



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



## YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİCARİ KUDRET NARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN VE  
ANTİDİYABETİK BİLEŞENLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Sercan TÜRKOĞLU

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Ocak, 2018

İSTANBUL

Bu çalışma, 5.01.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**



Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN(Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Esmâ TÜTEM  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Kubilay GÜÇLÜ  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi



Yrd. Doç. Dr. Gülbin ERDOĞAN  
Marmara Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi



20.04.2016 tarihli resmi gazetede yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 35887 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim süresince göstermiş olduğu her türlü yardım, anlayış ve sabır için ve ayrıca hayatıma kattığı değerlerle ufkumu açan, bana yol göstericilik yapan danışmanım, hocam ve değerli büyüğüm Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bilimsel konularda bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, her konuda yardım ve desteğini gördüğüm çok değerli hocam, Sayın Prof.Dr. Esmâ TÜTEM'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her zaman desteğini hissettiğim ve göstermiş oldukları hoşgörü ve yardımlarından dolayı değerli çalışma arkadaşlarım başta Araş. Gör. Dr. Esin KONDAKÇI AKYÜZ ve Uzm. Ayşe Nur TUFAN olmak üzere daha ismini saymadığım sevgili hocalarıma, arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olup desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem, babam, ablam ve değerli eşime yürekten teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimime önyak olan ve tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Araş. Gör. Dr. Emel MATARACI KARA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimle aynı adı taşıyan 35887 numaralı projeme maddi destek sağlayan İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Ocak 2018

Sercan TÜRKOĞLU

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET .....	xiv
SUMMARY .....	xvi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR</b> .....	<b>3</b>
2.1. SERBEST RADİKALLER, OKSİDATİF GERİLİM VE ANTİOKSİDANLAR .....	3
2.2. POLİFENOLİK BİLEŞİKLER.....	5
2.2.1. Flavonoidler.....	5
2.2.2. Fenolik Asitler .....	9
2.2.3. Fenolik Polimerler (Tanenler) .....	11
2.3. STEROİDLER .....	12
2.3.1. Steroller .....	13
2.4. TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ .....	15
2.4.1. CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi .....	15
2.4.2. ABTS/TEAK (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi .....	16
2.5 TOPLAM POLİFENOL TAYİNİ.....	18
2.5.1 Folin-Ciocalteu Yöntemi .....	18
2.6. KUDRET NARI (Momordica charantia L.) .....	19
2.7. ANTİDİYABETİK ETKİLİ DOĞAL KAYNAKLAR VE BİLEŞİKLER.....	21
2.8. KUDRET NARI İLE İLGİLİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA ÇALIŞMALARI .....	23
2.8.1. Fenolik Bileşen İçerikleri ve Toplam Antioksidan Kapasite Tayinleri ile İlgili Çalışmalar .....	23
2.8.1. Antidiyabetik Özellik Gösteren Bileşenler İle İlgili Çalışmalar .....	28
2.8.2.1. Şarantin Ekstraksiyonu Çalışmaları.....	28
2.8.2.2. Şarantin Analizi Çalışmaları .....	30
2.9. MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER (MOLECULARLY IMPRINTED).....	32

2.9.1. Kovalent Baskılama Yöntemi.....	33
2.9.2. Non-Kovalent Baskılama Yöntemi .....	34
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>35</b>
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR.....	35
3.2. KİMYASAL MADDELER .....	35
3.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI.....	35
3.4. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN ANALİZE HAZIRLANMASI .....	36
3.4.1. Kudret Narı Örneklerinin Temini.....	36
3.4.2. Kudret Narı Örneklerinin Hazırlanması .....	36
3.4.3. Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu.....	36
3.4.3.1. Polifenol Analizi için Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu.....	36
3.4.3.2. $\beta$ -sitosterol Analizi için Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu .....	37
3.4.4. Kudret Narı Ekstraktlarının Hidrolizi.....	37
3.5. $\beta$ -SİTOSTEROL SAFLAŞTIRILMASI VE DERİŞİKLENDİRİLMESİ.....	37
3.5.1. $\beta$ -Sitosterol Baskılı Polimer Sentezi .....	37
3.5.2. C18 SPE (Katı Faz Ekstraksiyonu) Uygulaması .....	40
3.6. UYGULANAN YÖNTEMLER.....	40
3.6.1. Spektrofotometrik Yöntemler.....	40
3.6.1.1. CUPRAC Yöntemi.....	40
3.6.1.2. ABTS/HRP Yöntemi .....	40
3.6.1.3. Folin-Ciocalteu Yöntemi.....	41
3.6.2. Kromatografik Yöntem .....	41
3.6.3. Birleştirilmiş HPLC- CUPRAC Yöntemi .....	42
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>44</b>
4.1. UYGUN EKSTRAKSİYON ÇÖZÜCÜSÜNÜN SEÇİLMESİ.....	44
4.1.1. Polifenol Analizi için Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçilmesi .....	44
4.1.2. $\beta$ -sitosterol Analizi için Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçilmesi .....	45
4.2. HPLC YÖNTEMİNİN ÇEŞİTLİ ANTIOKSİDAN STANDARTLARINA UYGULANMASI .....	46
4.3. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZ.....	48
SONUÇLARI.....	48
4.3.1. Kudret Narı Örneklerinin Toplam Antioksidan Kapasiteleri ve Toplam Fenolik İçerikleri .....	48
4.3.2. HPLC Analizi ve HPLC-CUPRAC Yöntemi Sonuçları .....	51
4.4. HPLC İLE $\beta$ -SİTOSTEROL ANALİZİ.....	55

4.5. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN $\beta$ -SİTOSTEROL VE $\beta$ -SİTOSTEROL.....	57
$\beta$ -D-GLUKOZİT İÇERİKLERİ.....	57
4.5.1. $\beta$ -Sitosterol Tayini için C18 Kartuş ile SPE Uygulaması .....	59
4.5.2. Kudret Narı Örneklerinin Moleküler Baskılı Polimer ile Değiştirilmesi.....	62
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>69</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>79</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 2.1: Antioksidanların, serbest radikal moleküllerini kendi bünyesinde bulunan elektronu vererek etkisizleştirilmesi [7].	4
Şekil 2.2: Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı.	6
Şekil 2.3: Flavonların temel kimyasal yapısı.	7
Şekil 2.4: Flavonollerin temel kimyasal yapısı.	7
Şekil 2.5: Flavanonların temel kimyasal yapısı.	8
Şekil 2.6: Flavanollerin temel kimyasal yapısı.	8
Şekil 2.7: İzoflavonların temel kimyasal yapısı.	9
Şekil 2.8: Antosiyaninlerin temel kimyasal yapısı.	9
Şekil 2.9: Hidroksisinnamik asitlerin kimyasal yapıları.	10
Şekil 2.10: Hidroksibenzoik asitlerin kimyasal yapıları.	11
Şekil 2.11: Kondanse tanenlerin kimyasal yapısı.	12
Şekil 2.12: Tannik asidin kimyasal yapısı.	12
Şekil 2.13: Siklopentanoperhidrofenantren.	13
Şekil 2.14: Fitosteroller ve kolesterolün kimyasal yapıları [28].	14
Şekil 2.15: (A) Cu(II)-Nc, (B) Cu(I)-Nc komplekslerinin spektrumları.	16
Şekil 2.16: ABTS <sup>•+</sup> radikal katyonunun yapısı.	17
Şekil 2.17: Radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu.	17
Şekil 2.18: Ham ve olgun Kudret narı meyvesi.	19
Şekil 2.19: (a) $\beta$ -sitosterol-D-glukozit ve (b) 5,25-stigmastadienol glukozit'in kimyasal yapıları.	21
Şekil 2.20: İnsülinin genel yapısı.	22
Şekil 2.21: Kudret narı meyvesinin ekstraktlarının; (a) ham ekstrakt, (b) saflaştırılmış ekstrakt ve (c) standart şarantinin kromatogramları [90].	30



Şekil 2.22: 300 ng/spot şarantin standardının HPTLC kromatogramı [94].	31
Şekil 2.23: <i>M. charantia</i> meyvesi ekstraktının HPTLC kromatogramı [95].	31
Şekil 2.24: Moleküler baskılamanın şematik gösterimi	32
Şekil 2.25: Kovalent baskılama şematik gösterimi	33
Şekil 2.26: Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi	34
Şekil 3.1: Moleküler baskılı polimerlerin yığın (bulk) polimerizasyonu ile sentezi aşamaları [96].	39
Şekil 4.1: Toz kudret narı örneğinin farklı oranlarda MeOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları	44
Şekil 4.2: Toz kudret narı örneğinin farklı oranlarda EtOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları	44
Şekil 4.3: Toz kudret narı örneğinin %80 (v/v) MeOH-su ve %80 (v/v) EtOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları	45
Şekil 4.4: Salamura kudret narı örneğinin %80 EtOH içeren ekstraktının kromatogramı ( $\lambda=202$ nm).	46
Şekil 4.5: Salamura kudret narı örneğinin (%80 EtOH içeren) hidrolizatının kromatogramı ( $\lambda=202$ nm)	46
Şekil 4.6: Çeşitli antioksidan standartlarını içeren sentetik karışımın 270 nm'deki kromatogramı	48
Şekil 4.7: Kudret narı örneklerinin CUPRAC, ABTS/HRP ve Folin yöntemi bulgularının karşılaştırması	49
Şekil 4.8: Toz kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.	52
Şekil 4.9: Kapsül kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı	52
Şekil 4.10: Paket kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı	53
Şekil 4.11: Salamura kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı	53
Şekil 4.12: Ham kabuk örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı	54
Şekil 4.13: Olgun kabuk örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı	54

<b>Şekil 4.14:</b> %95 saflıkta standart $\beta$ -sitosterol'ün $1.0 \times 10^{-4}$ M derişimdeki çöztisinin 202 nm'deki kromatogramı .....	56
<b>Şekil 4.15:</b> Standart $\beta$ -sitosterol $\beta$ -D-glukozit'in $2.95 \times 10^{-4}$ M derişimdeki çöztisinin kromatogramı .....	56
<b>Şekil 4.16:</b> Salamura kudret narının %80 EtOH ekstraktının kromatogramı ( $\lambda=202$ nm) ....	57
<b>Şekil 4.17:</b> Salamura kudret narı hidrolizatının (%80 EtOH içeren) kromatogramı ( $\lambda=202$ nm).....	58
<b>Şekil 4.18:</b> Toz kudret narı hidrolizatının (%80 EtOH içeren) kromatogramı ( $\lambda=202$ nm) ..	58
<b>Şekil 4.19:</b> Toz kudret narı hidrolizatının ve $\beta$ -sitosterol katkısı yapılmış hidrolizatın kromatogramları ( $\lambda=202$ nm) .....	59
<b>Şekil 4.20:</b> Toz kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$ nm).....	59
<b>Şekil 4.21:</b> Paket kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$ nm).....	60
<b>Şekil 4.22:</b> Salamura kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$ nm).....	60
<b>Şekil 4.23:</b> Ham kabuk kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$ nm).....	61
<b>Şekil 4.24:</b> Olgun kabuk kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$ nm).....	61

## TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
<b>Tablo 2.1:</b> Bitkilerde yaygın olarak bulunan fitosterollerin yaygın ve sistematik isimleri.....	15
<b>Tablo 2.2:</b> Kudret narının, su ve %80 etanol-su (v/v) ile hazırlanmış ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin (TFİ) ve toplam antioksidan kapasitelerinin (TAK) karşılaştırılması.....	25
<b>Tablo 3.1:</b> Polifenolik bileşenlerin analizi için geliştirilen HPLC metodu .....	42
<b>Tablo 4.1:</b> Kudret narı örneklerinde bulunduğu belirlenen bazı fenolik bileşiklerin standartlarına ait HPLC yöntemi bulguları.....	47
<b>Tablo 4.2:</b> Kudret narı örneklerinin CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile belirlenmiş TAK değerleri.....	49
<b>Tablo 4.3:</b> Kudret narı örneklerinde HPLC yöntemi ile belirlenen fenolik bileşiklerin, HPLC-CUPRAC yöntemiyle hesaplanmış TAK değerleri ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) .....	55
<b>Tablo 4.4:</b> Çalışılan kudret narı hidrolizatlarının HPLC ile belirlenen $\beta$ - sitosterol içerikleri.....	61

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler

### Açıklama

<b>IC<sub>50</sub></b>	: Maksimum inhibisyonun %50'sine karşılık gelen derişim
<b>y</b>	: Pik alanı
<b>r</b>	: Korelasyon katsayısı

### Kısaltmalar

### Açıklama

<b>AAE</b>	: Askorbik asit eşdeğeri
<b>ABTS<sup>•+</sup></b>	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu
<b>AIBN</b>	: 2,2'-azobisisobutironitril
<b>BHT</b>	: Butillenmiş Hidroksi Toluen
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CG</b>	: China Green
<b>Cu(I)-Nc</b>	: Bakır(I)-neokuproin
<b>Cu(II)-Nc</b>	: Bakır(II)-neokuproin
<b>CUPRAC</b>	: CUPric Reducing Antioxidant Capacity, Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
<b>CW</b>	: China White
<b>DEAE</b>	: Dietilaminoetil
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DPPH</b>	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
<b>EDMA</b>	: Etilenglikol dimetakrilat
<b>EtOH</b>	: Etanol
<b>FCR</b>	: Folin-Ciolcalteu ayıracı
<b>FRAP</b>	: Ferric Reducing Antioxidant Power, Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç
<b>GA</b>	: Gallik asit
<b>GAE</b>	: Gallik Asit Eşdeğeri
<b>GF/PET</b>	: Glass fiber/polietilentereftalat
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon

<b>HPLC</b>	: High Performance Liquid Chromatography, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>HPTLC</b>	: High Performance Thin Layer Chromatography, Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
<b>HRP</b>	: Horseradish peroksidaz
<b>IDDM</b>	: Insulin depended Diabetes Mellitus, İnsüline bağlı diyabet
<b>IG</b>	: India Green
<b>IW</b>	: India White
<b>KAE</b>	: Klorojenik asit eşdeğeri
<b>KUE</b>	: Kuersetin eşdeğeri
<b>MAA</b>	: Metakrilik asit
<b>MeOH</b>	: Metanol
<b>MIP</b>	: Molecularly Imprinted Polymer, Moleküler baskılı polimer
<b>Nc</b>	: Neokuproin
<b>NIDDM</b>	: Non-Insulin Depended Diabetes Mellitus, İnsüline bağlı olmayan diyabet
<b>NIP</b>	: Non-Imprinted Polymer, Baskısız polimer
<b>PEG</b>	: Polietilenglikol
<b>RE</b>	: Rutin Eşdeğeri
<b>RNS</b>	: Reactive Nitrogen Species, Reaktif Azot Türleri
<b>ROS</b>	: Reactive Oxygen Species, Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksitdismutaz
<b>SPE</b>	: Solid Phase Extraction, Katı Faz Ekstraksiyonu
<b>SWE</b>	: Subcritical Water Extraction, Subkritik su ekstraksiyonu
<b>TAK</b>	: Toplam Antioksidan Kapasite
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit
<b>TE</b>	: Troloks Eşdeğeri
<b>TEAK</b>	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
<b>TFİ</b>	: Toplam Fenolik İçerik
<b>TLC</b>	: Thin Layer Chromatography, İnce Tabaka Kromatografisi
<b>TR</b>	: Troloks
<b>WHO</b>	: World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### TİCARİ KUDRET NARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN VE ANTİDİYABETİK BİLEŞENLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Sercan TÜRKÖĞLU

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Kudret Narı (*Momordica charantia* L.), kabakgiller familyasına ait, tek yıllık ve yazlık bir bitkidir. Dünyanın birçok yerinde üretilmekte ve halk tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitki, ülkemizde de yetişmektedir ve gıda takviyesi adı altında satılan ticari ürünleri vardır. Bu çalışmada, bazı ticari kudret narı ürünlerinin (toz, kapsül, zeytinyağı içinde salamura, ham ve olgun meyve), toplam fenolik içerikleri, toplam antioksidan kapasiteleri ve  $\beta$ -sitosterol içerikleri spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerle belirlendi. Sonuçlar, olgun ve olgunlaşmamış kudret narı örneklerinin aynı yöntemlerle belirlenmiş değerleri ile karşılaştırıldı. Aynı zamanda HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile önemli antioksidan bileşikler açısından da karşılaştırma yapıldı. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün %80 (v/v) MeOH,  $\beta$ -sitosterol için ise %80 (v/v) EtOH olduğu belirlendi. Olgun ve olgunlaşmamış (ham) kudret narı örneklerinin, CUPRAC (Cu(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) ve ABTS (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)/HRP spektrofotometrik yöntemleri ile belirlenmiş toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri sırasıyla; 8,7 ve 7,0  $\mu\text{mol TRE}$  (troloks eşdeğeri)  $\text{g}^{-1}$ , 38,9 ve 37,3  $\mu\text{mol TRE}$   $\text{g}^{-1}$ 'dir. Çalışılan örneklerin TAK değerlerine göre sıralaması, her iki yöntem bulgularına göre aynı olup, kapsül (CUPRAC değeri, 140,8; ABTS/HRP değeri, 143,6  $\mu\text{mol TRE}$   $\text{g}^{-1}$ ) > paket (129,6;126,1) > toz (52,3;64,3) > ham etli kabuk (38,9;37,3) > salamura (17,6;14,4) > olgun etli kabuk (8,7;7,0) olarak belirlendi. Fenolik bileşen içerikleri bakımından sıralama ise; ham etli kabuk (196,2  $\mu\text{mol GAE}$  (gallik asit eşdeğeri)  $\text{g}^{-1}$ ) > kapsül (162,0) > paket (160,6) > toz (83,6) > salamura (38,3) > olgun etli kabuk (14,6) şeklinde bulundu. Bütün örneklerin  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit (antidiyabetik özellik gösterdiği belirtilen) içeriklerini belirlemek için hidroliz işlemi

sonrasında, HPLC ile  $\beta$ -sitosterol tayini yapıldı. Örneklerdeki  $\beta$ -sitosterol bileşiklerinin ayrılması ve saflaştırılması için moleküler baskılı polimerler hazırlandı fakat başarılı sonuçlar alınamadı. Alternatif olarak, C18 SPE (katı faz ekstraksiyon) kartuşları bu amaçla kullanıldı. SPE ile ayrılan ve derişiklendirilen örneklerin hidroliz işleminde  $\beta$ -sitosterol içerikleri, 0,1-0,82 mg g<sup>-1</sup> aralığında belirlendi.

Ocak 2018, 94 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Kudret narı, toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik içerik, CUPRAC, ABTS, HPLC,  $\beta$ -sitosterol



## SUMMARY

### M.Sc. THESIS

#### COMPARISON OF ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC COMPONENTS OF COMMERCIAL BITTER MELON PRODUCTS

Sercan TÜRKOĞLU

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Bitter melon (*Momordica charantia* L.) belongs to the family Cucurbitaceae is an annual summer plant. This plant is grown in many countries around the world and are used for treatment of various diseases by the public. This plant is grown in our country and there are several commercial products sold under the name dietary supplements. In this study, the total phenolic contents, total antioxidant capacities and  $\beta$ -sitosterol contents of some commercial products (powder, capsule, paste in olive oil, unripe and ripe fruit) were determined by spectrophotometric and chromatographic methods. The results were compared with ripe and unripe bitter melon values obtained with same methods. Also, comparison was made among all the products by HPLC (High Performance Liquid Chromatography) in terms of important antioxidant compounds. The most suitable solvents were determined as 80% (v/v) MeOH for the extraction of phenolic compounds and 80% (v/v) EtOH for  $\beta$ -sitosterol. The total antioxidant capacity (TAC) values of ripe and unripe (raw) bitter melon samples determined by CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity) and ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)/HRP methods are 8,7 and 7,0  $\mu\text{mol TRE (trolox equivalent)} \text{ g}^{-1}$ , 38,9 and 37,3  $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ , respectively. The order of studied samples according to TAC values were the same both methods and determined as follows; capsule (CUPRAC value, 140,8; ABTS/HRP value, 143,6  $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) > package (129,6;126,1) > powder (52,3;64,3) > unripe flesh (38,9;37,3) > paste (17,6;14,4) > ripe flesh (8,7;7,0). Their order in terms of phenolic content was found as follows; unripe flesh (196,2  $\mu\text{mol GAE (gallic$



acid equivalent)  $\text{g}^{-1}$ ) > capsule (162,0) > package (160,6) > powder (83,6) > paste (38,3) > ripe flesh (14,6). To determine  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glucoside (referred antidiabetic property shown) contents of all samples,  $\beta$ -sitosterol determination was performed by HPLC after hydrolysis. Molecularly imprinted polymers were prepared for separation and purification of  $\beta$ -sitosterol compounds in all samples but could not be successful. Alternatively, the C18 SPE (solid phase extraction) cartridges were used for this purpose. The samples were hydrolyzed and determined  $\beta$ -sitosterol contents by HPLC method after separation and concentration by SPE process. The  $\beta$ -sitosterol contents of the studied samples were determined in the range of 0,1-0,82  $\text{mg g}^{-1}$ .

January 2018, 94 pages.

**Keywords:** Bitter melon, total antioxidant capacity, total phenolic content, CUPRAC, ABTS, HPLC,  $\beta$ -sitosterol



## 1. GİRİŞ

Gıda takviyesi olarak adlandırılan pek çok ürün piyasada tablet ya da kapsül halinde değişik markalar adı altında satılmaktadır. Bunlar, vitamin ve mineraller, bitkisel ekstraktlar, amino asitler, doku ekstraktları vb. ürünleri kapsamaktadır. Günümüzde sağlıklı yaşam için hastalıkları önlemede önemli role sahip olduğu ileri sürülen bu ürünlere insanların ilgisi giderek artmaktadır. Bu tür ürünlerin hazırlanmasında kullanılan ve ülkemizde yetiştiriciliği yapılan bitkilerden biri de Kudret narı (*Momordica charantia* L.)'dır.

Kabakgiller familyasının bir üyesi olan Kudret narı (*Momordica charantia* L.), özellikle tropik iklim bölgelerinde, gıda olarak ya da tedavi amaçlı kullanılmak üzere yetiştirilen, tek yıllık ve sarmaşık formunda bir bitkidir. Bitkinin, vitaminler, mineraller bakımından zengin olan yaprakları ve olgunlaşmamış meyveleri sebze olarak tüketilmektedir. Olgun meyvelerin tadı acı olduğundan sebze olarak tüketilirken ham hali tercih edilmektedir. Ham meyveler, olgun meyveler ya da tüm bitkiden hazırlanan preparatlar ile yapraklardan hazırlanan çaylar tedavi ya da sağlığı koruma amaçlı kullanılmaktadır. Bitkide bulunan bazı biyoaktif maddelerin, hipoglisemik, antiülser, antioksidan, antibiyotik, antidiyabetik, antikanserojen, antimutajenik özellikte olduğu klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Kudret narı ile ilgili birçok bilimsel çalışma yapılmıştır. *In vitro* çalışmalar ve hayvanlarla yapılan denemeler, Kudret narının içerdiği bazı bileşenlerin hipoglisemik etki gösterdiğini desteklemektedir. Tip I diyabet rahatsızlığında kan şekeri seviyesini düzenleyen insülin vücut tarafından üretilemez ve dışarıdan alınması gerekir, alternatifi yoktur. Tip II diyabette bir miktar insülin üretilir fakat yeterli değildir. Tedavi amacıyla oral yolla alınan antidiyabetik ilaçlar kullanılır ki bu ilaçlar, özellikle karaciğer ve böbreklerde ciddi toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenlerle diyabet tedavisinde kullanılabilecek, ucuz ve toksik etkisi olmayan yeni ilaçların keşfedilmesi için çalışmalar devam etmektedir. Alternatif tıbbın her alanında olduğu gibi diyabet hastalığı tedavisinde kullanılabilecek etkili yeni ilaçların keşfedilmesi çalışmalarında da bitkiler ön plana çıkmaktadır. Kudret narı, Asya, Güney Amerika, Hindistan, Karayipler ve Doğu Afrika'da antidiyabetik özelliği nedeniyle kullanılan doğal ürünler arasında, ön sıralarda yer almaktadır.

Tez çalışması kapsamında, ülkemizde gıda takviyesi adı altında piyasada satılan ticari Kudret narı ürünleri (toz, kapsül ve zeytinyağı içinde macun) ile mevsiminde toplanmış ham ve olgun kudret narı ürünlerinde bulunan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için önce uygun çözücü belirlendi. Elde edilen ekstraktlara spektrofotometrik toplam antioksidan kapasite tayin yöntemleri {CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) ve ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)} uygulandı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri Folin Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Antioksidan kapasiteye katkı sağlayan bileşenleri belirlemek için HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemi kullanıldı. Birleştirilmiş HPLC-CUPRAC yöntemi ile hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri spektrofotometrik toplam antioksidan kapasite değerleriyle karşılaştırıldı.

Kudret narının önemli bir kullanım alanı olan diyabet kontrolünde etkisi olduğu bilinen şarantin ( $\beta$ -sitosteril glukozid ve 5,25-stigmasteril glukozid) ekstraksiyonu için uygun çözücü belirlendi ve elde edilen ekstraktların HPLC ile analizi yapıldı. Kalıp oluşturacak molekül olarak  $\beta$ -sitosterol kullanılarak moleküler baskılı polimerler (MIP) hazırlandı, şarantin ayrılması ve derişiklendirilmesi için kullanılabilirliği incelendi.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. SERBEST RADİKALLER, OKSİDATİF GERİLİM VE ANTIOKSİDANLAR

Hücrelerin enerji kaynağı, elektron alış verişine yani oksidoredüksiyona dayalı metabolizma tepkimeleridir. Elektronların bir atom ya da molekülden ayrılması şeklinde gerçekleşen kimyasal tepkime oksidasyon veya yükseltgenme, elektron alınması ile gerçekleşen ise redüksiyon yani indirgenme olarak adlandırılır [1]. Atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran, kararlı olmayan, yüksek enerjili bileşikler serbest radikaller olarak tanımlanırlar [2]. Eşleşmemiş bu elektronlar genel olarak serbest radikallerin reaktivitesinin kanıtıdır. Oksijen türevi radikaller, canlı organizmalarda bulunan radikaller arasında en önemli radikal sınıfını oluştururlar [3,4]. Vücutta doğal metabolik olaylar sonucu oluşan serbest radikaller, yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarının ürünüdür. Bunlar, hücre metabolizmasının oluşturduğu toksik ürünler olabildiği gibi radyasyon, ultraviyole ışınları, tarım ilaçları, sigara alkol vb. dış kaynaklı etkenler nedeniyle de oluşabilir [5].

Biyolojik serbet radikaller, oldukça kararsız ve reaktif moleküllerdir. Elektronları hücredeki lipit, protein, DNA gibi moleküllerle etkileşime girerek hasara uğratar ve oksidatif stres oluştururlar. Organizmadaki antioksidan ve pro-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres koşulları altında, Alzheimer ve Parkinson gibi çeşitli hastalıkların oluşumunu tetikleyen reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species, ROS) oluşur [6].

Hayvanlarda ve insanlarda fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan ROS, reaktif azot türleri (reactive nitrogen species, RNS) ve reaktif klor türleri (reactive chlorine species) organizmadaki başlıca serbest radikallerdir.

Reaktif oksijen türleri;

- (1) Süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ),
- (2) Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ),
- (3) Peroksil radikali ( $ROO^{\bullet}$ ),
- (4) Hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ),

(5) Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ),

Reaktif azot türleri;

(1) Azot oksit (NO)

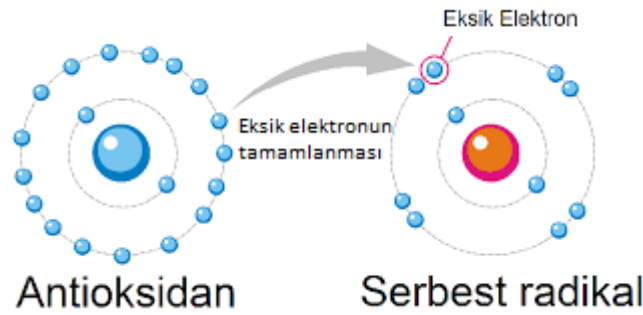
(2) Azot dioksit ( $\bullet\text{NO}_2$ )

(3) Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ),

Reaktif klor türü;

(1) Hipokloröz asit (HOCl)'dir

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşmasını önleyerek veya oluşanları tutarak zararlı etkilerini ortadan kaldırmakta (Şekil 2.1) [7], böylece hücrede başlayan sağlık, dokularla organlara yayılmakta ve yaşama yansımaktadır. Bu nedenle yaşlanma karşıtı etkenlerin en başında antioksidanlar gelmektedir [8].



**Şekil 2.1:** Antioksidanların, serbest radikal moleküllerini kendi bünyesinde bulunan elektronu vererek etkisizleştirilmesi [7].

Antioksidanlar iki gruba ayrılır:

1. Enzimatik Antioksidanlar
2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Hücre içinde etkili olan enzimatik antioksidanlar, toksik hidrojen peroksidin bozunmasını sağlayan katalaz (CAT), glutatyonun indirgenmiş formunu oksitlenmiş hale dönüştüren glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit anyon radikalinin etkisini azaltan süperoksit dismutaz (SOD) enzimlerini içerir. Hücre dışında etkili olan enzimatik olmayan antioksidanlar ise

$\alpha$ -tokoferol (E vitamini), askorbik asid (C vitamini),  $\beta$ -karoten (A vitamini), glutatyon (GSH), selenyum, transferrin, laktoferrin, flavonoidler ve diğeri antioksidanları içerir. Reaktif oksijen türlerini deaktive etmede, intraselüler antioksidan enzimler ilk savunma sistemi olarak etki gösterirler. İlk reaksiyon, süperoksit dismutaz enzimi tarafından süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonudur. Bunu takiben hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz katalizörlüğünde ortamdaki uzaklaştırılır [9].

## 2.2. POLİFENOLİK BİLEŞİKLER

Polifenoller; yapılarında birden fazla fenol grubu bulunan bileşiklerdir. Genellikle bitkilerde bulunan ve doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturan bu bileşikler, insan yaşamı için gerekli olan biyoaktif maddelerdir. Gıdalardan alınan fenoliklerin başlıca grupları; flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik polimerlerdir. Bu moleküller, bitkilerin ikincil metabolitleri olup genellikle çevresel stress koşullarına karşı savunma görevi üstlenirler. Fenolik bileşikler, halkalı yapıdaki fonksiyonel hidroksil gruplarının farklı pozisyonlarda bulunmasına göre tanımlanır ve sınıflandırılırlar. Elektrofilik özellikteki bu hidroksil grupları, hücre hasarlarına neden olabilen serbest radikallerle etkileşirler [10,11].

Hidrojen atomu verebilen, indirgen özellik gösteren, ve singlet oksijen söndürücü olarak davranan bitki polifenollerini güçlü antioksidanlardır ve kimyasal yapılarına bağlı olarak aktiviteleri değişmektedir. Bazı polifenollerin etkisi ise metal iyonu kelatlama özelliklerinden ileri gelmektedir.

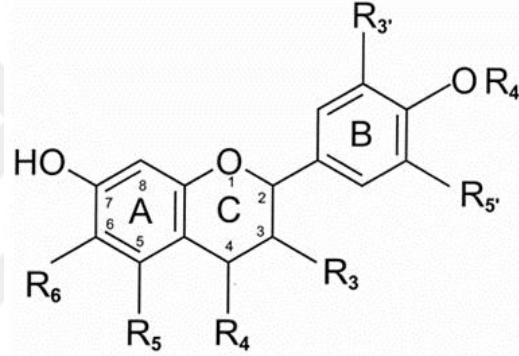
Flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik polimerler (tanenler), besinlerde bulunan fenolik maddelerin başlıca gruplarıdır [12].

### 2.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, polifenolik maddelerin bir grubudurlar ve çok sayıda bitkide bulunmaktadır [13]. Bitki fenollerinin en geniş sınıfını difenilpropan ( $C_6C_3C_6$ ) iskeletine sahip flavonoidler oluşturmaktadır [14].

Lipofilik antioksidanlar olan flavonoidler, bitkilerin yaşamsal gereksinimleri için kullandıkları, karbonhidratlar, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden türettikleri ikincil metabolitlerdir. Bunlar, düşük molekül ağırlıklı, antioksidan ve kelatlama özelliğine sahip, A, B ve C halkalarından meydana gelen *2-fenil benzopiran* yapısında bileşiklerdir (Şekil 2.2). Bu yapıya

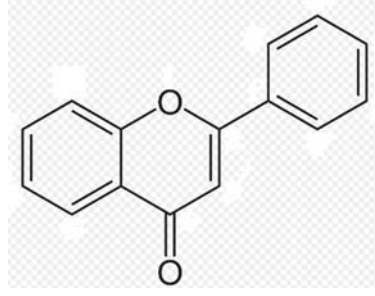
farklı pozisyonlarda–OH (hidroksil) gruplarının bağlanması sonucunda çok çeşitli flavonoidler meydana gelmiştir. Doğada, birçoğu bitkilerin yaprak, çiçek ve köklerinde olmak üzere, 6000'den fazla flavonoid çeşidi vardır [15]. Meyve, sebzelerde, tıbbi ve aromatik bitkilerde, kırmızı şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Flavonoidlerin yapılarındaki –OH gruplarına şeker, metil ve benzeri gruplar bağlanabilir ve konjuge bileşikler oluşur. Gıdalarda genellikle 3-O-glikozitleri ve polimerleri şeklinde bulunurlar. Glikozit birimi olarak 8 ayrı monosakkarit (glukoramnoz, galaktoz, arabinoz, ramnoz vb.) ya da di-, tri-sakkaritler bağlanabilmektedir. Bağırsaklarda hidrolizlenerek biyolojik bakımdan aktif aglikonlara dönüşürler. İnsan ve hayvanlarda mide-bağırsak sisteminden emilirler, değişmeden ya da metabolitleri halinde idrar ve dışkı ile atılırlar [16].



Şekil 2.2: Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı.

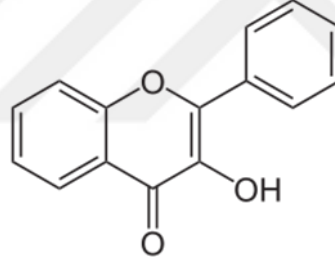
Flavonoidler; antosiyaninler ve antoksantrinler şeklinde sınıflandırılır. Antoksantrinler, renksiz veya beyazdan sarıya dönük renkte olurlar ve flavonol, flavanol, flavon, flavanon, izoflavon ve dihidrokalkonlar olarak sınıflandırılırlar [14].

Flavononların 2,3-dihidro türevi olan flavonların karakteristiği C-2 ve C-3 atomları arasında bulunan çift bağıdır (Şekil 2.3) [17]. Bitkilerde, aglikonları ya da glikozitleri halinde bulunabilirler. Bu grubun en önemli temsilcileri, apigenin, krisin ve luteolin'dir. Luteolin en çok acı biberde bulunmaktadır. Krisin; meyve kabuğunda, apigenin ise kekik, maydonoz ve kereviz sapında bulunan flavonlardır.



**Şekil 2.3:** Flavonların temel kimyasal yapısı.

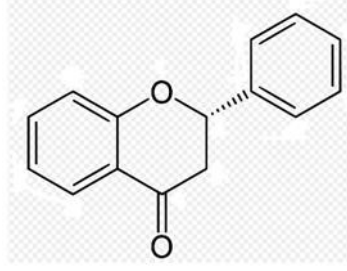
2- *Fenil benzopiran* halkasının C-3 pozisyonunda hidroksil grubu içeren flavonollere 3-hidroksiflavonlar da denilmektedir. Bitkilerde, farklı konumlarda metoksil veya hidroksil grupları içeren türevleri halinde bulunmaktadır. Kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferol en çok bilinen flavonollerdir. Kuersetin, soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur. Rutin, kuersetinin rutinoz bağlı yapısı olup kırmızı şarap ve domateste bulunmaktadır.



**Şekil 2.4:** Flavonollerin temel kimyasal yapısı.

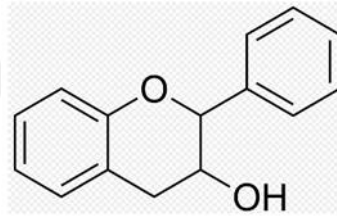
En önemli temsilcileri, turunçgillerde bulunan, hesperidin, hesperetin, naringenin ve naringin olan *flavanonların flavonlardan* yapısal farkı, C halkasında çift bağ bulunmamasıdır. Naringin greyturtun karakteristik acılığını veren bileşik olup naringenin (3-hidroksi flavanon) glikozididir. Tadı son derece acı olan bu bileşik, turunçgillerden ekşi portakalda bulunur. Naringenin aglikonu olan naringenin tadı acı değildir. Hesperetin glikoziti olan hesperidin ve hesperetin, limon ve portakalda bolca bulunan bileşiklerdir [12].





**Şekil 2.5:** Flavanonların temel kimyasal yapısı.

Flavon yapısının C halkasında bulunan çifte bağlı oksijen yerine  $-CH_2$  grubunun bağlanması sonucu oluşan *flavanoller*, üçüncü karbon atomunda bir  $-OH$  grubuna sahip olmaları nedeniyle flavon-3-ol olarak adlandırılırlar. Bu grubun en önemli bileşikleri, kateşin ve epikateşin olup gallik asitle birlikte oluşturdukları kateşin ve epikateşin gallatlar, yeşil çay, siyah çay gibi bitkilerde, şeftali ve elma gibi meyvelerde, ayrıca kırmızı ve beyaz şarap'ta bol miktarda bulunmaktadır [18].

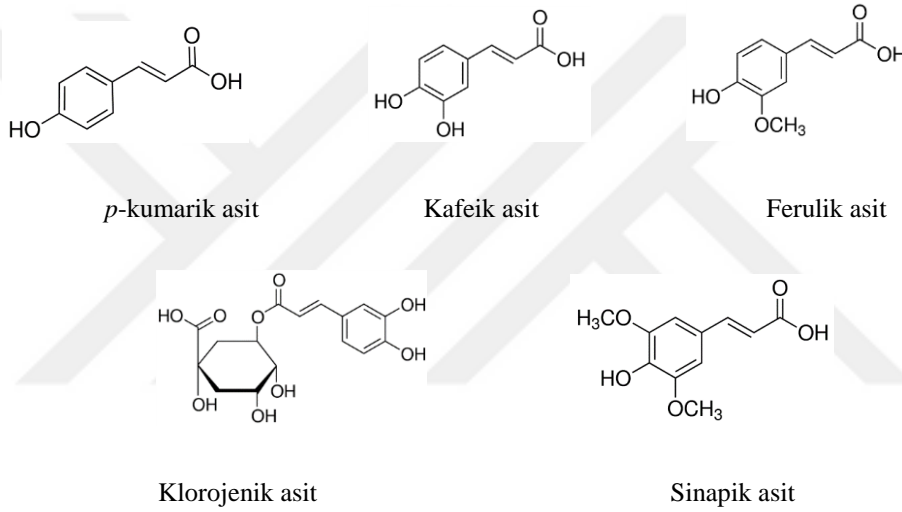


**Şekil 2.6:** Flavanollerin temel kimyasal yapısı.

*İzoflavonlar*, aromatik B halkasının, C halkasının üçüncü karbon atomuna bağlanmasıyla oluşan ve flavonların izomeri olarak tanımlanan bileşiklerdir. En fazla soya fasulyesi ve soya fıstığında bulunan bu grubun temsilcileri, genistein, daidzein ile bunların glikozidleri olan genistin ve daidzin'dir [12].

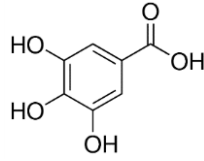


fenil alaninin biyosentetik türevi olan fenolik bileşenlerdir. Bu bileşikler aynı zamanda flavonoidlerin öncüsüdür ve bitkilerde hücre duvarının yapısına katılırlar [21]. Genellikle bu tür fenolik asitler bitkilerde esterleri halinde veya şekerlerle, organik asitlerle veya yağlarla birleşmiş halde bulunurlar [22]. Hidroksisinnamik asitler trans konumunda daha kararlıdır. Ancak UV ışınlarına maruz bırakıldıklarında trans izomerinden *cis* izomerine dönüşürler [23,24]. Bu bileşenler meyve, sebze, çiçek, fındık, tohum ve şarap, çay, kahve ve zeytinyağı gibi bitki türevi ürünlerde bulunurlar [14,25]. Kafeik asidin kuinik asit esteri olan klorojenik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit elma, armut, üzüm ve erik gibi meyvelerde ve adaçayı, nane, kekik gibi bitkilerde en çok bulunan hidroksisinnamik asitlerdir [14].

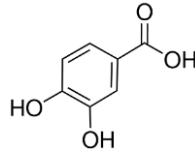


**Şekil 2.9:** Hidroksisinnamik asitlerin kimyasal yapıları.

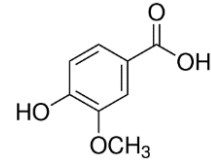
*Hidroksibenzoik asitler*, doğrudan benzoik asitten türetilen bileşikler olup yapılarına dahil olan hidroksi ve metoksi gruplarının sayıları ve yerleşimine göre farklıdır. Gallik asit, vanilik asit, sirinjik asit ve protokateşuik asit en çok rastlanan hidroksibenzoik asitlerdir. En etkili hidroksil radikal süpürücüler monohidroksibenzoatlardır [12].



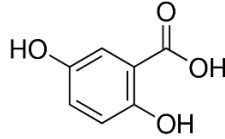
Gallik asit



Protokateşuik asit



Vanilik asit

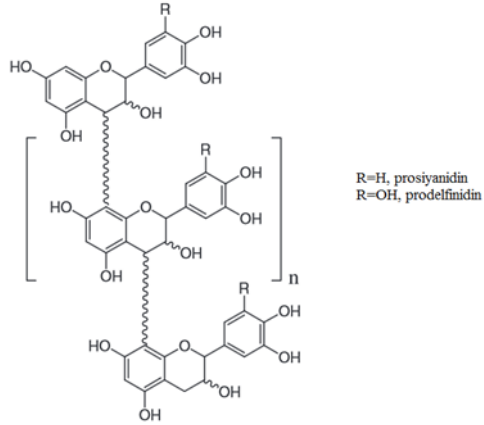


Gentsik asit

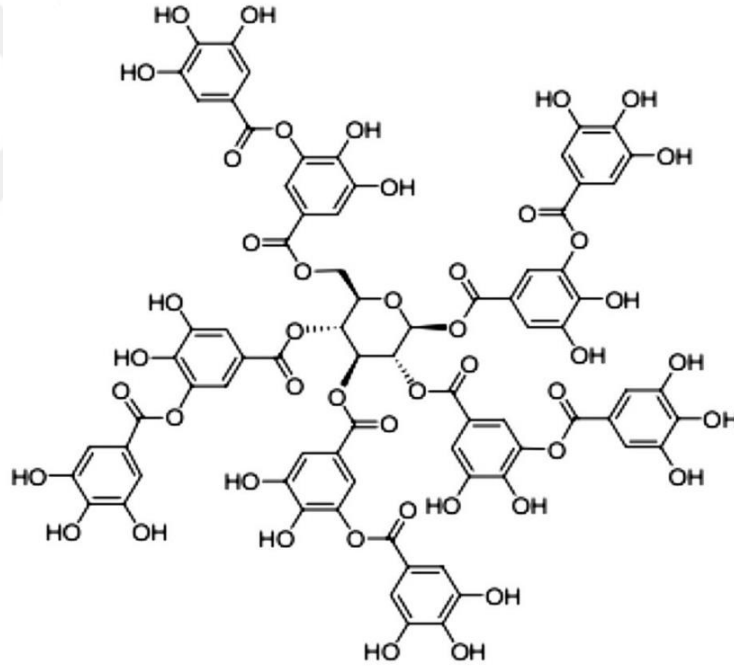
**Şekil 2.10:** Hidroksibenzoik asitlerin kimyasal yapıları.

### 2.2.3. Fenolik Polimerler (Tanenler)

Tanenler, suda çözünebilen, yüksek molekül ağırlıklı, polifenolik yapıda bileşiklerdir. Fenolik polimerler, kondanse ve hidroliz olabilen tanenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Kondanse tanenler (proantosiyandinler) (Şekil 2.11), kendilerini oluşturan bileşiklere bağlı olarak, prosiyanidin (epikateşin ve kateşinden oluşan) ve prodelfinidin (kateşin ve gallokateşinden oluşan) adlarını alırlar. Besin tanenleri, kateşin ve epikateşin polimerleridir ve buruk bir tadı olan koyu renkli bileşiklerdir. Hidroliz olabilen tanenler, çekirdek merkezi olarak D-glukoz içeren moleküllerdir. Bu poliollerin hidroksi grupları kısmen veya tümüyle gallik asit (gallotanenler) ve elajik asit (elajitanenler) gibi fenolik gruplarla esterleşmiştir. Gallotanenlerin en bilineni tannik asittir (Şekil 2.12) [14].



Şekil 2.11: Kondanse tanenlerin kimyasal yapısı.

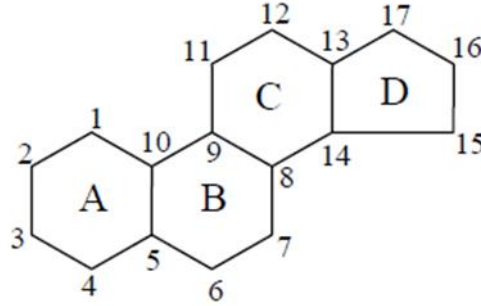


Şekil 2.12: Tannik asidin kimyasal yapısı.

### 2.3. STEROİDLER

Steroidler, halkalı yapıda, lipofilik özellik gösteren organik bileşiklerdir, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunurlar. Birbiriyle kaynaşmış dört halkadan oluşan 17 karbonlu steran (siklopentanoperhidrofenantren) halkası içeren bu bileşikler lipit yapısındadır. Bu halkalardan üç tanesi sikloheksan (A,B,C), bir tanesi siklopentan(D)'dir (Şekil 2.13). Halkalara farklı

fonksiyonel grupların bağlanması sonucunda çeşitli steroidler oluşmaktadır. Substitüentler genellikle C3, C7, C12 de bulunur. Bu grubun içinde, steroller, safra asitleri, steroid glikozitleri, steroid alkaloidler, hormonlar ve bazı saponinler yer almaktadır [26].

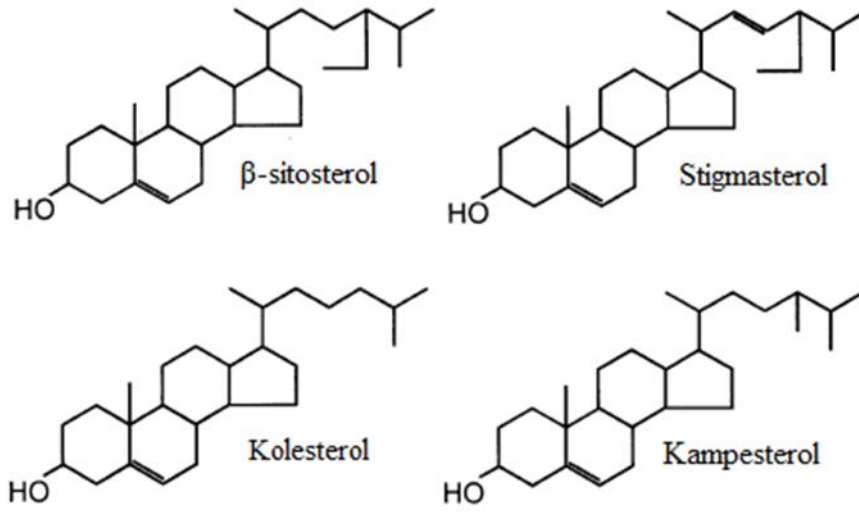


Şekil 2.13: Siklopentanoperhidrofenantren.

### 2.3.1. Steroller

Doğada serbest veya yağ asitleri ile esterleşmiş halde bulunan steroller, kimyasal yapı olarak polisiklik alkoller grubundandır ve steroid alkoller olarak da adlandırılırlar. Steroid yapısının A halkasının 3 pozisyonunda bir hidroksil grubuna sahiptirler. Hayvansal organizmalarda sentezlenen zoosteroller, bitkisel organizmalarda sentezlenen fitosteroller ve küf kaynaklı mikosteroller başlıca doğal sterollerdir [27].

Kaynaklara göre bitki kaynaklı sterollerin 200'den fazla türü bilinmektedir. En yaygın olarak bulunanları, başta  $\beta$ -sitosterol olmak üzere, stigmasterol, kampesterol (Şekil 2.14) ve ergosteroldür. Bu fitosteroller ve kolesterolün hepsi 4-desmetilsterol grubunda yer almaktadır. Brassikasterol,  $\Delta^5$ -avenasterol, sitostanol ve kampestanol gibi steroller de bitkilerde az miktarda bulunmaktadır [28].



**Şekil 2.14:** Fitosteroller ve kolesterolün kimyasal yapıları [28].

Fitosteroller (bitki sterolleri) hücre zarlarının önemli yapısal bileşenleri olan triterpen ailesinin üyesidirler. Yapısal ve işlevsel bakımından kolesterole benzerlik gösterirler. Fitosteroller bitki hücresi zarındaki fosfolipit çift tabakasını sağlamlaştırma işlevine sahiptirler. Kolesteroller ise hayvan hücresi zarında bu görevi yerine getirirler.

Tüm bitki dokularında fitosteroller; serbest alkoller, yağ asiti esterleri, hidrokisisinnamat esterleri, glikozitler ve açılmış glikozitler olarak beş yaygın grup halinde bulunurlar. Serbest hali dışındaki şekilleri, fitosterol konjugeleri olarak adlandırılırlar.

**Tablo 2.1:** Bitkilerde yaygın olarak bulunan fitosterollerin yaygın ve sistematik isimleri.

Yaygın isimleri	Sistematik isim	Sterol sınıfı
Sikloartenol	9- $\beta$ -19-siklo-24-lanosten-3- $\beta$ -ol	4,4-dimetil
24-metilen lofenol	4- $\alpha$ -metil-5- $\alpha$ -ergosta-7,24-3- $\beta$ -ol	4-metil
Avenasterol	24-etilkolesta-5,24(28)-Z-dien-3-ol	4-desmetil
Koloesterol	Kolest-5-en-3-ol	4-desmetil
Kampesterol	24-metil-5-kolestern-24-metil-3-ol	4-desmetil
Brassikasterol	5,22-kolestadien-24-metil-3-ol	4-desmetil
Sitosterol	24-etilkolest-5-en-3-ol	4-desmetil
Stigmasterol	5,22-kolestadien-24-etil-3-ol	4-desmetil

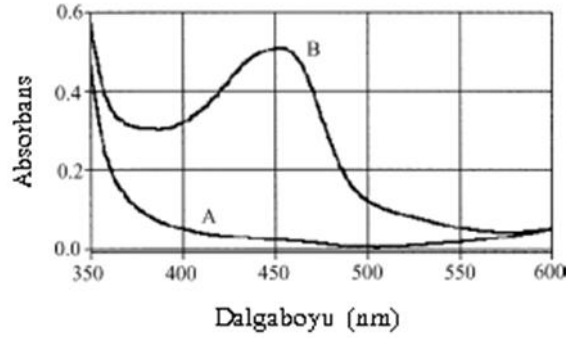
$\beta$ -sitosterol, fitosteroller arasında en yaygın olan steroldür. Sitosteroller, karakteristik bir kokusu olan beyaz mumsu tozlardır. Bunlar hidrofobiktir ve alkolde çözünürler. *Curcubita pepo* (kabak çekirdeği), *Pygeum africanum*, pirinç kabuğu, buğday tohumu, mısır yağı ve soya fasulyesi gibi ürünlerde fazlaca bulunurlar [29-31].

## 2.4. TOPLAM ANTIOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

### 2.4.1. CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

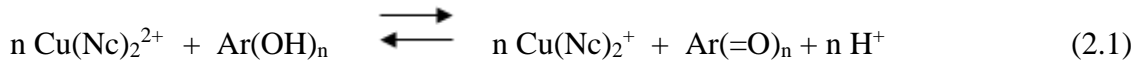
Apak ve diğ. [32] tarafından geliştirilen yöntem, antioksidan bileşiğin 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin, Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksini (Cu(II)-Nc), bakır(I)-neocuproin (Cu(I)-Nc) kelatına (Şekil 2.15) indirgemesine dayanmaktadır. Oluşan sarı renkli kompleksin 450 nm'deki absorbansının ölçümüne dayanan toplam antioksidan kapasite tayini yöntemi, 'bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPric Reducing Antioxidant Capacity), kısaca CUPRAC yöntemi olarak adlandırılmıştır.





Şekil 2.15: (A) Cu(II)-Nc, (B) Cu(I)-Nc komplekslerinin spektrumları.

Yöntemin uygulanışı şu şekildedir: eşit hacimlerde (1'er mL) karıştırılan Cu(II) klorür, alkolde hazırlanmış neokuproin ve pH 7.0 amonyum asetat tampon çözeltilerinin üzerine antioksidan kapasitesi ölçülmek istenen bileşiğin uygun derişimdeki çözeltisi ya da örnek ekstraktı ilave edilir, karışım karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletilir. Hazırlanan karışımların absorbanları, 450 nm'de, antioksidan çözeltisi yerine aynı hacimde çözücü eklenmiş olan referans çözeltilisine karşı okunur. CUPRAC<sub>N</sub> olarak adlandırılan bu uygulamada, askorbik asit, gallik asit ve kuersetin için renk oluşumu hızlı olurken, naringin, naringenin gibi yavaş reaksiyona giren antioksidanlar için 50°C'de 20 dakika inkübasyon işlemi uygulanmakta ve yöntem de CUPRAC<sub>I</sub> olarak adlandırılmaktadır. Flavonoid glikozidlerine, son çözeltide 1,2 M HCl içeren % 50 (v/v) MeOH ortamında hidroliz işlemi uygulanarak, maksimum indirgeme güçlerini daha fazla gösterdikleri aglikon haline dönüşmeleri sağlanarak yöntem uygulanmıştır.

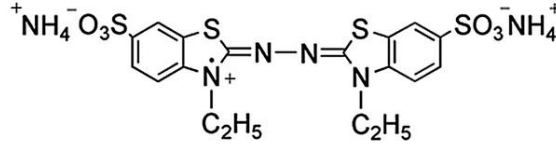


Yöntem, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara uygulanabilir.

#### 2.4.2. ABTS/TEAK (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi

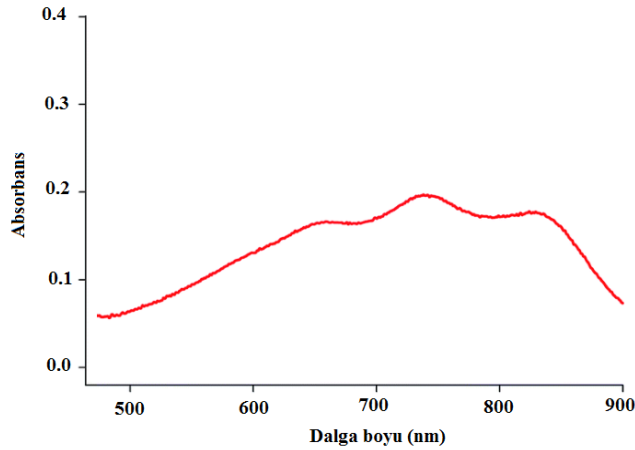
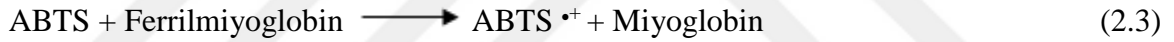
2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun (ABTS<sup>•+</sup>), antioksidan madde tarafından sönmelenmesine dayanan bu yöntem, troloks eşdeğeri antioksidan kapasite olarak ifade edilmektedir. Miller ve diğ. [33,34] tarafından geliştirilmiş olan yöntemde, ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonu (Şekil 2.16), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile metmiyoglobinin tepkimesi

sonucu oluşan ferrilmiyoglobin ile ABTS arasındaki etkileşimin ürünü olup 660, 734 ve 820 nm’lerde absorpsiyon yapmaktadır. Bu yöntemde, antioksidan madde varlığında, 6ncı dk sonunda 734 nm’de absorbans ölçümü yapılır. Aynı koşullarda, radikal çözeltisinin absorbansı da okunur ve iki çözeltinin absorbansları arasındaki fark ( $\Delta A$ ) belirlenir. Toplam antioksidan kapasite troloks (TR) cinsinden hesaplanır.



Şekil 2.16: ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonunun yapısı.

ABTS<sup>•+</sup> katyon radikali oluşumu tepkimeleri [35].



Şekil 2.17: ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonunun görünür bölge absorpsiyon spektrumu.

Re ve diğ. [36] tarafından modifiye edilmiş ve geliştirilmiş TEAK yönteminde potasyum persülfatla ABTS'nin oksidasyonu sonucu üretilen ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonları kullanılır.

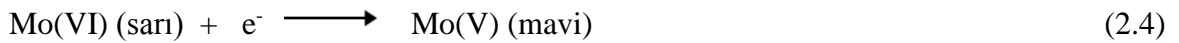
Üretilen bu ABTS radikalleri oda sıcaklığında karanlıkta beklediği zaman 2 gün kararlıdır. Geliştirilen bu yöntem, hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde kullanılabilir. Bu uygulamada da, radikal çözeltisi üzerine eklenen antioksidan çözeltisinin derişimine bağılı olarak, 6ncı dk sonunda absorbanstaki azalma 734 nm’de ölçüm alınarak belirlenir.

Cano ve diğ. [37] tarafından, hidrofilik antioksidan aktiviteyi ölçmek amacıyla, geliştirilen diğeri bir yöntemde, ABTS radikal katyonu (ABTS<sup>•+</sup>)’nun hazırlanmasında ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP (horseradish peroxidase) sistemi kullanılmıştır. Antioksidan çözeltisi enzimatik olarak oluşturulmuş radikal çözeltisine eklendikten sonra yine ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonunun absorbanstaki düşüşü belirlenmektedir. Bu yöntemin pek çok avantajları vardır. Çünkü istenmeyen pek çok reaksiyonu önler, yüksek sıcaklık gerektirmez ve geniş pH aralığında çalışabilir. Bu yöntem ayrıca, örneklerin kendi içsel peroksidaz aktivitesinden kaynaklanan girişimi önler. Aynı örnek içindeki hem lipofilik hem hidrofilik antioksidan aktivite, çözelti hazırlama ortamını değıştirerek bu metotla ölçülebilir [38,39].

## 2.5 TOPLAM POLİFENOL TAYİNİ

### 2.5.1 Folin-Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem, antioksidanların toplam fenolik madde içeriğini ölçmek için Singleton ve arkadaşları [40, 41] tarafından geliştirilmiştir. Molibdofosfotungstik heteropoliasit yapısına sahip Folin-Ciocalteu ayırıcının (FCR) kullanıldığı yöntem, elektron transferine dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde CuSO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılmakta ve tepkime alkali ortamda (sodyum karbonat çözeltisi ile pH 10’a ayarlanır) gerçekleşmektedir. Tepkimenin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte fenolik maddelerin, FCR ayırıcını heteropoli mavisine indirgediği ve böylece rengin sarıdan maviye dönüştüğü belirtilmektedir. Tepkime tamamlanınca örnek absorbanları 750 nm’de ölçülür.



Yöntem sonuçları, gallik asit eşdeğeri olarak verilmektedir.

## 2.6. KUDRET NARI (*Momordica charantia* L.)

Kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasının bir üyesi olan Kudret Narı tropikal bir bitki olup latince adı *Momordica charantia*'dır. Bu ürün ayrıca, acı kavun (bitter melon), acı kabak (bitter gourd), Afrika salatalığı (African cucumber), balsam elması (balsam apple), balsam armudu (balsam pear), papilla ve karela gibi farklı isimlerle de bilinmektedir.

Bitkisi ince gövdelidir ve uzunluğu 1-2 m'yi bulmaktadır. Sarı renkli çiçekleri, temmuz ve ağustos aylarında açmaktadır. Önce yeşil olan meyveleri, olgunlaştıkça turuncu-kırmızı renge sahip olmaktadır. Görüntüsü, geniş bir mekik şeklinde olup aşağı doğru inceler, girintili-çıkıntılı ve pürtüklüdür. Uzunluğu 10-20 cm arasında genişliği ise 4-9 cm arasında değişmektedir. Meyve olgunlaşıp turuncu rengine döndüğü zaman, kabuğu, 3 ayrı parça halinde, geriye doğru bükülür ve sayıları 20-30 arasında değişen kırmızı-kahverengi çekirdekleri ortaya çıkar (Şekil 2.18) [42, 43].



Şekil 2.18: Ham ve olgun Kudret nari meyvesi.

Kökeni Hindistan olan, nemli ve sıcak bölgeleri seven Kudret nari, Asya, Afrika, Karayip Adaları ve Amazon havzasında doğal olarak yetişmektedir. Güney Amerika ve Uzak Doğu ülkelerinde de hem tedavi hem de gıda amaçlı kullanılmak üzere yetiştiriciliği yapılmaktadır. Kudret nari, mayıs ayında tohumundan ekilerek yetiştirilir ve ağustos ayında olgunlaşmış meyveler hasat edilir. Türkiye'de en çok Yalova, Bursa çevresinde ve Ege bölgesinde yetiştirilmektedir [44].

Bitki içeriğine bakıldığında, % 83,2 nem, %2,9 protein, % 1 yağ, %9,8 karbon, %1,7 fibril, %1,4 mineral maddeleri (kalsiyum, fosfor, demir, karoten, tiyamin, nikotinik asit, riboflavin, askorbik asit, bakır ve potasyum) içerdiği gözlenir.

Kudret narı, yüksek miktarlarda C vitamini, bunun yanında A vitamini,  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, potasyum, magnezyum, ve çinko içermektedir. Olgun meyvelerin çekirdeklerinin zarları iyi bir likopen kaynağıdır. Bitkinin hem meyveleri hem yaprakları, vitaminler (B ve C vitaminleri) ve mineraller (demir, kalsiyum, fosfor) bakımından oldukça zengindir [44-47].

Meyve suyundan ve meyvesinden elde edilen enjekte edilebilir preparatlar, geleneksel olarak dünya çapında kan şekeri seviyesini düşürmek için kullanılmaktadır [48].

Yine meyvesinden elde edilen ekstratlar, bu bitkinin serbest radikalleri temizleme aktivitesinin olduğunu, patofizyolojik değişikliklere neden olan süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı yararlı aktivitede kullanıldığını açıkça göstermiştir [49].

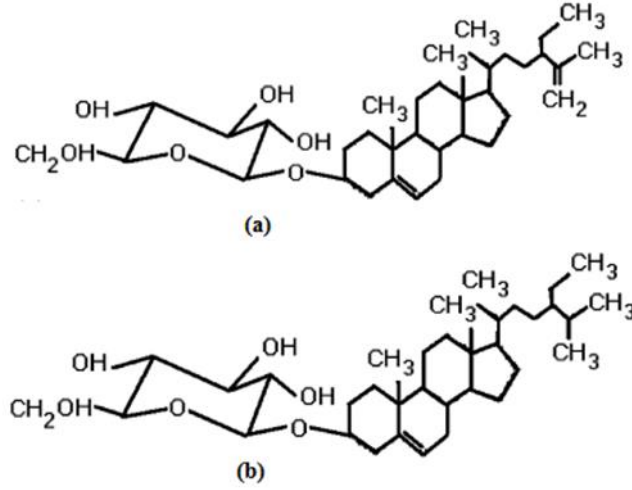
Kudret narının antitümör, antiviral, antioksidan, antihepatoksik, antiülserojenik, antibakteriyel, antidiyabetik, antigenotoksik, ateş düşürücü, gaz giderici etkileri olduğu bilinir. Ayrıca romatoid artrit, gut hastalığı, bağırsak, cüzzam, sarılık, anemi, sıtma, hipertansiyon, düşük kolesterol, gibi hastalıkların alternatif tedavilerinde kullanılan önemli bir bitkidir. Vücudun detoksifikasyonu, beyindeki hormonların belirli bir dengede kalması, bağışıklığın geliştirilmesi, lüteinleştirici hormonun artışı, farklı tümörlerin önlenmesi bu bitkinin bildirilen diğer yararlarıdır [44, 50-54].

Kudret narı ekstresi, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahiptir, çeşitli virüslerden, bakterilerden, parazitlerden ve mantarlardan kaynaklanan enfeksiyonlara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Tüm organizmalar için önleme mekanizması belirlenemese de viral enfeksiyonlarda kudret narı bileşenleri virüslerin hücre duvarından nüfuz etmesini engeller [51,55].

Yapılan *in vivo* çalışmalarda; kudret narı ekstresinin karaciğerde glukoneojenez metabolizmasında yer alan glukoz-6-fosfataz ve fruktoz 1,6 bifosfataz enzimlerini inhibe ederek glukoneojenezi azalttığı gösterilmiştir [56].

Şarantin, insülin benzeri peptid (p-peptid), cucurbitenoidler, momordicin ve olenealik asit, kudret narının hipoglisemik etkiden sorumlu bileşenleridir. Resin ve fenolik bileşikler ise yağı ve serbest asitleri düzenler. Ayrıca kudret narının, momordin, karatenoidler, flavanoidler ve polifenoller gibi bileşikleri içerdiği bilinir [57-59].

Şarantin, iki bileşiğin karışımından oluşur. Bu bileşikler  $\beta$ -sitosterol-D-glukozit ve 5,25-stigmastadienol glukozit'tir. Aglikon kısmında bulunan steroidal yapılarından dolayı şarantin, kloroform ve diklorometan gibi az polar çözücülerde kolay çözünür. Bununla birlikte yapısında bulunan glukozit yapısından dolayı da etanol ve metanol gibi çözücülerde de çözünebilir haldedir [58,59].



Şekil 2.19: (a)  $\beta$ -sitosterol-D-glukozit ve (b) 5,25-stigmastadienol glukozit'in kimyasal yapıları.

## 2.7. ANTİDİYABETİK ETKİLİ DOĞAL KAYNAKLAR VE BİLEŞİKLER

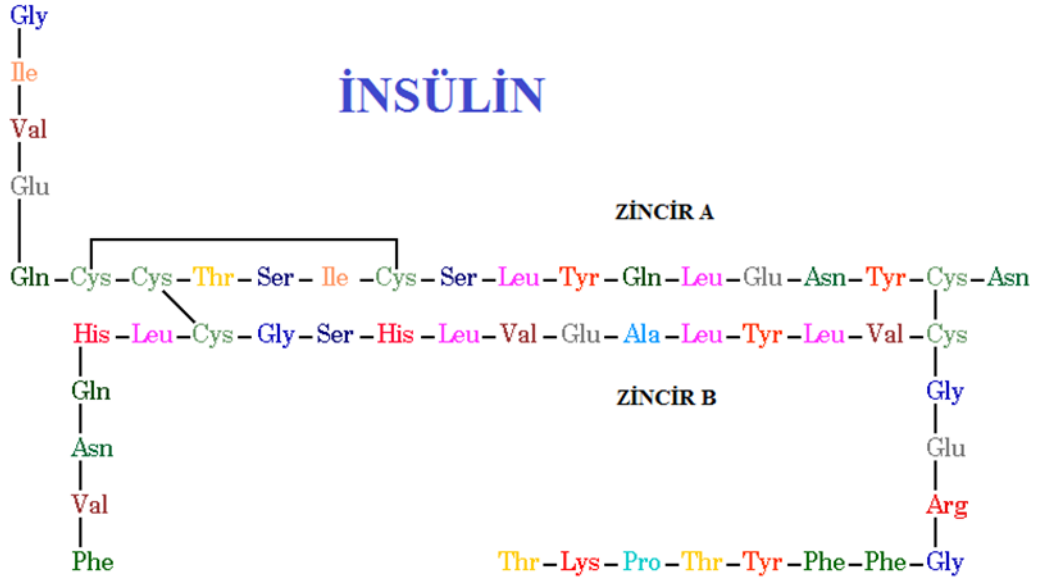
Diyabeti kısaca karbonhidratlardan vücudumuzun yararlanmasını engelleyen bir rahatsızlık olarak tanımlayabiliriz. Diyabetli kişilerde, vücuda alınan karbonhidratlar, sindirim sistemi tarafından şekerlere dönüştürülür, bu şeker kan içinde dolaştıktan sonra idrara geçer. Yani vücutta enerji olarak kullanılmaları ya da yağ olarak kullanılmaları gerekirken dışarı atılırlar. Bu nedenle, Yunanca'da geçip gitmek anlamına gelen "diabetes" sözcüğü kullanılmaktadır. Hastanın idrarında bulunan şeker nedeniyle de Orta Çağlarda Avrupa'da ballı idrar anlamında "mellitus" adı kullanılmıştır. Günümüzde de şeker hastalığının bilimsel adı, Diabetes Mellitus'tur [60, 61].

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) kabul ettiği “Diabetes Mellitus” tiplerinin sınıflaması şöyledir [60].

- Tip-I, İnsüline bağımlı tip (Insulin Depended Diabetes Mellitus)-IDDM
- Tip-II, İnsüline bağımlı olmayan tip (Insulin Depended Diabetes Mellitus)-NIDDM
- Kötü beslenmeye bağlı tip
- Diğer tipler (bazı hastalık ve sendromlarla birlikte seyreden)

Antidiyabetik etkili doğal kaynakların başında insülin gelir. İnsülin doğrudan veya dolaylı olarak vücuttaki bütün dokuları etkileyen, vücuda giren besin öğelerinin çoğunun hücreler içinde tutulup depo edilmesini sağlayan en önemli anabolik hormondur [61].

Polipeptid yapısında olan insülin, 2 aminoasit zincirinin disülfür köprüsü ile bağlanmasıyla oluşmuştur (Şekil 2.20).



**Şekil 2.20:** İnsülinin genel yapısı.

(Gly: Glisin, Ile: İzolösin, Val: Valin, Glu: Glutamik asit, Gln: Glutamin, Cys: Sistein, Thr: Treonin, Ser: Serin, Leu: Lösin, Asn: Asparagin, His: Histidin, Ala: Alanin, Arg: Arginin, Tyr: Tirozin, Pro: Prolin, Phe: Fenilalanin)

## 2.8. KUDRET NARI İLE İLGİLİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA ÇALIŞMALARI

### 2.8.1. Fenolik Bileşen İçerikleri ve Toplam Antioksidan Kapasite Tayinleri ile İlgili Çalışmalar

Tan ve diğ. [62] tarafından yapılan çalışmada, dondurulup-kurutulmuş kudret narı örneklerinin, farklı organik çözücülerle (aseton, n-butanol, metanol, etanol) ve suyla hazırlanmış olan ekstraktlarının flavonoid içerikleri karşılaştırılmıştır. Örnek olarak, altı çeşit kudret narı (Moonlight, Hanuman, White, Jade, Niddhi ve Indra) kullanılmıştır. En uygun ekstraksiyon koşullarını belirlemek için farklı sıcaklıklarda (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90°C), farklı sürelerde (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 ve 60 dk), farklı çözücü hacmi/toz örnek oranlarında (10, 20, 25, 30, 40, 50, 100 ve 120 mL/g örnek) üç tekrarlı olarak çalışmalar yapılmıştır. Su ile yapılan denemeler sonucunda; 100 mL çözücü ile 40°C’de ve 15 dk sonunda en yüksek ekstraksiyon verimine ulaşıldığı görülmüştür. Diğer çözücülerin flavonoid ekstraksiyon verimini karşılaştırmak için Moonlight çeşidi kullanılmıştır. Hazırlanan ekstraktların toplam flavonoid içeriklerini belirlemek için  $AlCl_3/NaNO_2$  [63] yöntemi kullanılmış ve sonuçlar rutin eşdeğeri (RE) olarak verilmiştir. Buna göre kullanılan çözücülerin ekstraksiyon verimi bakımından sıralaması; aseton (23,17 mg RE/g) > metanol (7,67 mg RE/g) > etanol (5,38 mg RE/g) > n-butanol (1,81 mg RE/g) > su (0,66 mg RE/g) şeklinde belirlenmiştir. Çalışılan kudret narı çeşitlerinden Moonlight’ın (yerel marketten temin edilmiş olan) en yüksek flavonoid içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Diğer çeşitlerin (serada yetiştirilmiş çeşitler) sıralaması; Niddhi (16,9 mg RE/g) > Jade (15,3 mg RE/g) > Indra (15 mg RE/g) > White (6,9 mg RE/g) > Hanuman (3,9 mg RE/g) şeklinde belirlenmiştir.

Horax ve diğ. [64] tarafından yapılan çalışmada dört çeşit {India green (IG), India white (IW), China green (CG) ve China white (CW)} kudret narı ile çalışılmıştır. Bu ürünlerin metanollü ekstraktları hazırlandıktan sonra, toplam fenolik madde içerikleri, başlıca fenolik asit bileşenleri ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi [40], fenolik asit içerikleri HPLC yöntemi [65], antioksidan aktiviteleri ise Heinonen ve diğ. [66] tarafından kullanılmış olan, linoleik asit metil esterinin oksidasyonuna dayalı yöntem ile belirlenmiştir. Kudret narı çeşitleri, fırında ve freeze-dryer’da olmak üzere iki farklı şekilde kurutulmuş ve böylece kurutma yönteminin etkisi de incelenmiştir. Ekstraksiyon işleminde, 500 mg ince öğütülmüş örnek bir test tüpüne alınmış ve üzerine 5 mL metanol ilave edildikten sonra su banyosunda 65 °C’de 2 saat süreyle ısıtılmıştır. Isıtma işlemi



sırasında her 30 dk'da vorteks ile karıştırma yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında santrifüj edilerek ayrılan kalıntı 1 mL methanol ile yıkanmış ve yıkama çözeltisi süpernatanta eklenmiştir. Bu çözelti N<sub>2</sub> gazı geçirilerek 60 °C'de kuruluğa kadar buharlaştırılmış ve kalıntı 4 °C'de saklanmıştır. Çalışılan örneklerin toplam fenolik içerikleri; fırında kurutulanlar için 5,39-8,94 mg klorojenik asit eşdeğeri (KAE)/gr kuru madde aralığında, freeze dryer'da kurutulanlar için ise 4,64-8,90 mg KAE/g aralığında belirlenmiştir. Çalışılan çeşitlerin toplam fenolik madde içerikleri; IG için 4,64-6,84, IW için 6,03-8,94, CG için 5,39-7,81 ve CW için 6,07-8,90 mg KAE/g aralıklarında belirlenmiştir. Kudret narı çeşitlerinin etli kabuk kısmında belirlenen başlıca fenolik asitler; gallik asit, gentisik asit, klorojenik asit ve kateşin'dir. Antioksidan aktiviteleri (% inhibisyon) açısından fırında ya da freeze dryer'da kurutulan ürünler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüş ve çalışılan bütün çeşitlerin etli kabuk kısımları için % inhibisyon değerleri; 78,8 – 88,4 aralığında belirlenmiştir. Sonuç olarak, kudret narının fenolik bileşikler açısından zengin bir kaynak olduğu belirtilmiştir.

Tan ve diğ. [67] tarafından yapılan bir diğer çalışmada, freeze dryer ile kurutulmuş toz haldeki kudret narının (marketten temin edilmiş Moonlight çeşidi) fenolik bileşenlerinin ekstraksiyon koşulları ve farklı çözücü etkileri incelenmiştir. Çözücü olarak; aseton, butanol, metanol ve %80 (v/v) etanol-su kullanılmıştır. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesinde, modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi [68], toplam antioksidan kapasite tayininde ise ABTS [36], DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidraliz) [69] ve FRAP (Fe(III) iyonu indirgeyici antioksidan güç) [70] yöntemleri olmak üzere üç farklı yöntem uygulanmıştır. Folin yöntemi sonuçları, gallik asit eşdeğeri (GAE), toplam antioksidan kapasite (TAK) sonuçları troloks eşdeğeri (TE) olarak verilmiştir. Fenolik bileşiklerin su ile ekstraksiyonunda sıcaklık etkisini incelemek için örnek üzerine 100 mL su eklendikten sonra 5 °C'de ve 10 °C'den 90 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda, su banyosunda çalkalama yapılarak, 1 saat süreyle ekstraksiyon işlemi yapılmış ve en uygun sıcaklıklar 40 °C ve 80 °C olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklıklarda, farklı sürelerde (5-60 dk), denemeler tekrarlanmış ve en uygun süre 5 dk, en uygun sıcaklık 80 °C olarak belirlenmiştir. Belirlenen koşullarda, en uygun çözücü/örnek oranını belirlemek amacıyla, 1 g toz örnek üzerine farklı hacimlerde (10-100 mL) su eklenmiş ve 40/1 mL/g oranının uygun olduğu görülmüştür. Öğütülmüş kudret narı örneğinin farklı tanecik boyutlarının (<0,25; 0,5–0,25; 1–0,5; 1–2; 2–2.8 ve >2.8 mm) ekstraksiyon verimine etkisini incelemek için 2.5 g örnek kullanılarak, yukarıda belirlenmiş koşullarda ekstraksiyon işlemi yapılmış ve 1 mm tanecik boyutu ile daha iyi sonuçlar alınmıştır. Aynı örnek için 1, 2 ve 3 kez ekstraksiyon işlemi uygulandığında bu işlemin 1 kez

yapılmasının yeterli olduğu görülmüştür. Aseton için en yüksek sıcaklık 50 °C, metanol için 60 °C, n-butanol, % 80 etanol ve su için 80 °C olacak şekilde ekstraksiyon işlemleri yapıldıktan sonra hazırlanan ekstraktların toplam fenolik içerikleri ve toplam antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimi %80 (v/v) etanol-su için belirlenmiş olmakla birlikte sulu ekstraktlar ile elde edilmiş olan değerlerin de oldukça yakın olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilmiş olan sonuçlar Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

**Tablo 2.2:** Kudret narının, su ve %80 etanol-su (v/v) ile hazırlanmış ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin (TFİ) ve toplam antioksidan kapasitelerinin (TAK) karşılaştırılması.

Yöntem	Sulu ekstrakt <sup>a</sup>	%80 Etanollü ekstrakt <sup>a</sup>
TFİ (mg GAE/g kuru örnek)	10,6 ± 0,2	10,7 ± 0,3
ABTS TAK (µmol TE/g kuru örnek)	94,8 ± 1,3	95,7 ± 3,5
DPPH TAK (µmol TE/g kuru örnek)	58,6 ± 1,0	49,7 ± 4,0
FRAP TAK (µmol TE/g kuru örnek)	91,9 ± 1,8	83,5 ± 4,3

<sup>a</sup> Sonuçlar, ortalama ± standart sapma (n=3) olarak verilmiştir.

Sonuç olarak, toksik olmayan ve diğer organik çözücülere göre çok daha ucuz olan su kullanımının, kudret narı fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu için daha uygun olduğu belirtilmiştir.

Islam ve diğ. [71], {India green (IG), India white (IW), China green (CG) ve China white (CW)} olmak üzere dört çeşit kudret narı ile çalışmış ve çeşitli bitoaktif bileşiklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapmıştır. Bu çalışma kapsamında, çalışılan çeşitlerin toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri de incelenmiştir. Örneklerin etli kabuk kısımları ve çekirdekleri ayrı ayrı incelenmiş olup iki farklı kurutma {fırında (80 °C’de 3 gün) ve freeze dryer’da} işleminin sonuçlara etkisi de değerlendirilmiştir. Örneklerin toplam fenolik içerikleri Folin Ciocalteu yöntemi ile klorojenik asit eşdeğeri (KAE) olarak 5,36-8,90 mg/g kuru madde aralığında belirlenmiştir. Toplam antioksidan aktiviteleri ise linoleik asit metil esterinin oksidasyonuna dayalı yöntem [66] ile belirlenmiş ve sonuçlar % İnhibisyon olarak verilmiştir. Çalışılan örneklerin etli kabuki kısımlarının antioksidan aktiviteleri; fırında kurutulanlar için % 82-87, freeze dryer’da kurutulanlar için ise %83-84 aralığında belirlenmiştir.

Kudret narı meyvesinin kloroform ve metanolde hazırlanmış ekstraktlarının toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve toplam flavonoid içerikleri açısından karşılaştırıldığı bir diğer çalışma, Rezaeizadeh ve diğ. [72] tarafından yapılmıştır. Yerel marketten temin edilen örneklerin kullanıldığı çalışmada, metanollü ekstrakt hazırlamak için kurutulmuş bütün meyveden (çekirdekleriyle birlikte) 500 g tartılmış ve 5 L metanol içinde, karanlıkta 1 saat süreyle bekletilmiştir. Daha sonra karışım süzölmüş ve döner buharlaştırıcıda kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. 1 kg kuru meyveden 31 g toz halde ürün elde edilmiş ve kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklanmıştır. Kloroform ekstraktını hazırlamak için de 500 g kuru meyve üzerine 5 L çözücü eklenmiş ve karanlıkta 1 saat süreyle bekletildikten sonra süzölerek buharlaştırılmıştır. 1 kg kuru meyve için 20 g kalıntı elde edilmiş ve -80 °C'de saklanmıştır. Örneklerin antioksidan aktivite tayininde, Fe(III) tiyosiyanat [73-76], tiyobarbitürik asit (TBA) [73] ve DPPH [77] yöntemleri kullanılmıştır. Aynı zamanda toplam fenol [78] ve toplam flavonoid [79] tayinleri de yapılmıştır. Fe(III) tiyosiyanat olarak yöntemiyle, 7 gün sonunda metanollü ekstrakt için % İnhibisyon değeri  $40,10 \pm 1,43$  iken kloroformlu ekstrakt için bu değer  $12,36 \pm 2,74$  olarak belirlenmiştir. TBA yöntemiyle belirlenmiş olan % İnhibisyon değerleri; metanollü ekstrakt için  $32,50 \pm 4,59$ , kloroformlu ekstrakt için  $7,52 \pm 2,91$ 'dir. DPPH yöntemiyle belirlenmiş olan IC<sub>50</sub> (maksimum inhibisyonun %50'sine karşılık gelen derişim) değerleri; metanollü ekstrakt için  $306,53 \pm 1,08$ , kloroformlu ekstrakt için  $583,82 \pm 13,38$  olarak belirlenmiştir. Bütün bu sonuçlar göstermektedir ki, metanollü ekstraktın antioksidan aktivitesi kloroformlu ekstrakta göre çok daha yüksektir ve bu da yüksek derişimde fenolik bileşen içerdiği anlamına gelmektedir. Ekstraktların toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE), toplam flavonoid içerikleri ise kuersetin eşdeğeri (KUE) olarak verilmiş olup elde edilen sonuçlar; metanollü ekstrakt için  $10,18 \pm 0,50$  mg GAE/g ekstrakt ve  $7,63 \pm 1,01$  mg KUE/g ekstrakt; kloroformlu ekstrakt için  $0,66 \pm 0,33$  mg GAE/g ekstrakt ve  $0,4 \pm 0,14$  mg KUE/g ekstrakt şeklindedir.

Shan ve diğ. [80], *Momordica charantia* L.'nin flavonoid türü bileşenlerini ekstrakte etmek için, etanol ve etanol ile modifiye edilmiş süperkritik CO<sub>2</sub> kullanmışlar ve elde edilen sonuçları, klasik çözücü ekstraksiyonu bulguları ile karşılaştırmışlardır. Örnekler yerel marketlerden temin edilmiş ve 30 gün süreyle gölgede, açık havada kurutulduktan sonra kullanılmıştır. Çekirdekler ayrıldıktan sonra etli kısım 40-60 mesh boyutunda öğütölmüş ve kuru bir yerde saklanmıştır. Klasik çözücü ekstraksiyonu işlemi için, 20 g kuru madde 400 mL % 85 (v/v)

etanol-su ile sokslet ekstraksiyon cihazında 80 °C'de 150 dk süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt, santrifüj edildikten sonra süzölmüş ve düşük basınç altında kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu için en uygun koşullar; sıcaklık 46 °C, basınç 33,4 MPa ve ekstraksiyon süresi 53,2 dk, CO<sub>2</sub> akış hızı 20 L/saat, katı/sıvı oranı 1:4 ve modifiye edici olarak %85 etanol şeklinde belirlenmiştir. Hazırlanan ekstraktların toplam flavonoid içerikleri AlCl<sub>3</sub>/NaNO<sub>2</sub> yöntemi [63] ile, antioksidan aktiviteleri ise DPPH [69, 77] ve β-karoten ağartma testi ile belirlenmiştir. Karşılaştırma için askorbik asit (C vitamini) ve BHT (Butillenmiş Hidroksi Toluen) kullanılmıştır. Süperkritik CO<sub>2</sub> ile ekstrakte edilen flavonoid miktarı (15,17 ± 0,69 mg/g) klasik çözücü ile ekstrakte edilen miktara (~13 mg) göre daha yüksek bulunmuştur ve ekstraksiyon süresi daha kısadır (53,2 dk). 1,2 mg/mL derişimdeki ekstraktların DPPH yöntemi ile belirlenmiş antioksidan aktiviteleri (% Radikal süpürme değerleri); 96,14 ± 1,02 (süperkritik CO<sub>2</sub>) ve 91,42 ± 1,25 (%85 etanol) olarak belirlenmiştir. 0,4 mg/mL derişimdeki ekstrakt için β-karoten ağartma testi ile belirlenmiş % İnhibisyon değerleri; 35,35 (süperkritik CO<sub>2</sub>) ve 32,42 (%85 etanol)'dür. Bu sonuçlara göre, kudret narı meyvesinin yüksek flavonoid içeriği ile güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile daha kısa sürede, oldukça yüksek verimle ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir.

Türkiye'den (Adana) temin edilen kudret narı meyvesinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada [81] olgunlaşmamış ve olgun meyveler ile çekirdekleri kullanılmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla, Fosfomolibden [82], DPPH [69,77,83], Fe(III) iyonu indirgeme gücü ve CUPRAC [32,84,85] yöntemleri kullanılmış, toplam fenol içerikleri ise Folin-Ciocalteu [86] yöntemiyle belirlenmiştir. Meyveler distile su ile yıkanıp çekirdekleri ayrıldıktan sonra etli kısımlar küçük parçalara bölünmüş ve fırında 50 °C'de kurutulmuştur. Kurutulan meyve parçaları ve çekirdekler öğütölerek kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminde sokslet ekstraksiyon cihazında, etanolle ve 24 saat süreyle gerçekleştirilmiş ve elde edilen ekstrakt, döner buharlaştırıcıda, kuruluğa kadar buharlaştırıldıktan sonra kullanılmıştır. Olgun meyve ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği 23,45 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Olgun meyve ekstraktının fosfomolibden yöntemi ile belirlenmiş antioksidan kapasitesi, 81,46 mg AAE (Askorbik asit eşdeğeri)/g'dır. Değer verilmemekle birlikte, olgunlaşmamış meyvenin bu yöntemle belirlenmiş antioksidan kapasitesinin daha düşük bulunduğu belirtilmiştir. 500-2000 µg/mL derişimde hazırlanmış

ekstraktlara DPPH yöntemi uygulanmış, olgun ve olgunlaşmamış meyvelerin 2000 µg/mL derişimdeki ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri; %45,95 ve %15,49 olarak belirlenmiştir. Aynı yöntemle 200 µg/mL derişimdeki BHT için belirlenmiş antioksidan aktivite değeri %91,19'dur. Çalışmada, Fe(III) iyonu indirgeyici güç (200-1000 µg/mL derişim aralığında) ve CUPRAC (100-800 µg/mL derişim aralığında) yöntemlerine ait bulgular grafiksel olarak verilmiş ve çalışılan en yüksek derişimler için yine olgun meyve ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalarda karşılaştırma amacıyla 31,25 µg/mL derişiminde BHT çözeltileri kullanılmış ve absorbans değerleri karşılaştırılmıştır.

### **2.8.1. Antidiyabetik Özellik Gösteren Bileşenler İle İlgili Çalışmalar**

Altınterim [87], makalesinde diyabetli hastaların kan glukoz seviyelerinin düşürülmesinde kudret narı kullanılan çalışmalar hakkında bilgi vermiştir. Bunlardan biri Kumar ve diğ. [88] tarafından yapılan araştırmadır. Bu çalışmada, oral yolla alınan taze meyve suyunun (6 mL/kg) normal ve alloksan ile diyabetik yapılmış tavşanlarda kan şekeri seviyesini düşürdüğü belirtilmiştir. Diğer taraftan, oral yolla alınan alkollü ekstraktın diyabet hastalarında hipoglisemik etki göstermediği ifade edilmiştir. Kudret narının, insan ve hayvanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalarla belirlenmiş hipoglisemik etki gösteren bileşenleri; polipeptid-p, bitki insülini, şarantin, visin, glikozidler gibi bileşiklerdir. Bunların glukoz alımını ve karaciğerde, kas ve yağ hücrelerinde glikojen sentezini artırarak kandaki şeker seviyesini dengelediğinden bahsedilmiştir. Ayrıca yine bu bileşiklerin pankreatik beta hücrelerinden insulin salınımını artırdığı, insulin salgılayan beta hücrelerinin onarımı ve üretilmesinde rol aldığı belirtilmiştir. Bu bileşiklerden olan ve alkollü ekstraktının hipoglisemik etkili tolbutamid ilacından daha güçlü olduğu belirtilen şarantin (steroid karışımı) bazen diyabet tedavisinde kandaki şeker seviyesini düşürmek amacıyla kullanıldığına vurgu yapılmıştır.

#### **2.8.2.1. Şarantin Ekstraksiyonu Çalışmaları**

Desai ve Tatke [58] tarafından yapılan bir araştırmada şarantin kapsamlı olarak ele alınmıştır. Bu maddenin eşdeğer miktarlarda stigmasterol glukozid ve β-sitosterol glukozid'ten oluştuğu, insüline eşdeğer kan şekeri düşürücü etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu maddenin hipoglisemik aktivitesini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada [89], aç tavşanların kan şekeri seviyesini 4 saat içinde kademeli olarak düşürdüğü ve yavaşça başlangıç seviyesine dönüldüğü

görülmüştür. 50 mg/kg'lık oral dozun kan şekeri seviyesini 4 saat içinde %42 oranında azalttığı belirtilmiş ve 5 saat süresince kan şekeri seviyesindeki düşüş ortalama %28 olarak verilmiştir. Bu makalede şarantin ekstraksiyon koşullarının incelendiği çalışmalardan da bahsedilmiştir.

Bu çalışmalardan birinde Pitipanapong ve diğ. [90] farklı çözücüler (aseton, diklorometan, etanol ve su), farklı oranlarda etanol-su karışımları kullanımının ve sıcaklığın ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerini incelemiş, şarantin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün etanol olduğu ve sıcaklık artışıyla ekstraksiyon veriminin arttığını belirtmiştir. Şarantini saflaştırmak için %50-70 metanol çözeltileri ve hekzan kullanılmıştır.

Parkash ve diğ. [91] tarafından yapılan bir diğer çalışmada şarantin, kudret narı çekirdeklerinden, affinite kromatografisi, iyon değişimi kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisi ile ayrılmıştır. Çekirdekler 10 mM Tris-HCl (pH 7.2) ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt filtre edildikten sonra şarantin ayrılması ve saflaştırılması için önce DEAE(dietilaminoetil)-selüloz affinite kolonu, ardından Affi-jel Blue jel kolonu ve son olarak Mono S iyon değişim kromatografisi kolonu kullanılmıştır. Han ve Wang [92] tarafından uygulanan yöntemde kurutulmuş kudret narı meyvesi toz halde su ile karıştırılmış, kaynatılmış ve filtre edilmiştir. Sulu ekstraktın farklı miktarlarına farklı miktarlarda PEG (polietilenglikol),  $K_2HPO_4$  ve etanol farklı oranlarda ilave edilerek sulu ikili faz sistemleri hazırlanmıştır. Bu sistemler, vortex ile karıştırılmış, santrifüj edilmiş ve şarantin içeren tuzca zengin olan tabaka ayrılmış ve %95 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Bu şekilde elde edilen etanollü ekstrakt 4 °C'de bir gece boyunca bekletilmiş ve tuzların çökerek ayrılması sağlanmıştır. Çökelti ayrıldıktan sonra şarantin miktarı UV spektrometrisi ile belirlenmiştir.

Patel ve diğ. [93] tarafından yapılan bir diğer çalışmada şarantin ayrılması ve saflaştırılması için kurutulmuş meyve, petrol eteri (60-80 °C) ve %80 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Etanollü ekstrakt vakumda derişiklendirilmiş ve %95 etanol içinde süspande edilmiş ve KOH ile pH'ı 10'a getirilmiştir. 48 saat sonra etanollü süspansiyon su ile seyreltilmiş ve eter ile ekstrakte edilmiştir. Eterli ekstrakt önce su ile sonra HCl ile sonra tekrar su ile yıkanmış ve yıkama çözeltileri atılmıştır. Eterli kısım distillenmiş ve kalıntı bir kaç kez %95 etanol ile yeniden kristallendirilerek şarantin elde edilmiştir.

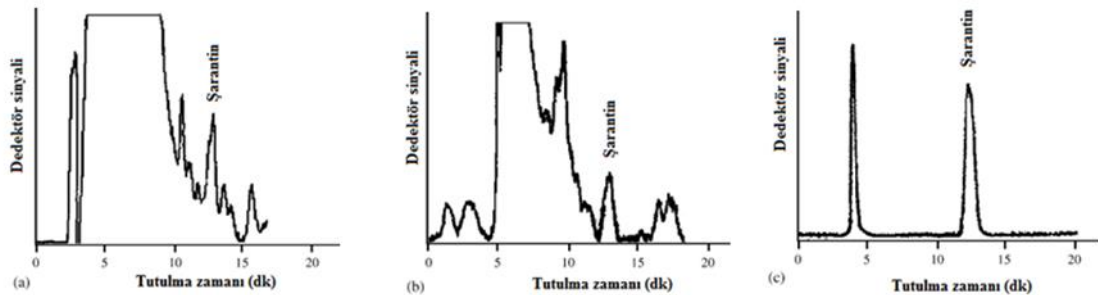
Thomas ve diğ. [94] 1 g toz halde örneğe 200 mL etanol ile 150 dk süreyle Soxhlet ekstraksiyonu, kalıntıya da 30 mL metanol ile ultrasonik ekstraksiyon uygulamış ve elde edilen

ekstraktı filtre ettikten sonra döner buharlaştırıcıda viskoz bir kalıntı kalana kadar buharlaştırmış ve son olarak saflaştırma işlemi uygulamıştır. Bunun için şarantin ekstraktına 5 mL 50:50 (v/v) metanol-su eklendikten sonra karışım ultrasonik banyoda 15 dk bekletilmiş ve supernatantı ayırmak için 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Kalıntı üzerine 70:30 (v/v) metanol-su eklenmiş ve tekrar sonikasyon ve santrifüj işlemleri uygulanmıştır. Kalıntı 200 µL 1:1 (v/v) kloroform-metanol ile çözülmüş ve metanol ile hacmi 1 mL'ye tamamlanmıştır.

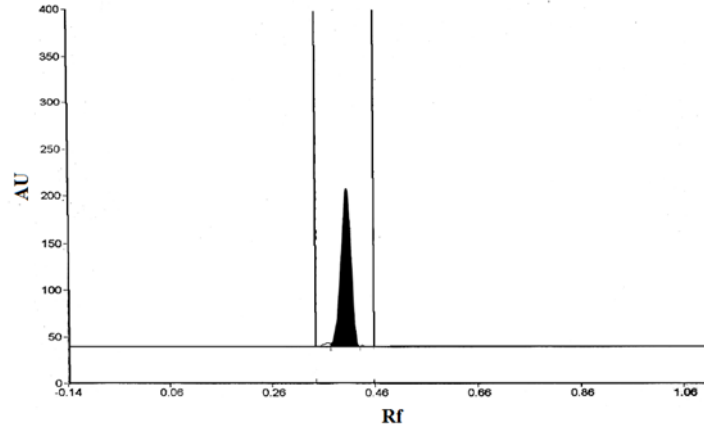
### 2.8.2.2. Şarantin Analizi Çalışmaları

Pitipanapong ve diğ. [90] şarantin analizini HPLC ile, C18 kolon ve 100:2 (v/v) oranında metanol-su içeren hareketli faz kullanarak gerçekleştirmiştir. Dedeksiyon dalga boyu olarak 204 nm kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlar Şekil 2.21'de görülmektedir.

Şarantin analizi için TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) ve HPTLC (Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi) gibi yöntemler de kullanılmıştır. Patel ve diğ. [93] tarafından, TLC kullanılarak yapılan çalışmada metanol-benzen (2:8, v/v) hareketli faz olarak kullanılmıştır. Şarantin için Rf değeri 0.45 olarak belirlenmiştir. HPTLC kullanılan çalışmada [94], sabit faz olarak silika jel tabakası, hareketli faz olarak ise kloroform-metanol-su (1.5:6:2.5, v/v/v) karışımı kullanılmıştır. Önce TLC tabakaları metanol ile yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur. Standart ve örnek çözeltileri 6 mm bant genişliği oluşturacak şekilde uygulanmıştır. Şarantin Rf değeri 0.4 olarak belirlenmiştir. Şarantin standardı için elde edilen kromatogram Şekil 2.22'de görülmektedir.

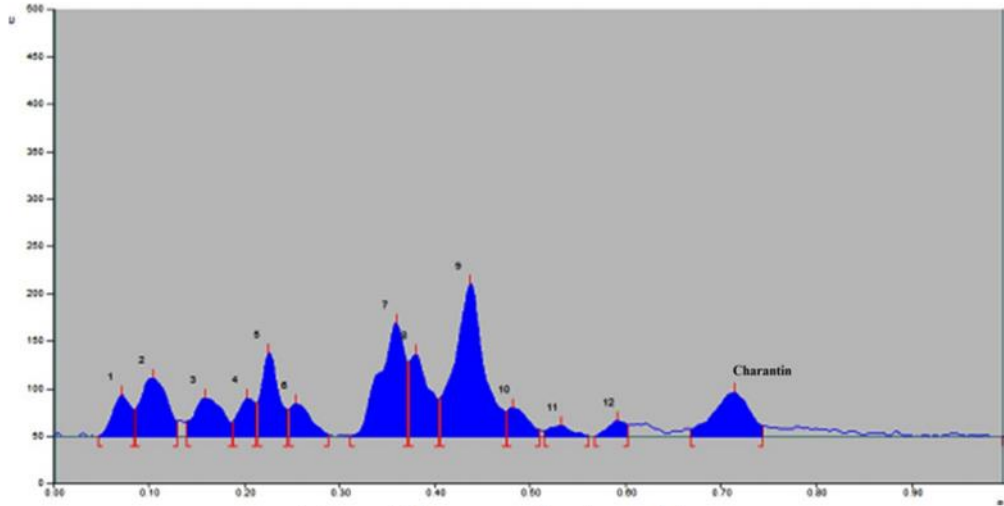


**Şekil 2.21:** Kudret narı meyvesinin ekstraktlarının; (a) ham ekstrakt, (b) saflaştırılmış ekstrakt ve (c) standart şarantin kromatogramları [90].



Şekil 2.22: 300 ng/spot şarantin standardının HPTLC kromatogramı [94].

Ahamad ve ark. [95] silika jel tabakası kullanarak kudret narı meyvesi ve kudret narı içeren bitkisel formülasyonlara HPTLC yöntemini uygulamışlar ve şarantin tayini yapmışlardır. Hareketli faz olarak toluen-etil asetat-metanol-formik asit (68:20:10:2, v/v/v/v) karışımının kullanıldığı çalışmada anisaldehit-sülfürik asit reaktifi ile türevlendirme sonrası 525 nm’de dedeksiyon yapılmıştır. Şarantin için Rf değeri 0.71 olarak belirlenmiştir. Kudret narı meyvesinin ekstraktının kromatogramı Şekil 2.23’de görülmektedir.



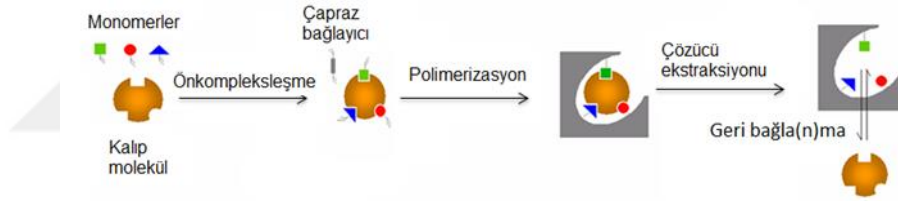
Şekil 2.23: *M. charantia* meyvesi ekstraktının HPTLC kromatogramı [95].



## 2.9. MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER (MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS, MIPs)

MIP'ler, belirli bir molekülü (veya onun türevini) kimyasal olarak belirleme özelliğine sahip kalıp içeren polimerik katı malzemelerdir.

Öncelikle monomerler, kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle uygun bir gözenek oluşturuca çözücü içerisinde kalıp molekül ile kompleks oluştururlar. Sonrasında bu kompleks yapı, uygun bir çapraz bağlayıcının da kullanılmasıyla monomerler aracılığı ile polimerleşir. Polimerizasyon sonrası kalıp molekül uzaklaştırılır ve bunun sonucunda polimerde boyut, şekil ve fonksiyonel grup bakımından kalıp moleküle özgü yüksek seçicilikte bağlanma bölgeleri oluşturmakta ve kalıp molekülü tamamlayan özellikte olmaktadır. Bu teknik özünde kalıp molekülü seçici bir şekilde geri bağlama yeteneğine sahip “moleküler hafıza” oluşturmaktadır [96].



Şekil 2.24: Moleküler baskılamanın şematik gösterimi.

Moleküler baskılı polimerlerin özellikleri:

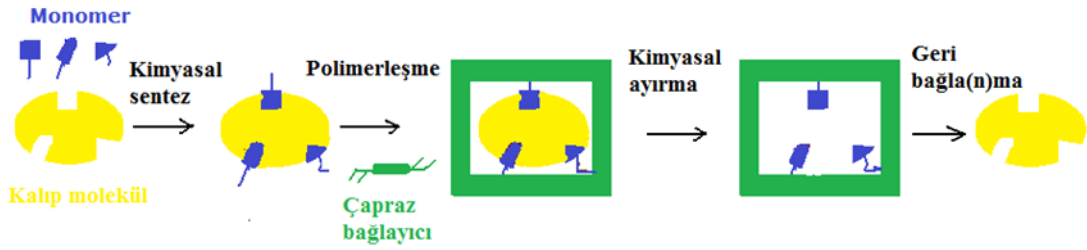
- Yüksek mekanik dayanıklılıkları, ısı ve basınca olan dirençleri
- Fiziki sağlamlıkları
- Asit, baz ve metal iyonları gibi uç şartların varlığındaki kararlılıkları
- Seçicilik özelliğini yitirmeden oda sıcaklığında birkaç yıl saklanabilme ve birçok defa kullanılabilme özelliği

Fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında oluşan bağın türüne göre iki çeşit baskılama yöntemi vardır:

- 1- Kovalent baskılama yöntemi
- 2- Non-kovalent baskılama yöntemi

### 2.9.1. Kovalent Baskılama Yöntemi

Bu yöntemde, polimerizasyondan önce fonksiyonel monomer ve kalıp molekül kovalent bağ ile birbirine bağlanır. Oluşan kovalent bağlı konjugat aradaki bağ bozulmayacak şekilde polimerleştirilir. Polimerizasyondan sonra kovalent bağ kırılır ve kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır.



Şekil 2.25: Kovalent baskılama şematik gösterimi.

Kovalent baskılamanın üstünlükleri;

- Kararlı yapıda olması ve bileşiminin kesinliği
- Konjugatlar kovalent bağlarla oluşturulduğundan ve yeterli seviyede kararlı olduğundan farklı polimerizasyon koşullarından (örneğin, yüksek sıcaklık, düşük ve yüksek pH) etkilenmemesidir.

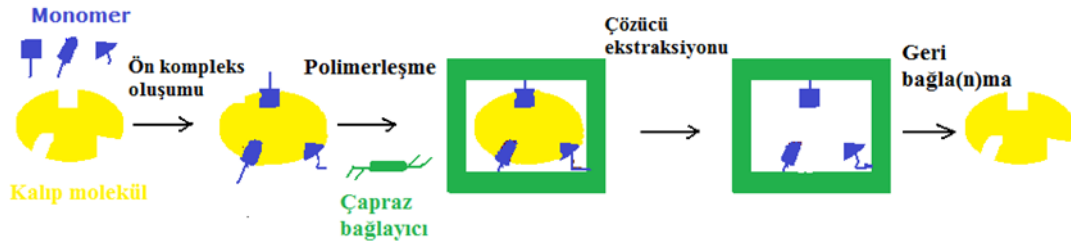
Sakıncaları;

- Monomer-kalıp molekül konjugatlarının sentezinin genel olarak zor ve pahalı olması
- Oluşan tersinir kovalent bağ sayısının sınırlı olması
- Kovalent bağın kırılması sırasında baskılama etkisinin düşmesi

Geri bağlama ve serbest bırakma işlemlerinin kovalent bağın oluşması ve kırılması gereksiniminden dolayı yavaşlığıdır.

### 2.9.2. Non-Kovalent Baskılama Yöntemi

Non-kovalent baskılamada monomer-kalıp molekül arasındaki bağlantı, hidrojen bağı, elektrostatik etkileşim gibikovalent olmayan etkileşimlerle sağlanır. Bu tür non-kovalent etkileşimler ayraçların tepkime karışımına eklenmesi yoluyla sağlanır. Polimerizasyondan sonra, kalıp molekül uygun çözücüler kullanılarak polimerden uzaklaştırılır [100].



Şekil 2.26: Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi.

Non-kovalent baskılamanın üstünlükleri;

- Monomer-kalıp molekül konjugatı sentezinin gerekli olmaması
- Kolay hazırlanabilir olmasının yanı sıra fiziksel ve kimyasal kararlılığı
- Kalıp molekülün polimerden basit bir çözücü ekstraksiyonu ile kolaylıkla ayrılması
- Geri bağlama ve serbest bırakma işlemlerinin hızlı olmasıdır

Sakıncaları;

- Baskılama işleminin kesinliğinin düşük olması
- Polimerizasyon koşullarının belirlenmesinin zor ve zaman alıcı olması
- Fonksiyonel monomer fazlalığının genellikle bağlanma seçimliliğini azaltmasıdır

Moleküler baskılı polimerler genel olarak, uygulama kolaylığı nedeniyle non-kovalent baskılama yöntemi kullanılarak sentezlenirler [96]

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Bu çalışmada; kimyasal maddelerin ve gerçek örneklerin tartımı için SHIMADZU marka ATX224 model analitik terazi, Bandelin Sonorex model ultrasonik banyo, çözeltilerin pH'ının belirlenmesinde HI 221 Calibration Check Microprocessor pH-metre, absorbans ölçümlerinde Varian Cary 100 UV-Görünür bölge spektrofotometresi, HPLC analizleri için PDA dedektörlü Waters 1525 HPLC, WiseVen WOV marka vakum etüvü, WiseCube marka WIS-20 model çalkalayıcı, IKA HB4 Basic marka su banyosu, Select marka vorteks, Millipore marka bidistile su cihazı, IKA RV05 Basic marka evaporatör, Telstar marka freze-dryer.

#### 3.2. KİMYASAL MADDELER

Kullanılan kimyasal maddeler; neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin),(-)epikateşin, gallik asid monohidrat,(+)-kateşin hidrat, klorojenik asit, rutin hidrat, *p*-kumarik asit, etanol (EtOH), asetonitril, metanol (MeOH), aseton,  $\beta$ -sitosterol (%70),  $\beta$ -sitosterol (%95), asetik asit, horseradish peroksidaz (HRP), ABTS (2,2'-azinobis[3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat]), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve Folin reaktifi: Sigma (Steinheim, Almanya). Kuersetin, etilenglikol dimetakrilat (EDMA) ve 4-vinilpidin (4-VP): Aldrich (Steinheim, Almanya). Vanilik asit, bakır-II sülfat pentahidrat ve  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit: Fluka (Buchs, İsviçre). Benzoik asit, potasyum dihidrojen fosfat ve hidroklorik asit (HCl), 2,2'-azobisisobutironitril (AIBN): Merck (Darmstadt, Almanya). Sodyum hidroksit (NaOH), sodyum karbonat ve di-sodyum hidrojen fosfat: Riedel-de Haën (Steinheim, Almanya).

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

#### 3.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Gallik asit, gentisik asit, kateşin, vanilik asit, klorojenik asit, şirincik asit, epikateşin, *p*-kumarik asit, benzoik asit, rutin ve kuersetin %80 MeOH-su (v/v)'de; %70 ve %95 saflıkta  $\beta$ -sitosterol çözeltisi etanolde;  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit çözeltisi dimetil sülfoksitte (DMSO) hazırlandı. Tüm stok antioksidan çözeltileri -20 °C'de saklanarak kullanıldı.

CUPRAC yönteminde;  $1,0 \times 10^{-2}$  M Cu(II) klorür çözeltisi ve 1 M amonyum asetat tampon (pH 7,0) çözeltisi distile suda,  $7,5 \times 10^{-3}$  M neokuproin çözeltisi %96'lık etanolde hazırlandı.

ABTS/HRP yönteminde;  $4,0 \times 10^{-3}$  M ABTS çözeltisi,  $1,2 \times 10^{-4}$  M hidrojen peroksit çözeltisi,  $2,4 \times 10^{-5}$  M HRP çözeltisi pH 7,4 fosfat tamponunda hazırlandı.

Folin-Ciocalteu yönteminde; Lowry A çözeltisi için 0,1 N NaOH çözeltisi distile suda, %2'lik (w/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi 0,1 N NaOH çözeltisinde hazırlandı. Lowry B çözeltisi için %1'lik (w/v)  $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  çözeltisi distile suda, %0,5'lik (w/v)  $\text{CuSO}_4$  çözeltisi %1'lik  $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  çözeltisinde hazırlandı. Lowry C çözeltisi için 50 mL Lowry A çözeltisine 1 mL Lowry B çözeltisi ilave edildi.

### 3.4. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN ANALİZE HAZIRLANMASI

#### 3.4.1. Kudret Narı Örneklerinin Temini

Toz ve salamura örnekleri ile kapsül ve paket kudret narı örnekleri aktarlardan, ham ve olgun kudret narı meyveleri ise Silifke'den, üreticisinden temin edilmiştir.

#### 3.4.2. Kudret Narı Örneklerinin Hazırlanması

Toz, paket ve kapsül kudret narı örnekleri kuru ve toz halinde olduklarından doğrudan tartım alınarak kullanıldı.

Salamura kudret narı örneği, yağlı bir posa halinde olduğundan yağlı kısımdan ayırmak için bir tülbent ile süzüldü. Elde edilen posa, süzgeç kağıdı üzerinde, laboratuvar ortamında, açık havada kurutularak kullanıldı.

Ham ve olgun kudret narı kabuğu örnekleri, plastik maket bıçağı ile ince parçalar halinde doğrandı ve freze-dryer ile  $-40^\circ\text{C}$ 'de 4 saat kurutulduktan sonra kullanıldı.

#### 3.4.3. Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu

##### 3.4.3.1. Polifenol Analizi için Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu

Kuru haldeki kudret narı örnekleri %80 (v/v) MeOH-su ile ekstrakte edildi. Bu amaçla; kuru örneklerden 2 g tartılıp önce çözücünün 20 mL'si ile 15 dakika, daha sonra ikinci bir 20 mL'si ile 15 dakika ve son olarak 10 mL'si ile 10 dakika olmak üzere ultrasonik banyoda, ağzı kapalı cam erlenler içinde üç kademede ekstrakte edildi. Bu üç ekstrakt bir araya getirilerek son hacim 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra ekstraktlar GF/PET (Glass fiber/polietilentereftalat)

1.0/0.45  $\mu\text{m}$ ' lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirildi ve analiz süresine kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **3.4.3.2. $\beta$ -sitosterol Analizi için Kudret Narı Örneklerinin Ekstraksiyonu**

Kuru haldeki kudret narı örnekleri %80 (v/v) EtOH-su ile ekstrakte edildi. Bu amaçla; kuru örneklerden 2 g tartılıp önce çözücünün 20 mL'si ile 15 dakika, daha sonra ikinci bir 20 mL'si ile 15 dakika ve son olarak 10 mL'si ile 10 dakika olmak üzere ultrasonik banyoda, ağzı kapalı cam erlenler içinde üç kademedeki ekstrakte edildi. Bu üç ekstrakt bir araya getirilerek son hacim 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra ekstraktlar GF/PET (Glass fiber/Polietilentereftalat) 1.0/0.45  $\mu\text{m}$ ' lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirildi ve analiz süresine kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **3.4.4. Kudret Narı Ekstraktlarının Hidrolizi**

Kudret narı ekstraktlarındaki  $\beta$ -sitosterol, glukozit yapısında ( $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit) bulunduğundan,  $\beta$ -sitosterol bileşimini analiz etmek için yapılan hidroliz işleminde, %80 (v/v) etanollü ekstraktların 15 mL'sine 1 mL derişik HCl eklenip,  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 2 saat hidroliz işlemi uygulandı. Hidrolizat, 1.0/0.45  $\mu\text{m}$  GF/PET mikrofiltreden süzülerek analiz edildi.

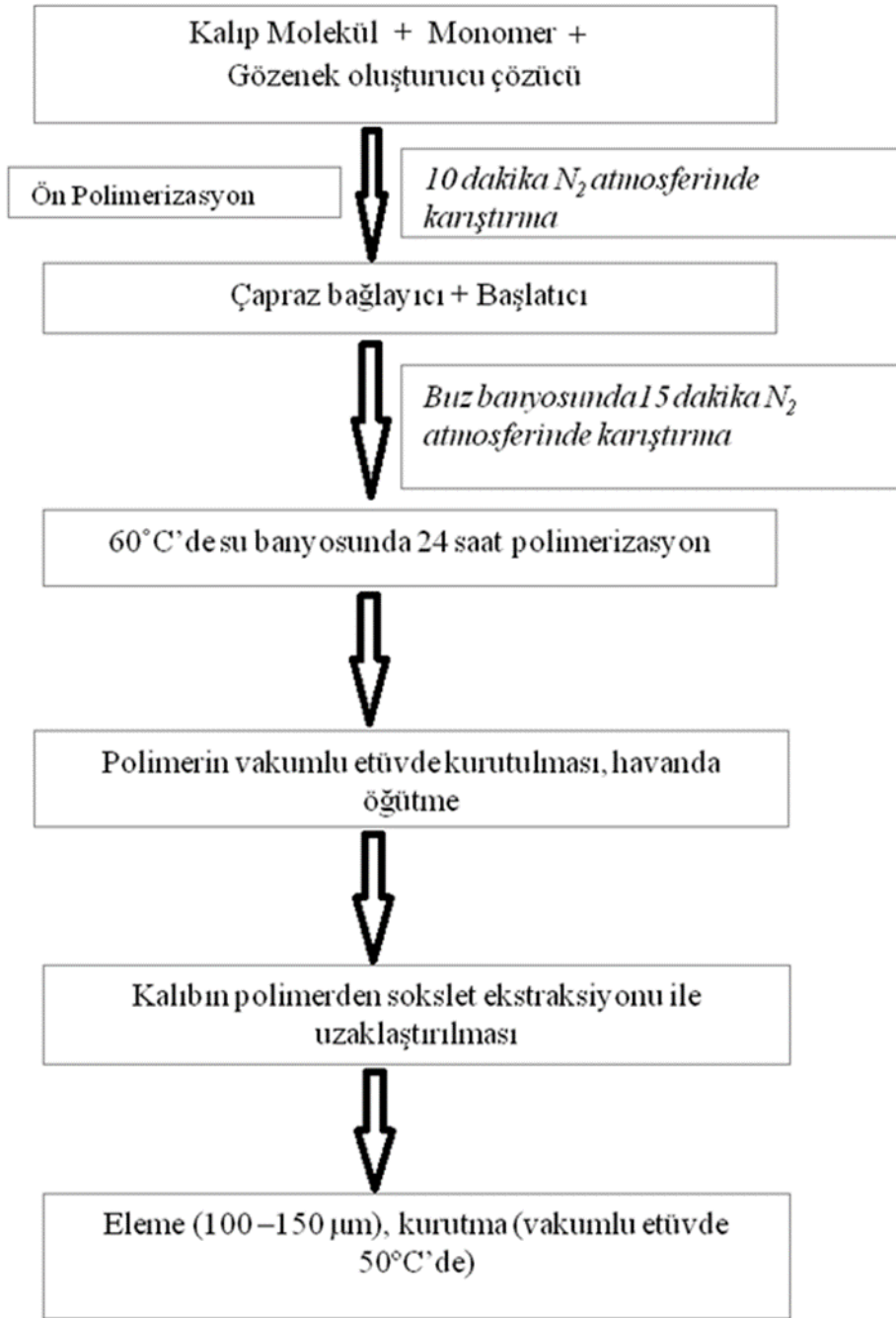
## **3.5. $\beta$ -SİTOSTEROL SAFLAŞTIRILMASI VE DERİŞİKLENDİRİLMESİ**

Öncelikle,  $\beta$ -sitosterol'ün seçimli ayırımı için kullanılabileceği düşüncesiyle moleküler baskılı polimer hazırlanması düşünüldü. Ancak polimer sentezi başarılı olmadığı için C18 kartuşlar kullanılarak katı faz ekstraksiyonu (SPE) uygulaması ile bu işlem gerçekleştirilmeye çalışıldı.

### **3.5.1. $\beta$ -Sitosterol Baskılı Polimer Sentezi**

$\beta$ -sitosterol için seçici davranacağı ve kudret narı örneklerindeki  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit bileşiminin saflaştırılması ve ayrılması amacıyla kullanılabileceği düşünülerek moleküler baskılı polimerler (MIP) hazırlandı. Bu çalışmada öncelikle Tao ve diğ. [97] tarafından yapılan çalışma referans alındı. 1 g kalıp molekül ( $\beta$ -sitosterol), 2 mL fonksiyonel monomer (metakrilik asit, MAA), 3 mL çapraz bağlayıcı (etilenglikol dimetakrilat, EDMA) ve 1:1 (v/v) oranında karıştırılan sikloheksanol-dodekanol çözücüsü gözenek oluşturucu (porojen) olarak kullanıldı. Başlatıcı olarak da 2,2'-azobis (izobutironitril) (AIBN) kullanıldı. Makalede verilen hazırlama

yöntemi esas alınarak, bütün maddeler kuru bir tüp içinde karıştırıldı ve 20 dk süreyle ultrasonik banyoda bekletildi. 5 dk azot gazı geçirilerek oksijenin uzaklaştırılması sağlandı. Daha sonra 55 °C sıcaklıktaki su banyosunda 24 saat bekletilerek polimer (MIP1) hazırlandı. Polimer önce metanol ile daha sonra da kalıp molekülü uzaklaştırmak için 8:2 (v/v) oranında hazırlanan metanol-asetik asit çözeltisi ile yıkandı. Sonra tekrar nötral olana kadar metanol ve su ile yıkandı ve vakum etüvünde 50 °C'de kurutuldu. Aynı polimer için kalıp molekül içermeyen (baskısız polimer) polimer (NIP1) de hazırlandı. Bundan başka farklı oranlarda monomer (MAA) ve çapraz bağlayıcı (EDMA) içeren MIP ve NIP sentezleri Şekil 3.1'de verilen basamaklar [96] kullanılarak yapıldı ve hazırlanan polimerlerin ayırım ve derişiklendirme amaçlı kullanılabilirlikleri incelendi.



Şekil 3.1: Moleküler baskılı polimerlerin yığın (bulk) polimerizasyonu ile sentezi aşamaları [96].



### 3.5.2. C18 SPE (Katı Faz Ekstraksiyonu) Uygulaması

Kudret narı örneklerinin hidrolizi sonucu elde edilen hidrolizatların 10 mL'si ile C18 katı faz ekstraksiyonu kartuşlarına yükleme yapıldı. Yükleme öncesi SPE kartuşu şartlama işlemi 10 mL EtOH ile yapıldı. Yükleme yapılan kartuşa öncelikle 1'er mL %10 (v/v) MeOH-su, %30 (v/v) MeOH-su ve %50 (v/v) MeOH-su çözücüleriyle yıkama işlemleri yapılarak kartuşta tutulan diğer bileşenler uzaklaştırıldı. Sonrasında  $\beta$ -sitosterol bileşiğinin elüsyonu için 1 mL EtOH geçirildi. Elüsyon işlemlerine  $\beta$ -sitosterol piki gözlenmeyene kadar devam edildi ve tüm elüatlar birleştirildikten sonra mikrofiltreden süzülerek hacmi tamamlandı.

## 3.6. UYGULANAN YÖNTEMLER

### 3.6.1. Spektrofotometrik Yöntemler

#### 3.6.1.1. CUPRAC Yöntemi

Bir deney tüpüne,  $1,0 \times 10^{-2}$  M Cu(II) klorür,  $7,5 \times 10^{-3}$  M Nc ve 1 M amonyum asetat tampon (pH 7,0) çözeltilerinden sırasıyla 1'er mL ilave edildi. Bu karışıma x mL antioksidan standart çözeltisi veya örnek çözeltisi ilave edildikten sonra hacmi distile su ile 4 mL'ye tamamlandı. Karıştırılan çözeltiler, oda sıcaklığında, ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda, hazırlanan karışımların absorbensleri, örnek içermeyen referans çözeltisine karşı 450 nm'de ölçüldü [32].

Absorbans ile troloks standardının derişimi arasında oluşturulan kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak kudret narı örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri  $\mu\text{mol troloks g}^{-1}$  kuru örnek olarak hesaplandı.

#### 3.6.1.2. ABTS/HRP Yöntemi

Arnao ve diğ. [39] tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem kısmen değiştirilerek (ayıraç miktarları ve süre) uygulandı. Bir deney tüpüne  $4,0 \times 10^{-3}$  M ABTS,  $2,4 \times 10^{-5}$  M HRP ve  $1,2 \times 10^{-4}$  M  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltilerinden sırasıyla 1'er mL ilave edildikten sonra çözelti karıştırıldı. Karışım 5 dakika bekletilerek oluşan ABTS radikalinin absorbensinin kararlı hale gelmesi sağlandı. Bu süre sonunda x mL örnek ilave edildi ve distile su ile hacim 4 mL'ye tamamlandıktan sonra 5 dakika daha bekletildi. Absorbanslar, 10ncu dakikada 730 nm'de pH 7,4 tamponuna karşı

okundu. Radikal çözeltisinin (örnek yerine çözücü içeren) absorbandsından, örnek çözeltisinin absorbandısı çıkarılarak  $\Delta A$  absorband değerleri hesaplandı.

Absorbans ile troloks standardının derişimi arasında oluşturulan kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak kudret narı örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri  $\mu\text{mol}$  troloks  $\text{g}^{-1}$  kuru örnek olarak hesaplandı.

### **3.6.1.3. Folin-Ciocalteu Yöntemi**

Toplam fenolik madde derişimini ölçen Folin Ciocalteu yöntemine göre; bir deney tüpü içerisine sırasıyla  $x$  mL örnek çözeltisi,  $(2-x)$  mL distile su ve 50 mL Lowry A çözeltisine (0,1 M NaOH içinde % 2 (w/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 1 mL Lowry B çözeltisinin (% 1 (w/v)  $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  içinde % 0,5 (w/v)  $\text{CuSO}_4$ ) ilave edilmesiyle oluşan Lowry C çözeltisinden 2,5 mL ilave edildikten 10 dakika sonra 0,25 mL 1:3 oranında (v/v), su ile seyreltilmiş Folin reaktifi eklendi. Tüpler oda sıcaklığında ağızları kapalı olarak 30 dakika bekletildi ve örnek içermeyen referansa karşı 750 nm’de absorbandları ölçüldü [41].

Absorbans ile gallik asit standardının derişimi arasında oluşturulan kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak kudret narı örneklerinin toplam fenol içerikleri  $\mu\text{mol}$  gallik asit  $\text{g}^{-1}$  kuru örnek olarak hesaplandı.

### **3.6.2. Kromatografik Yöntem**

SUPELCO C18 (5  $\mu\text{m}$ , 25 cm x 4.6 mm) kolon ile gerçekleştirilen ters faz HPLC analizlerinde iki elüsyon programı kullanıldı.

**1-** Kudret narı ekstrelerindeki polifenol bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC metodu

% 3 (v/v) asetik asit içeren bidistile su (A), MeOH (B) çözücüleri kullanılarak Tablo 3.1’de verilen gradient elüsyon programı oluşturuldu. Akış hızı 1 ml  $\text{dak}^{-1}$ , dedeksiyon (belirleme) dalga boyu 270 nm’ dir.

**Tablo 3.1:** Polifenolik bileşenlerin analizi için geliştirilen HPLC metodu.

Zaman(dakika)	(%) A	(%) B	Eğim <sup>a</sup>
Başlangıç	100	0	0
0-2	99	1	10
2-4	97	3	10
4-8	95	5	6
8-10	90	10	6
10-20	75	25	6
20-30	65	35	6
30-40	50	50	6
40-50	30	70	6
50-60	100	0	6

Kudret narı ekstraktlarının HPLC analizlerinde, alıkonma zamanları ve PDA spektrumları esas alınarak standartlarla karşılaştırma yapıldı, belirlenen polifenolik bileşenlerin nicel analizlerinde pik alanları kullanıldı.

2- Kudret narı hidrolizatlarındaki  $\beta$ -sitosterol analizi için geliştirilen HPLC metodu;

%99 MeOH, %1 bidistile su (v/v) içeren hareketli faz ile izokratik elüsyon uygulandı.

Akış hızı 1.2 mL dk<sup>-1</sup>, dedeksiyon dalga boyu 202 nm'dir.

### 3.6.3. Birleştirilmiş HPLC- CUPRAC Yöntemi

Ham ve olgun kudret narı örnekleri ile ticari ürünlerin HPLC analizleri sonucu belirlenen bileşenlerin toplam antioksidan kapasiteye katkıları aşağıda verilen denklem (3.1) [98-100] yardımıyla hesaplandı. HPLC ile belirlenen derişimler, bileşenlerin spektrofotometrik yöntemle belirlenmiş olan TEAK (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) katsayıları ile çarpılmış ve bulunan değerler toplanarak kudret narı örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. HPLC-CUPRAC ifadesi HPLC'de belirlenen derişimlerin CUPRAC yöntemindeki TEAK katsayıları ile çarpılmasıyla hesaplanan kapasiteyi ifade etmektedir. Hesaplanan bu kapasite değerleri hem kromatografik hem de spektrofotometrik verilere dayandığından bunları ifade ederken her iki enstrümantal tekniğin sembolleri kullanılmıştır.

$$(\text{Antioksidan Kapasite})_{\text{Toplam}} = \sum_{i=1}^n C_i \text{TEAK}_i \quad (3.1)$$

( $C_i$  : i- bileşenin HPLC yöntemiyle belirlenen derişimini;  $\text{TEAK}_i$  : i- bileşenin seçilen kapasite ölçüm yöntemine göre TEAK katsayısını ifade etmektedir.)

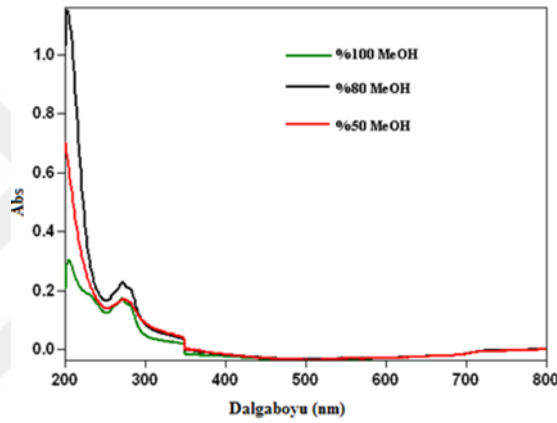


## 4. BULGULAR

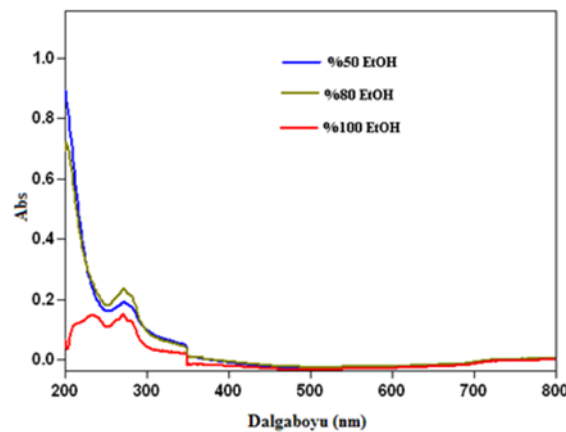
### 4.1. UYGUN EKSTRAKSİYON ÇÖZÜCÜSÜNÜN SEÇİLMESİ

#### 4.1.1. Polifenol Analizi için Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçilmesi

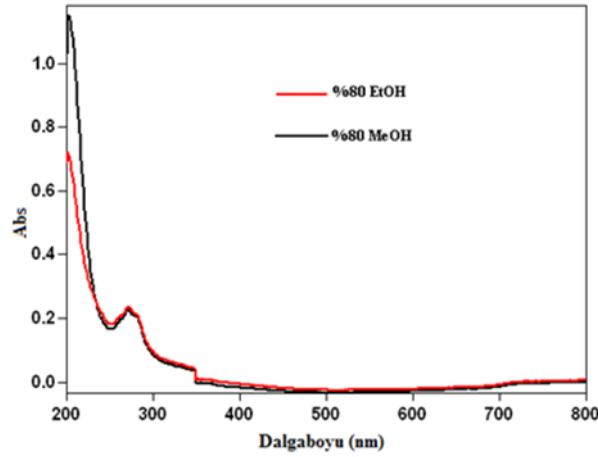
Toz kudret narı örneğinin, sırasıyla %50 (v/v) MeOH-su, %80 (v/v) MeOH-su ve %100 MeOH ile aynı oranlarda EtOH içeren çözücülerle, ultrasonik banyo kullanılarak hazırlanmış ekstraktların UV-görünür bölge spektrumları Şekil 4.1 ve 4.2’de, %80 MeOH-su ve %80 EtOH-su ekstraktlarının karşılaştırması Şekil 4.3’te görülmektedir.



Şekil 4.1: Toz kudret narı örneğinin farklı oranlarda MeOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları. (%100, %80, %50 MeOH)



Şekil 4.2: Toz kudret narı örneğinin farklı oranlarda EtOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları. (%100, %80, %50 EtOH)



**Şekil 4.3:** Toz kudret narı örneğinin %80 (v/v) MeOH-su ve %80 (v/v) EtOH-su içeren ekstraktlarının spektrumları.

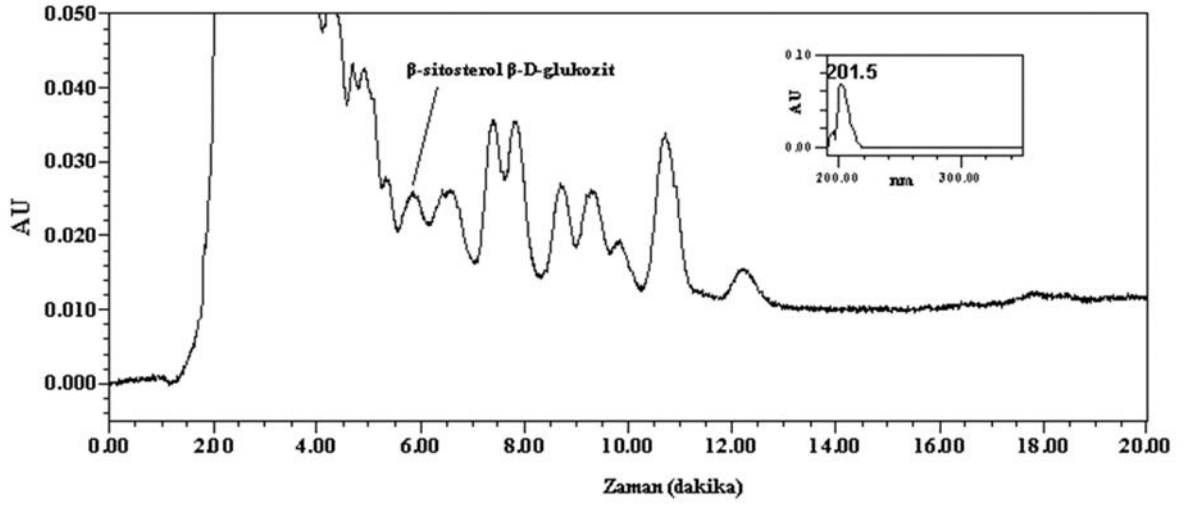
(%80 EtOH-su , %80 MeOH-su)

Spektrumlardan da görüleceği üzere, ekstraksiyon verimi açısından %80 MeOH-su ile %80 EtOH-su arasında büyük bir fark yoktur. Literatürde [101], metanolün koruyucu rolü olduğu ve fenolik bileşiklerin fenoloksidaz gibi enzimlerle yükseltgenmesini engellediği belirtilmiş olduğundan en uygun ekstraksiyon çözücüsü olarak %80 (v/v) MeOH-su seçilmiştir. Kudret narı ile ilgili araştırma çalışmalarının çoğunda [62, 67, 72], ekstraksiyon aracı olarak etanol, metanol ya da su kullanımının uygun olduğu belirtilmiştir.

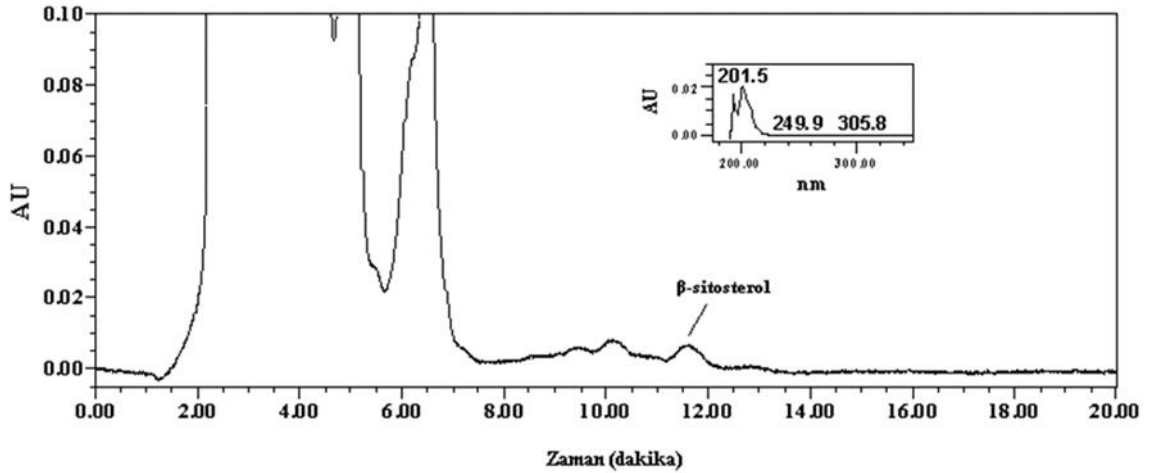
#### 4.1.2. $\beta$ -sitosterol Analizi için Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçilmesi

%70 saflıktaki  $\beta$ -sitosterol ile yapılan çözünürlük çalışmalarında,  $\beta$ -sitosterol'ün EtOH içinde daha iyi çözüldüğü belirlenmiştir. Ancak kudret narı örneklerinde  $\beta$ -sitosterol, glukozit yapısında bulunduğundan ekstraksiyon çözücüsü olarak %80 (v/v) EtOH-su kullanımı tercih edilmiştir. Pitipanapong ve diğ. [90] farklı çözücüler (aseton, diklorometan, etanol ve su), farklı oranlarda etanol-su karışımları kullanımının ve sıcaklığın ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerini incelemiş, şarantin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün etanol olduğu ve sıcaklık artışıyla ekstraksiyon veriminin arttığını belirtmiştir.

Şekil 4.4'te %80 (v/v) EtOH-su ile hazırlanmış salamura kudret narı ekstraktının kromatogramında  $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D glukozit piki ve şekil 4.5'te bu ekstraktın hidrolizatının kromatogramında  $\beta$ -sitosterol piki görülmektedir.



Şekil 4.4: Salamura kudret narı örneğinin (%80 EtOH içeren) ekstraktının kromatogramı. ( $\lambda=202$  nm)



Şekil 4.5: Salamura kudret narı örneğinin (%80 EtOH içeren) hidrolizatının kromatogramı. ( $\lambda=202$  nm)

## 4.2. HPLC YÖNTEMİNİN ÇEŞİTLİ ANTİOKSİDAN STANDARTLARINA UYGULANMASI

Geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz edilen kudret narı örneklerinde varlığı belirlenen fenolik bileşiklerin standartlarının derişimleri ile pik alanları arasında oluşturulan kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler Tablo 4.1’de özetlenmiştir.

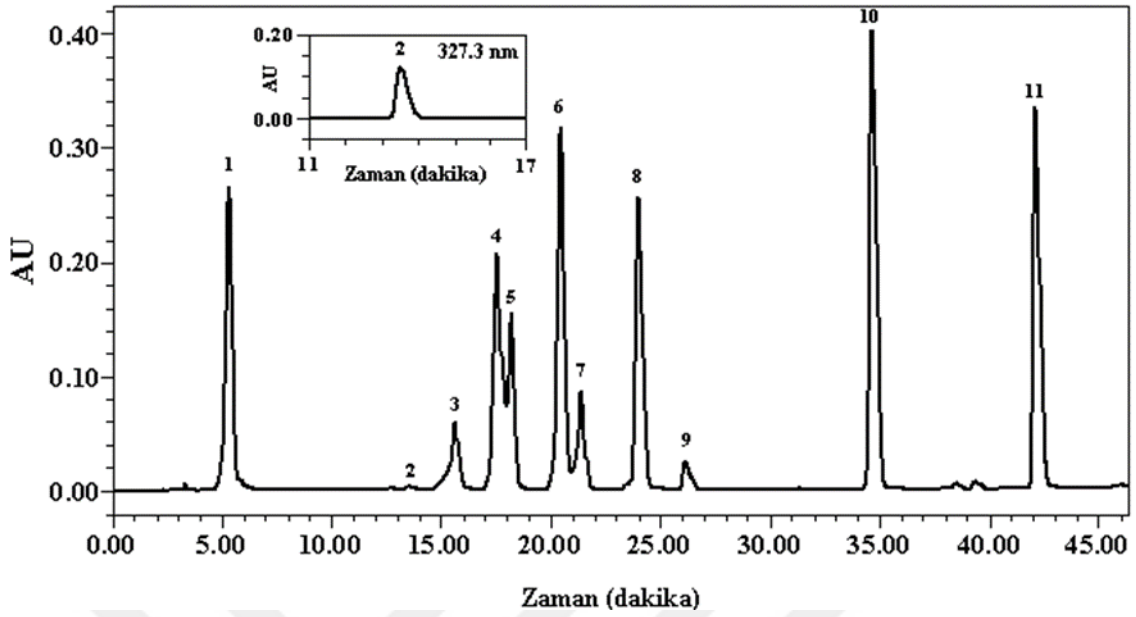
Tablo 4.1' de verilen doğru denklemlerinde; y: pik alanı, c: derişim ve r: korelasyon katsayısını ifade etmektedir.

**Tablo 4.1:** Kudret narı örneklerinde bulunduğu belirlenen bazı fenolik bileşiklerin standartlarına ait HPLC yöntemi bulguları.

Polifenolik Bileşik	Doğru denklemi	Korelasyon katsayısı (r)	Çalışma aralığı (mol L <sup>-1</sup> )
Gallik asit	$y = 1,32 \times 10^{10} c - 4,41 \times 10^5$	0,9999	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Gentisik asit	$y = 0,59 \times 10^{10} c - 1,69 \times 10^5$	0,9998	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Kateşin	$y = 0,44 \times 10^{10} c - 1,60 \times 10^5$	0,9998	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Vanilik asit	$y = 1,54 \times 10^{10} c - 4,47 \times 10^5$	0,9993	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Klorojenik asit	$y = 2,60 \times 10^{10} c - 8,39 \times 10^5$	0,9999	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Şirincik asit	$y = 1,51 \times 10^{10} c - 3,45 \times 10^5$	0,9995	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Epikateşin	$y = 0,49 \times 10^{10} c - 1,02 \times 10^5$	0,9996	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
p-Kumarik asit	$y = 3,00 \times 10^{10} c - 7,39 \times 10^5$	0,9995	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Benzoik asit	$y = 0,15 \times 10^{10} c - 0,65 \times 10^5$	0,9990	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Rutin	$y = 2,78 \times 10^{10} c - 7,40 \times 10^5$	0,9998	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$
Kuersetin	$y = 2,67 \times 10^{10} c - 7,53 \times 10^5$	0,9996	$8 \times 10^{-5} - 8 \times 10^{-4}$

Şekil 4.6'da çeşitli antioksidan standartlarını içeren sentetik karışımın 270 nm'deki kromatogramı görülmektedir.





**Şekil 4.6:** Çeşitli antioksidan standartlarını içeren sentetik karışımın 270 nm'deki kromatogramı.

(1: Gallik asit, 2: Gentisik asit, 3:Kateşin, 4: Vanilik asit, 5: Klorojenik asit, 6: Şirinjik asit, 7: Epikateşin, 8:p-Kumarik asit, 9: Benzoik asit, 10: Rutin, 11:Kuersetin)

### 4.3. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZ SONUÇLARI

#### 4.3.1. Kudret Narı Örneklerinin Toplam Antioksidan Kapasiteleri ve Toplam Fenolik İçerikleri

Kudret narı türlerinin toplam antioksidan kapasitesi spektrofotometrik olarak CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile toplam fenol miktarı ise Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen toplam fenol değerleri, CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile elde edilen toplam antioksidan kapasite değerleri ile karşılaştırılmıştır. Tablo 4.2'de %80 (v/v) MeOH-su ile ekstrakte edilen kudret narı örneklerinin CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile belirlenmiş toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri ile Folin yöntemine ile belirlenmiş toplam fenolik içerik (TFİ) değerleri görülmektedir. Bu değerler ile oluşturulan grafik ise Şekil 4.7'de verilmiştir.

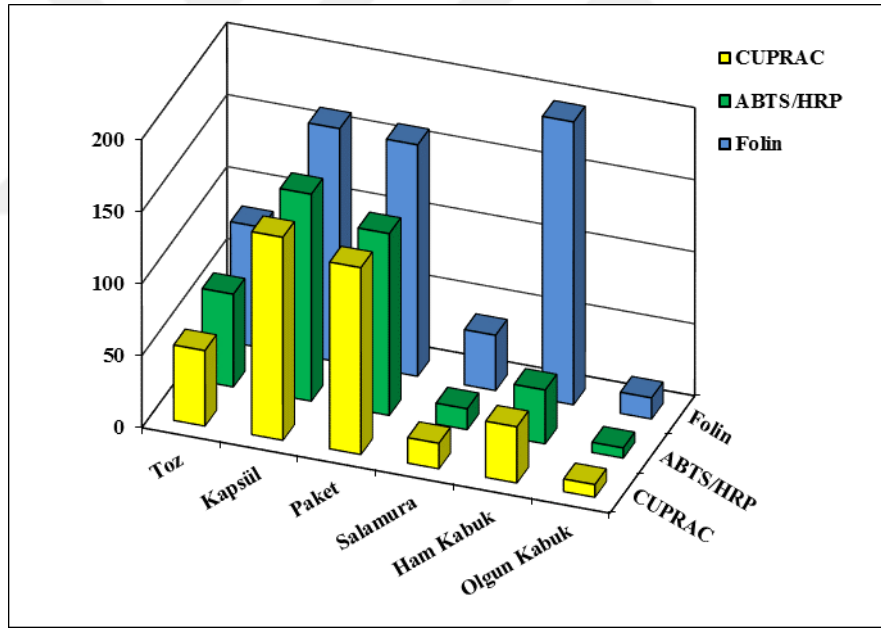
**Tablo 4.2:** Kudret narı örneklerinin CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile belirlenmiş TAK değerleri ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) ile Folin yöntemi ile belirlenmiş TFİ ( $\mu\text{mol GAE g}^{-1}$ ) değerleri (n=3).

Kudret Narı Örnekleri	TAK <sup>a</sup>	TAK <sup>b</sup>	TFİ <sup>c</sup>
	CUPRAC Yöntemi ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ )	ABTS/HRP Yöntemi ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ )	Folin Yöntemi ( $\mu\text{mol GAE g}^{-1}$ )
Toz	52,3 ± 1,2	64,3 ± 1,5	83,6 ± 4,8
Kapsül	140,8 ± 0,9	143,6 ± 3,3	162,0 ± 1,7
Paket	129,6 ± 2,3	126,1 ± 4,0	160,6 ± 1,2
Salamura	17,6 ± 0,4	14,4 ± 0,9	38,3 ± 1,9
Ham kabuk	42,5 ± 2,2	36,3 ± 1,6	193,2 ± 6,2
Olgun kabuk	8,7 ± 0,3	7,0 ± 0,1	14,6 ± 0,6

<sup>a</sup> CUPRAC yöntemine göre, %80 MeOH-su çözücü ortamında,  $\epsilon_{\text{TR}} = 15000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

<sup>b</sup> ABTS/HRP yöntemine göre, %80 MeOH-su çözücü ortamında,  $\epsilon_{\text{TR}} = 22000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

<sup>c</sup> Folin yöntemine göre, %80 MeOH-su çözücü ortamında,  $\epsilon_{\text{GA}} = 6100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$



**Şekil 4.7:** Kudret narı örneklerinin CUPRAC, ABTS/HRP ve Folin yöntemi bulgularının karşılaştırması.

Çalışılan örneklerin TAK bakımından sıralaması her iki yöntem bulgularına göre aynı olup, kapsül > paket > toz > ham kabuk > salamura > olgun kabuk şeklindedir. Fenolik bileşen içerikleri bakımından yapılan sıralama; ham kabuk > kapsül > paket > toz > salamura > olgun kabuk şeklindedir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.7). Ham kabuğun toplam fenol içeriği olgun kabuğa ve

diğer örneklere göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu kadar yüksek fenolik içeriğine rağmen TAK değeri düşük bulunmuştur. Bu durum, Folin yöntemine cevap veren, indirgen olan bütün maddelerin antioksidan olmadığı şeklinde açıklanabilir [45]. Kubola ve Siriamornpun [103] tarafından yapılan çalışmada, kuru kudret narı örneğinin metanollü ekstraktının, Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiş TFİ değerleri; yeşil meyve için  $324 \pm 1.63$ , olgun meyve için ise  $224 \pm 0.86$  mg GAE/g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada TFİ değerlerinin, toplam antioksidan kapasite tayininde kullanılmış olan FRAP yöntemi bulguları ile daha uyumlu olduğu ( $R^2 = 0.948$ ) ifade edilmiştir. FRAP yöntemi ile belirlenmiş TAK değerleri; yeşil meyve için  $43,8 \pm 0,008$ , olgun meyve için  $9,41 \pm 0,007$   $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$  kuru örnek olarak verilmiştir. Bu değerler bizim bulgularımızla uyumludur.

Kudret narının antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler dışında yine antioksidan olduğu bilinen, suda çözünen, C vitamini ve lipofilik özellikte olan E vitamini, karotenoidler (karoten, ksantofiller ve zeaksantin) gibi bileşikler içerdiği de bilinmektedir [104]. Ham kudret narının TAK değerinin daha yüksek olması, olgunlaşma sürecinde C vitamini içeriğinde değişim olması ve karotenoid içeriğinin artması (turuncu renk oluşumu) ile açıklanabilir. Goo ve diğ. [105] tarafından yapılan çalışmada olgunlaşma aşamasına bağlı olarak C vitamini içeriğindeki değişim belirlenmiş ve rapor edilmiştir. Meyve oluştuktan sonra, 5-20 gün arasında 5'er gün arayla örnekler toplanmış ve C vitamini tayini yapılmıştır. Belirlenen C vitamini içerikleri sırasıyla; 2093, 2344, 1938 ve 1767 mg/100 g kuru örnek şeklindedir. C vitamininin, 10 gün sonra toplanan meyvede daha yüksek olduğu görülmüştür. Biz çalışmamızda örneklerin C vitamini ve karotenoid içeriklerini belirlemediğimiz için toplam antioksidan kapasiteye katkılarını değerlendiremedik. Salamura örneğinin TAK değeri de diğer örneklere göre düşük bulunmuştur. Bu durum, salamuranın, olgun meyvenin zeytinyağında bekletilmesi sonucu hazırlanması ve dolayısıyla başta karotenoidler olmak üzere lipofilik bileşiklerin yağa geçmesi ile açıklanabilir.

Kudret narı meyvesinin antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda genellikle, DPPH, ABTS, FRAP, linoleik asit metil esteri oksidasyonu [64, 67, 71, 72, 80, 81], Fe(III) tiyosiyanat, tiyobarbitürik asit [72] ve  $\beta$ -karoten ağartma testi [80] yöntemleri kullanılmıştır. CUPRAC yöntemi kullanılan sadece bir çalışma olup [81] sonuçlar butillenmiş

hidroksi toluen (BHT) standardının absorbansıyla kıyaslama yapılarak verilmiştir. Bu çalışmaların bulguları, literatür özeti kısmında ayrıntılı olarak verilmiştir.

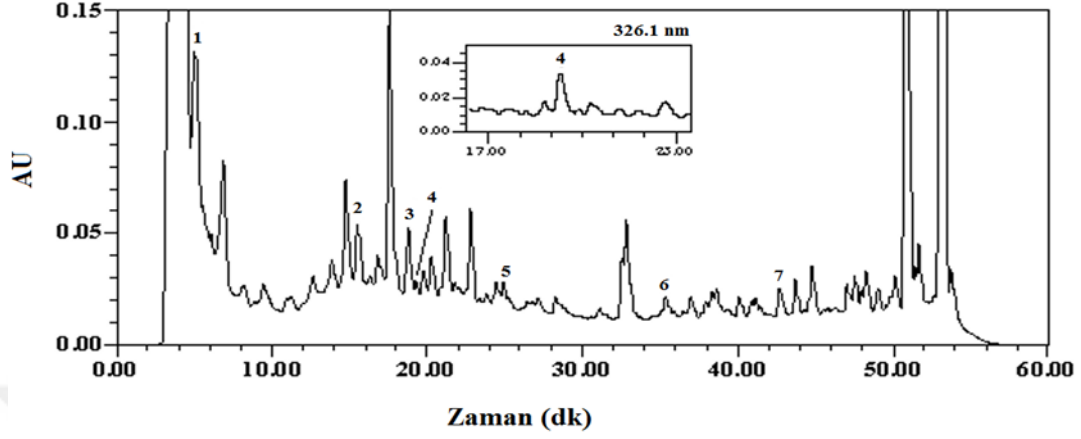
Kudret narı ve ticari ürünlerinin fenolik içerikleri ve antioksidan kapasitelerinin karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

#### 4.3.2. HPLC Analizi ve HPLC-CUPRAC Yöntemi Sonuçları

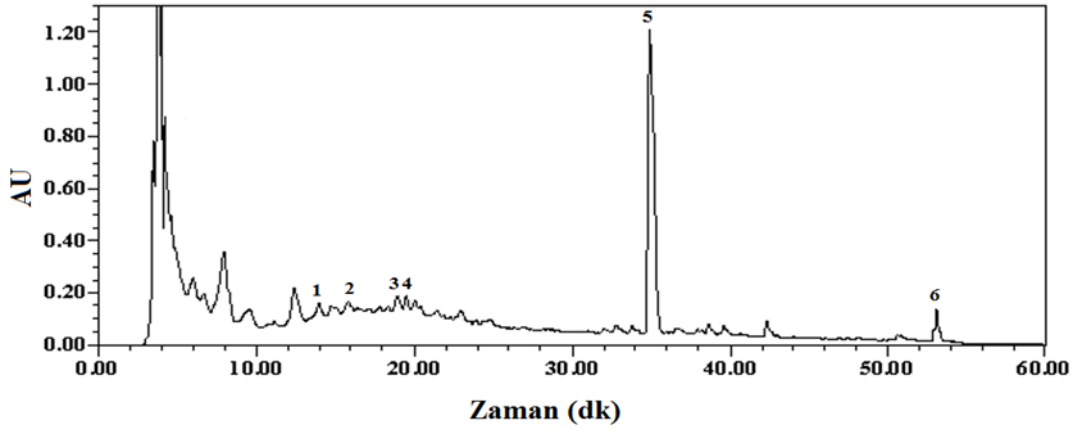
Çalışılan kudret narı örneklerinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktlarının, geliştirilen HPLC yöntemi ile elde edilen, 270 nm'deki kromatogramları ve belirlenebilen antioksidan bileşikler Şekil 4.8 - 4.13'de görülmektedir. HPLC ile belirlenen bileşiklerin derişimleri, kalibrasyon denklemleri yardımıyla hesaplandı. HPLC-CUPRAC yöntemi kullanılarak TAK hesabı yapıldı (Tablo 4.3). Çalışılan örneklerin CUPRAC yöntemiyle bulunan TAK değerleri, HPLC-CUPRAC yöntemiyle bulunan değerlerden daha yüksektir. Bunun nedeni, kromatogramlardan görüleceği üzere, çok sayıda pik olmasına rağmen mevcut standartlar ile yapılan değerlendirmeler sonucunda varlığı kesin olarak belirlenmiş bileşiklere göre hesap yapılmış olmasıdır. Bütün örneklerde belirlenen antioksidan bileşikler; gallik asit, gentisik asit, kateşin, vanilik asit, klorojenik asit, şirincik asit, *p*-kumarik asit, rutin ve kuersetin'dir.

Kudret narının antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler içerdiği çok sayıda araştırmacı tarafından belirtilmiştir [45,64,67,71,102,103]. Bu bileşiklerin miktarlarının, meyvenin çeşidine, hasat zamanına, çevresel faktörlere (sıcaklık, ışık vb.), yetiştirme koşullarına (serada, tarlada, gübre kullanarak vb.) bağlı olarak farklılıklar gösterdiği ifade edilmiştir. Farklı çalışmalarda, kudret narı meyvesinde belirlenmiş fenolik bileşikler; gallik asit, gentisik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit ve klorojenik asit olarak belirtilmiştir [45]. Örneğin, freze dryer ile kurutulmuş dört çeşit kudret narının etli kısımlarında belirlenen gallik asit miktarı 8,04-13,74 aralığında bulunmuştur [45]. Bir diğer çalışmada, fırında kurutulmuş kudret narı örneğinin gentisik asit içeriği 0,9-5,91 mg/g kuru örnek olarak verilmiştir [102]. Kateşin tayini yapılan çalışmada, subkritik su ekstraksiyonu (SWE), metanol ekstraksiyonu ve sokslet su ekstraksiyonu teknikleri kullanılarak, kuru kudret narı meyvesinde belirlenmiş olan kateşin miktarları ise sırasıyla; 46,16, 1,61 ve 1,77 mg/g'dır [102]. Kudret narının metanollü fraksiyonunda belirlenmiş olan kafeik asit derişimi, 3,55 mg/L [103] ve dört çeşit kudret narı ile yapılmış çalışmada belirlenmiş olan klorojenik asit derişimleri; freze dryer ile kurutulmuş

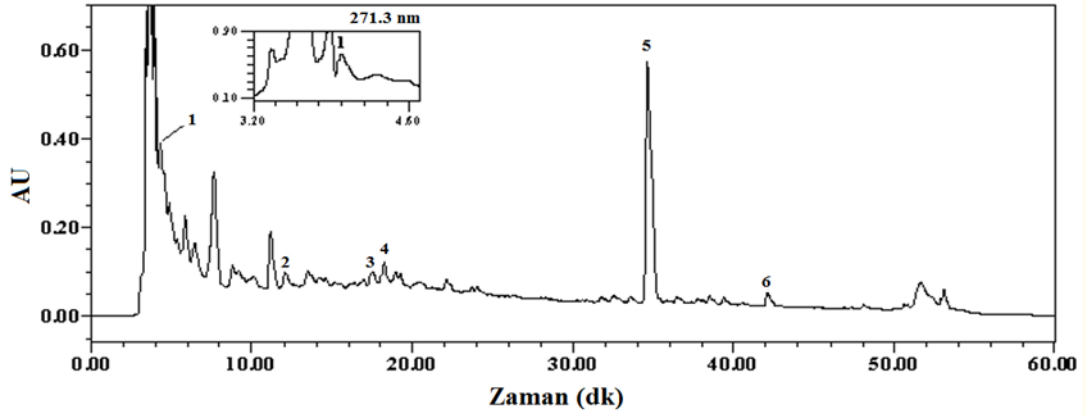
örneklerde, 6,42-14,15 mg/100 g kuru örnek, fırında kurutulmuş örneklerde ise, 4,55-16,37 mg/100 g [45] olarak verilmiştir.



**Şekil 4.8:** Toz kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.  
(1-Gallik asit, 2- Kateşin, 3- Vanilik asit, 4- Klorojenik asit, 5-*p*-Kumarik asit, 6- Rutin, 7- Kuersetin)

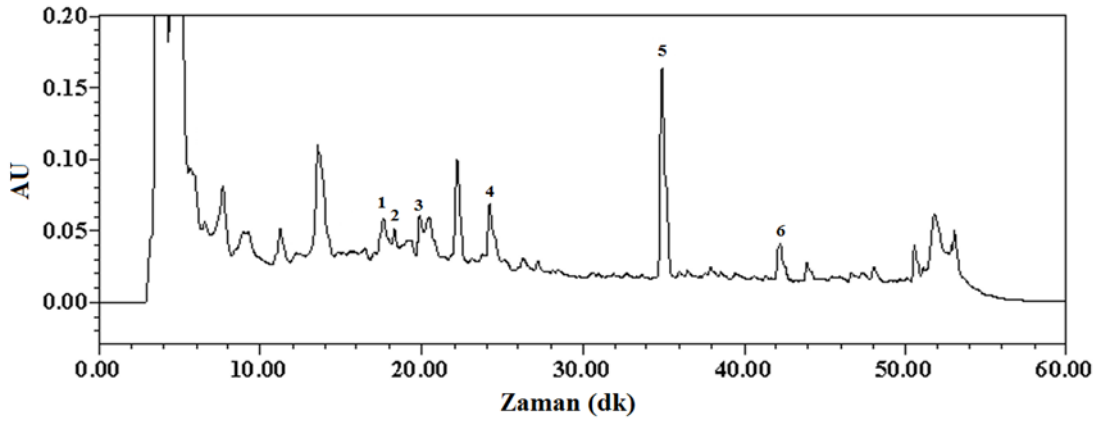


**Şekil 4.9:** Kapsül kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.  
(1-Gentisik asit, 2-Kateşin, 3-Vanilik asit, 4-Klorojenik asit, 5-Rutin, 6-Kuersetin)



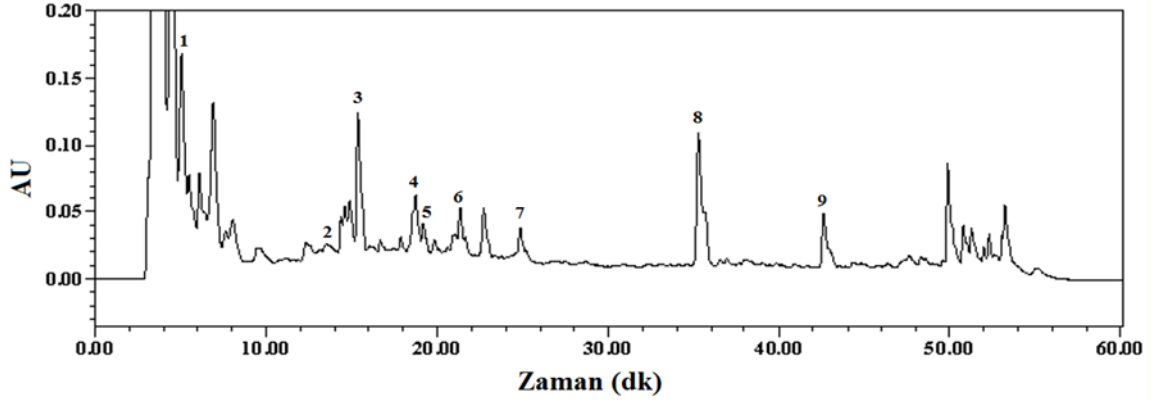
**Şekil 4.10:** Paket kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.

(1-Gallik asit, 2-Gentisik asit, 3-Vanilik asit, 4-Klorojenik asit, 5-Rutin, 6-Kuersetin)



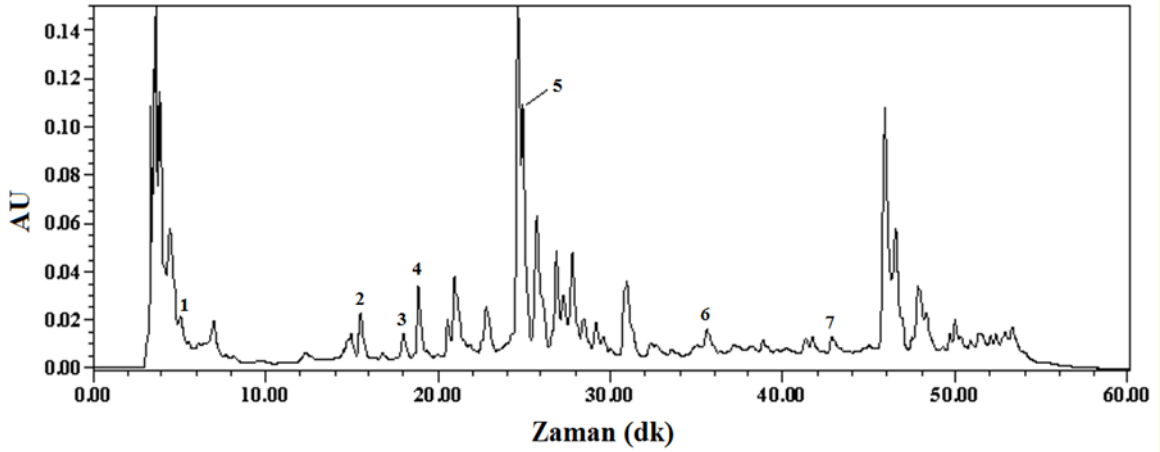
**Şekil 4.11:** Salamura kudret narı örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.

(1-Vanilik asit, 2-Klorojenik asit, 3-Şirinjik asit, 4-*p*-Kumarik asit, 5-Rutin, 6-Kuersetin)



**Şekil 4.12:** Ham kabuk örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.

(1- Gallik asit, 2- Gentisik asit, 3- Kateşin, 4- Vanilik asit, 5- Klorojenik asit, 6- Şirinjik asit, 7-*p*-Kumarik asit, 8- Rutin, 9- Kuersetin)



**Şekil 4.13:** Olgun kabuk örneğinin %80 MeOH-su (v/v) ekstraktının 270 nm'deki kromatogramı.

(1- Gallik asit, 2- Kateşin, 3- Vanilik asit, 4- Klorojenik asit, 5-*p*-Kumarik asit, 6- Rutin, 7- Kuersetin)

Daha önce yapılmış olan çalışmalardan farklı olarak HPLC yöntemiyle belirlemiş olduğumuz fenolik bileşenlerin, spektrofotometrik CUPRAC yöntemiyle belirlenmiş olan TAK ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) değerine katkısını HPLC-CUPRAC yöntemiyle belirledik (Tablo 4.3). En yüksek % değerleri, ham kabuk ve olgun kabuk için belirlenmiş olup sırasıyla; 55,3 ve 28,7'dir.

**Tablo 4.3:** Kudret narı örneklerinde HPLC yöntemi ile belirlenen fenolik bileşiklerin, HPLC-CUPRAC yöntemiyle hesaplanmış TAK değerleri ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ).

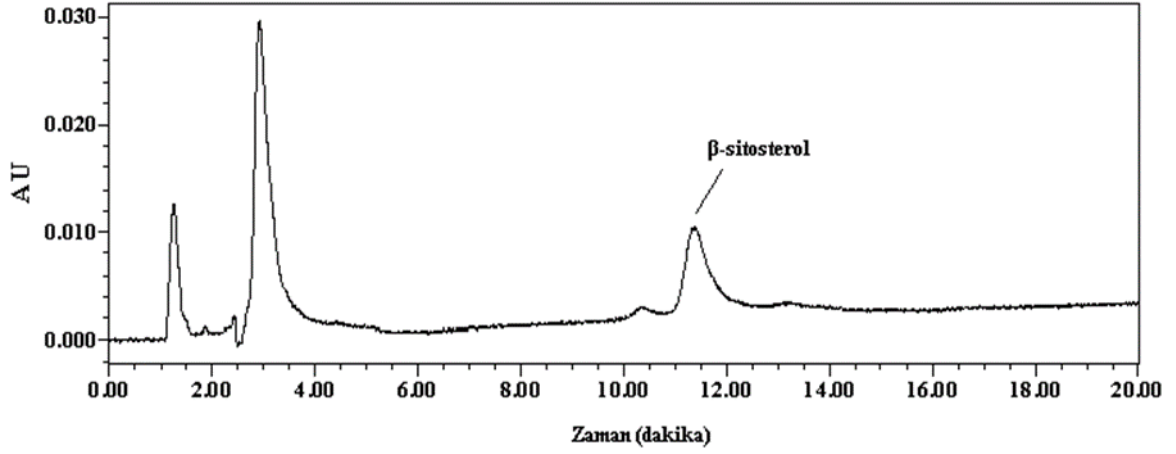
Polifenolik Bileşik	Toz	Kapsül	Paket	Salamura	Ham Kabuk	Olgun Kabuk
Gallik asit	2,1	-	1,9	-	5,1	0,4
Gentisik asit	-	4,0	3,9	-	1,3	-
Kateşin	2,2	5,2	-	-	8,4	0,9
Vanilik asit	0,3	0,9	0,7	0,3	1,5	0,1
Klorojenik asit	0,3	1,4	1,5	0,5	1,0	0,3
Şirincik asit	-	-	-	0,2	0,4	-
Epikateşin	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -Kumarik asit	0,1	-	-	0,1	0,2	0,1
Rutin	0,3	6,3	4,6	1,2	1,9	0,2
Kuersetin	0,6	1,2	0,9	0,8	1,7	0,5
<b>TAK</b>	<b>5,9</b>	<b>19,0</b>	<b>13,5</b>	<b>3,1</b>	<b>21,5</b>	<b>2,5</b>
	(%11,3) <sup>a</sup>	(%13,5)	(%10,4)	(%7,6)	(%55,3)	(%28,7)

<sup>a</sup> Parantez içinde verilen değerler, HPLC-CUPRAC yöntemiyle belirlenen TAK değerinin CUPRAC yöntemiyle belirlenen TAK değerine oranının %'sidir.

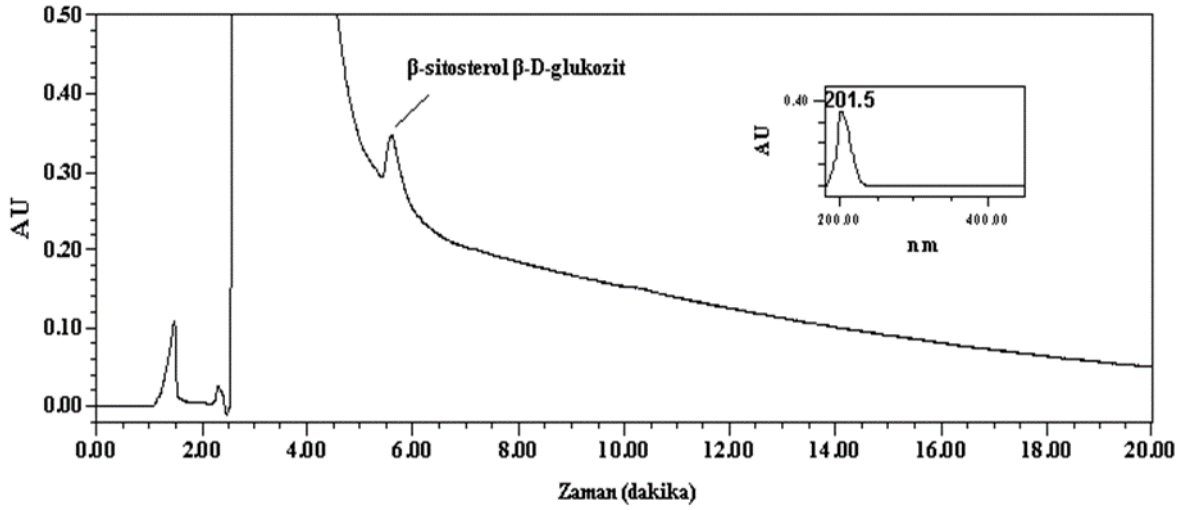
#### 4.4. HPLC İLE $\beta$ -SİTOSTEROL ANALİZİ

Kudret narında var olduğu bilinen  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit belirlenmek istendiğinden hem bu maddenin standardının hem de hidroliz ürünü olan  $\beta$ -sitosterol standardının  $1.0 \times 10^{-4}$  M çözeltisinin, geliştirilen HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları Şekil 4.14 ve 4.15'da görülmektedir. Kromatogramlardan belirlenen pik alanları ile derişim arasında oluşturulan grafikten elde edilen doğru denklemi;  $y = 3.17 \times 10^9 c + 6538$  (y:pik alanı, c: derişim) olup korelasyon katsayısı,  $r = 0.9999$  ve çalışma aralığı,  $4,70 \times 10^{-5} - 1,88 \times 10^{-4}$  M olarak belirlenmiştir.





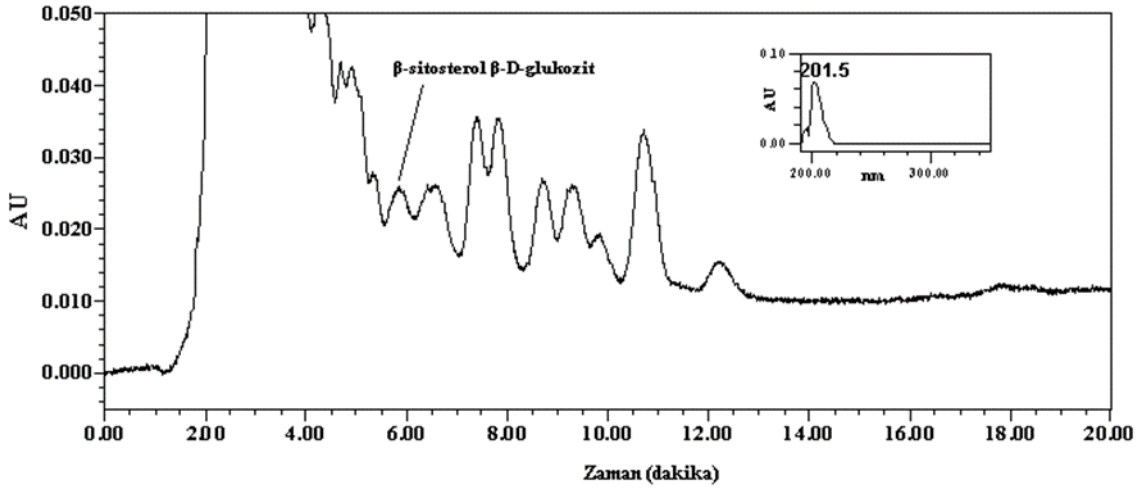
**Şekil 4.14:** %95 saflıkta standart  $\beta$ -sitosterol'ün  $1.0 \times 10^{-4}$  M derişimdeki çözeltilisinin 202 nm'deki kromatogramı.



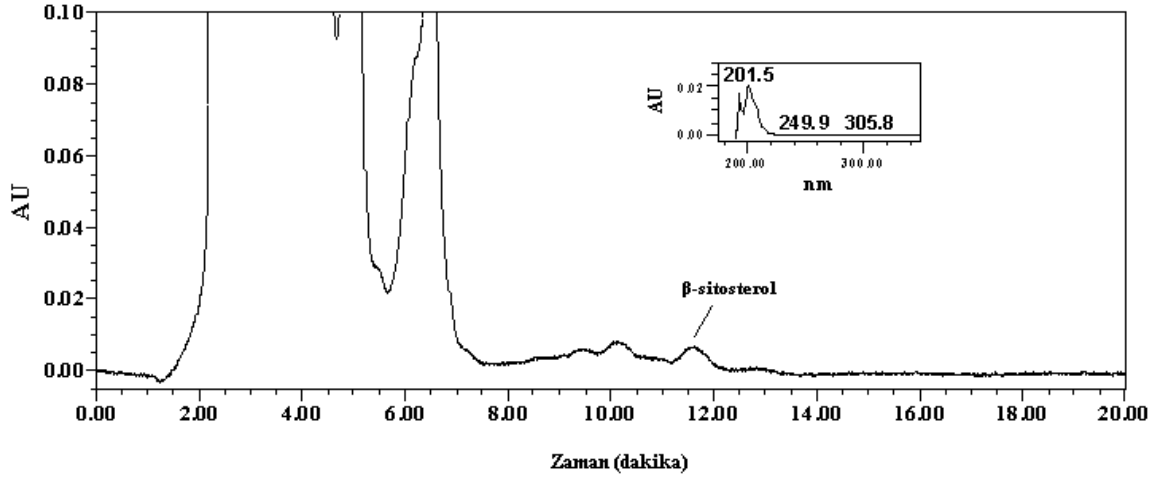
**Şekil 4.15:** Standart  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit'in  $2.95 \times 10^{-4}$  M derişimdeki çözeltilisinin kromatogramı.

#### 4.5. KUDRET NARI ÖRNEKLERİNİN $\beta$ -SİTOSTEROL VE $\beta$ -SİTOSTEROL $\beta$ -D-GLUKOZİT İÇERİKLERİ

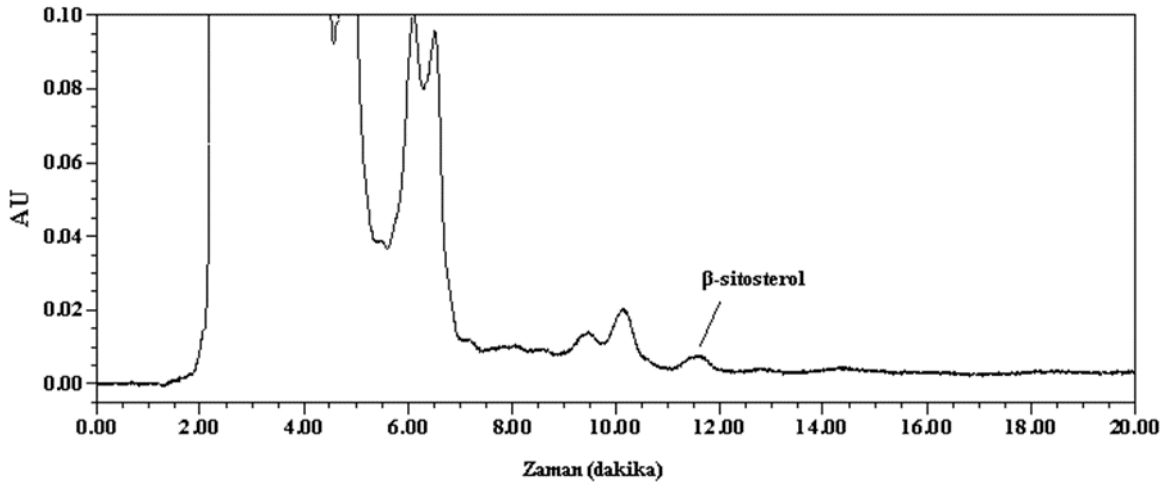
Çalışılan kudret narı ekstraktlarının  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit ile hidrolizatlarının  $\beta$ -sitosterol içerikleri HPLC ile belirlenmiştir. Şekil 4.16'de salamura kudret narı örneğinin %80 (v/v) etanol-su içeren ekstraktına ait kromatogram görülmektedir. Bu ekstrakt hidroliz edildiğinde elde edilen kromatogram ise Şekil 4.17'de verilmiştir. Toz kudret narı örneğinin hidrolizat kromatogramı 4.18'da, aynı hidrolizata  $1 \times 10^{-2}$  M derişimde  $\beta$ -sitosterol katkısı yapılması sonucu elde edilen kromatogram Şekil 4.19'de görülmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda kapsül ve paket kudret narı ekstrakt ve hidrolizatlarında adı geçen bileşikler belirlenememiştir.



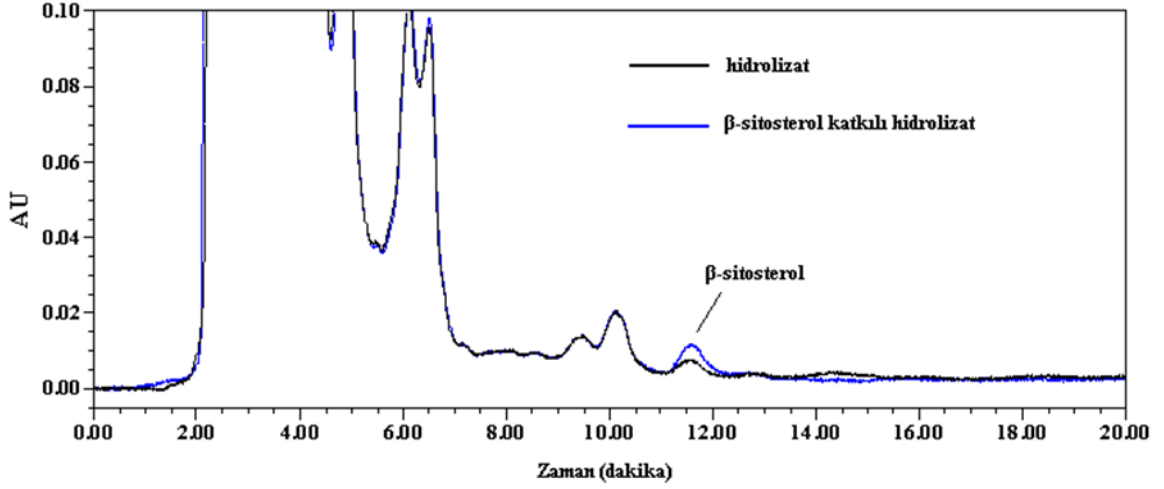
Şekil 4.16: Salamura kudret narının %80 EtOH ekstraktının kromatogramı ( $\lambda=202$  nm).



Şekil 4.17: Salamura kudret narı hidrolizatının (%80 EtOH içeren) kromatogramı ( $\lambda=202$  nm).



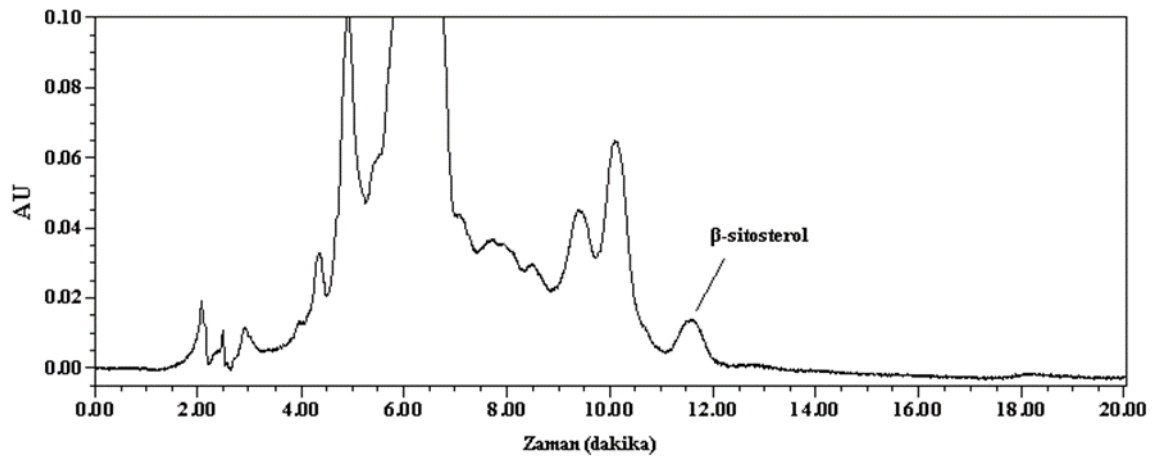
Şekil 4.18: Toz kudret narı hidrolizatının (%80 EtOH içeren) kromatogramı ( $\lambda=202$  nm).



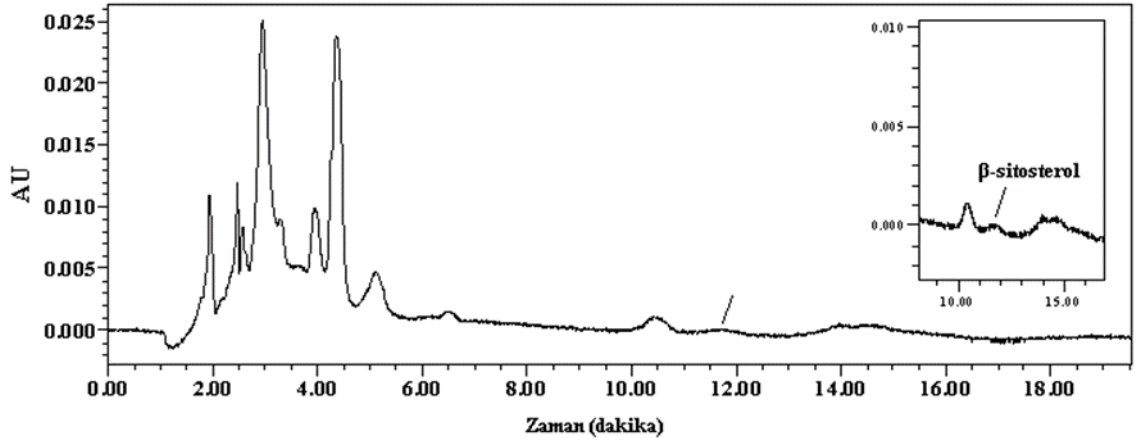
**Şekil 4.19:** Toz kudret narı hidrolizatının ve  $\beta$ -sitosterol katkısı yapılmış hidrolizatın kromatogramları ( $\lambda=202$  nm).

#### 4.5.1. $\beta$ -Sitosterol Tayini için C18 Kartuş ile SPE Uygulaması

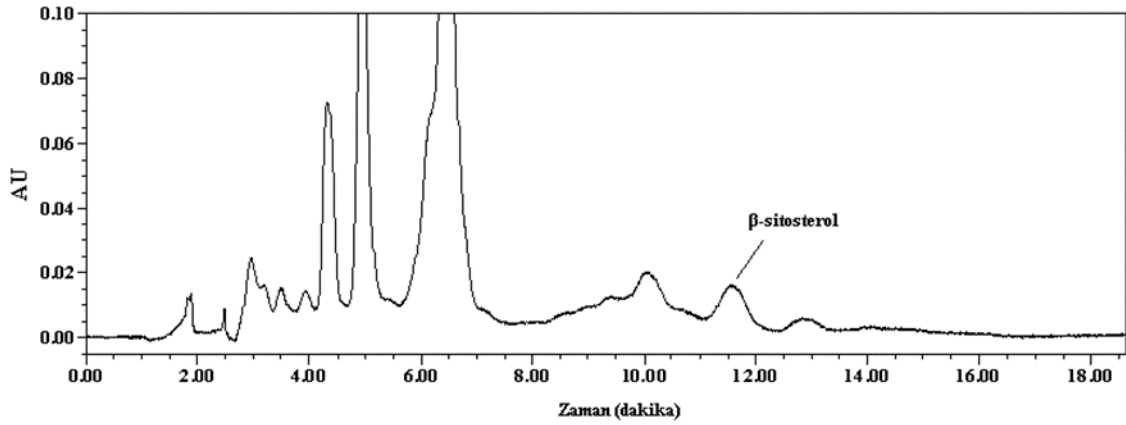
Çalışılan kudret narı örneklerinden, toz, paket, salamura, ham kabuk ve olgun kabuk ekstrakt hidrolizatlarının C18 kartuş kullanılarak derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogramlar sırasıyla, Şekil 4.20-4.24'te verilmiştir. Elüsyon çözeltisi olarak EtOH kullanılmıştır. Örneklerin, C18 kartuş ile derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogramlarından belirlenen,  $\beta$ -sitosterol içerikleri ( $\text{mg g}^{-1}$ ) Tablo 4.4'de görülmektedir.



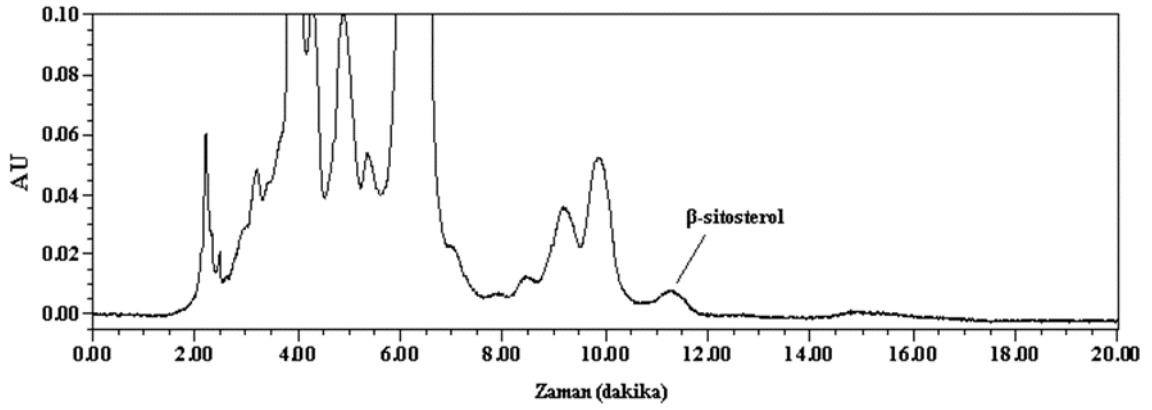
**Şekil 4.20:** Toz kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$  nm).



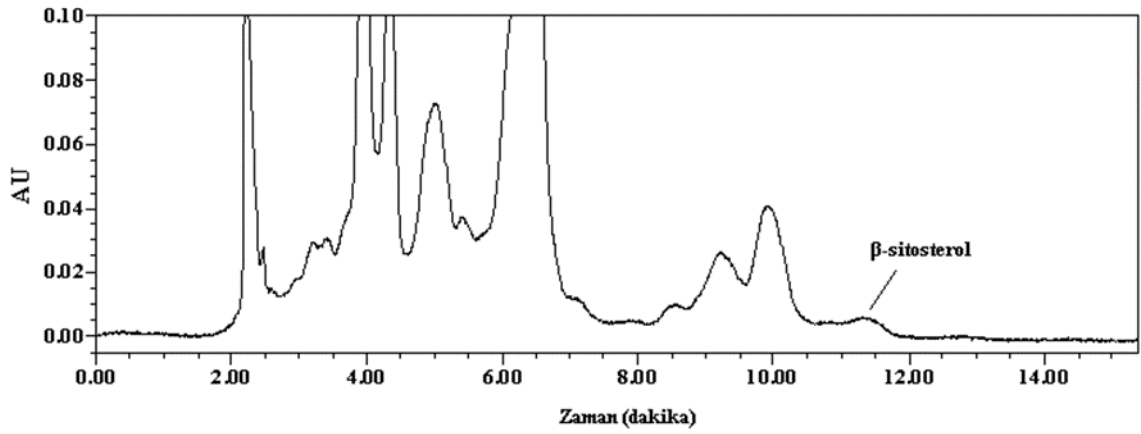
**Şekil 4.21:** Paket kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$  nm).



**Şekil 4.22:** Salamura kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$  nm).



**Şekil 4.23:** Ham kabuk kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$  nm).



**Şekil 4.24:** Olgun kabuk kudret narı hidrolizatının C18 SPE kartuşunda derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogram ( $\lambda=202$  nm).

**Tablo 4.4:** Çalışılan kudret narı hidrolizatlarının HPLC ile belirlenen  $\beta$ - sitosterol içerikleri.

Kudret Narı Örnekleri	$\beta$ -sitosterol ( $\text{mg g}^{-1}$ )
Toz	0,67
Kapsül	-
Paket	-
Salamura	0,82
Ham Kabuk	0,28
Olgun Kabuk	0,10

Elde edilen sonuçlar C18 kartuşun bu amaçla kullanılabilceğini göstermektedir. Kapsül ve paket örneklerinde bu madde belirlenmemiştir.

Goo ve diğ. [105], 8 farklı kudret narı meyvesinin olgunlaşma sürecine (5-20 gün arası 5'er gün arayla toplanan ürünler) bağlı olarak C vitamini ve şarantin ( $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit) içeriklerini belirlemiş ve karşılaştırmıştır. Çalışmada, bitkinin meyve ve yapraklarının şarantin içerikleri belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Şarantin tayini için örnek hazırlama aşamasında, Pitipanapong ve diğ. [90] tarafından yapılan çalışma referans alınmış ve analizler HPLC ile 205 nm'de alınan kromatogramlar ile gerçekleştirilmiştir. Çalışılan kudret narı meyvelerinin şarantin içeriklerinin 10 gün sonra hasat edilen ürünlerde daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Endonezya'dan temin edilen türlerde en yüksek şarantin değeri, 0,44 mg/100 g kuru örnek, Hindistan'dan temin edilen türlerde ise 0,73 mg/100 g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Ayrıca yaprak ve meyvelerin şarantin içerikleri arasında büyük bir fark olmadığı belirtilmiştir.

#### 4.5.2. Kudret Narı Örneklerinin Moleküler Baskılı Polimer ile Deriştirilmesi

$\beta$ -sitosterol'ü kalıp molekül olarak kullanarak, yığın (bulk) polimerizasyonu yöntemi ile moleküler baskılı polimerler hazırladık. Bu sayede  $\beta$ -sitosterol için seçici davranan bir malzeme elde etmeyi amaçladık.

Tao ve diğ. [97] tarafından yapılan çalışmada verilen, kalıp molekül ( $\beta$ -sitosterol):monomer (MAA): çapraz bağlayıcı (EDMA) oranı (1:13,5:9,4) esas alınarak, 2,2'-azobis (izobutironitril) (AIBN) başlatıcısı ile 1:1 sikloheksanol: dodekanol çözücü karışımında hazırlanan MIP1 ve kalıp molekül içermeyen (baskısız polimer) polimer NIP1 ile yapılan yükleme (geri bağlama) çalışmalarında başarılı bir sonuç alınmadı. Ölçümler HPLC yöntemi kullanılarak yapıldı.

Anabilim Dalı'mızda yürütülen yüksek lisans tez çalışması referans alınarak, 1:4:20, 1:20:4, 2:20:4, 1:47,1:7,2, 1:4:15 gibi farklı  $\beta$ -sitosterol:MAA:EDMA oranlarında, MIP2, MIP3, MIP4, MIP5, MIP6 ve bunların kalıp molekül içermeyen baskısız polimerleri hazırlandı. Ancak yapılan ölçümlerde,  $\beta$ -sitosterol'ün ayrılması ve derişiklendirilmesi açısından uygun bir polimer elde edilemediği görüldü.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kabakgiller familyasının bir üyesi olan Kudret narı (*Momordica charantia* L.), tropik iklim bölgelerinde, gıda ve ilaç olarak kullanılmak üzere yetiştirilen, tek yıllık ve sarmaşık formunda bir bitkidir. Bitkinin, vitaminler, mineraller bakımından zengin olan yaprakları ve olgunlaşmamış meyveleri sebze olarak tüketilmektedir. Olgun meyvelerin tadı acı olduğundan sebze olarak tüketilirken ham hali tercih edilmektedir. Olgun meyveler, tohumlar ve tohum yüzeyinde bulunan etli kısımlarından hazırlanan preparatlar, tıbbi tedaviye destek amacıyla kullanılmaktadır. Bitkinin tüm kısımlarında bulunan etkili maddelerin, hipoglisemik, antiülser, antioksidan, antibiyotik, antidiyabetik, antikanserojen, antimutajenik özellikte olduğu klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Çalışmanın amacı, ülkemizde gıda takviyesi adı altında piyasada satılan ticari kudret narı ürünlerinden (toz, tablet, salamura) fenolik bileşenleri ekstrakte etmek, ekstraktların toplam fenolik içeriklerini, fenolik bileşenlerini ve antioksidan kapasitelerini belirleyerek, ham ve doğal meyve içerikleri ile karşılaştırmaktır. Ayrıca adı geçen örneklerin, kudret narının önemli bir kullanım olanı olan diyabet kontrolünde etkisi olduğu bilinen şarantin ( $\beta$ -sitosteril glukozid ve 5,25-stigmasteril glukozid) açısından da karşılaştırılması ve moleküler baskılı polimer ya da C18 kartuş kullanılarak katı faz ekstraksiyonu (SPE) ile şarantinin ayrılması ve derişiklendirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışılan örneklerden ham ve olgun kudret narı örneklerinin çekirdekleri ayrılıp etli kabuk kısmı freeze dryer ile kurutuldu ve öğütülerek toz haline getirildikten sonra kullanıldı. Salamura örnek dışındaki örnekler toz halinde olduğundan doğrudan kullanıldı. Salamura örnek zeytinyağı içinde olduğundan yağı süzülerek ayrıldı ve kalıntı gölgede, açıkta kurutularak toz haline getirildi. Horax ve diğ. [64] tarafından yapılan çalışmada, çalışılan kudret narı çeşitleri, fırında ve freeze-dryer'da olmak üzere iki farklı şekilde kurutularak analize hazırlanmış ve böylece kurutma yönteminin etkisi incelenmiştir. Çalışılan örneklerin toplam fenolik içerikleri; fırında kurutulanlar için 5,39-8,94 mg klorojenik asit eşdeğeri (KAE)/g kuru madde aralığında, freeze dryer'da kurutulanlar için ise 4,64-8,90 mg KAE/g aralığında belirlenmiştir. Islam ve diğ. [71], dört çeşit kudret narı ile çalışmış ve çeşitli bitoaktif bileşiklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapmıştır. Çalışılan örneklerin etli kabuk kısımlarının antioksidan aktiviteleri; fırında kurutulanlar için %82-87, freeze dryer'da kurutulanlar için ise %83-84



aralığında belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, fırın ya da freeze dryer ile kurutmanın antioksidan aktiviteleri bakımından anlamlı bir fark oluşturmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için en uygun çözücüü belirlemek amacıyla, %100 MeOH ve EtOH ile bunların %80 (v/v) ve %50 (v/v) oranlarında bulunduğu sulu çözeltiler kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi ultrasonik banyoda gerçekleştirildi ve değerlendirmeler UV-görünür bölge spektrumları ile yapıldı. Sonuçta, %80 (v/v) MeOH-su ve %80 (v/v) EtOH-su ile elde edilen ekstraksiyon verimleri diğerlerinden yüksek ve birbirlerine yakın bulundu. Fakat MeOH'ın fenolik bileşikler açısından koruyucu etkisi olduğu [101] dikkate alınarak en uygun çözücü olarak %80 MeOH seçildi (Şekil 4.1-4.3). Tan ve diğ. [62] tarafından yapılan bir çalışmada, dondurulup-kurutulmuş kudret narı örneklerinin, farklı organik çözücülerle (aseton, n-butanol, metanol, etanol) ve suyla hazırlanmış olan ekstraktlarının flavonoid içerikleri  $AlCl_3/NaNO_2$  yöntemi ile [63] belirlenmiş ve sonuçlar rutin eşdeğeri (RE) olarak verilmiştir. Kullanılan çözücülerin ekstraksiyon verimi bakımından sıralaması; aseton (23,17 mg RE/g) > metanol (7,67 mg RE/g) > etanol (5,38 mg RE/g) > n-butanol (1,81 mg RE/g) > su (0,66 mg RE/g) şeklinde belirlenmiştir. Tan ve diğ. [67] tarafından yapılan bir diğer çalışmada, freeze dryer ile kurutulmuş hazırlanmış toz haldeki kudret narının (marketten temin edilmiş Moonlight çeşidi) fenolik bileşenlerinin ekstraksiyon koşulları ve farklı çözücü etkileri incelenmiştir. Çözücü olarak; aseton, butanol, metanol ve %80 (v/v) etanol-su kullanılmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimi %80 (v/v) etanol-su için belirlenmiş olmakla birlikte sulu ekstraktlar ile elde edilmiş olan değerlerin de oldukça yakın olduğu görülmüştür. Kudret narı meyvesinin kloroform ve metanolde hazırlanmış ekstraktlarının toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve toplam flavonoid içerikleri açısından karşılaştırıldığı bir diğer çalışma, Rezaeizadeh ve diğ. [72] tarafından yapılmıştır. Ekstraktların toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE), toplam flavonoid içerikleri ise kuersetin eşdeğeri (KUE) olarak verilmiş olup elde edilen sonuçlar; metanollü ekstrakt için  $10,18 \pm 0,50$  mg GAE/g ekstrakt ve  $7,63 \pm 1,01$  mg KUE/g ekstrakt; kloroformlu ekstrakt için  $0,66 \pm 0,33$  mg GAE/g ekstrakt ve  $0,4 \pm 0,14$  mg KUE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Shan ve diğ. [80], *Momordica charantia* L.'nin flavonoid türü bileşenlerini ekstrakte etmek için, etanol ve etanol ile modifiye edilmiş süperkritik  $CO_2$  kullanmışlar, elde edilen sonuçları klasik çözücü ekstraksiyonu bulguları ile karşılaştırmışlar ve sonuçta, süperkritik  $CO_2$  ekstraksiyonu ile daha kısa sürede, oldukça yüksek verimle ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilebildiğini belirtmişlerdir.

Örneklerin şarantin içeriğini belirleyebilmek için standart maddemiz olmadığından, şarantin bileşenlerinden biri olan  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozid standardı ve bunun hidroliz ürünü olan  $\beta$ -sitosterol standartları kullanılarak en uygun çözücü ve analiz koşulları belirlenmeye çalışıldı.  $\beta$ -sitosterol'un EtOH'da kolaylıkla çözüldüğü görüldü.  $\beta$ -sitosterol'un örneklerde şeker bağlı yapısı halinde (glukozid) bulunduğu bilindiğinden, örneklerin ekstraksiyonunda %80 EtOH kullanımı tercih edildi. Fakat  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozid standardını çözmek için %80 EtOH yeterli olmadı ve DMSO (dimetil sülfoksit) çözücüsü ilave edilerek çözelti hazırlanabildi. Değerlendirmeler HPLC analizleri yardımıyla yapıldı. Desai ve Tatke [58] tarafından yapılan bir araştırmada şarantin kapsamlı olarak ele alınmıştır. Bu maddenin eşdeğer miktarlarda stigmasterol glukozid ve  $\beta$ -sitosterol glukozid'ten oluştuğu ve insüline eşdeğer kan şekeri düşürücü etkisi olduğu belirtilmiştir. Pitipanapong ve diğ. [90] farklı çözücüler (aseton, diklorometan, etanol ve su), farklı oranlarda etanol-su karışımları kullanımının ve sıcaklığın ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerini incelemiş, şarantin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün etanol olduğu ve sıcaklık artışıyla ekstraksiyon veriminin arttığını belirtmiştir.

Kudret narı örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri, spektrofotometrik CUPRAC ve ABTS/HRP yöntemleri ile toplam fenolik içerikleri ise Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Her iki yöntemle belirlenen en yüksek toplam antioksidan kapasite değerleri ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ), kapsül ve paket örneklerine ait olup sırasıyla;  $140,8 \pm 0,9$  ve  $129,6 \pm 2,3$  (CUPRAC),  $143,6 \pm 3,3$  ve  $126,1 \pm 4,0$  (ABTS/HRP) olarak bulundu. Fenolik bileşen içerikleri bakımından yapılan sıralama; ham kabuk > kapsül > paket > toz > salamura > olgun kabuk şeklindedir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.7). Ham kabuğun toplam fenol içeriği olgun kabuğa ve diğer örneklere göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu kadar yüksek fenolik içeriğine rağmen TAK değeri düşük bulunmuştur. Bu durum, Folin yöntemine cevap veren, indirgen olan bütün maddelerin antioksidan olmadığı şeklinde açıklanabilir [45]. Kubola ve Siriamornpun [103] tarafından yapılan çalışmada, kuru kudret narı örneğinin metanollü ekstraktının, Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiş TFİ değerleri; yeşil meyve için  $324 \pm 1,63$ , olgun meyve için ise  $224 \pm 0,86$  mg GAE/g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda bulunan değerler ise ham kabuk için  $193,2 \pm 6,2$ , olgun kabuk için  $14,6 \pm 0,6$   $\mu\text{mol GAE g}^{-1}$ 'dir. Aynı çalışmada TFİ değerlerinin, toplam antioksidan kapasite tayininde kullanılmış olan FRAP yöntemi bulguları ile daha uyumlu olduğu ( $R^2 = 0.948$ ) ifade edilmiştir. FRAP yöntemi ile belirlenmiş TAK değerleri; yeşil meyve için  $43,8 \pm 0,008$ , olgun meyve için  $9,41 \pm 0,007$   $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$  kuru

örnek olarak verilmiştir. Bu değerler bizim CUPRAC bulgularımızla (sırasıyla,  $42,5 \pm 2,2$ ;  $8,7 \pm 0,3 \mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) uyumludur.

Kudret narının antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler dışında yine antioksidan olduğu bilinen, suda çözünen, C vitamini ve lipofilik özellikte olan E vitamini, karotenoidler (karoten, ksantofiller ve zeaksantin) gibi bileşikler içerdiği de bilinmektedir [104]. Ham kudret narının TAK değerinin daha yüksek olması, olgunlaşma sürecinde C vitamini içeriğinde değişim olması ve karotenoid içeriğinin artması (turuncu renk oluşumu) ile açıklanabilir. Goo ve diğ. [105] tarafından yapılan çalışmada olgunlaşma aşamasına bağlı olarak C vitamini içeriğindeki değişim belirlenmiş ve rapor edilmiştir. Meyve oluştuktan sonra, 5-20 gün arasında 5'er gün arayla örnekler toplanmış ve C vitamini tayini yapılmıştır. Belirlenen C vitamini içerikleri sırasıyla; 2093, 2344, 1938 ve 1767 mg/100 g kuru örnek şeklindedir. C vitamininin, 10 gün sonra toplanan meyvede daha yüksek olduğu görülmüştür. Biz çalışmamızda örneklerin C vitamini ve karotenoid içeriklerini belirlemediğimiz için toplam antioksidan kapasiteye katkılarını değerlendiremedik. Salamura örneğinin TAK değeri de diğer örneklerle göre düşük bulunmuştur. Bu durum, salamuranın, olgun meyvenin zeytinyağında bekletilmesi sonucu hazırlanması ve dolayısıyla başta karotenoidler olmak üzere lipofilik bileşiklerin yağa geçmesi ile açıklanabilir.

Türkiye'den (Adana) temin edilen kudret narı meyvesinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin incelendiği bir çalışmada [81] olgunlaşmamış ve olgun meyvelerin antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla, Fosfomolibden [82], DPPH [69,77,83], Fe(III) iyonu indirgeme gücü ve CUPRAC [32,84,85] yöntemleri kullanılmış, toplam fenol içerikleri ise Folin-Ciocalteu [86] yöntemiyle belirlenmiştir. Olgun meyve ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği 23,45 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Olgun meyve ekstraktının fosfomolibden yöntemi ile belirlenmiş antioksidan kapasitesi, 81,46 mg AAE (Askorbik asit eşdeğeri)/g'dır. Değer verilmemekle birlikte, olgunlaşmamış meyvenin bu yöntemle belirlenmiş antioksidan kapasitesinin daha düşük bulunduğu belirtilmiştir. 500-2000  $\mu\text{g/mL}$  derişimde hazırlanmış ekstraktlara DPPH yöntemi uygulanmış, olgun ve olgunlaşmamış meyvelerin 2000  $\mu\text{g/mL}$  derişimdeki ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri; %45,95 ve %15,49 olarak belirlenmiştir. Aynı yöntemle 200  $\mu\text{g/mL}$  derişimdeki BHT için belirlenmiş antioksidan aktivite değeri %91,19'dur. Çalışmada, Fe(III) iyonu indirgeyici güç (200-1000  $\mu\text{g/mL}$  derişim aralığında) ve CUPRAC (100-800  $\mu\text{g/mL}$  derişim aralığında) yöntemlerine ait bulgular

grafiksel olarak verilmiş ve çalışılan en yüksek derişimler için yine olgun meyve ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalarda karşılaştırma amacıyla 31,25 µg/mL derişiminde BHT çözeltileri kullanılmış ve absorbans değerleri karşılaştırılmıştır.

Kudret narının antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler içerdiği çok sayıda araştırmacı tarafından belirtilmiştir [45,64,67,71,102,103]. Bu bileşiklerin miktarlarının, meyvenin çeşidine, hasat zamanına, çevresel faktörlere (sıcaklık, ışık vb.), yetiştirme koşullarına (serada, tarlada, gübre kullanarak vb.) bağlı olarak farklılıklar gösterdiği ifade edilmiştir. Farklı çalışmalarda, kudret narı meyvesinde belirlenmiş fenolik bileşikler; gallik asit, gentsik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit ve klorojenik asit olarak belirtilmiştir [45].

Çalışılan örneklerin HPLC analizleri sonucunda, mevcut standart maddelerin kromatogramlarından ve ayrılan bileşenlerin fotodiyot dizisi (PDA) dedektörü ile alınan spektrumlarından yararlanarak hangi antioksidan bileşiklerin toplam antioksidan kapasiteye katkıları olduğu belirlendi. Bütün örneklerde belirlenen antioksidan bileşikler; gallik asit, gentsik asit, kateşin, vanilik asit, klorojenik asit, şirincik asit, p-kumarik asit, rutin, ve kuersetin'dir (Şekil 4.9-4.14). Bunların miktarları örneğe bağlı olarak değişmektedir. Diğer çalışmalardan farklı olarak çalıştığımız örneklerde rutin ve kuersetin belirlenmiştir.

Daha önce yapılmış olan çalışmalardan farklı olarak, HPLC yöntemiyle belirlemiş olduğumuz fenolik bileşenlerin, spektrofotometrik CUPRAC yöntemiyle belirlenmiş olan TAK ( $\mu\text{mol TRE g}^{-1}$ ) değerine katkısını HPLC-CUPRAC yöntemiyle belirledik (Tablo 4.3). En yüksek % değerleri, ham kabuk ve olgun kabuk için belirlenmiş olup sırasıyla; 55,3 ve 28,7'dir.

Kudret narı ve ticari ürünlerinin fenolik içerikleri ve antioksidan kapasitelerinin karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışılan kudret narı örneklerinden, toz, paket, salamura, ham kabuk ve olgun kabuk ekstrakt hidrolizatlarının C18 kartuş kullanılarak derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 4.21-4.25'te verilmiştir. Elüsyon çözeltisi olarak EtOH kullanılmıştır. Örneklerin, C18 kartuş ile derişiklendirilmesi sonucu elde edilen kromatogramlarından belirlenen,  $\beta$ -sitosterol içerikleri ( $\text{mg g}^{-1}$ ) Tablo 4.4'de görölmektedir. Elde edilen sonuçlar C<sub>18</sub> kartuşun bu amaçla

kullanılabileceğini göstermektedir. Kapsül ve paket örneklerinde bu madde belirlenememiştir. En yüksek  $\beta$ -sitosterol değeri, 0,82 mg g<sup>-1</sup> olarak salamura örnekte belirlenmiştir.

Goo ve diğ. [105], 8 farklı kudret narı meyvesinin olgunlaşma sürecine bağlı olarak C vitamini ve şarantin ( $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit) içeriklerini belirlemiş ve karşılaştırmıştır. Çalışmada, bitkinin meyve ve yapraklarının şarantin içerikleri belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Şarantin tayini için örnek hazırlama aşamasında, Pitipanapong ve diğ. [90] tarafından yapılan çalışma referans alınmış ve analizler HPLC ile 205 nm'de alınan kromatogramlar ile gerçekleştirilmiştir. Çalışılan kudret narı meyvelerinin şarantin içeriklerinin 10 gün sonra hasat edilen ürünlerde daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Endonezya'dan temin edilen türlerde en yüksek şarantin değeri, 0,44 mg/100 g kuru örnek, Hindistan'dan temin edilen türlerde ise 0,73 mg/100 g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Ayrıca yaprak ve meyvelerin şarantin içerikleri arasında büyük bir fark olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda sonuçlar, mg  $\beta$ -sitosterol g<sup>-1</sup> olarak 0,1-0,82 aralığında bulunmuştur.

Gıdalara koruyucu olarak eklenen sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilecek doğal antioksidanları elde edebileceğimiz kaynakları belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Ayrıca, diyabet tedavisinde etkili bileşenler içerdiği bazı araştırmalar ve hayvan denemeleriyle belirlenmiş olan doğal bir kaynağı değerlendirmek ve güvenilir bilgiler sağlamak anlamında bilimsel araştırmalar büyük bir önem taşımaktadır. Çalışmamız, ülkemizde üretimi yapılan kudret narının ve bundan hazırlanmış bazı ticari ürünlerin nitelik ve niceliklerinin belirlenmesi anlamında yapılmış ilk çalışma olup bu ve benzeri ürünlerin değerlendirilmesi açısından bulguların önemli olduğu düşünülmektedir. Bu bilgiler, insan sağlığını yakından ilgilendiren bu ve benzeri ürünlerin kullanımı konusunda dikkat çekmek ve bilgilendirmek açısından faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1]. Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B., 2010, Antioxidants: Molecules, medicines, and myths, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393, 561-564.
- [2]. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999, Free radicals in Biology and medicine, 3rd ed., Oxford University Press, İngiltere.
- [3]. Miller, D.M., Buettner, G.R., Aust, S.D., 1990, Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions, *Free Radical Biology & Medicine*, 8, 95-109.
- [4]. Kade, I.J., 2008, Interactions of organodiselenides with sülphydryl groups at the active sites of some thiol containing proteins – in vitro and in vivo mechanistic studies in mammalian models of diabetes, Doctor of philosophy thesis, Universidade Federal de Santa Maria.
- [5]. Gök, V., Kayacıer, A., Telli, R., 2006, Hayvansal ve Mikrobiyal Doğal Antioksidanlar, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 35-40.
- [6]. Aitken, P., Breese, G., Dedek, F., Edwards, F., Espanol, M., Larkman, P., 1995, Preparative methods for brain slices: a discussion, *Journal of Neuroscience Methods*, 59, 139-49.
- [7]. Arnarson, A., 2016, Antioxidants explained in human terms, <https://authoritynutrition.com/antioxidants-explained/>[Ziyaret tarihi: 10 Temmuz 2017].
- [8]. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K., 1995, Food Antioxidants: technological, toxicological and health perspectives, 1st ed., Madison Avenue, New York, ISBN: 0-8247-9351-X.
- [9]. Kondakçı, E., 2011, Polifenolik bileşiklerin pro-oksidan aktivitelerinin ölçümü için yeni bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [10]. Hanif, S., Shamim, U., Ulah, M.F., Azmi, A.S., Bhat, S.H., Hadia, S.M., 2008, The anthocyanidin delphinidin mobilizes endogenous copper ions from human lymphocytes leading to oxidative degradation of cellular DNA, *Toxicology*, 249, 19-25.
- [11]. Handique, J.G., Baruah, J.B., 2002, Polyphenolic compounds: an overview, *Reactive & Functional Polymers*, 52, 163-188.
- [12]. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933-956.
- [13]. Malesev, D., Kuntic, V., 2007, Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(10), 921-939.
- [14]. Cadenas, E. and Packer, L., 2002, Handbook of Antioxidants, 2nd ed., Marcel Dekker, New York-Basel, ISBN:0-8247-0547-5.

- [15]. Ferrer J., Austin M., Stewart C. J., Noel J., 2008, Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, 356–370.
- [16]. Cook, N.C., Samman, S., 1996, Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- [17]. Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000, Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- [18]. Keskin, H., Erkmén G., 1987, Besin Kimyası, Beşinci basım, Güryay Matbaacılık, İstanbul.
- [19]. Wallace, T.C., Giusti, M.M., 2015, Anthocyanins, *Advances in Nutrition*, 6, 620-622.
- [20]. Abu-Amsha, R., Croft, K.D., Puddey, I.B., Proudfoot, J.M., Beilin, L.J., 1996, Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine, *Clinical Science*, 91, 449-458.
- [21]. Heller, W., Forkmann, G., 1994, Biosynthesis of flavonoids, The Flavonoids, Advances in Research since 1986, In: Harborne J.B. (ed.), London: Chapman & Hall, 499–535.
- [22]. Wallace, G., Fry, S.C., 1994, Phenolic components of the plant cell wall, *International Review of Cytology*, 151, 229-267.
- [23]. Spanos, G.A., Wrolstad, R.E., 1992, Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage: A review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9), 1478-1487.
- [24]. Kahnt, G., 1967, Trans-cis-equilibrium of hydroxycinnamic acids during irradiation of aqueous solutions at different pH, *Phytochemistry*, 6(5), 755-758.
- [25]. Herrmann, K., 1989, Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods, *Critical Review Food Science and Nutrition*, 28(4), 315-347.
- [26]. Kasal, A., 2010, Structure and nomenclature of steroids, In: Makin, H.L.J. and Gower, D.B. (Eds.), *Steroid Analysis*, second ed., Springer, Dordrecht, ISBN: 978-1-4020-9774-4, 1-25.
- [27]. <https://www.foodelphi.com/steroller-2/> [Ziyaret tarihi: 6 Temmuz 2017]
- [28]. Bradford, P.G. and Awad, A.B., Phytosterols as anticancer compounds, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 161-170.
- [29]. Moghadasian, M.H., Frohlich, J.J., 1999, Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence, *The American Journal of Medicine*, 107, 588-594.

- [30]. Moreau, A.R., Whitaker, B.D., Hicks, K.B., 2002, Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses, *Progress in Lipid Research*, 41, 457-500.
- [31]. Kritchevsky, D., Chen, S.C., 2005, Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review, *Nutrition Research*, 25, 413-428.
- [32]. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26),7970-7981.
- [33]. Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A., 1993, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412.
- [34]. Miller, N.J., Rice-Evans, C., 1994, Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods in Enzymology*, 234, 279-293.
- [35]. Girotti, S., Ferri, E., Maccagnani, L., Budini, R., Bianchi, G., 2002, Plasma antioxidant capacity determination: Comparative evaluation of chemiluminescent and spectrophotometric assays, *Talanta*, 56(3), 407-414.
- [36]. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- [37]. Cano, A., Hernandez-Ruiz, J., Garcia-Canovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B., 1998, An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material, *Phytochemical Analysis*, 9(4), 196-202.
- [38]. Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., 1998, Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology, *Recent Research Developments in Agricultural & Food Chemistry*, 2, 893-905.
- [39]. Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., 2001, The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chemistry*, 73(2), 239-244.
- [40]. Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- [41]. Singleton, V.L., Orthoper, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent, *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [42]. Taylor, L., 2002, Bitter Melon, in *Herbal Secrets of the Rainforest*, 2nd edition, Sage Press, Inc., Austin, ABD.
- [43]. Joseph, B., Jini, D., 2013, Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3, 93-102.



- [44]. Elibal, B., 2009, Kanola yağından kudret narı yağ asitleri (klna) ile yapılandırılmış yağ üretimi ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [45]. Tan, S.P., Kha, T.C., Parks, S.E., Roach, P.D., 2016, Bitter melon (*Momordica charantia* L.) bioactive composition and health benefits: A review, *Food Reviews International*, 32, 181-202.
- [46]. Braca, A., Siciliano, T., D'Arrigo, M., Germano, M. P., 2007, Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil, *Fitoterapia*, 79, 123-125.
- [47]. Patel, R., Mahobia, N., Upwar, N., Waseem, N., Talaviya, H., Patel, Z., 2010, Analgesic and antipyretic activities of *Momordica charantia* Linn. Fruits, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1(4), 415-418.
- [48]. Singh, J., Cumming, E., Manoharan, G., Kalasz, H., Adeghate, E., 2011, Medicinal chemistry of the anti-diabetic effects of *Momordica charantia*: Active constituents and modes of actions. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 5, 70-77.
- [49]. Semiz, A., Şen, A., 2007, Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica charantia* L. (bitter melon) fruit extract, *African Journal of Biotechnology*, 6(3), 273-277.
- [50]. Manabe, M., Takenaka, R., Nakasa, T., Okinaka, O., 2003, Induction of anti-inflammatory responses by dietary *Momordica charantia* L. (Bitter Gourd), *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67(12), 2512-2517.
- [51]. Kumar, D.S., Sharathnath, K.V., Yogeswaran, P., Harani, A., Sudhakar, K., Sudha, P., Banji, D., 2010, A medicinal potency of *Momordica charantia*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1(2), 95-100.
- [52]. Agrawal, R.C., Beohar, T., 2010, Chemopreventive and anticarcinogenic effects of *Momordica charantia* extract. Asian Pasifik, *Journal of Cancer Prevention*, 11, 371-374.
- [53]. Alam, S., Asad, M., Asdaq, S.M.B., Prasad, V.S., 2009, Antiulcer activity of methanolic extract of *Momordica charantia* L. in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 464-469.
- [54]. Ray, R.B., Raychoudhuri, A., Steele, R., Nerurkar, P., 2010, Bitter Melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis, *Cancer Research*, 70(5), 1925-1931.
- [55]. Sankaranarayanan, J., Jolly, C.I., 1993, Phytochemical, antibacterial, and pharmacological investigations on *Momordica charantia* Linn., *Embllica officinalis* Gaertn. and *Curcuma longa* Linn. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 55(1), 6-13.
- [56]. Leung, L., Birthwhistle, R., 2009, Kotecha, J., Hannah, S., Cuthbertson, S., Anti-diabetic and hypoglycaemic effects of *Momordica charantia* (bitter melon): a mini review. *British Journal of Nutrition*, 102, 1703-1708.

- [57]. Harinantenaina, L., Tanaka, M., Takaoka, S., Oda, M., Mogami, O., Uchida, M., Asakawa, Y., 2006, *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 54(7), 1017-1021.
- [58]. Desai, S., Tatke, P., 2015, Charantin: An important lead compound from *Momordica charantia* for the treatment of diabetes, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(6),163-166.
- [59]. Anilakumar, K.R., Kumar, G.P., Ilaiyaraja, N., 2015, Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*, *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), 75-83.
- [60]. Gül, K., 2015, Diabetes Mellitus sınıflama, tanı ve tarama testlerine genel bakış, *KSÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(2), 12-16.
- [61]. Temizer, H., Şener, B., 1988, Antidiyabetik Etkili Doğal Kaynaklar, *Marmara Üniversitesi Ecz. Derg.*, 4 (2), 97-112.
- [62]. Tan, S.P., Parks, S.E., Stathopoulos, C.E., Roach, P.D., 2014, Extraction of flavonoids from bitter melon, *Food and Nutrition Sciences*, 5, 458-465.
- [63]. Wu, S.J., Ng, L.T., 2008, Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *Abbreviata* Ser.) in Taiwan, *LWT-Food Science and Technology*, 41(2), 323-330.
- [64]. Horax, R., Hettiarachchy, N., Shahidul, I., 2005, Total phenolic contents and phenolic acid constituents in 4 varieties of bitter melons (*Momordica charantia*) and antioxidant activities of their extracts, *Journal of Food Science*, 70 (4), C275-C280.
- [65]. Cai, R., Hettiarachchy, N.S., Jalaluddin, M., 2003, High-performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpeas, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 1623-1627.
- [66]. Heinonen, I.M., Lehtonen, P.J., Hopia, A.I., 1998, Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, 25-31.
- [67]. Tan, S.P., Stathopoulos, C., Parks, S., Roach, P., 2014, An optimised aqueous extract of phenolic compounds from bitter melon with high antioxidant capacity, *Antioxidants*, 3, 814-829.
- [68]. Cicco, N., Lanorte, M.T., Paraggio, M., Viggiano, M., Lattanzio, V., 2009, A reproducible, rapid and inexpensive folin-ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal*, 91, 107–110.
- [69]. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- [70]. Benzie, I.F.F., Strain, J.J, 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70–76.

- [71]. Islam, S., Jalaluddin, M., Hettiarachchy N.S., 2011, Bio-active compounds of bitter melon genotypes (*Momordica charantia* L.) in relation to their physiological functions, *Functional Foods in Health and Disease*, 2:61-74.
- [72]. Rezaeizadeh, A., Zuki, A.B.Z., Abdollahi, M., Goh, Y.M., Noordin, M.M., Hamid, M., Azmi, T.I., 2011, Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*, *African Journal of Biotechnology*, 10(24), 4932-4940.
- [73]. Saha, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., Hamzah, A.S., Khozirah, S., Khamis, S., Syahida, A., 2004, Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 92 (2-3), 263-267.
- [74]. Gülçin, İ., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y., 2007, Determination of antioxidant and antiradical scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum*) assayed by different methodologies, *Phytotherapy Research*, 21(4), 354-361.
- [75]. Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Taoubi, K., Köksal, E., 2009, Antioxidant secoiridoids from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.), *Wood Science and Technology*, 43 (3-4), 195-212.
- [76]. Elmastas, M., Isildak O., Turkecul, I., Temur, N., 2007, Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 337-345.
- [77]. Jain, A., Soni, M., Deb, L., Jain, A., Rout, S., Gupta, V., Krishna, K., 2008, Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanolic and aqueous extracts of *Momordica dioica* Roxb. leaves, *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 61-66.
- [78]. Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y., 2003, Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums, *Food Chemistry*, 81, 321-326.
- [79]. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Bekhradnia A.R., 2008, Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran, *African Journal of Biotechnology*, 7(18), 3188-3192.
- [80]. Shan, B., Xie, J.-H., Zhu, J.-H., Peng, Y., 2012, Ethanol modified supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from *Momordica charantia* L. and its antioxidant activity, *Food and Bioproducts Processing*, 90, 579-587.
- [81]. Ozusaglam, M.A., Karakoca, K., 2013, Antimicrobial and antioxidant activities of *Momordica charantia* from Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 12(13), 1548-1558.
- [82]. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.

- [83]. Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Harmandar M., 2008, Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays, *Bioresource Technology*, 99, 4239-4246.
- [84]. Apak, R., Güclü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erçağ, E., 2006, The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57, 292-304.
- [85]. Özyürek, M., Güclü, K., Tütem, E., Başkan, K.S., Erçağ, E., Çelik, S.E., Baki, S., Yıldız, L., Karaman, Ş., Apak, R., 2011, A comprehensive review of CUPRAC methodology, *Analytical Methods*, 3, 2439-2453.
- [86]. Slinkard, K., Singleton V.L., 1977, Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- [87]. Altınterim, B., 2012, Bitter melon (*Momordica charantia*) and the effects of diabetes disease, *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(2), 65-69.
- [88]. Kumar, D.S., Sharathnath, K.V., Yogeswaran, P., Harani, A., Sudhakar, K., Sudha, P., Banji, D., 2010, A medicinal potency of *Momordica charantia*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1(2), 95-100.
- [89]. Lolitkar, M.M., Rajarama Rao, M.R., 1966, Pharmacology of a hypoglycaemic principles isolated from the fruits of *Momordica charantia* Linn., *The Indian Journal of Pharmacy*, 28(5), 129-133.
- [90]. Pitipanapong, J., Chitprasert, S., Goto, M., Jiratchariyakul, W., Sasaki, M., Shotipruk, A., 2007, New approach for extraction of charantin from *Momordica Charantia* with pressurized liquid extraction, *Separation and Purification Technology*, 52, 416-422.
- [91]. Parkash, A., Ng, T.B., Tso, W.W., 2002, Purification and characterization of charantin, a napin like ribosome-inactivating peptide from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds, *The Journal of Peptide Research*, 59(5), 197-202.
- [92]. Han, C., Wang, J., 2009, Optimization of conditions for charantin extraction in PEG/salt aqueous two-phase system using response surface methodology, *The Open Complementary Medicine Journal*, 1, 46-50.
- [93]. Patel, S., Patel, T., Parmar, K., Bhatt Y., Patel, Y., Patel, N.M., 2010, Isolation, characterization and antimicrobial activity of charantin from *Momordica charantia* Linn. fruit, *International Journal of Drug Development and Research*, 2(3), 629-634.
- [94]. Thomas, C.T., Padmanabha Reddy, Y., Devanna, N., 2012, Impact of cooking on charantin estimated from bitter melon fruits using high performance thin layer chromatography, *International Research Journal of Pharmacy*, 2(6), 149-154.
- [95]. Ahamad, J., Amin, S., Mir, S.R., 2014, Development and validation of HPTLC densitometric method for estimation of charantin in *Momordica charantia* fruits and herbal formulation, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 172-176.

- [96]. Karaman Ersoy, Ş., 2014, Fenolik Bileşiklerin Seçimli Ayrımı ve Tayininde Yeni Malzemelerden Yararlanılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [97]. Tao, Z., Changhwan, Y., Kyungha, R., 2011, Solid-phase extraction of  $\beta$ -sitosterol from *Oldenlandia diffusa* using molecular imprinting polymer, *Chinese Journal of Chemistry*, 29, 1246-1250.
- [98]. Yıldız, L., Sözgen Başkan, K., Tütem, E., Apak, R., 2008, Combined HPLC–CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay of parsley, celery leaves, and nettle, *Talanta*, 77, 304–313.
- [99]. Karaman Ş., Tütem E., Sözgen Başkan K., Apak, R., 2010, Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay, *Food Chemistry*, 120, 1201–1209.
- [100]. Karaman Ş., Tütem E., Sözgen Başkan K., Apak R., 2013, Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 867-875.
- [101]. Harborne, J.B., 1998, *Phytochemical methods; a guide to modern techniques of plant analysis*, Chapman and Hall, London, ISBN 13: 978-0-412-57260-9.
- [102]. Budrat, P., Shotipruk, A., 2009, Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica Charantia*) by subcritical water extraction. *Separation and Purification Technology*, 66, 125-129.
- [103]. Kubola, J.; Siriamornpun, S., 2008, Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, 110, 881–890.
- [104]. Tan, E.S., Abdullah, A., Maskat, M.Y., 2013, Effect of drying methods on total antioxidant capacity of bitter gourd (*Momordica charantia*) fruit, *AIP Conference Proceedings*, 1571, 710-716.
- [105]. Goo, K.S., Ashari, S., Basuki, N., Sugiharto, A.N., 2016, The bitter gourd *Momordica charantia* L.: Morphological aspects, charantin and vitamin C contents. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 9(10), 76-81.

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sercan TÜRKOĞLU
Doğum Yeri	Bakırköy/İSTANBUL
Doğum Tarihi	01.08.1987
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0533 290 90 02
E-Posta Adresi	sercan_turkoglu@yahoo.com.tr
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Cumhuriyet Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	15.07.2010

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Mühendislik Fakültesi
Anabilim Dalı	Kimya A.B.D.
Programı	Analitik Kimya
Mezuniyet Tarihi	05.01.2018

Makale ve Bildiriler	
Sözgen Başkan K., Türkoğlu S., Tütem E., Apak M.R., "Ticari Kudret Narı Ürünlerinin Antioksidan Kapasitelerinin, Fenolik İçeriklerinin ve Antidiyabetik Bileşenlerinin Karşılaştırılması", <i>7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş, Türkiye</i> , 1-5 Eylül 2014, 265.	
Akyüz E., Türkoğlu S., Sözgen Başkan K., Tütem E., Apak M.R., "Ham ve Olgun Kudret Narı ile Ticari Ürünlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması", <i>XIV. Ulusal Spektroskopi Kongresi, Elazığ, Türkiye</i> , 29-31 Mayıs 2015, 20.	