

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* ve *Sorbus aucuparia* Meyvelerinin
Fenolik Bileşiklerinin Ekstraksiyonu ve HPLC-UV Analizleri**

Fatih KOCAİMAMOĞLU

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Emine AKYÜZ TURUMTAY




**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

RİZE 2014

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sorbus caucasica var. *yaltirikii* ve *Sorbus aucuparia* Meyvelerinin Fenolik
Bileşiklerinin Ekstraksiyonu ve HPLC-UV Analizleri

Bu çalışma, 26/03/2014 tarihinde yapılan sınav ile Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS tezi** olarak kabul edilmiştir.

| | Ünvanı, Adı, Soyadı | İmzası |
|----------------------|--------------------------------------|---|
| Tez Danışmanı | : Yrd. Doç. Dr. Emine AKYÜZ TURUMTAY |  |
| Jüri Üyesi | : Prof. Dr. Oktay TORUL |  |
| Jüri Üyesi | : Doç. Dr. Cemal SANDALLI |  |


Prof. Dr. Fatih YILMAZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında yapıldı.

Yüksek lisans tez çalışmamın tüm aşamalarında bana her türlü çalışma imkanını veren sayın Rektörümüz Prof. Dr. Hüseyin KARAMAN' a ve sayın Dekanımız Prof. Dr. Oktay TORUL' a,

Bilgileri ile beni yönlendiren, desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Emine AKYÜZ TURUMTAY' a,

Tez çalışmam boyunca bana bildiklerini tüm hoşgörüsüyle sunan, fikirleriyle yön gösteren, manevi desteğini hiç esirgemeyen sevgili hocam Uzm. Adem DEMİR' e,

Sorbus meyvelerini temin eden ve adlandıran Öğr. Gör. Hüseyin BAYKAL' a ve Yüksek Biyolog Esra DEMİR' e,

Her zaman tek kelime etmeme ihtiyaç duymadan yardımına koşan, sevgi, ilgi maneviyat adına ne varsa kalpten hissettiren sevgili arkadaşlarım Kimyager Ali DAĞ' a, Kimyager Ufuk BÜK' e, Kimyager Gözde KILIÇ' a, Kimyager Kübra ÇAKIR' a,

Tezimin yazım aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen değerli ev arkadaşım Miraç DURMUŞ' a,

Eğitim-öğretim hayatım boyunca bana güvenerek her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni bugünlere kadar yetiştiren ve bana tüm fırsatları sunan çok sevgili aileme, sonsuz teşekkürler.

Fatih KOCAİMAMOĞLU

Mart, 2014

ÖZET

***Sorbus aucuparia* ve *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* Meyvelerinin Fenolik Bileşiklerinin HPLC-UV ile Aydınlatılması**

İçerdiği fenolik bileşiklerin gıda, tıp ve sanayi alanında giderek yaygınlaşan kullanım düzeyinden dolayı bitkiler ve meyveler son dönemlerde ilgi odağı olmuştur. Fenolik bileşikler, bitkilerce ikincil metabolit olarak sentezlenen doğal antioksidanlardır.

Bu çalışma kapsamında halk arasında üvez çeşitleri olarak bilinen Rosaceae familyasına ait *Sorbus aucuparia* ve *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* meyvelerinin fenolik içerikleri araştırıldı. Bu amaçla taze meyvelerden elde edilen metanol ekstraktları sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile sulu ortamda sırasıyla dietil eter, etil asetat, n-bütanol ve kalan sulu kısım olmak üzere dört ayrı fraksiyona ayrıldı ve ardından HPLC-UV ile bu ekstraktların fenolik bileşikleri aydınlatıldı.

Meyvelerin fenolik madde içeriğinin belirlenmesi için önceden fenolik standartlar ile optimize edilen HPLC-UV yöntemi kullanıldı. Ekstraktların kromatogramları fenolik standartların kromatogramlarıyla karşılaştırılarak kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirildi. HPLC-UV analizleri sonucunda *Sorbus aucuparia* meyvesinin ağırlıklı olarak sinamik asit türevlerinden klorojenik ve *p*-kumarik asit içerdiği gözlemlendi. *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* meyvesinin ise flavonollerden kuersetin ve yine sinamik asit türevlerinden klorojenik asit bakımından zengin olduğu gözlemlendi. Ayrıca fenolik bileşiklerden apigenin ve kamferol yalnızca *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*'de gözlemlendi. HPLC-UV analizleri ile meyvelerde bahsedilenlerden başka protokatekuik ve kafeik asit bulunduğu da gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Fenolik bileşikler, *Sorbus aucuparia*, *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*, HPLC-UV.

SUMMARY

Elucidation of phenolic compounds of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* Fruits by HPLC-UV

Plants and fruits have been the focus of attention in recent years due to their phenolic compounds which have the increasingly wide spread usage levels on medical and industrial fields. Phenolic compounds, synthesized by plants as their secondary metabolites, are natural antioxidant.

Phenolic content of the fruits of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus caucasica* var. *yaltiriki* popularly known as the kinds of rowan, which belongs to the Rosaceae family were investigated on the scope of this study. For this aim, methanol extracts obtained from fresh fruit separated into four fractions in an aqueous medium using the liquid-liquid extraction method with diethylether, ethylacetate, n-butanol respectively and the residual aqueous fraction and then phenolic content has been illuminated by HPLC-UV.

Previously optimized HPLC-UV method via phenolic standards was used to determination of phenolic compound of fruits. Chromatograms of the extracts were evaluated qualitatively and quantitatively comparing with chromatograms of standard phenolic compounds. As a result of HPLC-UV analysis, it was observed that *Sorbus aucuparia* fruit is mainly including cinnamic acid derivatives such as *p*-coumaric and chlorogenic acid. It was detected that the fruit of *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* is rich in quercetin from the flavonols and chlorogenic acid from cinnamic acids. Furthermore, kaempferol and apigenin from phenolic compounds were observed only in *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*. Other than those described in the fruits, protocatechuic and caffeic acid was observed via HPLC-UV analysis.

Key Words: Phenolic compounds, *Sorbus aucuparia*, *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*, HPLC-UV.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| ÖNSÖZ | I |
| ÖZET | II |
| SUMMARY | III |
| İÇİNDEKİLER | IV |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | VI |
| TABLolar DİZİNİ | VII |
| SEMBOLLER DİZİNİ | VIII |
| 1. GENEL BİLGİLER | 1 |
| 1.1. Giriş | 1 |
| 1.2. Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları ve Sınıflandırılmaları | 2 |
| 1.2.1. Fenolik Asitler | 2 |
| 1.2.2. Flavonoidler | 3 |
| 1.2.2.1. Antosiyanidinler | 4 |
| 1.2.2.2. Flavonlar ve Flavonollar | 4 |
| 1.2.2.3. Flavanonlar | 5 |
| 1.2.2.4. Kateşinler | 5 |
| 1.2.2.5. Proantosiyanidinler | 6 |
| 1.2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu | 7 |
| 1.2.3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu | 7 |
| 1.2.4. Fenolik Bileşiklerin Analizleri | 8 |
| 1.2.4.1. Fenolik Bileşiklerin HPLC-UV ile Analizleri | 9 |
| 1.2.5. <i>Sorbus aucuparia</i> ve <i>Sorbus caucasica</i> var. <i>yaltirikii</i> | 12 |
| 1.2.6. Literatür Özeti | 13 |
| 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR | 16 |
| 2.1. Bitkilerin Toplanması | 16 |
| 2.2. Meyvelerden Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu | 16 |
| 2.2.1. Örneklerin Kodlanması | 16 |
| 2.3. Meyvelerin HPLC-UV Analizleri | 17 |
| 2.3.1. Kimyasal Malzeme ve Materyaller | 17 |
| 2.3.2. HPLC-UV Koşulları | 17 |
| 2.3.3. Standartlar, Kalibrasyon ve Validasyon | 18 |

| | |
|--|----|
| 3. BULGULAR ve TARTIŞMA | 19 |
| 3.1. Fenolik Bileşiklerin Analizi için HPLC-UV Metot Optimizasyonu | 19 |
| 3.2. <i>Sorbus aucuparia</i> ve <i>Sorbus caucasica</i> var. <i>yaltirikii</i> Meyvelerinin Fenolik Bileşiklerinin HPLC-UV Analizleri | 21 |
| 4. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 29 |
| 5. KAYNAKLAR | 30 |
| ÖZGEÇMİŞ | 34 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Flavonoidlerin genel yapısı | 3 |
| Şekil 2. Flavanon yapısı | 5 |
| Şekil 3. Yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları | 6 |
| Şekil 4. Proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı..... | 6 |
| Şekil 5. HPLC-UV cihazının şematik gösterimi..... | 10 |
| Şekil 6. <i>Sorbus aucuparia</i> ağaç ve meyvesi. | 13 |
| Şekil 7. <i>Sorbus caucasica</i> var. <i>yaltirikii</i> | 13 |
| Şekil 8. Benzoik asit türevlerinin (1: gallik asit, 2: protokatekuik asit, 3: <i>p</i> -OH benzoik asit, 6: vanilik asit ve 8: şirincik asit) ve flavanollerin (4: kateşin ve 9: epikateşin) 280 nm’ de HPLC-UV kromatogramları. | 20 |
| Şekil 9. Sinamik asit türevlerinin (5: klorojenik asit, 7: kafeik asit, 10: <i>p</i> -kumarik asit ve 11: ferulik asit), flavon (16: apigenin), flovonoller (13: mirisetin, 14: fisetin, 17: kamferol, 15: kuersetin ve 18: isoramnetin) ve flovonol glikozit (12: rutin) 315 nm’ de HPLC-UV kromatogramları..... | 20 |
| Şekil 10. <i>S. aucuparia</i> ve <i>S. caucasica</i> meyvelerinin HPLC-UV ile aydınlatılan fenolik bileşiklerinin bar grafiği. | 22 |
| Şekil 11. <i>S.aucuparia</i> meyvesinin bütanol ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları (280 nm’de klorojenik asit yapısı görülmekte)..... | 23 |
| Şekil 12. <i>S.aucuparia</i> meyvesinin sulu ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları. | 24 |
| Şekil 13. <i>S. caucasica</i> meyvesinin eter ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları | 25 |
| Şekil 14. <i>S. caucasica</i> meyvesinin etil asetat ekstraktının 280 ve 315 nm’ lerede HPLC-UV kromatogramları..... | 26 |
| Şekil 15. Bilinmeyen pikin eter, etilasetat, bütanol ve sulu ekstraktlarının 315 nm’de yaklaşıtırlmış kromatogramı..... | 27 |
| Şekil 16. Bilinmeyen pikin UV-UVvis spektrumu | 27 |
| Şekil 17. Klorojenik aside ait UV-UVvis spektrumu | 28 |

TABLolar DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Tablo 1. Fenolik asitlerin genel yapısı..... | 3 |
| Tablo 2. Antosiyanidinlerin yapısı..... | 4 |
| Tablo 3. Flavonollar ve flavonların kimyasal yapıları | 5 |
| Tablo 4. Fenolik standart bileşiklerin HPLC-UV yöntemine göre kalibrasyon ve validasyon parametreleri. | 19 |
| Tablo 5. Meyvelerin yüzde ekstraksiyon verimleri | 21 |
| Tablo 6. <i>S. aucuparia</i> ve <i>S. caucasica</i> meyvelerinin HPLC-UV ile aydınlatılan fenolik bileşikleri. | 21 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|----------------------|---|
| vd. | : Ve diğeri |
| CV | : Yüzde Bağıl standart sapma |
| HPLC | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| HPLC-UV | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Ultraviöle Dedektör |
| HCl | : Hidroklorik asit |
| L | : Litre |
| LOD | : Tespit sınırı (limit of detection) |
| LOQ | : Tayin sınırı (limit of quantitation) |
| mg | : Miligram |
| nm | : Nanometre |
| mL | : Mililitre |
| μm | : Mikrometre |
| μL | : Mikrolitre |
| UV-UV _{vis} | : Ultraviöle ve görünür bölge |
| dk | : Dakika |

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bütün bitki metabolizmalarında, ikincil metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı, 2007). Bitkilerin ikincil metabolitleri olan polifenollerin bitkilerin normal gelişimine önemli katkıları vardır. Patojenlerin saldırılarına veya ultraviyole ışınlarla karşı bitkileri savunurlar (Manach vd., 2004; Kahkönen vd., 1999).

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine özellikle ağızda buruk bir tat bırakma yönünde ve rengine etki eden, meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarlarda bulunmakla birlikte önemli olan bir madde grubudur. Fenolik maddeler aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir (Shahidi ve Nacz, 1995). Bu bakımdan en basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren benzen yani fenol olduğu ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Kafkas vd., 2006). Bunlara sürekli yeni tanımlanan fenolikler eklenmektedir (Cemeroğlu, 2004). Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Coşkun, 2006; Aydın ve Üstün, 2007).

Fenolik bileşikler üzerinde son yıllarda oldukça fazla çalışılmış ve yapıları daha iyi aydınlatılmıştır. Fenolik bileşikler temel yapılarında benzen halkası içeren maddelerdir. Başlıca fenolik maddeler; hidroksibenzoik asitler (quinik asit, gallik asit, 4-hidroksibenzoik asit vb.), hidroksisünamik asitler (kafeik asit, ferulik asit ve *p*-kumarik asit vb.) ve flavanoidlerdir. Fenolik bileşiklerin çeşitli gıdaların organoleptik özelliklerine olan olumsuz etkileri bazı literatürlerde özetlenmiştir (Cemeroğlu ve Acar, 1986; Liener, 1993; Gökmen, 1995; Shahidi ve Nacz, 1995).

Bilimsel çalışmalar, fenolik bileşiklerce zengin besinlerin antioksidan etki göstererek serbest radikal oluşumunu engellediğini belirtmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri kimyasal yapılarına göre değişiklik göstermektedir. Yapılarındaki aromatik halkaları ile hidroksil (-OH) gruplarını yakalayarak peroksit radikallerini etkisizleştirirler (Halliwell, 2000). Ayrıca -OH grubunun pozisyonu da

antioksidan aktivite açısından önemlidir. 4'-OH ve 3'-OH grupları içerenlerin antioksidan aktiviteleri daha yüksektir (Lien vd., 1999).

Protein kinaz C, fosfodiesteraz, fosfolipaz, lipoksigenaz ve siklooksigenaz gibi enzimler endotel hücrelerin ve enflamasyonda görevli hücrelerin aktivitesinden sorumlu biyolojik mediyatörlerin oluşumunu kontrol ederler. Yaygın bir fenolik bileşik olan flavanoidler bu enzimleri inhibe ederek enflamatuar yanıtı inhibe edici özellik gösterirler (Tripoli vd., 2007).

Bazı araştırmalar diyet fenoliklerinin genel olarak kemopreventif etki gösterdiği ve antikanser ajan olarak metabolizmada rol aldığını göstermektedir. Fenolik bileşiklerden özellikle flavanoidlerin kolesterolden zengin beslenen ratlarda süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini düzenleyerek ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazın gen ekspresyonunu artırarak antioksidatif kapasiteyi arttırdığı belirtilmektedir (Jeon vd., 2001).

Tüm bu araştırmalardan yola çıkarak tıbbi içerik etkileri olan *Sorbus caucasica* ve *Sorbus aucuparia* meyvelerinin fenolik içerikleri ekstrakte edilip, HPLC-UV ile aydınlatılmıştır.

1.2. Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları ve Sınıflandırılmaları

Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar (Cemeroğlu, 2004).

1.2.1. Fenolik Asitler

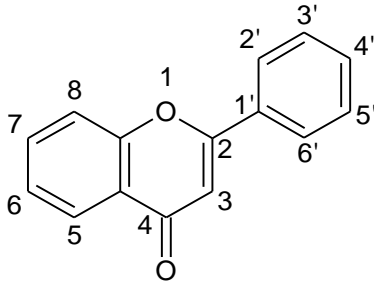
Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Bunlar salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit gibi asitlerdir. Hidroksisinamik asitler ise C₆-C₃ fenilpropan yapısındadırlar. Fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve o-kumarik asitlerdir. Bitkilerde büyük bir kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunan fenolik asitlerin kimyasal yapıları Tablo 1'de görülmektedir (Saldamlı, 2007; Balasundram vd., 2006).

Tablo 1. Fenolik asitlerin genel yapısı: Benzoik asit türevleri ve Sinamik asit türevleri.

| Benzoik Asitler | | | | Sinamik Asitler | | | |
|---------------------------|-------------------|----------------|-------------------|------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
| <i>p</i> -OH benzoik asit | H | OH | H | <i>p</i> -Kumarik asit | H | OH | H |
| Pirokatekuik asit | H | OH | OH | Kafeik asit | H | OH | OH |
| Vanilik asit | CH ₃ O | OH | H | Ferulik asit | CH ₃ O | OH | H |
| Sirincik asit | CH ₃ O | OH | CH ₃ O | Sinapik asit | CH ₃ O | OH | CH ₃ O |
| Gallik asit | OH | OH | OH | | | | |

1.2.2. Flavonoidler

Flavonoidlerin karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısındadır. Flavan türevleri olan flavonoidlerin genel yapısı Şekil 1’de görülmektedir. Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir (Saldamlı, 2007).



Şekil 1. Flavonoidlerin genel yapısı (Shahidi ve Nacz, 1995).

Flavonoidler yapısal olarak beş gruba ayrılırlar;

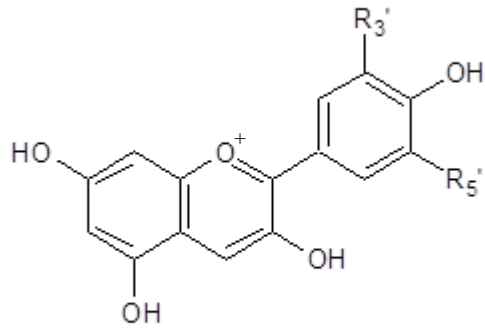
- 1) Antosiyanidinler
- 2) Flavonlar ve flavonollar
- 3) Flavanonlar
- 4) Kateşinler
- 5) Proantosiyanidinler

Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).

1.2.2.1. Antosiyanidinler

Doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozidik halde bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki pigmentleridir (Cemeroğlu, 2004). En yaygın olarak bitkilerde bulunan antosiyanidinlerin yapıları Tablo 2’de verilmiştir (Shahidi ve Nacz, 1995).

Tablo 2. Antosiyanidinlerin yapısı (Cemeroğlu, 2004; Gögüş ve Fadıloğlu, 2006).



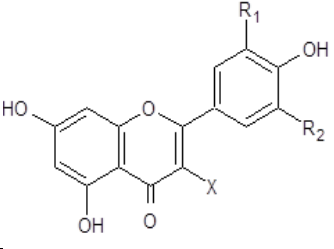
| Antosiyanidinler | R ₃ | R ₅ |
|-------------------|------------------|------------------|
| Pelargonidin (Pg) | H | H |
| Siyanidin (Cy) | OH | H |
| Peonidin (Pn) | OCH ₃ | H |
| Delfinidin (Dp) | OH | OH |
| Petunidin (Pt) | OCH ₃ | OH |
| Malvinidin (Mv) | OCH ₃ | OCH ₃ |

Doğada bulunan 16 antosiyanidine farklı şekerlerin bağlanması ile çok sayıda antosiyanin oluşabilmektedir. Birçok meyve ve sebze ile bitki ve çiçeklerin çok zengin renklerde olmasının nedeni de budur. Doğadaki çok sayıda antosiyaninden gıdalar açısından pelargonidin, peonidin, petunidin, delfinidin, siyanidin ve malvinidin önem taşımaktadır (Fennema, 1985; Kurilich vd., 2005; Altuğ, 2001). Pelargonidin turuncu, siyanidin turuncu-kırmızı, delfinidin mavi, peonidin kırmızı, petunidin mavimsi kırmızı ve malvinidin ise kırmızımsı mavi renktedirler (Kamiloğlu, 2007).

1.2.2.2. Flavonlar ve Flavonollar

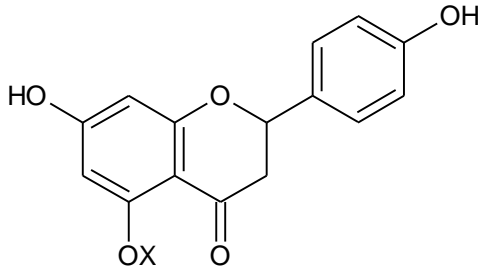
Tablo 3’de görüldüğü gibi orta halkanın 3. karbon atomuna flavonlarda (H), flavonollarda (OH) grubu bağlanmıştır. Antosiyanidinler gibi bunlar da şekerlerle glikozit halinde bulunurlar (Saldamlı, 2007).

Tablo 3. Flavonollar ve flavonların kimyasal yapıları (Cemeroğlu, 2004).

|  | Flavonollar (X=OH) | | Flavonlar (X=H) | | |
|---|-----------------------|----------------|--------------------|------------------|------------------|
| | R ₁ | R ₂ | R ₁ | R ₂ | |
| | H | H | Apigenin | H | H |
| | OH | H | Luteolin | OH | H |
| | OH | OH | Krisoeriol | OCH ₃ | H |
| | OCH ₃ | H | Trisin | OCH ₃ | OCH ₃ |

1.2.2.3. Flavanonlar

Flavonlardan farklı olarak Şekil 2’de görüldüğü gibi ortadaki halkada çifte bağ bulunmaz.

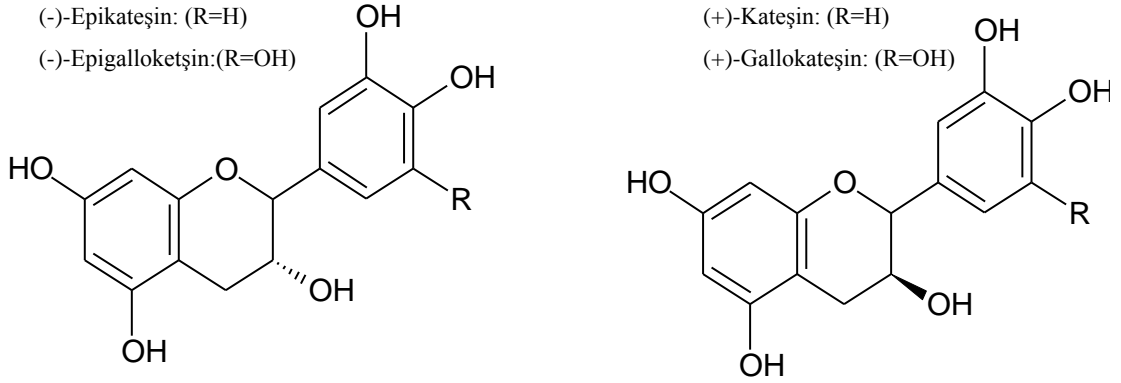


Şekil 2. Flavanon yapısı (Cemeroğlu, 2004).

Flavanon glikozitleri turuncgillerde yaygın olarak bulunmaktadır. Örneğin greyliftlarda acı tadı veren naringin bir flavanon glikozittir (Saldamlı, 2007; Cemeroğlu, 2004).

1.2.2.4. Kateşinler

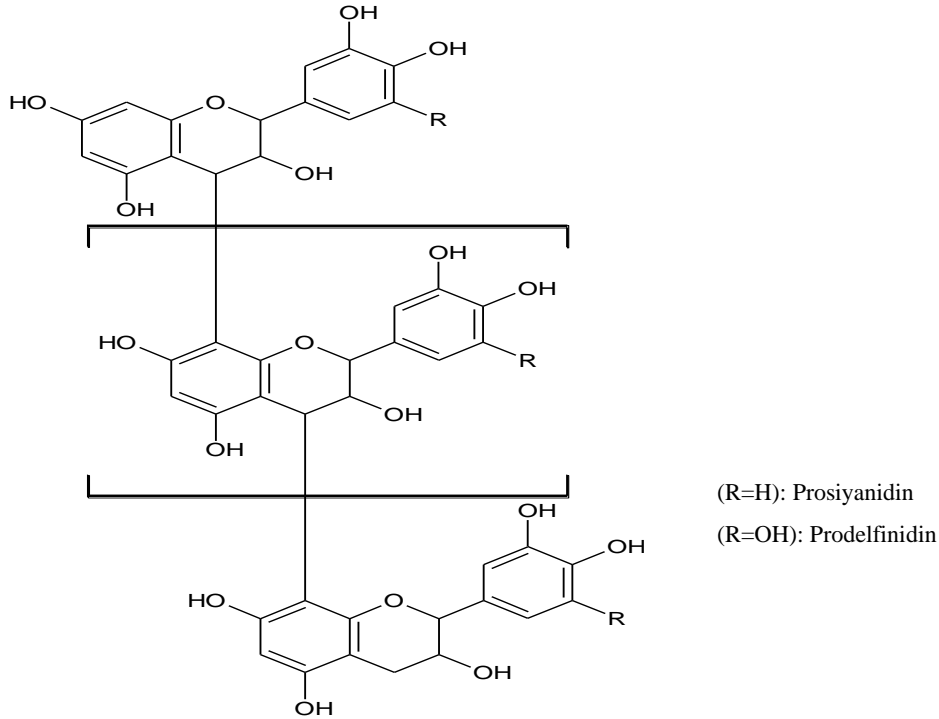
Kateşinler üçüncü karbon atomunda bir OH grubu içerirler. Kimyasal yapıları, flavon-3-ol’dür. Şekil 3’de en yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları görülmektedir (Shahidi ve Naczki, 1995). Kateşinler gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu oluştururlar. Hem kimyasal hem de enzimatik olarak oksijen ile kolaylıkla etkileşerek proantosiyandinleri oluştururlar (Saldamlı, 2007).



Şekil 3. Yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları (Shahidi ve Naczk, 1995).

1.2.2.5. Proantosiyanidinler

Kateşin, epikateşin ve bunların gallik asit esterlerinden oluşan polimerik yapılara proantosiyanidinler denir. Şekil 4'te görüldüğü gibi sadece epikateşin/kateşin birleşmesi ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin birleşmesi ile oluşuyorsa prodelfinidin denir (Shahidi ve Naczk, 1995). Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan dimerlerdir (Saldamlı, 2007; Shahidi ve Naczk, 1995).



Şekil 4. Proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı (Shahidi ve Naczk, 1995).

Trabzon hurması meyvesi ve ürünlerinin buruk tadı proantosiyanidinlerden kaynaklanmaktadır. Buruk tat meyvenin olgunlaşması ile önemli ölçüde azalmaktadır (Koca, 2007).

1.2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, bir karışım yapısından bir maddeyi kendisinin kolay çözüldüğü ve karışımdaki diğer maddelerin çözünmediği bir çözücü vasıtasıyla çözerek ayırmaktır. Bu amaçla, ekstrakte edilecek katı madde veya çözeltisi, uygun bir çözücü (ekstraksiyon çözücüsü) ile ekstrakte edilerek istenen madde, çözeltisi halinde ayrılır. İdeal bir ekstraksiyon süreci hızlı, basit ve ucuz olmalıdır. Ekstrakte edilen maddeler kayıp ve bozunmaya uğramadan elde edilmelidir. İşlem, katı-sıvı ekstraksiyonu ve sıvı-sıvı ekstraksiyonu olarak uygulanır. Katı maddenin veya çözeltisinin organik çözücü ile ekstraksiyonu, çoğunlukla maddenin tümünün tek işlemle kazanılması amacıyla yapılır. En çok uygulanan işlem, organik maddenin sulu çözeltisinin suyla karışmayan organik çözücü ile ekstraksiyonu olan sıvı-sıvı ekstraksiyonudur (Dikmen, 1995; URL-1).

Fenolik bileşiklerin bitkilerden ekstraksiyonunda ilk aşama genellikle metanol, etanol, aseton ve asetonitril gibi çözücüler veya bunların suyla uygun kombinasyonları ile elde edilen çözücü ile toz haline getirilmiş bitkinin ekstraktörde, uygun sıcaklıkta, belli bir süre boyunca tutulmasıdır (Naczk ve Shahidi, 2006). Bu aşama geniş çapta bitki bileşenlerinin çözelti ortamına alınmasına olanak sağlar. Ancak bu arada elde edilen ekstrakt fenolik bileşiklerin yanısıra istenmeyen bileşenleride içerdiğinden analizleri güçleşmektedir. Bu durumda çözeltideki bir maddeyi ya da belli bir madde grubunu, içinde buldukları çözücü ortamından başka bir çözücü vasıtasıyla ayırma işlemi olan sıvı-sıvı ekstraksiyonu uygulanabilecek yöntemlerden biridir ve bu tez kapsamında uygulanmıştır (Naczk ve Shahidi, 2006).

1.2.3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Bu yöntem birbiriyle karışmayan iki sıvının yoğunluk farkından yararlanılarak uygulanır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda ayırma hunisi kullanılır. Karışım ayırma hunisine konulduğunda yoğunluğu küçük olan sıvı üstte, büyük olan ise altta toplanır. Genel itibarıyla ekstraksiyon belli bir maddenin iki faz arasında dağılım oranının farklılığı kullanılarak bu maddenin bir fazdan diğer bir faza doğal olarak geçme isteğiyle

ayrılması olarak açıklanabilir. Ekstraksiyonda kullanılan iki fazdan biri genelde su fazı diğeri ise organik bir fazdır. Maddenin bu iki faz arasında bir dağılıma dengesi olduğundan bu dengenin de dağılıma sabiti olarak adlandırılan bir denge sabiti bulunur. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu her defasında organik fazı alınarak temiz çözücü ilavesi ile tekrarlanır. Bu durumda tekrar sayısı ne kadar çok ise istenen bileşenlerin elde edilen miktarı o kadar fazladır.

Fenolik bileşiklerin sıvı-sıvı ekstraksiyonunda en yaygın olarak kullanılan iki organik çözücü dietil eter ve etil asetatdır (Duan vd., 2006; Termentzi vd., 2006). Bu çözücüler çoğu zaman polimerleşmiş yada glikozitleri halinde bulunan fenolik bileşiklerin hidrolizlenerek serbest fenolik bileşikler halinde ekstrakte edilmelerinde kullanılmaktadır (Duan vd., 2006; Naczki ve Shahidi, 2006). Bazı durumlarda ham ekstraktan fenolik bileşikleri doğal formlarında ve polarite değişimlerine göre fraksiyonlayarak izole etmek daha iyi bir çözümdür. Bunun için sulu çözeltideki bileşenler hekzan, kloroform yada diklorometan gibi apolar bir çözücü ile başlayarak sırasıyla dietil eter, etil asetat, n-bütanol ile ardışık olarak ekstrakte edilerek fraksiyonlarına ayrılabilirler (Termentzi vd., 2006). Bu tez kapsamında metanol ile elde edilen ham ekstraktlar sırasıyla dietil eter, etil asetat, n-bütanol ile ardışık olarak fraksiyonlarına ayrıldı ve her bir fraksiyon HPLC-UV ile analiz edildi.

1.2.4. Fenolik Bileşiklerin Analizleri

Fenolik bileşiklerin analizleri genel olarak spektrofotometrik ve kromatografik olarak iki yöntemle yapılmaktadır. Spektrofotometrik yöntemler, fenolik bileşiklerin etkileştirildikleri reaktifler ile oluşturdukları renkli bileşiklerin renk yoğunluğunun spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanır. Bu yöntemler, genel olarak fenolik yapıların verdiği reaksiyon ürünleri ölçüldüğü için toplam fenolik madde tayini olarak kullanılmaktadırlar. Kromatografik analizlerde ise bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşikler öncelikle kromatografik bir ayırma tabii tutulurlar ve ayrı ayrı dedekte edilirler. Sıcaklıkla bozulabilen ve kaynama noktaları yüksek olan fenolik bileşikler için sıvı kromatografisi kullanılmaktadır. Günümüzde kimyasal yapıları birbirine çok benzer olan bileşenlerin ayrılması için geliştirilen yüksek performanslı sıvı kromatografisinin (HPLC) kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Kromatografik ayırımların ardından ayrılan her bir bileşenin dedekte edilmesi için sıvı kromatografisinde, ultraviyole ve görünür bölge (UV-UVvis) dedektörü, floresans dedektör, kütle spektrometre dedektörü (MS),

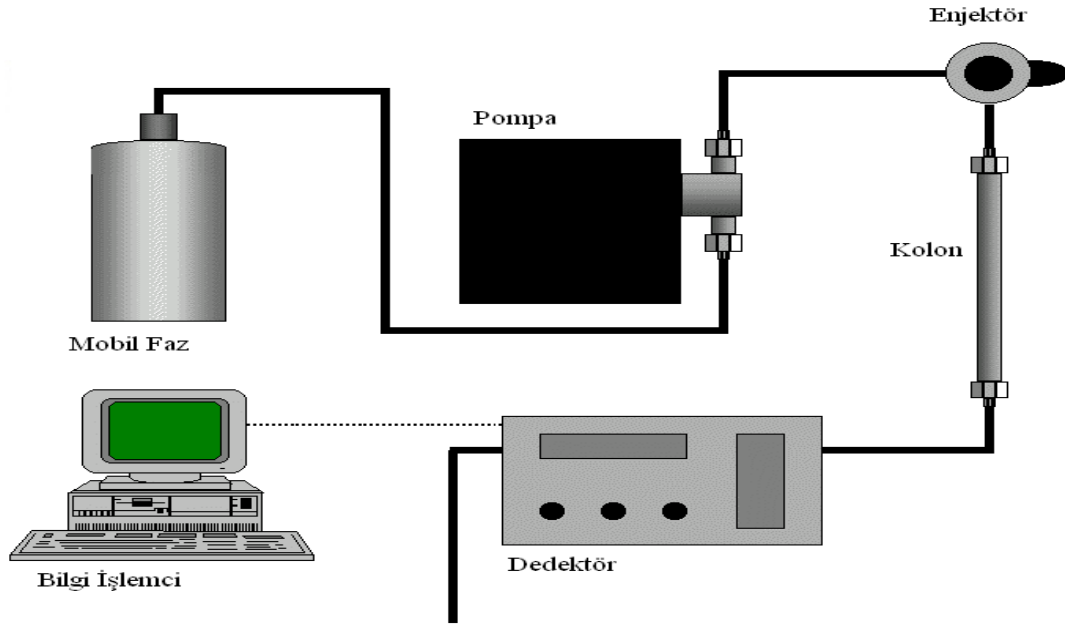
refraktif indeks dedektör, elektrik iletkenlik dedektörü, elektrokimyasal dedektör, buharlaştırmalı ışık saçılması dedektörü ve radyoaktivite dedektörü kullanılabilir. Fenolik bileşiklerin HPLC analizlerinde yaygın kullanılan dedektörler ise UV-UVvis ve MS dedektörleri olmakla beraber kullanımı kolay ve ucuz olmasından dolayı UV-UVvis dedektörler en yaygın kullanılanıdır (Skoog vd., 1997).

Bu tez kapsamında da bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin analizleri HPLC-UV ile gerçekleştirilmiştir ve bu konuya detaylı olarak değinilecektir.

1.2.4.1. Fenolik Bileşiklerin HPLC-UV ile Analizleri

Kromatografi, kompleks karışımlarda bulunan kimyasal olarak birbirine yakın özellikteki bileşikleri ayırmak için kullanılan birçok farklı yöntemi içerir. Bütün kromatografik ayırmalarda numune gaz, sıvı veya bir süperkritik akışkanı olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz, bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş, kendisi ile karışmayan bir durgun faz içerisinden geçmeye zorlanır. Durgun faz ile hareketli faz arasında dağılma gösteren numune bileşenlerinden durgun faz tarafından kuvvetli tutulanlar, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederlerken, durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler daha hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar (Skoog vd., 1997).

Kromatografik ayırımlarda durgun fazın tutturulduğu kolonun boyutları oldukça önemlidir. Kolon boyu arttıkça ve partikül boyutları küçüldükçe bileşenlerin ayırımları artmaktadır. Ancak partikül boyutlarının mikro boyutlara ulaşmalarıyla hareketli fazın kolonda hareketi için yüksek basınç ihtiyacı duyulmuş ve böylece yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ortaya çıkmıştır. Günümüzde yüksek basınçlı pompalar ile hareketli fazın kolona verildiği bu tekniğin yüksek basınçtan daha çok yüksek performansı ön planda olduğu için yüksek performanslı sıvı kromatografisi adını almıştır. Yöntemin yaygın olarak kullanılmasının sebepleri, duyarlılığının yüksek ve doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolay bozunabilecek türlerin ayrılmasına uygun olması ve hepsinden önemlisi sanayinin, birçok bilim dalının ve halkın birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir. Bu gibi maddelere örnek olarak; amino asitler, proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar, ilaçlar, antibiyotikler, steroidler, fenolik bileşikler ve çeşitli inorganik bileşikler sayılabilir. Bir HPLC-UV cihazı Şekil 5’de görülmektedir.



Şekil 5. HPLC-UV cihazının şematik gösterimi.

Modern bir HPLC cihazı, bir veya daha fazla, herbiri 200-1000 mL çözücü içeren cam veya çelik hazne içermektedir. Sabit bileşimdeki tek bir çözücü ile yapılan ayırım *izokratik elüsyon* olarak adlandırılır. Polariteleri birbirinden önemli derecede farklı, iki veya daha fazla çözücü sistemi kullanılıyorsa *gradiyent elüsyon* adını alır. Bu sistemde elüsyon başladıktan sonra, programa göre, bazen sürekli olarak bazen basamaklar halinde, çözücü oranı değiştirilir.

Bir HPLC pompalama sisteminde gerekli şartlar oldukça önemlidir:

- 400 atm'e kadar basınç üretimi,
- Puls içermeyen basınç çıkışı,
- 0,1-10 mL/dakika aralığında akış hızları,
- % 0,5 veya daha iyi bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü,
- Korozyona dayanıklı parçalar.

Sıvılar sıkıştırılmadığından HPLC pompalarının üretilen basınçla patlama tehlikesi oluşmadığına dikkat edilmelidir. Parçalardan birinde meydana gelebilecek çatlak, çözücünün dışarı sızması ile sonuçlanabilecektir.

Çoğu zaman ölçmelerin kesinliğini belirleyici faktör, numunenin kolon dolgu maddesine sekinin tekrarlanabilirliğidir. Aşırı numune yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de kesinliği etkiler. Bu yüzden, kullanılan hacim, 10-100 μL 'ye kadar

oldukça küçük olmalı ve sistemin basıncını düşürmeden numunenin siteme girişi sağlanmalıdır.

HPLC kolonları polaritelerine göre normal faz ve ters faz olarak ikiye ayrılırlar. Daha polar bir kolon dolgu maddesi kullanılan yöntemler normal faz, daha apolar kolon dolgu maddesi kullanılan yöntemler ise ters faz olarak adlandırılmıştır. Normal fazda hareketli faz olarak daha apolar organik çözücüler kullanılırken ters fazda daha polar çözücüler kullanılır. Günümüzde ters faz çalışmaları çok daha yaygın kullanılmaktadır. Bunun belli başlı sebepleri;

1. Hareketli faz olarak yüksek oranda suyun kullanılabilmesi ve bu yüzden hem ucuz olması hem de çevreye daha az zarar vermesi,
2. Hareketli fazın dengeye ulaşmasının normal fazda çok yavaş olması,
3. Normal fazda kullanılan apolar çözücülerin pahalı olması ve nemden uzak tutmanın zor olması,
4. Normal fazda polar bileşenlerin ayırımının çok yavaş olması ve bunun yayvan piklere sebep olması,
5. Normal fazda hareketli faz bileşimindeki küçük değişikliklerin kromatogramlarda belirgin farklılıklara sebep olmasıdır.

HPLC için ideal bir dedektör şu özellikleri taşımalıdır:

- Yeterli duyarlılık,
- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik,
- 400°C'ye kadar varan sıcaklık aralığı,
- Yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı,
- Her türden analite benzer cevap alınmalı,
- Bant genişlemesini azaltmak amacıyla, minimum iç hacimde olmalı,
- Numuneyi parçalamamalı (Skoog vd., 1997).

Polifenolik yapıların içerdikleri hidroksil gruplarından dolayı polariteleri artmaktadır. Bu da onların ters faz kromatografisi ile ayırmalarını kolaylaştırmaktadır. Fenolik bileşiklerin HPLC ayırmaları için hareketli faz olarak asetonitril, metanol ve su sıkça kullanılır. Zayıf asidik özellik taşıyan fenolik bileşik türlerinin ayırmalarını güçlendirmek için asetik asit ve formik asit bu hareketli fazlar içerisinde düşük oranlarda modifiye edici olarak kullanılmaktadır. Numune çözücülerini olarak da

hareketli faz bileşiminde bulunabilecek metanol ya da asetonitrilin sulu çözeltileri kullanılmaktadır.

Fenolik bileşiklerin HPLC analizlerinde dedektör olarak yaygın şekilde UV-UVvis dedektörün kullanıldığı yukarıda belirtildi. UV dedektörde dalga boyu seçimi oldukça önemlidir. Fenolik maddeler yapılarındaki farklılıklardan dolayı farklı dalga boylarında maksimum absorbanza sahiptirler. Fenolik asitlerden benzoik asit türevleri genellikle 280 nm de, sinamik asit türevleri 315 nm de ölçülebilirler. Flavonoidlerden kateşinler 254 ve ya 280 nm de, flavonoller ise 370 nm de ölçülmektedirler.

1.2.5. *Sorbus aucuparia* ve *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*

Bu tez kapsamında iki tür *Sorbus* cinsi çalışılmıştır. *Sorbus* cinsi Rosaceae familyasına ait olup 250 ağaç ve çalı türüne sahiptir. *Sorbus*lar, ishal ve idrar söktürücü, antienflamatuar, antidiabetik vazoprotektif, ve vasorelaksan aktivitelerinden dolayı etnomedikal amaçla kullanılmakta ve potansiyel antioksidan ajanlar olarak bilinmektedirler (Olszewska vd., 2012).

Sorbus aucuparia, halk arasında kuş üvezi olarak adlandırılır ve İngilizce adı rowanberrydir. Oval taç artan yaprakları, gri düzgün kabuğu ve tüylü ince dalları ile ağaç 4-20 m boyunda olabilmektedir. Kum, kil ve organik maddece zengin topraklarda yetişir. Avrupa ve Sibiry kökenli olup ülkemizde kuzeyde ve Kuzeydoğu Anadolu bölgelerinde bulunmaktadır. Çanakkale-Balaban, Bursa-Uludağ, Kastamonu-Ilgaz Dağı kuzey yamaçları, Giresun-Eğribel Geçidi kuzeyi, Trabzon-Sümela ve Rize-Orta Yayla en yaygın bulunduğu yerlerdir. İçerdiği fenolik asitler bakımından gıda, sanayi gibi alanlarda kullanılabilir (Devis, 2008; Gültekin ve Gültekin, 2006). Şekil 6'da meyvesi ve ağacının yapısı görülmektedir.



Şekil 6. *Sorbus aucuparia* ağaç ve meyvesi.

Sorbus caucasica var. *yaltirikii*, Türkiye için tek endemik üvez çeşididir. Rize-Pazar ve Artvin-Yusufeli, bulunduğu ve yetiştirildiği yerler olarak bilinmektedir. Bu türde dallar ince, yaprakların alt ve üst kısmı tüysüz olmaktadır (Gökşin, 1977). Bu tür ülkemiz için büyük önem arz etmekte ve koruma altında gösterilmektedir. Şekil 7’de meyvemiz görülmektedir.



Şekil 7. *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii*.

1.2.6. Literatür Özeti

Fenolik bileşikler bitki ve hayvansal kökenli pek çok gıdanın tat ve aromasına katkıda bulunabilirler. Yapılan araştırmalar; fenolik asitlerden protokatekuik asidin 30 ppm, şirincik asidin 240 ppm’lik konsantrasyona ulaşması halinde acı tat şeklinde

algılandığını, fakat fenolik asitlerin birkaçının birlikte etki göstermesi sonucu algılama sınırının daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleştiğini göstermektedir. Örneğin *p*-kumarik asidin 48 ppm ve ferulik asidin 90 ppm'e ulaşması ile duyusal olarak ekşi ve acı tadı hissettirdikleri, her ikisinin birlikte algılama konsantrasyonunun ise 20 ppm'e kadar düştüğü saptanmıştır (Cemeroğlu, 2004; Shahidi ve Nacz, 1995; Şimşek, 2004; Artık, 2004).

Meyvelerin rengi en önemli kalite özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir. Çoğu kalite kontrol uygulamaları genel olarak meyvelerin kalite derecesini ölçmek için rengi bir özellik olarak kullanır ve bu nedenle renk, ürünlerin ticari bir değeri olarak kabul edilir (MacDougall, 2002). Flavonoller, flavonlar, kalkonlar, flavanonlar, izoflavanonlar ve biflavonoidler gibi diğer flavanoidler ise bitkilerde sarı veya fildişi renklere katkıda bulunabilirler (Shahidi ve Nacz, 1995).

Flavonoidler ve sinamik asitler en önemli antioksidan, serbest radikal tutucu ve zincir kırıcılar olarak bilinmektedirler (Shahidi ve Nacz, 1995). Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat ve tert-bütillhidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar besin maddelerinde oksidatif acılaşmaya karşı kullanılmaktadır (De Sotillo vd., 1994). Ancak son yıllarda sentetik maddeler yerine doğal antioksidanların kullanımı tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. Bitkisel yağlarda bu amaçla flavonoidler, çay, baharlı ot (herb), meyve ve çekirdek fenolikleri kullanımı üzerinde durulmaktadır (De Sotillo vd., 1994, Luzia vd., 1997, Wanasundara ve Shahidi, 1998).

Sorbus aucuparia (*S. aucuparia*) meyve suyunda flavonol içeriğinin HPLC-DAD ve HPLC-MS sistemi ile incelendiği çalışmalarda kuersetin ve kamferole ait 7 farklı glikozit aydınlatılmıştır. Kuersetin içeriği kamferole göre çok daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmalarda ayrıca fenolik asit içeriği de incelendiğinde neoklorojenik asit ve klorojenik asitce meyve suyunun flavonollere göre 3 kat fazla zengin olduğu bulunmuştur (Gil-Izquierdo ve Mellenthin, 2001; Mättä-Riihinen vd., 2004). Mättä-Riihinen vd., (2004) çalışmalarında meyvenin, antosiyanidinlerden siyanidin ve kateşinlerden epikateşini de içerdiğini tespit etmişlerdir.

Monika (2011), yetiştirme süreçlerinden mevsimsel olarak *S. aucuparia* yapraklarının antioksidan etkisinin ve toplam fenolik madde bileşiminin değişimini incelediği çalışmada en iyi antioksidan aktivite ve en yüksek fenolik içeriği, haziran, temmuz ve ağustos aylarında hasat edilen örneklerde gözlemiştir.

Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkileri bilindiğinden bu bileşenlerce zengin olan *S. aucuparia* meyvesinin antimikrobiyal ve antibakteriyel özellikleri de araştırılmıştır. Sulu ve etanolik ekstraktlarının Gram-pozitif bakterilerden *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus*, Gram-negatif bakterilerden de *Pseudomonas aeruginosa*' ya karşı aktif oldukları böylece antibakteriyel ve antifungal etkilere sahip oldukları yapılan çalışmada bulunmuştur (Liepiņa vd., 2013).

Olszewska vd., (2012), *S. aucuparia* tarafından temsil edilen sekiz sorbus türünün kurutulmuş meyvelerinde çeşitli antioksidan aktivite testleri ve fenolik bileşimlerini incelemiştir. Kullandıkları ekstraksiyon ve fraksiyonlama tekniği mevcut tez çalışması ile benzer şekilde sıvı-sıvı ekstraksiyonu uygulanarak yapılmıştır. En değerli ekstrakt olarak bütanol ve etil asetat ekstraktlarında yüksek DPPH• radikal temizleme aktivitesi, troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), demir (+3) indirgeme kapasitesi (FRAP) ve yüksek gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde miktarı bulunmuştur. Ekstraktların fenolik içeriğinin aydınlatılması için fotodiyot array dedektöre bağlı HPLC (HPLC-PDA) kullanılmış ve başlıca klorojenik asit, isokuersitrin, hiperozit, rutin, kuersetin-3-O-soforozit ve seksangularetin-3-O-β-D-glukopiranozit içerdikleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada *S. aucuparia* türünde en yüksek hidroksibenzoik asit yüzdesi protokatekuik asit ve *p*-OH benzoik asit olarak eter ekstraktında, en yüksek flavonoid yüzdesi de etil asetat ve ardından bütanol ekstraktında tespit edilmiştir. Klorojenik asit izomerlerinin yüzdesi en yüksek bütanol ve takiben sulu ekstraktta mevcut olarak bulunmuşken kafeik asit yüzdesi en yüksek etil asetat ekstraktında gözlenmiştir.

Kafkas sorbusu *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* (*S. caucasica*) Artvin ilinde nesli tehlikede olan bitkiler arasında olan endemik bir türdür (Gökşin, 1977; Eminağaoğlu vd., 2010). Bu tür Azerbaycan dağlık arazilerinde de yetişmekte ve yerel halk tarafından gıda olarak değerlendirilmektedir (Seyidahmedov ve Atamov, 2008). Bu türün fenolik içeriği hakkında literatürde bilgiye rastlanmamıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Toplanması

Deneyleerde kullanılan *Sorbus aucuparia* (*S. aucuparia*), Eylül 2012’de Rize, Orta Yayla’dan, 1830 m’den toplanarak -20°C’de derin dondurucuda muhafaza edildi. *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* (*S. caucasica*) ise Rize, Sıralar Köyü’nden, 1700 m’den Ağustos 2012’de toplanarak aynı şekilde muhafaza edildi. Türlerin tanımlanması Devis’e (2008) göre yapıldı. *S. aucuparia* meyvesinden yaş halde 1,1058 g alınarak 110°C etüvde kurutuldu ve 0,2783 g kuru meyve tartıldı (% 25,17g kuru meyve/yaş meyve). *S. caucasica* meyvesinden ise yaş halde 1,0146 g alınarak etüvde 110 °C’de kurutularak kuru meyve miktarı 0,3801 g olarak tartıldı (% 37,46 g kuru meyve/yaş meyve).

2.2. Meyvelerden Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

S. aucuparia ve *S. caucasica* meyvelerinin ekstraksiyonları aynı yöntemlerle gerçekleştirildi. Meyveler öğütülüp, *S. aucuparia*’nın 5,0302 g’ı ve *S. caucasica*’nın 5,0163 g’ı tartıldı ve balon jojeye alındı. Balon jöjeler ışık almaması için alüminyum folyo ile sarılıp kapatıldı. 20 mL metanolle, 50 °C sıcaklıkta 2 saat boyunca geri soğutuculu düzenekte magnetik karıştırıcı ile karıştırıldı. İşlem tamamlandıktan sonra mavi bant süzgeç kağıdıyla süzülerek ekstrakt meyve posasından ayrıldı. Daha sonra kalan kısım 5 mL metanol ile iki kez karıştırıcı ile 1 dk boyunca karıştırılarak yıkandı. Süzülerek elde edilen tüm metanol ekstraktları birleştirildi ve çözücüleri buharlaştırıldı. Buharlaştırma işlemi sonrası *S. aucuparia* 0,9357 g, *S. caucasica* ise 0,4776 g olarak tartıldı. Kuru ekstrakt 20 mL sıcak su ilavesi ile çözüldü. Daha sonra ikişer kez 10 mL olmak üzere sırası ile eter, etil asetat ve bütanol kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonu uygulandı. Oluşan organik fazlar ve kalan sulu fazın çözücüleri ayrı balonlarda buharlaştırıldı. Kuru kısımlar 3 mL metanol ile çözülp HPLC-UV analizi için +4 °C’de saklandı.

2.2.1. Örneklerin Kodlanması

Deneysel çalışmalar sırasında pratik olması için meyvelerimiz, ekstraksiyon aşaması ile birlikte açıklayıcı şekilde kısaltmalar ile kodlandırılmıştır. Bu kodlamalar meyve isimleri ile ekstraksiyon çözücülerinin bilgisini verecek şekilde seçilmeye çalışıldı. Örneğin, *S. aucuparia* meyvesi SA şeklinde kısaltılırken deney aşamasında

ekstraksiyon ile alınan kısımlar çözücülerin baş harfleri eklenerek kodlanmış oldu. Yani *S. aucuparia* meyvesinin sırası ile eter, etil asetat, bütanol çözücüleri ve sulu kısım için kodlaması; SA-E, SA-EA, SA-B, SA-S şeklinde yapılmıştır. Kodlama yöntemi *S. caucasica* var. *yaltirikii* için de aynı şekilde düzenlendi yani sıra ile; SC-E, SC-EA, SC-B, SC-S şeklinde kodlandırılmıştır.

2.3. Meyvelerin HPLC-UV Analizleri

2.3.1. Kimyasal Malzeme ve Materyaller

Tüm analitik seviyedeki fenolik standartlar ve iç standart propil paraben Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edilirken vanilik asit Fuluka marka kullanıldı. HPLC grade asetonitril, metanol, etanol, etil asetat, asetik asit ve eter ise Merck (Darmstad, Almanya) firmasından alındı.

Ekstraktlar HPLC-UV analizlerinden önce %50 oranında sulandırılarak seyreltilip Whatman (Cliftown, NJ, USA) (13 mm, 0.2 µm, PVDF) HPLC şırınga filtresi ile süzüldü.

Bu çalışmada, kimyasal madde ve meyve örneklerini tartmak için And GR200 analitik terazi, ekstraksiyon işlemleri ve kimyasal maddelerin çözünmesine yardımcı olmak için VWR ultrasonik su banyosu, çöktürme işlemi için Sigma Sartorius 1-6P santrifüj, kurutma işlemleri için Oven ST055 etüv, çözeltileri karıştırmak için Velp Scientifica vorteks, ultra saf su temini için Human Corporation su destile sistemi kullanıldı. Ekstraksiyon sonrası çözücüyü uzaklaştırmak amacıyla Heidholph laborota 4000 marka evaporatör kullanıldı.

2.3.2. HPLC-UV Koşulları

HPLC-UV analizleri gerçekleştirilirken kullanılan ters faz kolon C-18 (150 mm × 4.6 mm iç çap, 5 µm partikül; Fortis, France) Thermo Finnigan Surveyor HPLC temin edildi. Gradyent elüsyon için kullanılan HPLC yöntemi Akyüz Turumtay vd., (2014) tarafından geliştirildi. Hareketli faz (A) %2 asetik asitin sulu çözeltisi ve (B) 70:30 asetonitril/su çözeltilerinden oluşmaktadır. Gradyent çalışmalarda sistemimiz 0-3 dk %5 B; 3-8 dk %5-15 B; 8-10 dk %15-20 B; 10-12 dk %20-25 B; 12-20 dk %25-40 B; 20-30 dk %40-80 B şeklinde ayarlanıp daha sonra başlangıç seviyesine geri dönecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 25 µL ve kolon sıcaklığı kolon fırınında

30 °C'ye ayarlandı. Akış hızı 1,2 mL/dk olarak ayarlandı, dedektör 280 ve 315 nm'de çalıştırıldı. Benzoik asit türevleri (gallik, protokatekuik, *p*-hidroksibenzoik, vanilik ve şirincik asit) ve flavanoller (kateşin ve epikateşin) 280 nm, sinamik asit türevleri (klorojenik, kafeik, *p*-kumarik ve ferulik asit), flavon (apigenin), flovonoller (mirisetin, fisetin, kamferol, kuarsetin ve isoramnetin) ve flovonol glikozit olan rutin 315 nm'de analiz edildi.

2.3.3. Standartlar, Kalibrasyon ve Validasyon

Kalibrasyon için 18 fenolik standardın çözeltileri farklı konsantrasyonlarda (1, 2, 5, 10, 20 ve 30 mg.L⁻¹) ve çözücüsü % 50 metanol/su olacak şekilde hazırlandı. İç standart yöntemine göre 10 mg.L⁻¹ propil paraben kullanılarak kalibrasyon eğrileri elde edildi. Kalibrasyon eğrilerinin doğrusallıkları (R²) Tablo 4'de verildi.

Kalitatif tespit sınırı (LOD) ile kantitatif belirleme sınırı (LOQ), mg.L⁻¹ cinsinden EPA metoduna göre hesaplandı. LOD değeri hesaplanırken her bir analit sinyalinin gürültüye oranının (S/N) 3 katı, LOQ değeri için ise S/N oranının 10 katı alınarak belirlendi. Standart karışımlarının konsantrasyonları: gallik asit, protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit ve şirincik asit için 0,5 mg.L⁻¹; klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik, rutin, fisetin, mirisetin, kuersetin, apigenin, kamferol ve isoramnetin için 1 mg.L⁻¹; kateşin ve epikateşin için ise 2 mg.L⁻¹ olarak ayarlandı. LOD, LOQ ve tekrarlanabilirlik değerlerinin belirlenmesi için bu karışım 7 kez analiz edildi. Tekrarlanabilirlik pik alanı ve alıkonma zamanlarının yüzde bağıl standart sapmaları (CV) olarak Tablo 4'de verildi.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

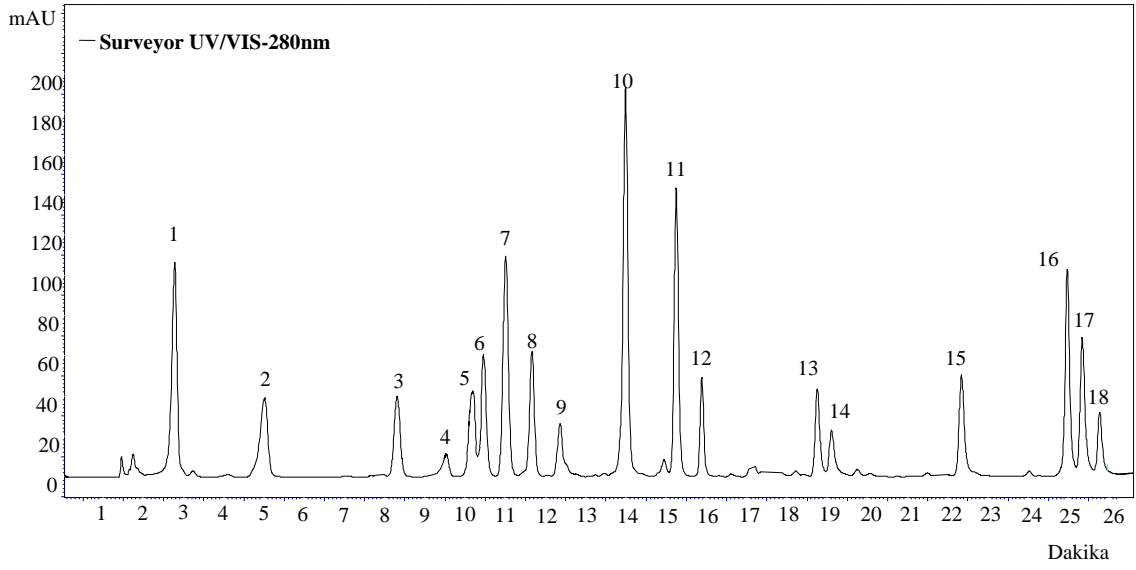
3.1. Fenolik Bileşiklerin Analizi için HPLC-UV Metot Optimizasyonu

HPLC-UV ile 18 fenolik madde standardının analiz edildiği metot, hassasiyet ve geçerlilik açısından değerlendirildi. Alıkonma zamanlarının ve alanların tekrarlanabilirliği kabul edilebilir aralıkta bulundu. LOD değerleri kateşin ve isoramnetin için 0,12 ve 0,13 mg.L⁻¹ diğer fenolik standartlar için 0,08 mg.L⁻¹' nin altındadır. LOQ değerleri ise isoramnetin için 0,45 mg.L⁻¹ olup diğer fenolik standartlar için bu değer altındadır. Doğrusal kalibrasyon grafikleri için R²>0,99 elde edildi. (Tablo 4).

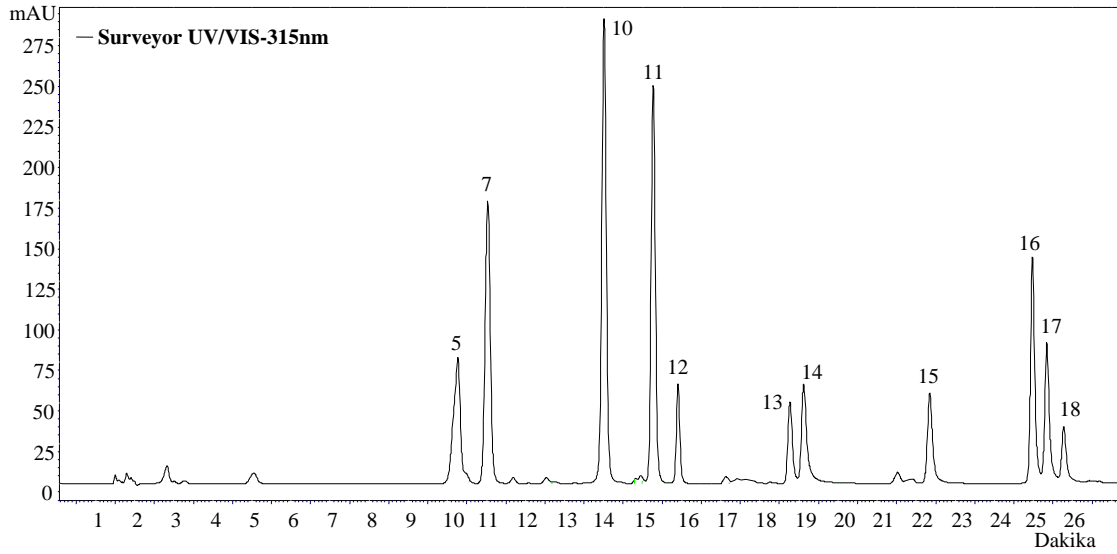
Tablo 4. Fenolik standart bileşiklerin HPLC-UV yöntemine göre kalibrasyon ve validasyon parametreleri.

| No | RT _{Ort.} | Bileşik | CV (RT) | CV (ALAN) | R ² | LOD | LOQ |
|----|--------------------|---------------------------|---------|-----------|----------------|------|------|
| 1 | 2,76 | Gallik asit | 0,30 | 2,05 | 0,998 | 0,03 | 0,11 |
| 2 | 5,01 | Protokatekuik asit | 0,24 | 2,78 | 0,999 | 0,04 | 0,14 |
| 3 | 8,32 | <i>p</i> -OH benzoik asit | 0,65 | 1,19 | 0,999 | 0,02 | 0,06 |
| 4 | 9,50 | Kateşin | 0,58 | 2,10 | 0,999 | 0,12 | 0,39 |
| 5 | 10,19 | Klorojenik asit | 0,29 | 1,50 | 0,998 | 0,04 | 0,15 |
| 6 | 10,45 | Vanilik asit | 0,35 | 0,87 | 0,999 | 0,01 | 0,05 |
| 7 | 11,03 | Kafeik asit | 0,24 | 0,83 | 0,999 | 0,03 | 0,09 |
| 8 | 11,66 | Şirincik asit | 0,36 | 1,49 | 0,999 | 0,02 | 0,07 |
| 9 | 12,40 | Epikateşin | 0,38 | 1,33 | 0,999 | 0,08 | 0,26 |
| 10 | 13,98 | <i>p</i> -Kumarik asit | 0,11 | 0,56 | 0,999 | 0,02 | 0,06 |
| 11 | 15,29 | Ferulik asit | 0,23 | 0,63 | 0,999 | 0,02 | 0,07 |
| 12 | 15,92 | Rutin | 0,53 | 1,15 | 0,999 | 0,03 | 0,11 |
| 13 | 18,69 | Mirisetin | 0,26 | 4,09 | 0,999 | 0,08 | 0,27 |
| 14 | 19,19 | Fisetin | 0,25 | 2,56 | 0,999 | 0,05 | 0,18 |
| 15 | 22,42 | Kuersetin | 0,21 | 1,78 | 0,999 | 0,04 | 0,13 |
| 16 | 25,02 | Apigenin | 0,15 | 1,49 | 0,999 | 0,05 | 0,17 |
| 17 | 25,37 | Kamferol | 0,14 | 2,68 | 0,999 | 0,07 | 0,22 |
| 18 | 25,79 | İsoramnetin | 0,14 | 6,34 | 0,998 | 0,13 | 0,45 |

18 Standart fenolik bileşiğin 10 mg.L⁻¹ konsantrasyonda çözeltilerine ait HPLC-UV kromatogramları Şekil 8 (280 nm) ve Şekil 9'da (315 nm) verildi. Her bir bileşen Tablo 4' deki numaraları ile kalibrasyonlarının yapıldığı kromatogramda işaretlendi.



Şekil 8. Benzoik asit türevlerinin (1: gallik asit, 2: protokatekuik asit, 3: *p*-OH benzoik asit, 6: vanilik asit ve 8: şirincik asit) ve flavanollerin (4: kateşin ve 9: epikateşin) 280 nm’ de HPLC-UV kromatogramları.



Şekil 9. Sinamik asit türevlerinin (5: klorojenik asit, 7: kafeik asit, 10: *p*-kumarik asit ve 11: ferulik asit), flavon (16: apigenin), flavonoller (13: mirisetin, 14: fisetin, 17: kamferol, 15: kuersetin ve 18: isoramnetin) ve flavonol glikozit (12: rutin) 315 nm’ de HPLC-UV kromatogramları.

3.2. *Sorbus aucuparia* ve *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* Meyvelerinin Fenolik Bileşiklerinin HPLC-UV Analizleri

Sorbus meyvelerinin ekstraktlarının yüzde ekstraksiyon verimleri, her bir çözücüye alınan kuru ekstrakt miktarının meyvelerin kuru ağırlığına oranının yüzdesi olarak hesaplandı ve Tablo 5’de verildi.

Tablo 5. Meyvelerin yüzde ekstraksiyon verimleri

| Çözücü | <i>S. aucuparia</i> | %Ekstraksiyon verimi (%kuru bazda) | <i>S. caucasica</i> | %Ekstraksiyon verimi (%kuru bazda) |
|-------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| Eter | SA-E | 1,72 | SC-E | 1,27 |
| Etil Asetat | SA-EA | 5,85 | SC-EA | 0,83 |
| Bütanol | SA-B | 11,62 | SC-B | 1,42 |
| Su | SA-S | 42,84 | SC-S | 16,36 |

Tablo 5’de ekstraksiyon verimlerinin her bir çözücü için farklı olduğu ve *S. aucuparia* için ekstraksiyon verimi su>bütanol>etil asetat>eter şeklinde, *S. caucasica* için verim su>bütanol> eter>etil asetat şeklinde olduğu gözlemlendi. *S. aucuparia*’nın ekstraksiyon verimlerinin sıralaması, bu çalışmaya benzer fraksiyonlamanın yapıldığı bir çalışmada aynı şekilde su, bütanol, etil asetat ve eter için sırasıyla % 23,4; 6,3; 2,2 ve 0,4 değerleri elde edilmiştir (Olszewska vd., 2012).

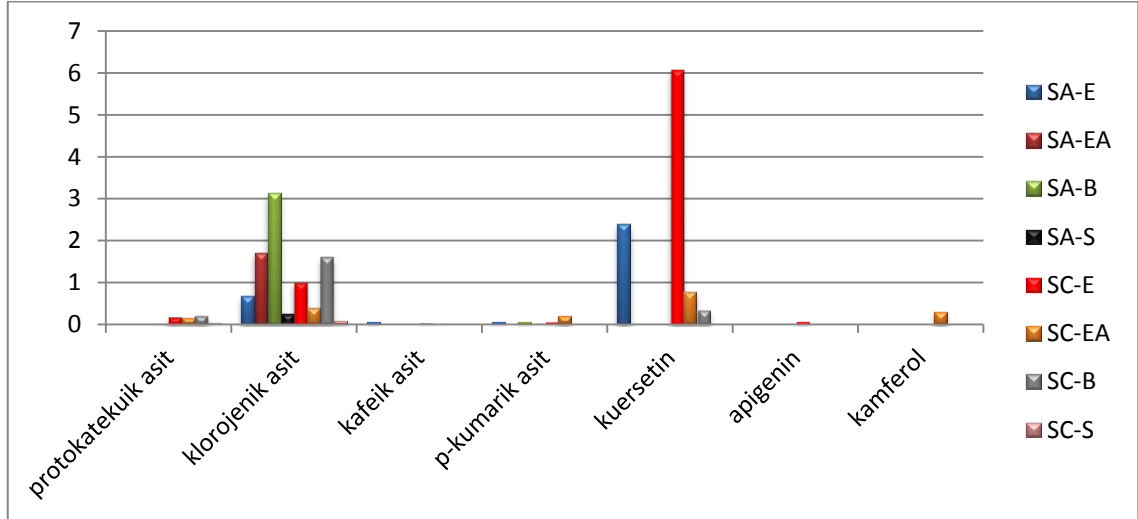
S. aucuparia ve *S. caucasica* meyvelerinin fenolik bileşiklerinin analizleri için standart ve kalibrasyon işlemlerinin ardından alınan ekstraktlar HPLC-UV analizlerine tabi tutuldu. Fenolik maddelerin herbiri Tablo 6’da mg/g ekstrakt şeklinde verildi.

Tablo 6. *S. aucuparia* ve *S. caucasica* meyvelerinin HPLC-UV ile aydınlatılan fenolik bileşikleri.

| Fenolik bileşikler | mg fenolik madde/g ekstrakt | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------------|-------|------|------|------|-------|------|------|
| | SA-E | SA-EA | SA-B | SA-S | SC-E | SC-EA | SC-B | SC-S |
| Protokatekuik asit | X | X | X | 0,02 | 0,19 | 0,16 | 0,21 | 0,03 |
| Klorojenik asit | 0,68 | 1,71 | 3,13 | 0,26 | 1,01 | 0,40 | 1,60 | 0,09 |
| Kafeik asit | 0,07 | X | X | X | 0,04 | 0,02 | X | X |
| <i>p</i> -kumarik asit | 0,06 | X | 0,06 | 0,01 | 0,06 | 0,19 | X | X |
| Kuersetin | 2,40 | X | X | X | 6,08 | 0,78 | 0,34 | X |
| Apigenin | X | X | X | X | 0,08 | X | X | X |
| Kamferol | X | X | X | X | X | 0,31 | X | X |

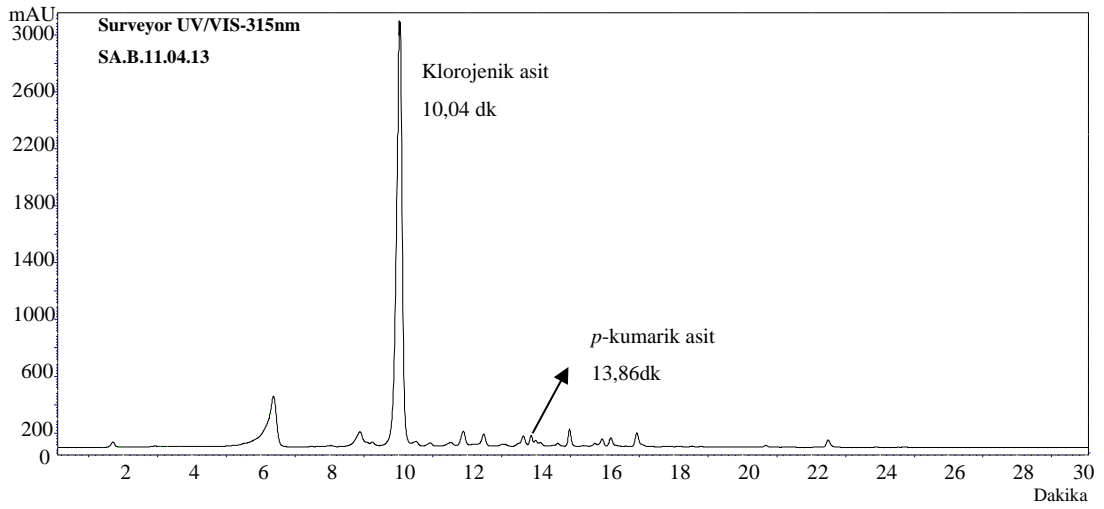
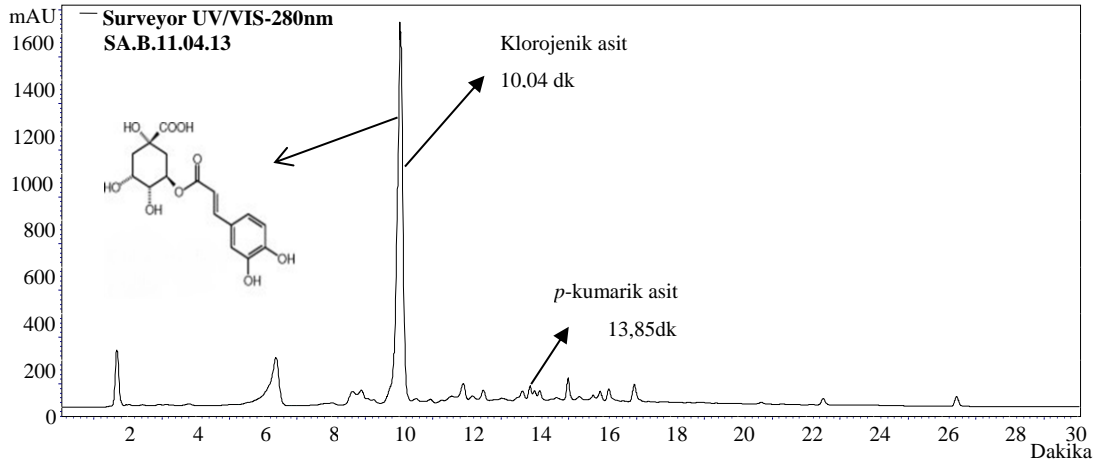
X: Gözlenmedi

Tablo 6’ da görüldüğü gibi her bir organik çözücü fraksiyonuna ait fenolik bileşen içeriği birbirinden oldukça farklıdır. Bazı fazlara geçen fenolik bileşiklerin miktarı fazlayken aynı bileşiğin diğer fazlarda bulunmadığı gözlemlendi.



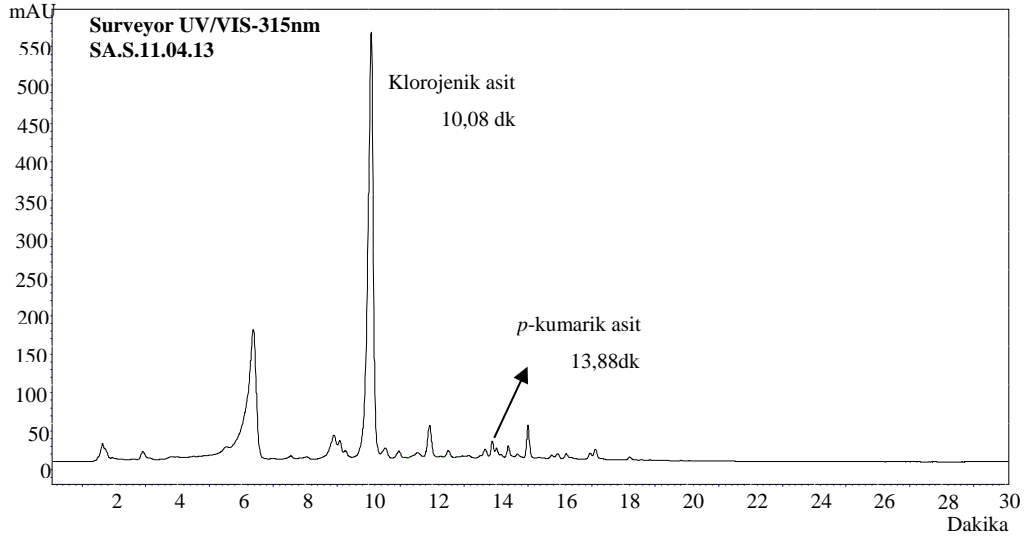
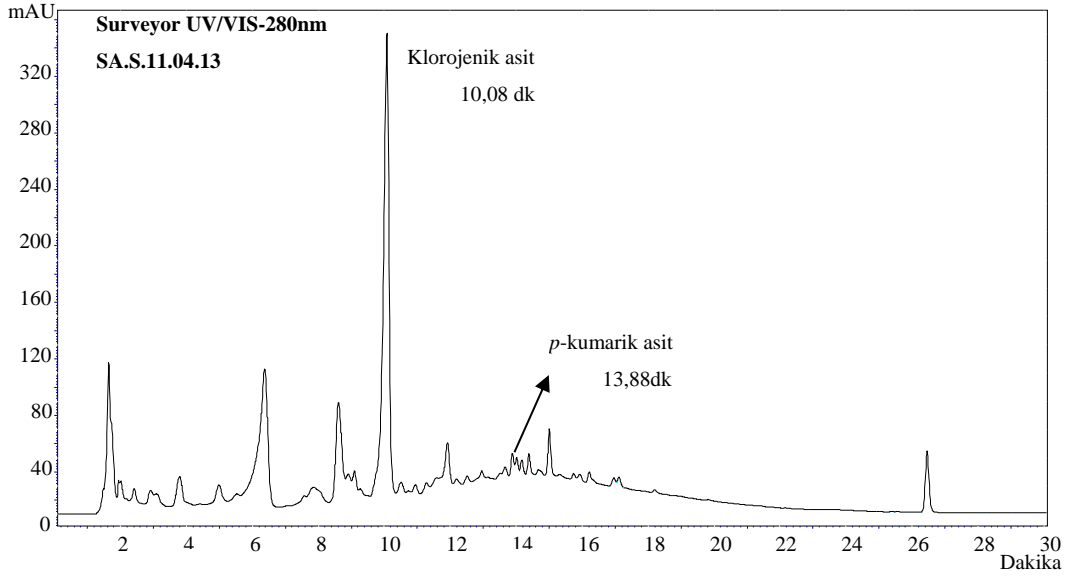
Şekil 10. *S. aucuparia* ve *S. caucasica* meyvelerinin HPLC-UV ile aydınlatılan fenolik bileşiklerinin bar grafiği.

Sorbus meyvelerinin Tablo 6’ da ve Şekil 10’ da görüldüğü gibi fenolik içerikleri farklılık gösterdi. Örneğin, *S. aucuparia* için eterli fazda kuersetin tespit edilirken (2,40 mg/g ekstrakt) diğer fazlarda gözlenmedi (Tablo 6). Öte yandan bütanolü fazda en yüksek miktarda gözlenen klorojenik asit (3,13 mg/g ekstrakt) diğer fazlarda da az miktarda dahi olsa gözlemlendi. Olszewska vd., (2012) yaptıkları çalışmada *S. aucuparia* meyvesinin klorojenik asit içeriğinin bu çalışmaya benzer şekilde en yüksek bütanol ekstraktında tespit etmişlerdir (%14,24). Olszewska vd., (2012) çalışmalarında protokatekuik asidi yalnızca eter fazında tespit etmişlerken bu çalışmada protokatekuik asit *S. aucuparia* için yalnızca sulu fazda *S. caucasica* için ise eter, etil asetat ve bütanol fazlarında suya göre çok daha yüksek miktarlarda tespit edildi. *S. aucuparia* meyvesinin bütanol ve sulu ekstraktlardaki klorojenik ve *p*-kumarik asit içerikleri 280 ve 315 nm’deki kromatogramları Şekil 11 ve Şekil 12’ de verildi.



Şekil 11. *S.aucuparia* meyvesinin bütanol ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları (280 nm’de klorojenik asit yapısı görülmekte).

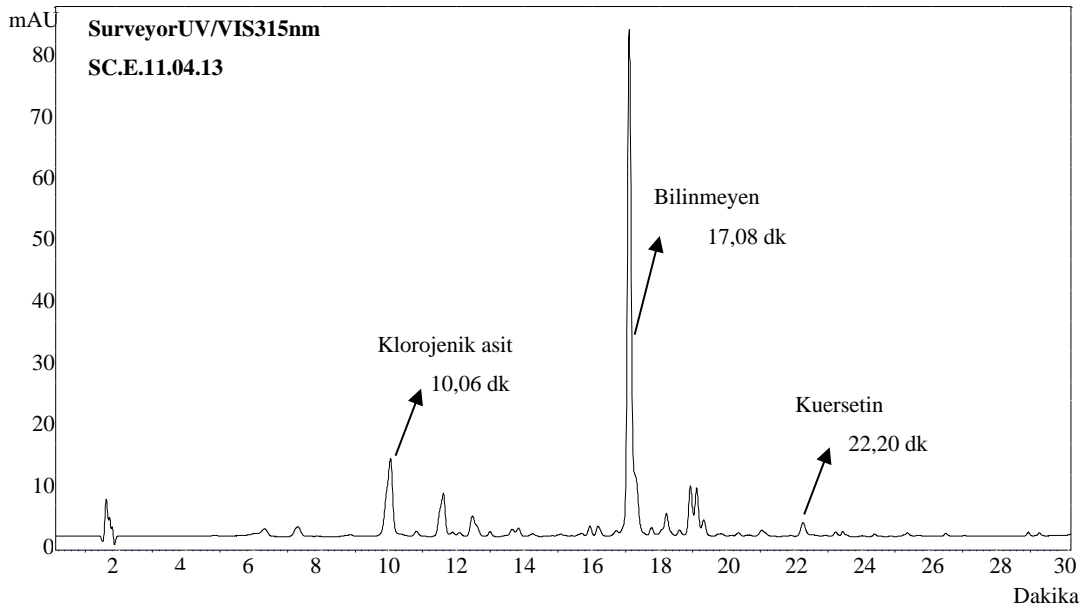
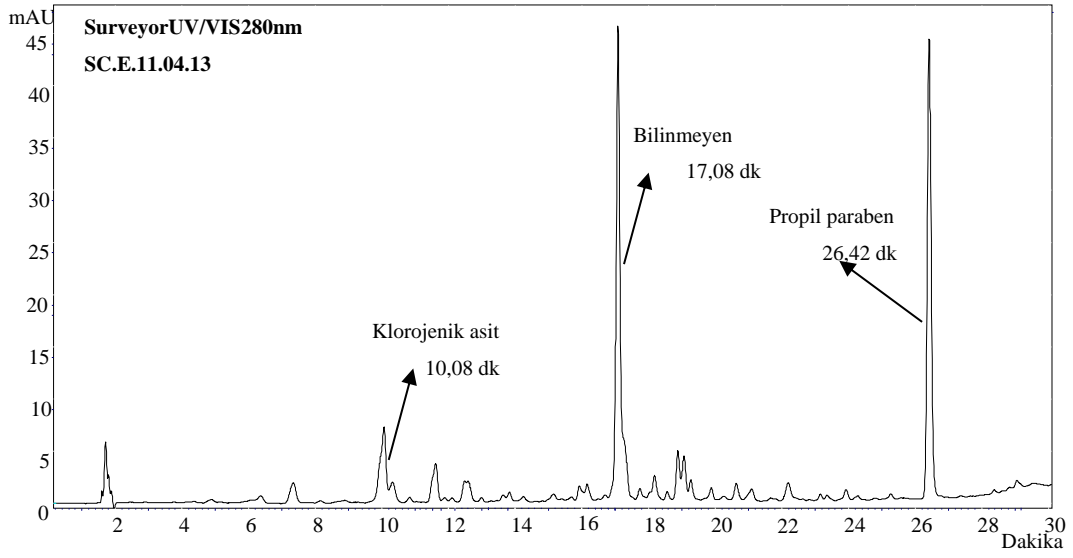
Şekil 11 ve Şekil 12’ de görüldüğü gibi ekstraktlarda klorojenik asit piki UV absorpsiyon sınırlarını zorlayıcı derecede yüksek iken diğer piklerin kaybolacak seviyede küçük görünmelerine sebep olmuştur. *S. aucuparia* meyvesinin başlıca fenolik bileşeninin klorojenik asit olduğu kromatogramlardan açıkça görülmektedir. Klorojenik asit literatürde güçlü antioksidan ajanlardan biri olarak yerini almıştır ve bulunduğu meyve ve sebzelerin oksidatif stresin etkilerini azaltıcı yönde katkıda bulunmaktadır (Boyer ve Liu, 2004; Scalbert vd., 2002). Klorojenik asit ve *p*-kumarik asidin kalp hastalıkları, kanser ve astıma karşı faydalı oldukları ve hatta kanser hücrelerinin çoğalmalarını engelledikleri bilimsel çalışmalarda edinilen sonuçlardandır (Boyer ve Liu, 2004; Castillo vd., 2002; Tapiero vd., 2002).



Şekil 12. *S. aucuparia* meyvesinin sulu ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları.

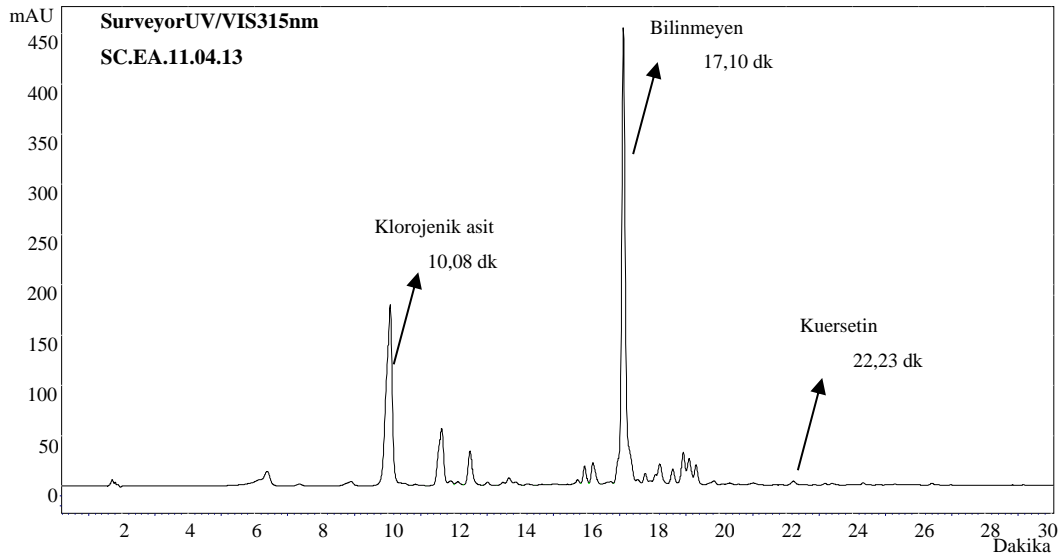
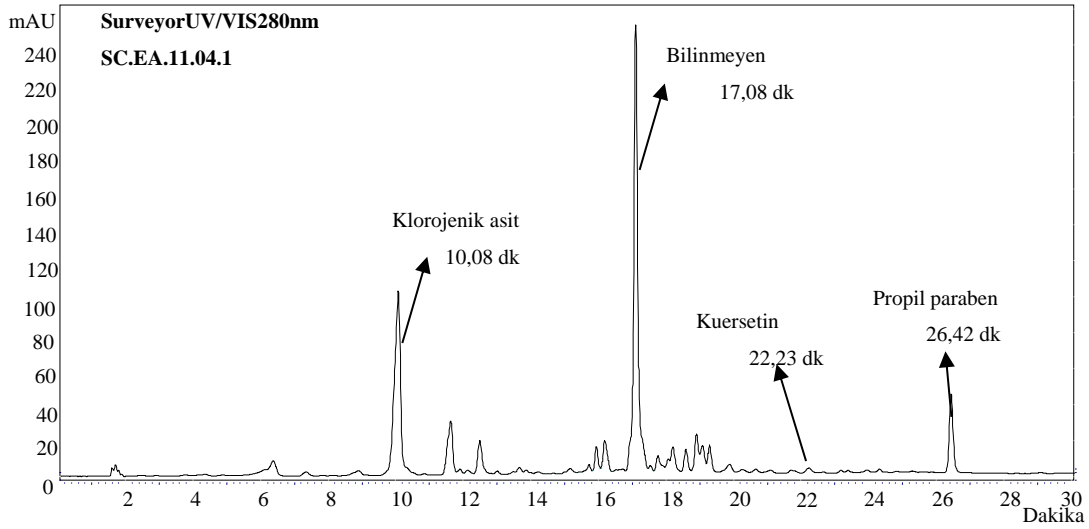
Klorojenik asit bu çalışmada incelenen iki sorbus meyvesinde de yaygın olarak ve yüksek miktarda tespit edilmiştir ki bu literatür verileri ile uyumlu bir sonuçtur (Gil-Izquierdo ve Mellenthin, 2001; Mättä-Riihinen vd., 2004; Olszewska vd., 2012) (Tablo 6 ve Şekil 10).

S. caucasica meyvesi için en yüksek miktarda kuersetin, eter fazında (6,08 mg/g ekstrakt) tespit edildi. Eter, etil asetat ve bütanol fazlarında sırasıyla azalan miktarlarda gözlenen kuersetin, su fazında gözlenmedi (Şekil 10 ve Şekil 13).



Şekil 13. *S. caucasica* meyvesinin eter ekstraktının 280 ve 315 nm’lerde HPLC-UV kromatogramları

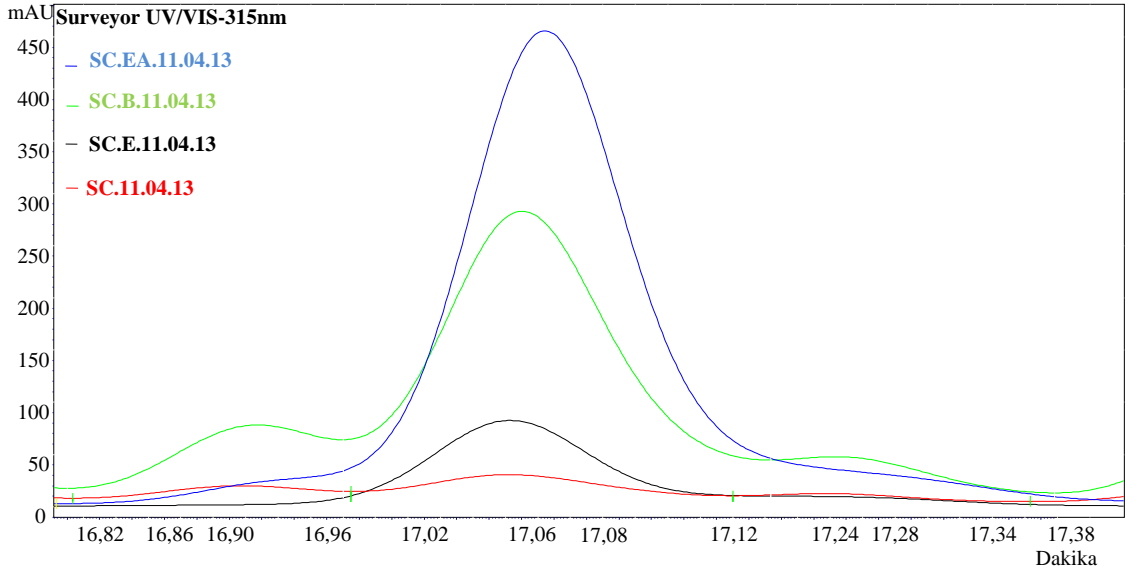
S. caucasica meyvesinin eter ekstraktı incelendiğinde, standardı mevcut olmadığı için belirleyemediğimiz pikle birlikte yine klorojenik asidin dikkate değer pike sahip olduğu görüldü (Şekil 13). 280 nm’ de 26,42 dk’ da gözlemlenen propil paraben iç standart olarak ilave edildi ve piki beklendiği şekilde gözlemlendi.



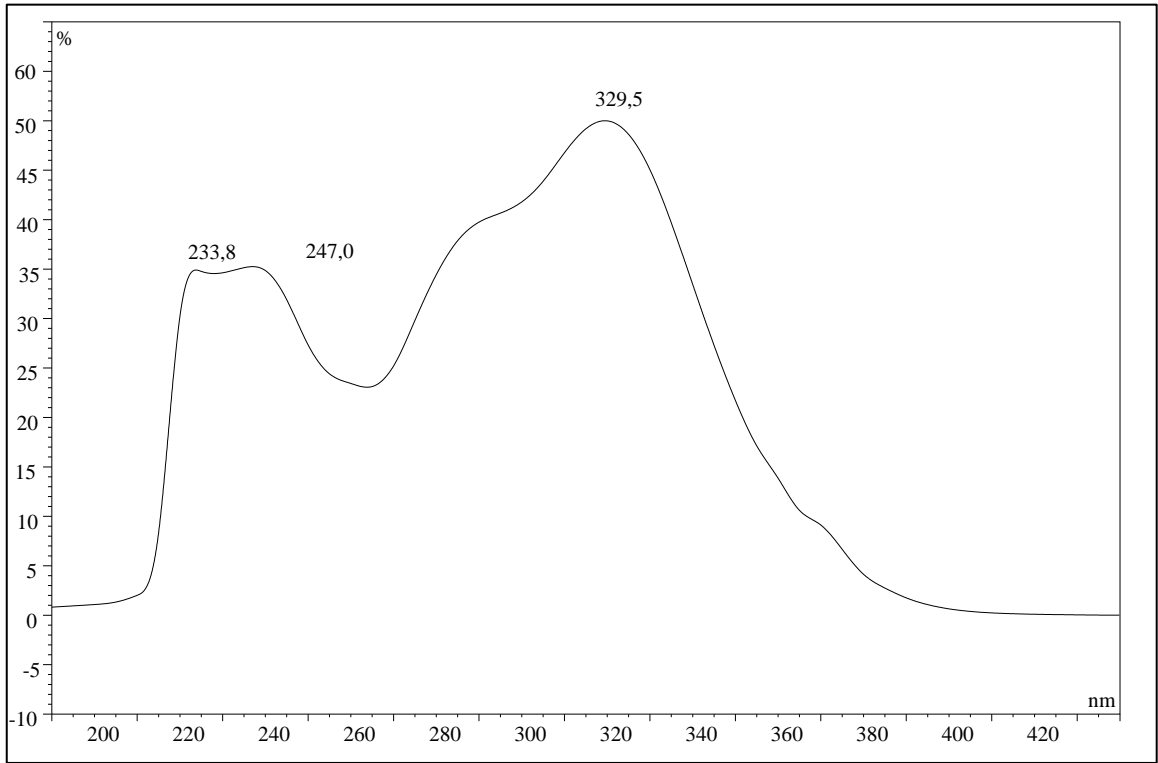
Şekil 14. *S. caucasica* meyvesinin etil asetat ekstraktının 280 ve 315 nm’ lerde HPLC-UV kromatogramları

S. caucasica meyvesi için etil asetat ekstraktının kromatogramlarında da klorojenik asit ve kuersetin pikleri gözlemlendi.

17,10. dakikada gözlenen pik, fenolik bileşik standartlarımızla belirleyemediğimiz bir bileşendir. Bilinmeyen maddenin kromatogramda gözlemlendiği dakika sinamik asitlerden geç ancak flavonoidlerden erkendir ve 315 nm’ de 280 nm’ ye göre yaklaşık 2 kat daha büyük bir pik vermiştir. Şekil 15’ de bu pikin her bir ekstrakttaki boyutunun anlaşılması için kromatogramlar üst üste çakıştırıldı ayrıca Şekil 16’ da bu pike ait UV-UVvis spektrumu verildi. *S. caucasica* meyvesinde bilinmeyen pikin büyüklüğünün etil asetat, bütanol, eter ve sulu fraksiyonlarda giderek azaldığı gözlemlendi.



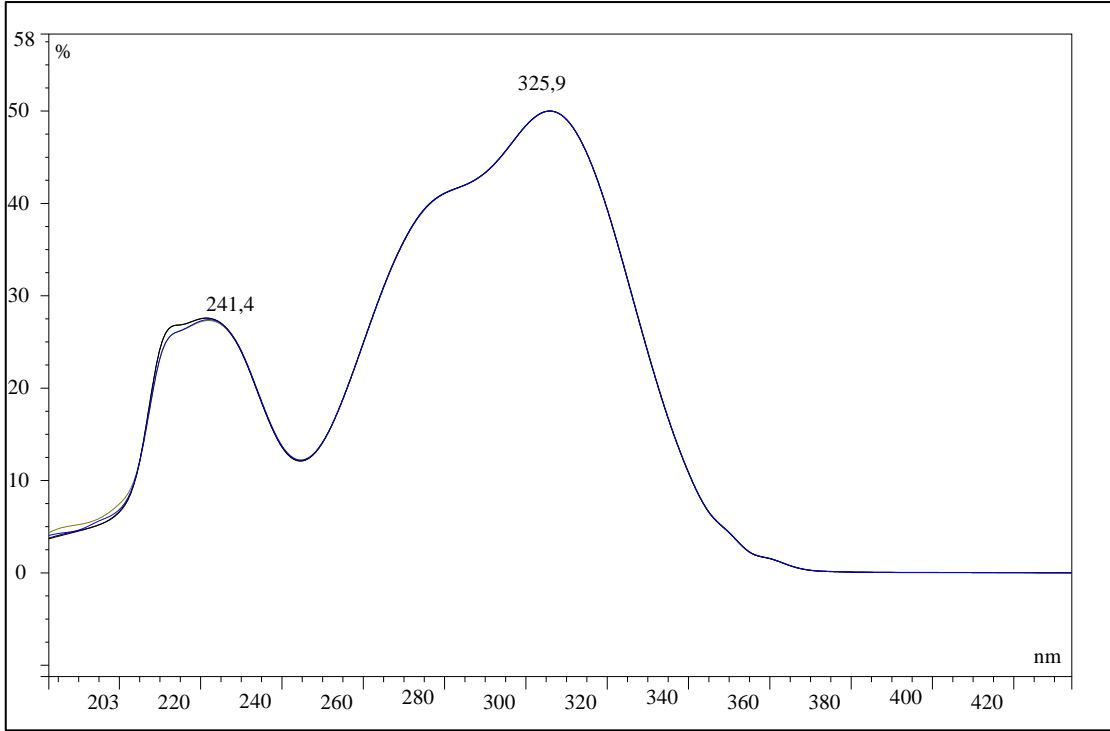
Şekil 15. Bilinmeyen pikin eter, etilasetat, bütanol ve sulu ekstraktlarının 315 nm’de yakınlaştırılmış kromatogramı.



Şekil 16. Bilinmeyen pikin UV-UVvis spektrumu

Mevcut sinamik asit türevlerinden *p*-kumarik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve ferulik asit 315 nm’ de daha yüksek pike sahiptir. Şekil 17’de klorojenik asitin UV-

UVvis spektrumundan görülebileceği gibi bilinmeyen bileşenin spektrumu ile oldukça benzer bir spektrumdur. Bu verilerden ve literatürden faydalanarak bu bilinmeyen bileşenin bir sinamik asit türevi olabileceği söylenebilir (Olszewska vd., 2012). Olszewska vd., (2012) tarafından yapılan çalışmada *S. aucuparia* meyvesinde çeşitli klorojenik asit türevleri tespit edilmiştir. Bunlar arasında klorojenik asitten daha geç gelen türü kriptoklorojenik asit olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise *S. caucasica* meyvesinde rastlanan bu tanımlanamayan bileşenin spektrumu ve kromatogramdaki elüsyon zamanı göz önüne alındığında kriptoklorojenik asit olabileceği de düşünülmektedir.



Şekil 17. Klorojenik asite ait UV-UVvis spektrumu

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde gıda, sanayi ve tıp alanında kullanımı giderek artan fenolik bileşikler için çalışmamızda seçtiğimiz *Sorbus aucuparia* (*S. aucuparia*) ve *Sorbus caucasica* var. *yaltirikii* (*S. caucasica*) meyvelerinin fenolik içeriklerinin belirlenmeleri hedeflendi. Fenolik standartların kromatogramlarıyla karşılaştırılan meyve ekstraktlarımızla kalitatif ve kantitatif değerlendirmeler yapıldı. Yapılan HPLC-UV analizleri sonucunda *S. aucuparia* ve *S. caucasica* meyvelerinin fenolik asit içerikleri belirlendi.

Gıdasal açıdan faydalı içerikleri olan ve sağlık açısından önem arz eden bu bileşiklerin eldesi ve kullanılabilirlikleri günümüzde çok büyük önem teşkil etmektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı incelemek için seçtiğimiz meyvelerimizde bulduğumuz fenolik asitler genel olarak sinamik asit türevlerini barındırmaktadır. *S. aucuparia* bu türevlerden klorojenik asit bakımından zengin görünürken yanısıra *p*-kumarik asit de bulundurmaktadır. *S. caucasica* ise flovonollerden kuersetin yanında sinamik asitlerden klorojenik asiti içermektedir.

Bu sonuçlar ele alındığında seçilen meyvelerimizin içeriği ve önemi ile alakalı olarak tıbbi açıdan ve gıdasal işlevi yönünden değerli kaynak olduklarını söyleyebiliriz. Tez kapsamında fenolik asit içerikleri belirlenen bu meyvelerden antioksidatif etkileri, beslenme amaçlı kullanımları, antienflamatuar etkileri, antikanser etkileri gibi birçok çalışma yapılarak ekstraktların biyoaktiviteleri ortaya konabilir.

Genel olarak meyvelerimizde belli fenolik bileşikler gözlemlenirken tanımlanamayan yapılara da rastlanmıştır. Bu yapılar da literatür kayıtları ve kromatografik davranışları göz önüne alınarak karakterize edildi. Daha ileri bir yapı aydınlatılmasına yönelik olarak HPLC-MS metodu ile kapsamlı çalışmalar yapılabilir ve böylece diğer fenolik bileşiklerin yapıları aydınlatılabilir.

5. KAYNAKLAR

- Akyüz Turumtay, E., İslamoğlu, F., Çavuş, D., Sahin, H., Turumtay, H. and Vanholme, B., 2014.** Correlation between Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Anzer tea (*Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*), Industrial Crops and Products, 52, 687-694.
- Altuğ, T., 2001.** Gıda Katkı Maddeleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, 175-200.
- Artık, N., 2004.** Türk Fındıklarının Fenolik Bileşik Dağılımı ve Kavurma Prosesinde Değişimi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: 2001-07-11-045.
- Aydın, S.A, Üstün F., 2007.** Tanenler 1 kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 33 (1), 21-31.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, Samir., 2006.** Phenolic compounds in plants and agri- industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99: 191– 203.
- Bilaloğlu, G. V., Harmandar, M., 1999.** Flavonoidler. Aktif Yayınevi, İstanbul, 334-354
- Boyer, J. and Liu, R. H., 2004.** Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition Journal Review, 3,5, 1-15.
- Castillo, M. D. D., Ames, J. M. and Gordon, M. H., 2002.** Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews. J. Agric. Food Chem., 50, 3698–3703.
- Cemeroğlu, B. ve Acar, J., 1986.** Meyve ve Sebze İşletme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:6, Ankara, 508s.
- Cemeroğlu, B., 2004.** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, Ankara, 77-88
- Coşkun, F., 2006.** Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, (2) 27-33.
- De Sotillo, D.R., Hadley, M., Holm, E.T., 1994.** Potato peel waste: Stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. J. Food Sci. 59(5), 1031-1033.
- Devis, P.H., 2008.** Flora of Turkey and East Aegean Islands Vol. 4. University Press of Edinburg. 149.
- Dikmen, E., 1995.** Ege Üniversitesi E. Öğretim Üyesi;Enstrümantal Analiz Kitabı

- Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M., Wang, B.G., 2006.** Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, 95, 1, 37–43.
- Eminağaoğlu, Ö., Manvelidze, Z., Memiadze, N., 2010.** Artvin İlinde Nesli Tehlike Altında Olan Bitki Türleri. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, 20-22 Mayıs 2010, Cilt: III Sayfa: 1075-1090.
- Fennema, O.R., 1985.** *Food Chemistry. Pigment and Other Colorants.* 545-584
- Gil-Izquierdo, A., Mellenthin, A., 2001.** Identification and quantitation of flavonols in rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.) juice. *Eur Food Res Technol*, 213:12–17.
- Göğüş, F., Fadiloğlu, S., 2006.** *Food Chemistry.* Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 319-339.
- Gökmen, C., 1995.** Improvement of Quality Parameters of A Yogurt-Like Soybean Product, Sogurt. A Master's Thesis. In "Food Engineering Middle East Technical University", Ankara, 60s.
- Gökşin, A., 1977.** *Sorbus caucasica* Zinserl'nin yeni bir varyetesi var. yaltirikii Gökşin var. nova. (A new variety of *Sorbus caucasica* Zinserl. var. yaltirikii Gökşin var. nova). *Biyoloji Dergisi* 27: 83-87.
- Gültekin, U. G., Gültekin, H. C., 2006.** Alev Rengi Ağaçlar (*Sorbus* L.) Üvezler: *TUBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, Sayı :458, 56-57, Ankara.
- Halliwell, B., 2000.** Antioxidant activity and other biological effects of flavonoids. Wake up to flavonoids , in *International Congress and Symposium Series 226*, The Royal Society of Medicine Press Limited, Rice-Evans, Editor. 13-23.
- Jeon, S. M., Bok, S. H., Jang, M. K., Lee, M. K, Nam, K. T., Park, Y. B., 2001.** Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sciences* , 69, 2855–2866.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., 2006.** Bazı Üzüksü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. II. Ulusal Üzüksü Meyveler Sempozyumu, Tokat, 309-312.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., 1999.** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* , 47, 3954-62.
- Kamiloğlu, Ö., 2007.** Üzümlerde Antosiyaninler ve Biyosentezi. *Alatırım*, 6 (1), 47-52.
- Koca, İ., 2007.** Kızılcık ve Trabzon Hurması Pekmezlerinin Üretim Teknikleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (2) 33-37.

- Kurilich, A. C., Clevidence, B. A., Britz, S. J., Simon, P. W., Novotny, J. A., 2005.** Plasma and Urine Responses Are Lower for Acylated vs Nonacylated Anthocyanins from Raw and Cooked Purple. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6537-6542.
- Lien, E. J., Ren, S. J., Bui, H. U. H., Wang, R. B., 1999.** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic Biol Med* , 26, 285–94.
- Liener, I. E., 1993.** Implications of Antinutritional Components in Soybeans. *Food Sci. and Nutrition* 34 (1), 31-67
- Liepiņa, I., Nikolajeva, V., Jākobsone, I., 2013.** Antimicrobial activity of extracts from fruits of *Aronia melanocarpa* and *Sorbus aucuparia* *Environmental and Experimental Biology*, 11: 195–199.
- Luzia, M. R., Da Paixao, C. C., Marcilio, R., Trugo, L. C., Quinteiro, L. M. C., De Maria, A., 1997.** Effect of 5-caffeoylquinic acid on soybean oil oxidative stability. *International J. Food Sci. and Tech.* 32,15-19.
- MacDougall, D. B., 2002.** *Colour in Food Improving Quality.* Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England, 179-221.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* , 79, 727-747.
- Mättä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P. H., González-Paramás, A. M., Törrönen, A. R., 2004.** Distribution and Contents of Phenolic Compounds in Eighteen Scandinavian Berry Species. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4477–4486.
- Monika, A. O., 2011.** Variation in the Phenolic Content and In Vitro Antioxidant Activity of *Sorbus Aucuparia* Leaf Extracts During Vegetation. *Acta Polonicae Pharmaceutica et Drug Research*, 68, 6, 937-944.
- Nacz, M., Shahidi, F., 2006.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis (review). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523–1542.
- Olszewska, M. A., Presler, A. and Michel, P., 2012.** Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Dry Extracts from the Selected *Sorbus* Species. *Molecules*, 17, 3093-3113.
- Saldamlı, İ., 2007.** *Gıda Kimyası.* Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.

- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., Rémésy, C., 2002.** Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health *Biomed Pharmacother* 56, 276–282.
- Seyidahmedov, A., Atamov, V., 2008.** The beneficial plants of mountainous regions in Azerbaijan. *Biological Diversity and Conservation, Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 1, 1, 13-27.
- Shahidi, F. and Naczki, M., 1995.** *Food Phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Applications.* Technomic Publishing Companies Inc., 851 New Holland Avenue, Box 3535, Lancaster, Pennsylvania, 17604, USA, 199-225, 331p.
- Skoog, D. A., Holler, F. T. and Nieman, T. A., 1997.** Kromatografik Ayırmalara Giriş. 675-711. E. Kılıç, F. Köseoğlu ve H. Yılmaz, Enstrümental Analiz İlkeleri. 1997, Bilim Yayıncılık, ISBN: 975-55-041-6, 849s.
- Skoog, D. A., Holler, F. T. and Nieman, T. A., 1997.** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi. 728-736. E. Kılıç, F. Köseoğlu ve H. Yılmaz, Enstrümental Analiz İlkeleri. 1997, Bilim Yayıncılık, ISBN: 975-55-041-6, 849s.
- Şimşek, A., 2004.** Değişik Kavurma Proseslerinin Bazı Fındık Çeşitlerinde Oluşturduğu Biyokimyasal Değişiklikler. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Tapiero, H., Tew, K. D., Ba, G. N., Mathé, G., 2002.** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother*, 56 : 200-207.
- Termentzi, A., Kefalas, P. and Kokkalou, E., 2006.** Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages. *Food Chemistry*, 98, 599–608.
- Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D., Giammanco, M., 2007.** Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chem* , 104, 466-479.
- URL-1, 2014.** <http://maycalistaylari.comu.edu.tr/calistay2007/sunumlar/projeraporlari/EkstraksiyonGrubuRAPOR.pdf> (12 Mart 2014)
- Wanasundara, U. N., Shahidi, F., 1998.** Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry* 63(3),335-342.

ÖZGEÇMİŞ

27.02.1987 tarihinde Trabzon`da doğdu. İlköğrenimini Trabzon`da Dumlupınar İlköğretim Okulu`nda tamamladı. Orta öğrenimi o zamanki ismi ile Trabzon Lisesi`nde tamamladı. Yüksek öğrenimine 2005 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne başladı ve 2 yılın ardından okulu bırakıp 2008 yılında Rize`de Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya bölümüne başladı. 2012 yılında mezun oldu ve aynı yıl itibariyle Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesinde Kimya Bölümünde lisansüstü eğitimine başlamış olup halen devam etmektedir.