95-2,75) bulunmuştur.

Literatür incelendiğinde karaduta ait pH değerinin 3,30-5,65 aralığında değiştiği rapor edilmiştir (Koyuncu 2004a, Akbulut *et al.* 2006, Ercişli and Orhan 2007, 2008, İmran *et al.* 2010, Hepsağ *et al.* 2012, Kara and Erçelebi 2013). Çalışmamızda saptanan pH değerleri literatürdeki veriler ile benzerlik göstermektedir.

#### **4.2 Renk Ölçümü**

Karadutlar için reflektans renk ölçümleri Çizelge 4.2 'de verilmiştir. Yapılan çalışmada incelenen Mersin Anamur ilçesine ait karadutun L\* (0, siyah; 100, beyaz) değeri 16,41, a\* (+ kırmızı, -yeşil) değeri 8,64 ve b\* (+, sarı; -, mavi) değeri 2,05 olarak; Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutun ise L\* (0, siyah; 100, beyaz) değeri 12,84 a\* (+ kırmızı, -yeşil) değeri 8,13 ve b\* (+, sarı; -, mavi) değeri 2,73 olarak belirlenmiştir.



**Çizelge 4.2** Karadutun renk değerleri\*.

<b>Karadutlar</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>B</b>
Mersin Anamur	16,41±0,64	8,64±0,87	2,05±0,27
Afyonkarahisar Çay	12,84±1,88	8,13±1,08	2,73±0,53

\*Ortalama (n=6) ± standart sapma.

Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutlarda belirlenen L\* değeri Ercişli ve Orhan (2007, 2008), Özgen vd. (2009), Tokbaş (2009) tarafından yapılan araştırmalarda saptanan bulgularla benzerlik göstermiştir. Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutlarda belirlenen a\* değeri Ercişli ve Orhan (2008), Koyuncu (2004a) tarafından yapılan araştırmalarda saptanan bulgularla benzerlik gösterirken, Özgen vd. (2009) ve Tokbaş (2009) tarafından elde edilen bulgulardan ise farklı bulunmuştur. Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutlarda belirlenen b\* değerinin (Ercişli and Orhan 2007, 2008) Özgen vd. (2009) ve Koyuncu (2004a) tarafından yapılan araştırmalarda saptanan bulgularla benzerlik aralıkta olduğu, Tokbaş (2009) tarafından elde edilen bulgulardan farklı olduğu görülmüştür.

### **4.3 Karadutlarda Toplam Fenolik Madde Miktarı**

2014 yılına ait Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesinden elde edilen karadutlarda saf ve % 80 metanol çözeltisi kullanılarak belirlenen TFM (mg GAE/L) miktarları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Hem Mersin Anamur ilçesi hem de Afyonkarahisar Çay ilçesine ait olan her iki karadutta da saf metanol ile ekstrakte edildiğinde TFM miktarı daha yüksek bulunmuştur.

**Çizelge 4.3** Karadutun Toplam Fenolik Madde (TFM, mg GAE/L) Miktarları\*.

<b>Karadutlar</b>	<b>Saf Metanol ile TFM</b>	<b>% 80 Metanol ile TFM</b>
	<b>Esktraktı (mg GAE/L)</b>	<b>Ekstraktı (mg GAE/L)</b>
Mersin Anamur	1416±34	1169±17
Afyonkarahisar Çay	1172±29	1091±45

\*Ortalama (n=3) ± standart sapma.

Literatürdeki veriler incelendiğinde farklı TFM sonuçları ile karşılaşılmıştır. TFM

miktarı sonuçları 114-4474 mg GAE/L aralığında rapor edilmiştir (Zadernowski *et al.* 2005, Akbulut *et al.* 2006, Ercişli and Orhan 2007, 2008, Kutlu *et al.* 2011, Özgen *et al.* 2009, İmran *et al.* 2010, Ştefanut *et al.* 2011, Kara and Erçelebi 2013).

Kutlu v.d (2011) üç farklı çözücü kullandığı çalışmasında TFM sonuçlarını 332-555 mg GAE/L olarak bulmuştur. % 70 metanol ekstraktında en yüksek (555 mg GAE/L) değeri saptamıştır. Bu çalışmada ise % 80 metanol ekstraktında TFM miktarı 1091 ve 1169 olarak elde edilmiştir.

Sanchez-Salcedo vd. (2015) karadutları % 1 formik asit ile asitlendirilmiş % 80 metanol ile ekstrakte ettikleri çalışmada TFM miktarını 280-544 mg GAE/L aralığında bulmuştur. Başka bir çalışmada ise % 80 metanol ile ekstrakte edilen karadutta TFM miktarı 1138,32 mg GAE/L olarak gözlemlenmiştir (Zadernowski *et al.* 2005). Zadernowski vd. (2005)'nin çalışma sonucu ile analiz sonuçlarımız benzerlik göstermektedir.

Sonuçlar arasında fazlaca farklılık görülmesinin ekim alanı, ekim şartları, ekolojik koşullar ve genetik farklılıklardan kaynaklandığından bahsedilmektedir (Hakkinen and Torronen 2000, Scalzo *et al.* 2005). Ama bunun yanı sıra bazı çalışmalar farklı çözücüler kullanarak veya farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanarak sonuçları karşılaştırmaya yönelik yapılmıştır (Kutlu *et al.* 2011, Memon *et al.* 2010). Karadutta ile ilgili bir makalede çözücülerin farklı polaritede olmasının TFM miktarı üzerinde etkili olduğundan bahsedilmiştir (Kutlu *et al.* 2011).

#### **4.4 Karadutlarda DPPH ile Antioksidan Aktivite (AA) Tayini**

Karadutların AA'leri DPPH yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4 ve 4.5'te gösterilmiştir.

DPPH yöntemi ile karadutlardan elde edilen fenolik bileşiklerin serbest radikal yakalama aktiviteleri (% scavenging activity) % 27-87 arasında değişim göstermiştir ve farklı ekstraktların sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ). Mersin Anamur ilçesine ait karadutta en yüksek AA saf metanol ile ekstrakte edilmiş (% 79)

karadutta, en düşük AA ise % 80 etanol ile ekstrakte edilmiş (% 52) karadutta gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise en yüksek AA'yi saf metanol ile ekstrakte edilmiş (% 87) karadut, en düşük AA'yi ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (% 27) karadut göstermiştir (Çizelge 4.5).

Diğer taraftan karadutların DPPH ile IC<sub>50</sub> ve AE değerleri saptanmıştır ve farklı ekstraktların sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05). Karadutlar ede edilen fenolik bileşiklere ait IC<sub>50</sub> değerleri 10,078-31,268 mg ve AE değerleri 0,032-0,099 (1/ mg) arasında değişim göstermiştir. Mersin Anamur ilçesine ait karadutta en yüksek AE değerini saf aseton ile ekstrakte edilmiş (0,099 1/mg) karadutta, en düşük değerini ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (0,049/mg) karadutta; en düşük IC<sub>50</sub> değerini saf aseton ile ekstrakte edilmiş (10,078 mg) karadutta, en yüksek değerini ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (20,344 mg) karadutta gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise en yüksek AE değerini saf metanol ile ekstrakte edilmiş (0,095 1/mg) karadut, en düşük değerini ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (0,032 1/mg) karadut; en düşük IC<sub>50</sub> değerini saf metanol ile ekstrakte edilmiş (10,537 mg) karadutta, en yüksek değerini ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (31,268 mg) karadut göstermiştir (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.4** Mersin Anamur ilçesine ait karadutta antioksidan aktiviteler\*.

<b>Karadut ekstraktları</b>	<b>Antioksidan Aktivite (% DPPH)</b>	<b>AE=1/ IC<sub>50</sub> (1/ mg)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mg)</b>	<b>DPPH (µmol Troloks/ g karadut)</b>
<b>Saf metanol</b>	79±0,56 <sup>a</sup>	0,085± 0,01 <sup>a</sup>	11,722±0,98 <sup>c</sup>	1,742±0,01 <sup>b</sup>
<b>% 80 metanol</b>	59±0,57 <sup>c</sup>	0,055±0,01 <sup>c</sup>	18,077±2,54 <sup>b</sup>	1,275±0,01 <sup>d</sup>
<b>Saf etanol</b>	52±0,39 <sup>d</sup>	0,049±0,01 <sup>c</sup>	20,344±2,70 <sup>a</sup>	1,112±0,02 <sup>e</sup>
<b>% 80 etanol</b>	78±0,11 <sup>a</sup>	0,077±0,01 <sup>b</sup>	12,991±0,34 <sup>c</sup>	1,718±0,01 <sup>a</sup>
<b>Saf aseton</b>	76±0,17 <sup>b</sup>	0,099±0,02 <sup>a</sup>	10,078±2,13 <sup>c</sup>	1,672±0,02 <sup>c</sup>
<b>% 80 aseton</b>	75±0,21 <sup>b</sup>	0,073±0,01 <sup>b</sup>	13,733±0,75 <sup>c</sup>	1,648±0,02 <sup>c</sup>

\*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05). Ortalama (n=2) ± standart sapma.

Ayrıca, karadutların AA'si, Troloks'un DPPH radikalini indirgeme özelliğine göre de

hesaplanmıştır ve farklı ekstraktların sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ). Buna göre, fenolik bileşiklerin AA'leri 0,529-1,928  $\mu\text{mol Troloks/g}$  karadut aralığında değişim göstermiştir. Mersin Anamur ilçesine ait karadutta en yüksek AA saf metanol ile ekstrakte edilmiş (1,742  $\mu\text{mol Troloks/g}$  karadut) karadutta, en düşük AA ise % 80 metanol ile ekstrakte edilmiş (1,112  $\mu\text{mol Troloks/g}$  karadut) karadutta gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise en yüksek AA'yi saf metanol ile ekstrakte edilmiş (1,928  $\mu\text{mol Troloks/g}$  karadut) karadut, en düşük AA'yi ise saf etanol ile ekstrakte edilmiş (0,529  $\mu\text{mol Troloks/g}$  karadut) karadut göstermiştir (Çizelge 4.5).

Literatürdeki veriler incelendiğinde, analiz aşamasındaki farklılıklardan dolayı DPPH radikalini yakalama aktivitesinde % AA olarak sonuçlar geniş bir aralıkta bulunmaktadır. Kutlu vd. (2011)'ne göre % 50-80 aralığında, Ercişli ve Orhan (2008)'a göre ise % 63-76 aralığında olduğu gözlemlenmiştir Başka bir çalışmada ise % 91 olarak rapor edilmiştir (Kara and Erçelebi 2013).

**Çizelge 4.5** Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta antioksidan aktiviteler\*.

<b>Karadut ekstraktları</b>	<b>Antioksidan Aktivite (% DPPH)</b>	<b>AE=1/ IC<sub>50</sub> (1/ mg)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mg)</b>	<b>DPPH (<math>\mu\text{mol Troloks/g}</math> karadut)</b>
<b>Saf metanol</b>	87±0,15 <sup>a</sup>	0,095±0,01 <sup>a</sup>	10,537±0,22 <sup>c</sup>	1,928±0,01 <sup>a</sup>
<b>% 80 metanol</b>	48±0,80 <sup>b</sup>	0,034±0,00 <sup>c</sup>	29,825±1,52 <sup>a</sup>	1,019±0,01 <sup>b</sup>
<b>Saf etanol</b>	27±0,12 <sup>e</sup>	0,032±0,01 <sup>c</sup>	31,268±1,96 <sup>a</sup>	0,529±0,01 <sup>e</sup>
<b>% 80 etanol</b>	45±0,03 <sup>c</sup>	0,040±0,00 <sup>b</sup>	24,818±0,63 <sup>b</sup>	0,949±0,03 <sup>c</sup>
<b>Saf aseton</b>	42±0,06 <sup>d</sup>	0,043±0,01 <sup>b</sup>	23,333±1,08 <sup>b</sup>	0,879±0,02 <sup>d</sup>
<b>% 80 aseton</b>	48±0,10 <sup>b</sup>	0,043±0,01 <sup>b</sup>	23,457±0,57 <sup>b</sup>	1,019±0,02 <sup>b</sup>

\*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ). Ortalama (n=2) ± standart sapma.

Literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında, bu çalışmada IC<sub>50</sub> değeri yüksek, AE değeri ise düşük bulunmuştur. IC<sub>50</sub> değeri, bir çalışmada 2,32-250  $\mu\text{g}$  aralığında saptanmıştır (Sıvacı and Sökmen 2004, Mazimba *et al.* 2011).

AA Troloks üzerinden incelendiğinde, Sánchez-Salcedo vd. (2015) çalışmalarında

2,893-10,316  $\mu\text{mol/g}$  aralığında olduğunu rapor etmiştir. 0,529-1,928  $\mu\text{mol/g}$  aralığında bulduğumuz sonuçlar bu makalenin verdiği aralıkta sayılabilir.

#### 4.5 Bazı Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi

HPLC kullanılarak karadutlarda bulunan en yaygın fenolik bileşiklerden olan kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin tespit edilmiş ve bu bileşenlerin miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ) Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

Basit fenolik bileşiklerden yüksek polimerize bileşiklere kadar değişen tarzda bileşikler bulunmaktadır. Doğal olarak bulunan fenolik bileşikler genellikle mono, oligo ve polisakkaritlerle konjugat oluşturmuş haldedir, bununla birlikte esterler gibi fonksiyonel türevleri de bulunmaktadır.

**Çizelge 4.6** Karadutlarda bulunan bazı fenolik bileşiklerin miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )\*.

<b>Karadutlar</b>	<b>Kateşin</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>Klorojenik asit</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>Rutin</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>p-kumarik asit</b> ( $\mu\text{g/g}$ )	<b>Kuersetin</b> ( $\mu\text{g/g}$ )
Mersin Anamur	162,2	146,4	1,3	133,6	6,5
Afyonkarahisar Çay	9,5	246,6	0,9	52,9	1,7

\*İki paralel olarak çalışılmıştır ve sonuçlar ortalama değer olarak verilmiştir.

Çalışmamızda fenolik bileşenlerin miktarları çoktan aza doğru Mersin Anamur ilçesine ait karadutta kateşin, klorojenik asit, p-kumarik asit, kuersetin ve rutin miktarı sırasıyla 162,2  $\mu\text{g/g}$  , 146,4  $\mu\text{g/g}$  , 133,6  $\mu\text{g/g}$  , 6,5  $\mu\text{g/g}$  ve 1,3  $\mu\text{g/g}$  olarak; Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta klorojenik asit, p-kumarik asit, kateşin kuersetin ve rutin miktarı sırasıyla 246,6  $\mu\text{g/g}$  , 52,9  $\mu\text{g/g}$  , 9,5  $\mu\text{g/g}$  , 1,7  $\mu\text{g/g}$  ve 0,9  $\mu\text{g/g}$  olarak saptanmıştır. Mersin Anamur ilçesine ait karadutta baskın olan iki fenolik bileşik kateşin ve klorojenik asit, Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise baskın olan fenolik bileşik klorojenik asit olarak tespit edilmiştir.

Gündoğdu vd. (2011)’nin yaptığı çalışmada en baskın olan fenolik bileşenin klorojenik asit olduğu belirtilmiştir. Fenolik bileşenlerin miktarları sırasıyla klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin ve kateşin miktarı sırasıyla 3106, 1423, 129, 113,75  $\mu\text{g/g}$  olarak saptanmıştır.

Karadutta bulunan klorojenik asit miktarı literatürde incelendiğinde 44,1-74,4 µg/g aralığında (Memon *et al.* 2010) ve 70-636 µg/g aralığında (Sanchez-Salcedo *et al.* 2015) sonuçlar yer almaktadır.

Karadutta bulunan rutin miktarı literatürde incelendiğinde 76,87 µg/g (tam olgunlaşmış) ve 47,80 µg/g (yarı olgunlaşmış) olarak rapor eden bir çalışma bulunmaktadır (Aydın *et al.* 2011).

Karadutta bulunan kateşin miktarı ile ilgili çalışma sayısı az olup, bir çalışmada 75 µg/g olarak bulunmuştur (Gündoğdu *et al.* 2011).

Karadutta bulunan p-kumarik asit miktarı literatürde incelendiğinde, Memon vd. (2010) tarafından 22,7-86,6 µg/g , Sanchez-Salcedo vd. (2015) tarafından ise 4-8 µg/g aralığında tespit edilmiştir. Zaderowski vd. (2005) yaptığı çalışmada p-kumarik asit miktarını toplam fenolik asit içeriğinde 569,16 µg/g, serbest fenolik içeriğinde 103,5 µg/g ve çözünebilen esterlerden serbest kalan fenolik asit içeriğinde ise 4,38 µg/g olarak rapor etmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı üzere incelenen fenolik bileşiğin yapısı ve hangi formda bulunduğu sonucu etkilemektedir.

Karadutta bulunan kuersetin miktarı literatürde incelendiğinde 10-186 µg/g aralığında (Sanchez-Salcedo *et al.* 2015), 0,02 µg/g (tam olgunlaşmış) ve 0,2 µg/g (yarı olgunlaşmış) olarak (Aydın *et al.* 2011), 32,9 µg/g olarak (Pawlowska *et al.* 2008) saptanmıştır.

Bazı fenolik asitlerin antioksidan aktivitelerinin incelendiği çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, antioksidan aktivitelerinin yüksek olmasında aromatik halkaya bağlı hidroksil grubu sayısı, bu hidroksil gruplarının orto, para, meta pozisyonlarından hangisinde bulunduğu ve aromatik halkaya bağlı birbirleriyle ilişkileri açısından hangi konumda olduğu önemli olan hidroksil grubu sayısının etkili olduğu görülmüştür. Ama en önemli etkenin hem aromatik halkaya bağlı olan hidroksil grubu sayısının hem de bu grupların sırasıyla orto, para, meta pozisyonda olmaları olduğu belirtilmiştir (Sroka and Cisowski 2003).

#### 4.6 Bazı Organik Asitlerin HPLC ile Analizi

Karadutlarda en baskın olarak bulunan organik asitlerden malik asit ve sitrik asit ile beraber askorbik asit miktarı HPLC cihazında standart maddeler yardımıyla tespit edilmiş ve miktarları mg/g olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Yapılan çalışmada Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta en baskın organik asit sitrik asit olarak bulunmuştur. Mersin Anamur ilçesine ait karadutta sitrik asit, malik asit ve askorbik asit miktarı sırasıyla 6,758 mg/g, 1,023 mg/g, ve 0,036 mg/g olarak; Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta sitrik asit, malik asit ve askorbik asit miktarının sırasıyla 9,808 mg/g, 0,728 mg/g, ve 0,010 mg/g olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.7** Karadutlarda bulunan bazı organik asitlerin miktarları (mg/ g)\*.

<b>Karadutlar</b>	<b>Malik asit (mg/ g)</b>	<b>Sitrik asit (mg/ g)</b>	<b>Askorbik asit (mg/ g)</b>
Mersin Anamur	1,023	6,758	0,036
Afyonkarahisar Çay	0,728	9,808	0,010

\*İki paralel olarak çalışılmıştır ve sonuçlar ortalama değer olarak verilmiştir.

Gündoğdu vd. (2011)’nin yaptığı çalışmada en baskın olan organik asit malik asit olarak bulunmuştur. Malik asit miktarı 13,23 mg/g, sitrik asit miktarı ise 10,84 mg/g olarak rapor edilmiştir. Ercişli ve Orhan (2008) ‘a göre malik asit miktarı 123-218 mg/g ve sitrik asit miktarı 21-41 mg/g aralığındadır. Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutlarda organik asitler bu çalışmalara göre daha az bulunmuştur.

Tokbaş (2009)’ın çalışmasında ise hakim asit (% 82) sitrik asit olarak tespit edilmiş ve sitrik asit miktarı 17,0 mg/g, malik asit miktarı ise 1,4 mg/g olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Özgen vd. (2009) de çalışmasında sitrik asitin (% 92) baskın asit olduğundan bahsetmiştir.

Askorbik asit miktarı çok düşük (0,010 ve 0,036 mg/g) bulunmuştur. İmran vd. (2010) yaptığı çalışmada askorbik asit miktarını 0,154 mg/g olarak elde etmiştir. Yapılan bir

Çalışmada ise askorbik 0,113 olarak (Günderü *et al.* 2011). Koyuncu (2004b) ise 0,003-0,010 mg/g olarak bulmuştur.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kullanılan karadutlar Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesinden temin edilmiştir. 2014 yılına ait karadutların bazı kimyasal özellikleri, renk ölçümleri, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri bu çalışma kapsamında belirlenmiştir. Ayrıca, karadutta bulunan en yaygın fenolik bileşikler ve buna ek olarak en baskın olarak bulunan organik asitlerin miktarları HPLC analizi ile saptanmıştır.

Araştırmada kullanılan karadutların bazı kimyasal özelliklerinden kuru madde, kül, ham yağ, protein, pH analizleri yapılmıştır. Ayrıca, reflektans renk ölçümleri saptanmıştır. TFM miktarları belirlenirken karadutlar iki ayrı çözücü (Saf metanol ve % 80 metanol çözeltisi) ile ekstrakte edilerek sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde DDPH yöntemi kullanılmıştır. DPPH yönteminde sonuçlar % AA, IC<sub>50</sub>, 1/IC<sub>50</sub> değeri ve Troloks üzerinden AA verilmiştir. HPLC kullanılarak karadutlarda bulunan en yaygın fenolik bileşiklerden olan kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin tespit edilmiş ve bu bileşiklerin miktarları µg/g biriminden ifade edilmiştir. Ayrıca karadutlarda en baskın olarak bulunan organik asitlerden malik asit ve sitrik asit ile beraber askorbik asit miktarı HPLC cihazında standart maddeler yardımıyla tespit edilmiş ve miktarları mg/g olarak belirlenmiştir.

Buna göre araştırmamızda bulunan sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- i. 2014 yılında temin edilen karadutların TFM miktarları saf metanol kullanıldığında 1172 ve 1416 mg GAE/ L ve % 80 metanol kullanıldığında 1169 ve 1091 mg GAE/ L olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada sonuç, önceki çalışmalarda da olduğu gibi gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Ancak yapılan incelemeler sonrasında, baskın olan fenolik bileşik ve miktarı saptanarak TFM miktarının hangi fenolik bileşik eşdeğeri olarak verilmesi gerektiği konusunda çalışma yaparak değerlendirmek gerektiği kanısına varılmıştır.
- ii. 2014 yılında temin edilen karadutların AA'leri DPPH yöntemi ile serbest radikal yakalama aktiviteleri, IC<sub>50</sub> değeri, AE değeri ve Trolox üzerinden AA'si

şeklinde saptanmıştır. Serbest radikal yakalama aktiviteleri % 27-87 aralığında; AE değerleri 0,032-0,099 (1/ mg) aralığında; IC<sub>50</sub> değeri 10,078-29,825 mg; Trolox üzerinden AA'si 1,112-1,858 µmol Troloks/ g karadut olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada antioksidan maddelerin çok çeşitli etki mekanizmaları bulunduğu ayrıca her antioksidan bileşiğin daha iyi çözüldüğü ya da tam olarak çözünmediği çözücü olabileceği düşünülerek saf metanol, % 80 metanol, saf etanol, % 80 etanol, saf aseton ve % 80 aseton gibi farklı çözücüler ile ekstraksiyon yapılmıştır. Mersin Anamur ilçesine ait karadutta bu ekstraktların AA'leri karşılaştırıldığında, en yüksek aktivite saf metanol ekstraktı en düşük aktivite ise saf etanol ve % 80 metanol ekstraktında gözlemlenmiştir. Diğer üç ekstrakt ise yaklaşık olarak saf metanol ile aynı aktivite göstermiştir. Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta bu ekstraktların AA'leri karşılaştırıldığında, en yüksek aktivite saf metanol ekstraktı en düşük aktivite ise saf etanol ekstraktında gözlemlenmiştir. Diğer dört ekstrakt ise hemen hemen aynı değerde olup saf metanol ekstraktından daha düşük aktivite göstermiştir.

- iii. 2014 yılında temin edilen Mersin Anamur ilçesine ait karadutta baskın olan iki fenolik bileşik kateşin (162,2 µg/g) ve klorojenik asit (146,4 µg/g), Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutta ise baskın olan fenolik bileşik klorojenik asit (246,6 µg/g) olarak tespit edilmiştir. Her iki karadutta da rutin in ise en düşük miktarda (0,9 ve 1,3 µg/g) bulunan fenolik bileşik olduğu saptanmıştır.

Fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı ve buldukları form açısından farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca ekstraksiyonda kullanılan yöntem, kullanılan ekstrakt gibi pek çok faktör elde edilen sonuçlar arasında farklılıklara sebep olmaktadır. Buna konuda daha detaylı çalışmalar yapılmalıdır.

- iv. 2014 yılında temin edilen karadutlarda baskın olan organik asit sitrik asit (6,758 ve 9,808 mg/g ) olarak tespit edilmiştir. Karadutlarda bulunan malik asit miktarı ise 1,023 ve 0,728 mg/g'dır. Askorbik asit miktarı ise çok düşük (0,010-0,036 mg/g) olarak saptanmıştır. Mersin Anamur ilçesi ve Afyonkarahisar Çay ilçesine ait karadutlardaki organik asitlerin miktarları arasında farklılık görülmektedir.

Bu da meyvenin olgunluk derecesi ve yetiştiği koşullardan fazlaca etkilendiğini göstermektedir.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, karadutların cinsi, yetiştiği ağacın özellikleri, ekolojik koşulları, meyvelerin olgunlaşma derecesi gibi faktörler bileşiminde farklılıklara sebep olmaktadır. Diğer taraftan incelenen fenolik bileşiğin kimyasal yapısı, içerdiği gruplar ve bu grupların birbirleriyle ilişkisi açısından orto, para, meta pozisyonlarından hangisinde olduğu ve hangi formda bulunduğu ayrıca kullanılan solventin polaritesi ve hangi bileşiklerin özütlenmesinde daha etkili olduğu gibi pek çok parametre fenolik bileşiklerin miktarını ve AA'lerini etkilemektedir. Bunun için bileşimi etkileyen bu parametereler açısından kıyaslama yapılacak detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Acar, J. ve Gökmen. V. (2007). Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. In: Saldamlı, İ., Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 463-496.
- Akbulut, M., Çetin, Ç. ve Çoklar, H. (2006). Farklı dut çeşitlerinin bazı kimyasal özellikleri ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi. II. *Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, 14-16 Eylül 2006, Tokat, 176-180.
- Aydın, S., Yılmaz, O. and Gökçe, Z. (2011). Effectiveness of matured *Morus nigra* L. (black mulberry) fruit extract on 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and hydroxyl (OH) radicals as compared to less matured fruit extract. *African Journal of Biotechnology*, **10**: 16037-16044.
- Bacanlı, M., Taner, G., Başaran, A.A. ve Başaran, N. (2015). Bitkisel Kaynaklı Fenolik Yapıdaki Bileşikler ve Sağlığa Yararlı Etkileri (doi: 10.5336/pharmsci.2014-42688).
- Bae, S.H. and Suh, H.J. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT Food Science and Technology*, **40**: 955-962.
- Barut Uyar, B., Gezmen-Karadağ, M., Şanlıer, N., ve Günyel, S. (2013). Toplumumuzda Sıklıkla Kullanılan Bazı Bitkilerin Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Saptanması. *Gıda Dergisi*, **38**: 23-29.
- Bernhard, D., Schwaiger, W., Crazzolaro, R., Tinhofer, I., Kofler, R. and Csordas A. (2003). Enhanced MTT-reducing activity under growth inhibition by resveratrol in CEMC7H2 lymphocytic leukemia cells. *Cancer Letters*, **195**: 193-199.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, **28**: 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, **56**: 317-333.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M. (2009). Meyve ve Sebzelerin Bileşimi. In: Cemeroğlu, B., Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 1-217.
- Cemeroğlu, B. (2010). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 2. Baskı, Ankara, Türkiye.
- Chen, H., Zuo, Y. and Deng, Y. (2001). Separation and determination of flavonoids and

other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **913**: 387-395.

Chung, F.L., Xu, Y., Ho, C.T., Desai, D. and Han, C. (1992). Protection Against Tobacco-Specific,Nitrosamine-Induced Lung Tumorigenesis by Green Tea and Its Components. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 300- 307.

Conney, A.H., Wang, Z.Y., Ho, C.T., Yang, C.S.and Huang, M.T. (1992). Inhibitory Effect of Green Tea on Tumorigenesis and Tumor Growth in Mouse Skin. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 284-291.

Crozier, A., Jaganath, I. B. and Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, **26**:1001-1043.

Deschner, E.E. (1992). Dietary Quercetin and Rutin. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 265-268.

Dugo, P., Mondello, L., Errante, G., Zappia, G. and Dugo, G. (2001). Identification of anthocyanins in berries by narrow-bore high-performance liquid chromatography with electrospray ionization detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 3987-3992.

Dündar, Y. (2001). Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **2**: 131-138.

Ekman, J.H. and Patterson B.D. (2005). Why Fruits and Vegetables Are Good for Health. In: Ben-Yehoshua S., Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality, Taylor and Francis Group, Washington, 334-375.

Elmacı, Y. and Altuğ, T. (2002). Flavour evaluation of three black mulberry (*Morus nigra*) cultivars using GC/MS, chemical and sensory data. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**: 632-635.

Ercişli, S. and Orhan, E. (2007). Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*, **103**: 1380–1384.

- Ercişli, S. and Orhan, E. (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra L.*) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, **116**: 41-46.
- Fabjan, N., Rode, J., Koşir, I. J., Wang, Z., Zhang, Z. and Kreft, I. (2003). Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum Gaertn.*) as a source of dietary rutin and quercitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 6452-6455.
- Francis, F. J. (1989). Food Colorants: Anthocyanins. In: Francis, F.J. and Markakis, P.C., *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Taylor and Francis Group, London, 273-314.
- Fresco, P., Borges, F., Diniz, C. and Marques M.P.M. (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews*, **26**: 747-766.
- Göğüş, F., Lewis, A. C. and Özel, M. Z. (2011). Analysis of black mulberry volatiles using GCxGC-TOF/MS. *International Journal of Food Properties*, **14**: 29-36.
- Gökpınar, S., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. (2006). Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**: 85-89.
- Gündoğdu, M., Muradoglu, F., Sensoy, R. G. and Yilmaz, H. (2011). Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra L.*, *Morus alba L.* and *Morus rubra L.* by HPLC. *Scientia Horticulturae*, **132**: 37-41.
- Hakkinen, S. H. And Törrönen, A. R. (2000). Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food research international*, **33**: 517-524.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. And Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, **13**: 572-584.
- Hepsağ, F., Hayoğlu, İ. Ve Hepsağ B. (2012). Karadut Meyvesinin Antosiyanin İçeriği ve Antosiyaninlerin Gıda Sanayinde Renk Maddesi Olarak Kullanım Olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* **7**: 9-19.
- Ho, C.T. (1992). Phenolic Compounds in Food. In: Huang, M.T., *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I Analysis*, American Chemical Society, New York, 2-7.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z. and Zhang, Y. (2009). Natural phenolic compounds from

- medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, **62**:1-20.
- Iglesia, R.DL., Milagro, F.I., Campion, J., Boque, N. and Martinez, J.A. (2010). Healthy properties of proanthocyanidins. *BioFactors*, **36**: 159–168.
- Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R., and Khan, F. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *Journal of Zhejiang University Science B*, **11**: 973-980.
- Ito, N., Hirose, M. and Shirai T. (1992). Carcinogenicity and Modification of Carcinogenic Response by Plant Phenols. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 270-283.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S. and Cabaroğlu, T. (2006). Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat.
- Kahkönen, M.P., Heinämäki, J., Ollilainen, V. and Heinonen, M. (2003). Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 1403–1411.
- Kara, Ş. and Erçelebi, E. A. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra L.*). *Journal of Food Engineering*, **116**: 541-547.
- Konar, N., Poyrazoğlu, E.S., Demir, K., Haspolat, I. ve Artık, N. (2011). Fitoöstrojenler: Bitkisel Kaynaklı Östrojenik Bileşikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, **2**: 69-75.
- Koyuncu, F. (2004a). Morphological and agronomical characterization of native black mulberry (*Morus nigra L.*) in Sutculer, Turkey. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **138**: 32-35.
- Koyuncu, F. (2004b). Organic acid composition of native black mulberry fruit. *Chemistry of natural compounds*, **40**: 367-369.
- Koyuncu, F., Çetinbaş, M. and İbrahim, E. (2014). Nutritional constituents of wild-grown black mulberry (*Morus nigra L.*). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, **87**: 93 – 96.
- Kutlu, T., Durmaz, G., Ateş, B., Yılmaz, I. and Çetin, M. Ş. (2011). Antioxidant

properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra L.*). *Turkish Journal of Biology*, **35**: 103-110.

- Kylli, P. (2011). Berry phenolics: isolation, analysis, identification and antioxidant properties. EKT-series 1502. Academic Dissertation, University of Helsinki Department of Food and Environmental Sciences, Helsinki.
- Laskin, J.D., Heck, D.E., Laskin, D.L., Mitchell, J.M., Huang, M.T., Wang, Z.Y., Yang, C.S., Ho, C.T. and Conney, A.H. (1992). Inhibitory Effect of a Green Tea Polyphenol Fraction on 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate-Induced Hydrogen Peroxide Formation in Mouse Epidermis. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 308- 315.
- Li, H., Cheng, Y., Wang, H., Sun, H., Liu, Y., Liu, K. and Peng, S. (2003). Inhibition of nitrobenzene-induced DNA and hemoglobin adductions by dietary constituents. *Applied radiation and isotopes*, **58**: 291-298.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M. and Li, H. B. (2014) Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients* **6**: 6020-6047.
- Lunder, T.L. (1992). Catechins of Green Tea. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 114-121.
- Markham, K.R. (1989). Flavones, flavonols and their glycosides. In: Harborne, J. B., Methods in Plant Biochemistry, Academic Press, London, 197-235.
- Mattila, P., Hellström, J., Törrönen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 7193-7199.
- Matsuda , Kageura , Morikawa , Toguchida , Harima and Yoshikawa. (2000). Effects of stilbene constituents from rhubarb on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **10**: 323-327.
- Mazimba, O., Majinda, R. R. and Motlhanka, D. (2011). Antioxidant and antibacterial constituents from *Morus nigra*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **5**: 751-754.
- Memon, A. A., Memon, N., Luthria, D. L., Bhangar, M. I. and Pitafi, A. A. (2010). Phenolic acids profiling and antioxidant potential of mulberry (*Morus laevigata*



- W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **60**: 25-32.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*, **26**: 211-219.
- Nizamhoğlu, N.M. ve Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **5**: 20-35.
- Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Rascon-Chu, A., Marquez-Escalante, J., Guerrero, V. and Salas-Muñoz, E. (2010). Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels: Structure, sources and applications. *Phytochemical Reviews*, **9**: 111-120.
- Osawa, T., Ramarathnam, N., Kawakishi, S. and Namiki, M. (1992). Antioxidative Defense Systems Generated by Phenolic Plant Constituents. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 122-135.
- Özgen, M., Serçe, S., and Kaya, C. (2009). Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Horticulturae*, **119**: 275-279.
- Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L, Vigna-Pérez, M. and Hernández-Pérez, T. (2010) . Berries: Improving Human Health and Healthy Aging and Promoting Quality Life. *Plant Foods Human Nutrition*, **65**: 299–308.
- Pawlowska, A. M., Oleszek, W. and Braca, A. (2008). Quali-quantitative analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L.(Moraceae) fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, **56**: 3377-3380.
- Rao, Y. K., Geethangili, M., Fang, S. H. and Tzeng, Y. M. (2007). Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: a comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, **45**:1770-1776.
- Robbins, R.J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 2866-2887.
- Sánchez-Salcedo, E. M., Mena, P., García-Viguera, C., Martínez, J. J. and Hernández, F. (2015). Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties. *Journal of Functional Foods*, **12**: 399-408.

- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B. and Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, **21**: 207-213.
- Seeram, P.N. (2008). Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 627–629.
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, **44**: 158-63.
- Shahidi, F. and Chandrasekara, A. (2010). Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemical Review*, **9**: 147-170.
- Shakibaei, M., Harikumar, K. B. and Aggarwal, B. B. (2009). Resveratrol addiction: to die or not to die. *Molecular Nutrition and Food Research*, **53**: 115-128.
- Sıvacı, A. and Sökmen, M. (2004). Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two *Morus* species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). *Plant Growth Regulation*, **44**: 251-256.
- Spanos, G.A. and Wrolstad, R.E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **40**: 1478-1487.
- Squadrito, F. and Bitto, A. (2013). Isoflavones and Thyroid Function. In: Preedy, V. R., Food and Nutritional Components, Royal Society of Chemistry, London, 423-434.
- Stavric, B., Matula, T.I., Klassen, R., Downie, R.H. and Wood, R.J. (1992). Effect of Flavonoids on Mutagenicity and Bioavailability of Xenobiotics in Foods. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 239-249.
- Szajdek, A. and Borowska, E.J. (2008). Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits. *Plant Foods Human Nutrition*, **63**: 147–156.
- Ștefănuț, M. N., Căta, A., Pop, R., Moșoarcă, C. and Zamfir, A. D. (2011). Anthocyanins HPLC-DAD and MS characterization, total phenolics, and antioxidant activity of some berries extracts. *Analytical Letters*, **44**: 2843-2855.
- Tarko, T., Duda-Chodak, A., Satora, P., Sroka, P., Pogoń, P. and Machalica, J. (2014). *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, *Morus nigra* fruits characteristics and their processing potential. *Journal of Food Science and Technology*, **51**: 3934-3941.

- Taruscio, T.G., Barney, D.L. and Exon J. (2004). Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest Vaccinium berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 3169-3176.
- Tokbaş, H. (2009). Karadut meyvesinin (*Morus nigra L.*) Reçel ile marmelata işlenmesi ve ürünlerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, GaziOsmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Uchida, K. (2003). 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Progress in lipid research*, **42**: 318-343.
- Verma, A.K. (1992). Modulation of Mouse Skin Carcinogenesis and Epidermal Phospholipid Biosynthesis by the Flavonol Quercetin. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 250-264.
- Vermerris, W. and Nicholson, R. (2006). Phenolic Compound Biochemistry, Springer, West Lafayette, IN.
- Wang, Z.Y, Hong, J.Y., Huang, M.T., Conney, A.H. and Yang C.S. (1992). Inhibition of Nitrosamine-Induced Tumorigenesis by Green Tea and Black Tea. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 292-299.
- Wang, Z.Y., Catana, F., Yang, Y., Roderick, R., Van Bremen, R.B. (2002). An LC-MS Method for Analyzing Total Resveratrol in Grape Juice, Cranberry Juice, and in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 431-435.
- Watzl, B. and Rechkemmer, G. (2001). Flavonoide. *Ernaehrungs-Umschau*, **12**: 498-502.
- Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Suganuma, M., Nisiwaki, S., Yatsunami, J., Okabe, S., Okuda, T., Muto, Y., Frenke, K. and Troll, W.(1992). Penta-O-Galloyl- $\beta$ -D-Glucose and (-)-Epigallocatechin Gallate. In: Huang, M.T., Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II Antioxidants and Cancer Prevention, American Chemical Society, New York, 316-325.
- Zadernowski, R., Naczki, M. And Nesterowicz, J. (2005). Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 2118-2124.
- Zhumatov, U. Z. (1996). Elementary compositions of the fruits of *Morus nigra* and

*Zizyphus jujuba* and their biological activities. *Chemistry of Natural Compounds*, **32**: 100-101.

#### **6.1. İNTERNET KAYNAKLARI**

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Quercetin>, 13.04.2015.
2. <http://en.wikipedia.org/wiki/Rutin>, 13.04.2015.
3. [http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorogenic\\_acid](http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorogenic_acid), 13.04.2015.
4. <http://en.wikipedia.org/wiki/Catechin>, 13.04.2015.
5. [http://en.wikipedia.org/wiki/P-Coumaric\\_acid](http://en.wikipedia.org/wiki/P-Coumaric_acid), 13.04.2015.
6. <http://www.xn--saglk-q4a.com/karadut/> , 10.05.2015.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emine YALGI UYGUR  
Doğum Yeri ve Tarihi : Afyonkarahisar, 1987  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim (Telefon/e-posta) : emineyalgi@gmail.com

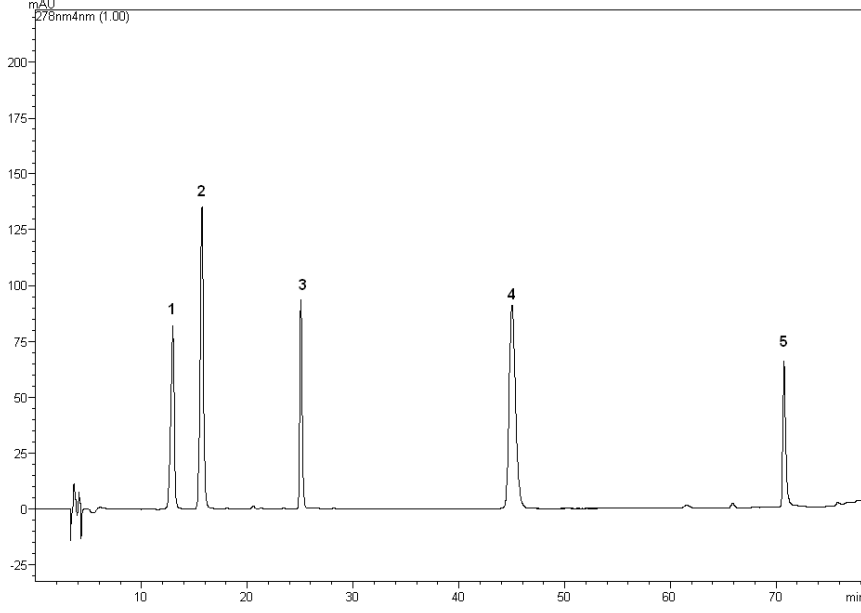
### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Afyonkarahisar Mili Piyango Anadolu Lisesi (2005)  
Lisans : Hacettepe Üniversitesi- Gıda Mühendisliği (2007-2012)  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi- Gıda Mühendisliği (2012-2015)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : **İkbal Gıda A.Ş.**, Afyonkarahisar; Stajyer Gıda Mühendisi, Kalite Kontrol Laboratuvarı ve Üretim (2011)  
**İl Kontrol Labaratuvar Müdürlüğü**, Afyonkarahisar; Stajyer Gıda Mühendisi, Kalite Kontrol Laboratuvarı (2011)

## EKLER

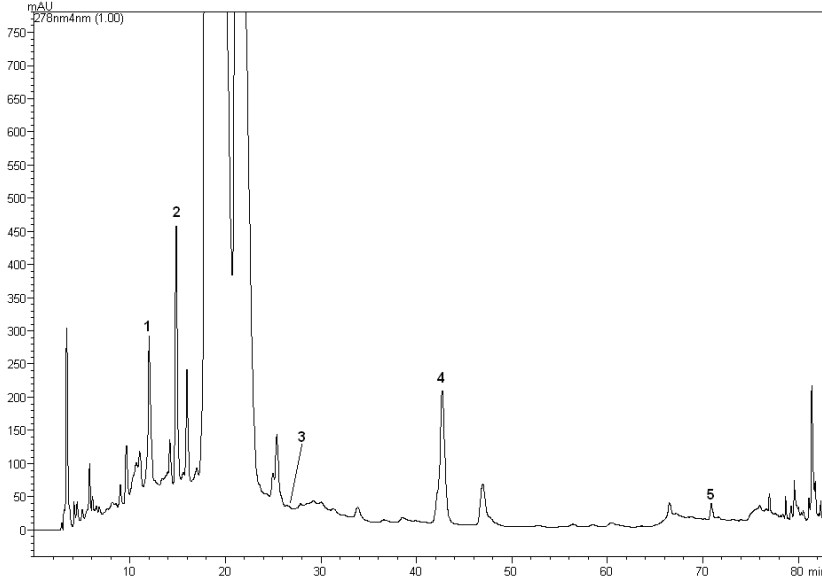
**EK 1.** Bazı Fenolik Bileşiklerin (kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit, kuersetin) Standartlarına ait HPLC Kromotogramı (278nm).



Standartlar; 1: kateşin, 2:klorojenik asit, 3: p-kumarik asit, 4: rutin, 5: kuersetin.

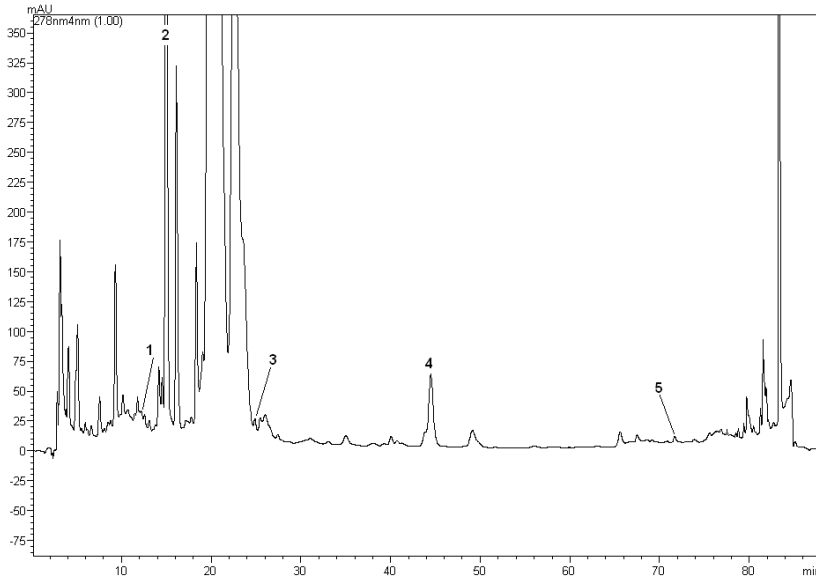
**EK 2.** 2014 yılına ait Mersin ve Çay karadutunun kateşin, klorojenik asit, rutin, p-kumarik asit ve kuersetin bileşiklerine ait HPLC kromatogramları (278nm).

### Mersin Karadutu



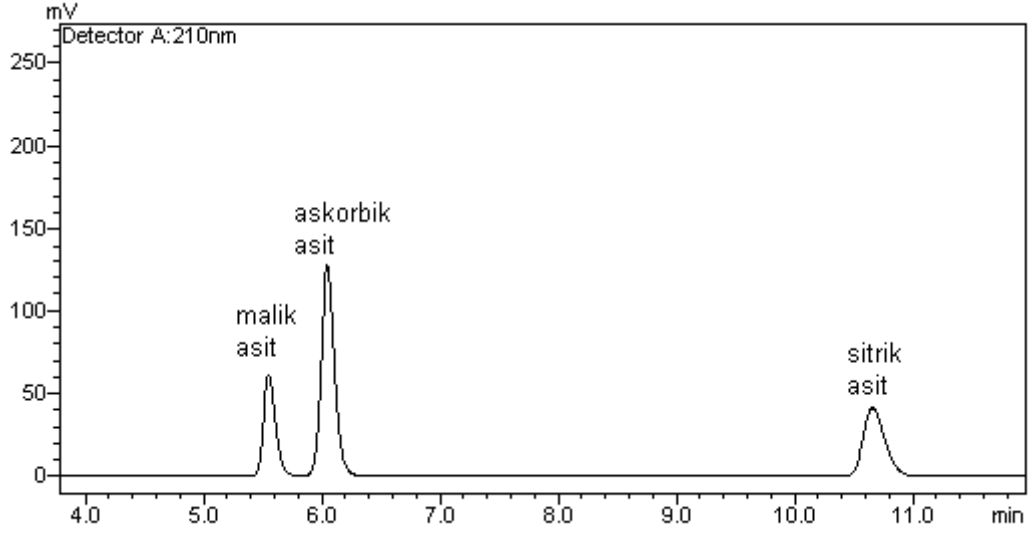
Standartlar; 1: kateşin, 2:klorojenik asit, 3: p-kumarik asit, 4: rutin, 5: kuersetin.

### Çay Karadutu



Standartlar; 1: kateşin, 2:klorojenik asit, 3: p-kumarik asit, 4: rutin, 5: kuersetin.

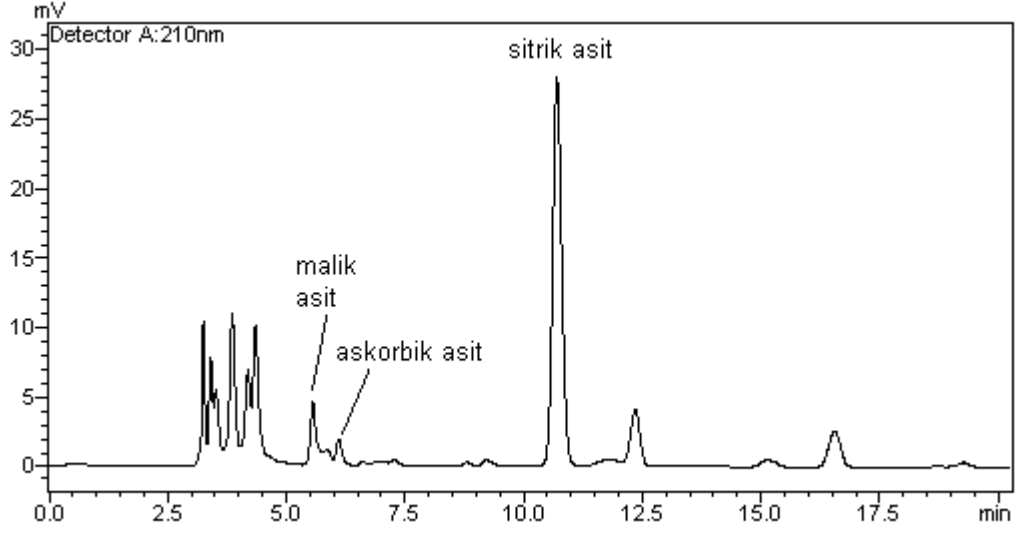
**EK 3.** Bazı Organik Asitlerin (malik asit, sitrik asit ve askorbik asit) Standartlarına ait HPLC Kromotogramı (210nm).





**EK 4.** 2014 yılına ait Mersin ve Çay karadutunun malik asit, sitrik asit ve askorbik asite ait HPLC kromatogramları (278nm)

### Mersin Karadutu



### Çay Karadutu

