

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA BİLİMLERİ BİLİM DALI**

**ARONYA (*ARONIA MELANOCARPA* SP.VİKİNG) MEYVESİ BAZLI ÇAY
VE NUTRASÖTİK ÜRÜNLERDE FENOLİK ANTIOKSİDANLARIN
DETAYLI TAYİNİ: ANTİPROLİFERATİF VE ANTİKARSİNOJENİK
GIDATAKVİYELERİ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

KURTULUŞ BAKIR

DANIŞMAN

DOÇ.DR. ÖZLEM TOKUŞOĞLU



2019-MANİSA

**Kurtuluş
BAKIR**

**ARONYA (*ARONIA MELANOCARPA* SP. VIKING) MEYVESİ BAZLI ÇAY VE
NUTRASÖTİK ÜRÜNLERDE FENOLİK ANTİOKSİDANLARIN DETAYLI TAYİNİ:
ANTİPROLİFERATİF VE ANTİKARSİNOJENİK GİDATAKVİYELERİ OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

2019

TEZ ONAYI

Kurtuluş BAKIR tarafından hazırlanan " Aronya (*Aronia Melanocarpa* Sp.Viking) Meyvesi Bazlı Çay Ve Nutrasötik Ürünlerde Fenolik Antioksidanların Detaylı Tayini: Antiproliferatif Ve Antikarsinojenik Gıda takviyeleri Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması"adlı tez çalışması 28/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Nevzat ARTIK
Ankara Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Yüksel ABALI
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisli Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Kurtuluş BAKIR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
KISALTMALAR	IV
ŞEKİLLER.....	V
TABLolar	VIII
TEŞEKKÜR.....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Aronya Meyvesi: Botaniksel ve Agronomik Karakteristikleri	3
2.2.Aronya Meyvesinin Karakteristik Kimyasal Kompozisyonu	6
2.2.1. Kuru Madde.....	7
2.2.2. Kül.....	7
2.2.3. Şeker.....	7
2.2.4. Yağ	8
2.2.5. Protein	8
2.2.6. Mineraller ve Vitaminler	9
2.2.7. Ham Lif	9
2.2.8. Organik Asitler	10
2.2.9. Aroma Bileşenleri	11
2.3.Fenolik bileşikler	14
2.3.1. Flavanoidler ve Diğer Polifenolik Bileşikler	15
2.3.2. Aronya Meyvesinde Fenolik Bileşikleri	16
2.3.3. Aronya Meyvesinde Yer Alan Bazı Önemli Polifenollerin Özellikleri.....	24
2.4.Aronya Meyvelerinin Potansiyel Genel Sağlık Etkileri	26
2.4.1. Antioksidan Etkiler	26
2.4.2. Kanser Hücrelerinin Çoğalmasının Önlenmesi.....	28
2.4.3. Antimutajenik Etkiler.....	29
2.4.4. Karaciğer Koruyucu Etkiler	29
2.4.5. Kalbi Koruyan Etkiler	30
2.4.6. Antidiyabetik Etkiler	31
2.5. Kanser Olgusu ve Antiproliferasyon	31
2.5.1. Sitotoksite ve Hücre Canlılığı	32
2.6. Aronya Meyvesi ve Kanser Araştırmaları	33
2.7. Meme Kanseri (Meme CA) Olgusu.....	37
2.8. Meme Kanseri Kullarılan Mevcut Kemoterapötik İlaçlar ve Alternatif Olarak Kullarılan Doğal Bitkiler Hususunda Yapılan Çalışmalar.....	39
2.9. Meme Kanseri Tedavi Sürecinde Konvansiyonel Protokollü İlaçlar Yanısıra Kullarılan Alanı Bulan Bitkisel Çaylar.....	41
2.9.1. Yeşil Çay (Green Tea) Çalışmaları	41
2.9.2. Ekinezya Çayı (Echinacea spp.)	42
2.9.3. Panax Ginseng Çayı	43
2.10. Aronya Sağlık Ürünleri ve Aronya Bazlı Katma Değerli Ürünlerin Geliştirilmesinin Önemi	43
2.10.1. Çalışmamızın Amacı	46

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER	47
3.1. Materyal	47
3.1.1. Araştırma Materyali	47
3.1.1.1. Türk Aronyası Yetiştirilmesi	48
3.1.1.2. Çeşit Özellikleri	48
3.2. Aronya Ürünleri Üretimi	49
3.2.1. Aronya Tozu	50
3.2.2. Aronya Çay Üretimi	51
3.2.3. Özel Nutrasötik Farmasötik Takviye Ürün	55
3.3. Kimyasal Malzemeler	55
3.4. Temel Analizler	56
3.4.1. Brix Analizi	56
3.4.2. pH Analizi	56
3.4.3. Nem Analizi	57
3.4.4. Toplam Kül Analizi	57
3.4.5. Toplam Şeker Analizi	57
3.4.6. Duyusal Analiz	57
3.5. Toplam Fenolik Madde Analizi	60
3.6. Kromatografik Analizler	60
3.6.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizleri	60
3.6.1.1. Fenolik Asitler ve Kateşin Bileşikleri YanYana Tayin- HPLC Analizleri	60
3.6.1.2. Flavonollerin Analizleri	61
3.6.2. LC-QTOF-MS Metot	62
3.6.3. Toplam Antosiyanin Analizi	63
3.6.4. Antioksidan Aktivite Analizleri	64
3.6.5. Organik Asit Analizi	65
3.7. Hücre Kültürü Analizleri	65
3.7.1. Hücre Sitotoksitesi Yapılacak Materyalin Muamelesi	65
3.7.2. Hücre Kültürü ve Ekstre Konsantrasyonlarının Uygulanması	66
3.7.3. Sitotoksite ve Antiproliferasyon Belirleme- MTT Metodu	66
3.8. İstatiksel Analiz	67
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	68
4.1. Temel Kalite Analizleri	68
4.1.1. Brix ve pH Analizi	68
4.1.2. Nem Analizi	68
4.1.3. Kül Analizi	69
4.1.4. Toplam Şeker Analizi	70
4.1.5. Duyusal Analiz	71
4.2. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarları	74
4.3. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki Toplam Antosiyanin (TA) Miktarları	76
4.4. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki DPPH Antioksidan Aktivite (AA) Miktarlarının Tayini	78
4.5. Organik Asit Analizi	80
4.6. Kromatografik Analizler; Fenolik Madde Profili	83
4.6.1. Fenolik Asitlerin Analizleri	83
4.6.2. Flavanoller ve Glikozidleri	95
4.6.3. Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi Analizleri (Q-TOFF-MS Analizleri)	102

4.7.Hücre Sitotoksitesi Analizleri	126
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	133
KAYNAKLAR	137
EKLER	155
EK A. Etik Kurul Raporu	155
EK B. Aronya Meyvesi Viking Türüne Ait Tescil Belgesi	156
ÖZGEÇMİŞ	157



KISALTMALAR

KISALTMALAR

AA

C

ChA

CA

CY

CyE

dk

DP

EGC

ER

FRAB

GAE

g

kg

KM

LPS

mg

ORAC

Ort.

PC

Pel

PR

Quer

s

TEAC

TE

TFM

VA

YM

AÇIKLAMALAR

DPPH Antioksidan Aktivite

Kateşin

Klorogenik Asit

Kolon Kanseri

Siyanidin

Siyanidin Eşdeğeri

Dakika

Polerimerizasyon Derecesi

Epigallokateşin

Östrojen Reseptörü

Ferrik İyon Azaltıcı Antioksidan Gücü

Gallik Asit Eşdeğeri

Gram

Kilogram

Kuru Madde

Akut Akciğer Hasarlı Lipopolisakarit

Miligram

Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi

Ortalama

Prosiyanidinler

Pelergonidin

Progesterone Reseptörü

Kuersetin

Saniye

Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi

Mikromal Troloks Eşdeğer

Toplam Fenolik Madde

Vanilik Asit

Yaş Madde

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1 Aronya (chokeberry) [Aronia melanocarpa (Michx.) Ell.] Meyvesi	3
Şekil 2. Aronya Yetiştirme Alanından Görüntüler	4
Şekil 3. Aronya Meyve Tutumunda Şemsiye Görünüm	6
Şekil 4. Aronya Meyve Tutumunda Şemsiye Görünüm	14
Şekil 5. Gıdalarda ve Yenilebilir Bitkilerde Mevcut Olan Flavonoidler	15
Şekil 6. Yenilebilir Bitki ve Çaylarda Diğer Polifenoller	16
Şekil 7. Aronya Meyvesi Bileşimindeki Majör Fitokimyasalları	22
Şekil 8. Meme Yapısı ve CA Oluşumu	37
Şekil 9. Eczacılık Alanında Kullanılan Aronya Ürünleri	44
Şekil 10. Aronyalı Dondurma Patent-Tokuşoğlu	44
Şekil 11. Aronya Meyve Taneleri	47
Şekil 12. Üretimi Yapılmış Aronya Ürünleri	49
Şekil 13. Tünel Kurutucuda Kurutma İşlemi	50
Şekil 14. Kurutma Sonrası Ürün ve Öğütme Sonrası Ürün	51
Şekil 15. Aronya Çayı Üretim Şeması	53
Şekil 16. Vakum Altında Fırınlanmış ürün ve Kurutma Sonrası Ürün	55
Şekil 17. Duyusal Analiz Uygulaması	58
Şekil 18. Duyusal Analiz Test Panalist Formu Örneği	59
Şekil 19. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Nem Düzeyi	69
Şekil 20. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Kül Düzeyi	70
Şekil 21. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Şeker Düzeyi	71
Şekil 22. Aronya Meyve, Toz ve Spaf Ürün Duyusal Analiz Düzeyi	72
Şekil 23. Aronya Çayı Duyusal Analiz Düzeyi	74
Şekil 24. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Toplam Fenolik Madde Düzeyi	75
Şekil 25. Farklı Demleme Sürelerindeki Toplam Fenolik Madde Düzeyi	76
Şekil 26. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Toplam Antosiyanin Düzeyi	77
Şekil 27. Aronya Çayı Farklı Demleme Sürelerinde Toplam Antosiyanin Düzeyi	78
Şekil 28. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) DPPH Antioksidan Aktivite Düzeyi	79
Şekil 29. Aronya Çayı Farklı Demleme Sürelerinde DPPH Antioksidan Aktivite Düzeyi	80
Şekil 30. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Spaf Formülde Malik Asit Düzeyi	81
Şekil 31. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Spaf Formülde Sitrik Asit Düzeyi	82
Şekil 32. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Spaf Formülde Quinic Asit Düzeyi	82
Şekil 33. Aronya Tozu (povder) Kromatogramı	86
Şekil 34. 5 dk, 10 dk ve 15 dk larda Demlenmiş Aronya Çay Kromatogramı	87
Şekil 35. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinin Gallik Asit Düzeyi	88
Şekil 36. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinin Epigallokateşin Düzeyi	89
Şekil 37. Aronya Meyve, Toz ve Çay Kateşin Düzeyi	89
Şekil 38. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Klorojenik Asit Düzeyi	90
Şekil 39. Aronya Meyve, Toz ve Çay Hidrosinnamik Asit Düzeyi	91
Şekil 40. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Neoklorojenik Asit Düzeyi	91
Şekil 41. Aronya Meyve, Toz ve Çay Vanilik Asit Düzeyi	92
Şekil 42. Aronya Meyve ve Toz Siringik Asit Düzeyi	92

Şekil 43. Aronya Meyve ve Toz Kaftarik Asit Düzeyi.....	93
Şekil 44. Aronya Meyve ve Toz Kafeik Asit Düzeyi	93
Şekil 45. Aronya Meyve ve Toz P-Kumarik Asit Düzeyi	94
Şekil 46. Aronya Meyve, Toz ve Çay T-Sinapic Asit Düzeyi.....	94
Şekil 47. Aronya Meyve, Toz ve Çay Rosemarinik Asit Düzeyi	95
Şekil 48. Aronya Çay ve Aronya Nutrasötik Şurup Flavonol ve Glikozitleri Kromotoğramı	97
Şekil 49. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Rutin (Quercetin-3- glycoside) Düzeyi.....	98
Şekil 50. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kaempferol-3- rutoside Düzeyi	98
Şekil 51. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinde Quercitrin (Quercetin-O- glycoside) Düzeyi.....	99
Şekil 52. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Quercetin Düzeyi	100
Şekil 53. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinde Astragalin (Kaempferol-O- glycoside) Düzeyi.....	100
Şekil 54. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kaempferol Düzeyi	101
Şekil 55. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Cihazı.....	102
Şekil 56. Q-TOFF-MS Total Ion Kromatogramları- 10 dk Dem Aronya Çayı (Üstte), Aronya Nutrasötik Şurup SPAF	103
Şekil 57. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Epikateşin Analizi.....	104
Şekil 58. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Klorojenik Asit Analizi	106
Şekil 59. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Keampferol-7- glikozid Analizi.....	108
Şekil 60. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Quercetin Analizi	110
Şekil 61. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Quercetin 3- galaktozid Analizi	112
Şekil 62. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kafeik Asit Analizi.....	114
Şekil 63. Q-Toff (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Astragalin Analizi	116
Şekil 64. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Rutin Analizi	118
Şekil 65. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Malik Asit Analizi	120
Şekil 66. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Sitrik Asit Analizi.....	122
Şekil 67. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Quinic Asit Analizi	124
Şekil 68. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Etkin Olan Fenolikler	126
Şekil 69. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Etkin Olan Bireysel Fenolik Asitler ve Flavonoidler	127
Şekil 70. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Aronya Çay-10 dk dem ve Nutrasotik Şurup SPAF Numunelerinin Etkileri.....	129

Şekil 71. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Aronya Çay Ekstresi ve Aronya Meyve Ekstresi Numunelerinin Etkileri..... 131



TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Aronya Meyveleri ve Meyve Suyunun Kimyasal Bileşimi	12
Tablo 2. Aronya Meyvelerinde Bulunan Fenolik Fitokimyasallar	17
Tablo 3. Meme Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bazı Kemoterapötik Ajanlar ve Genel Etki Mekanizmaları ile Bazı Yan Etkileri	40
Tablo 4. Aronya Yetiştiriciliği ve Türk Tipini Oluşturmak İçin Kullanılan Yabancı Genotip/Çeşit ve Orijinleri.....	48
Tablo 5. Aronyaların Vakum Altında Kurutma Sırasındaki Sıcaklık ve Basınç Değerleri.....	52
Tablo 6. ESI-MS Değişkenleri.....	63
Tablo 7. Aronya Meyvesinde Brix ve pH Değerleri	68
Tablo 8. Nem Analizi Sonuçları	69
Tablo 9. Kül Analizi Sonuçları	70
Tablo 10. Toplam Şeker Analizi Sonuçları.....	71
Tablo 11. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Duyusal Analiz Tablosu	72
Tablo 12. Aronya Çayı Duyusal Analiz Değerlendirme Tablosu	73
Tablo 13. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Fenolik Madde.....	74
Tablo 14. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Antosiyanin	76
Tablo 15. Aronya ve Aronya Ürünlerinde DPPH Antioksidan Aktivite	78
Tablo 16. Aronya Meyvesi, Aronya Çay Demi ve Aronya Nutrasötik Şurupta (SPAF) Organik Asit Miktarları.....	80
Tablo 17. Aronya meyve, Toz (povder), Çaylar ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Fenolik Asitlerin Alıkonma Zamanları (retention time-dk) (RT), ve Kantitatif Miktarları ...	84
Tablo 18. Aronya Meyvesi, Tozu, Farklı Demleme Sürelerindeki Çayı ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Fenolik Asit Miktarları.....	85
Tablo 19. Aronya Meyvesi, Tozu, Farklı Demleme Sürelerindeki Çayı ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Flavonoller ve Glikozidleri Miktarı	96
Tablo 20. Epikateşin MS Spektrum Pik Listesi	105
Tablo 21. Klorojenik Asit Ms Spectrum Pik Listesi	107
Tablo 22. Keampferol-7-glikozid MS Specturum Listesi.....	109
Tablo 23. Quercetin MS Specturum Listesi.....	111
Tablo 24. Quercetin 3- galactoside MS Specturum Listesi.....	113
Tablo 25. Kafeik Asit MS Specturum Listesi	115
Tablo 26. Astragalin MS Spectrum Listesi	117
Tablo 27. Rutin MS Specturum Listesi.....	119
Tablo 28. Malik Asit MS Specturumu Listesi	121
Tablo 29. Sitrik Asit MS Specturum Listesi	123
Tablo 30. Quinic Asit MS Specturum Listesi	125

TEŞEKKÜR

Desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, başta her aşamada bilfiil yardımcı olan tez danıŐmanım Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU olmak üzere bu tez kapsamında Özlem TOKUŞOĞLU hocamın Üniversite Sanayii İşbirliği olarak kurucusu ve yöneticisi olduğu Dokuz Eylül Üniversitesi Teknoloji Geliştirme Bölgesi DEPART Teknopark SPIL INNOVA LTD.ŞTİ.' ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Çalışmamın aronya meyvesi numune temini kısmında Tarım ve Orman Bakanlığı Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Enstitüsü Müdürü Sn. Dr. Yılmaz BOZ'a, hücre kùltürü çalışmaları kısmında SKBR-3 meme CA hücreleri temininde Sn. Prof. Dr. Yusuf BARAN'a, hücre kùltürü analizlerinde katkılarını sunan Sn. Dr. ArŐ. Gör. YaĐmur KİRAZ'a, ayrıca destekleri için değerli akademik dostlarım Sn. Dr. Ali GÜLER'e ve Sn. Dr. ArŐ. Gör. Fadim YEMİŐ'e, sektörel uygulama katkısı için BAKTAT Gıda Sanayii Yönetim Kurulu BŐk. Sn. Ali BAKLAN Őahsında BAKTAT Gıda Ltd. Şti. ve SUNTAT Gruppe, Mannheim, Germany kuruluşlarına teŐekkürlerimi sunarım.

Kurtuluş Bakır
Manisa, 2019

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ARONYA (*ARONIA MELANOCARPA* SP.VİKİNG) MEYVESİ BAZLI ÇAY VE NUTRASÖTİK ÜRÜNLERDE FENOLİK ANTIOKSİDANLARIN DETAYLI TAYİNİ: ANTİPROLİFERATİF VE ANTİKARSİNOJENİK GIDATAKVİYELERİ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Kurtuluş BAKIR

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU

Bu tez araştırması kapsamında, Türk aronya meyvesi (*Aronia melanocarpa* sp.Viking) sağlık ürünleri olarak aronya tozu, aronya çayı ve özel geliştirilmiş nutrasötik farmasötik aronya şurubu üretimi gerçekleştirilmiş olup, inovatif ürünlerde antioksidan aktivite, antioksidan fenolik profil detaylı olarak HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) ve Q-TOFF- MS (Quadrupole Time of Flight Mass Spektrometri) ile belirlenmiştir, majör etkin biyoaktifler tayin edilmiştir. Seçimlenmiş kanser hücre hatları (SKBR-3 meme hücre hatları) üzerindeki antiproliferatif ve antikarsinojenik etkiler tesbit edilmiştir.

Analitik belirlemelerle, fenolik asitler, flavanoller (kateşinler) olarak gallik asit, epigallokateşin, kateşin, klorojenik asit, hidroksisinnamik asit, neoklorojenik asit, vanilik asit, siringik asit, kaftarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinapic asit, rosmarinik asit, flavonoller ve glikozidleri olarak rutin (kuersetin-3-glikozid), kaempferol-3-rutinozid, kuersitrin (kuersetin-O-glikozid), kuersetin, astragalın (kaempferol-O-glikozid), kaempferol tayin edilmiştir.

Aronya meyvesi tozu, aronya çayı ve nutrasötik takviye şurup SPAF taki, major fenolik maddenin klorojenik asit (ChA) olduğu saptanmıştır, ve sırasıyla 321,56 mg/100g, 493,20 mg/100g, ve 202,38 mg/100g değerlerinde bulgulanıldığı görülmektedir. 3 dk, 5 dk, 10 dk,15 dk demlenmiş aronya çaylarında ise ChA'nın sırasıyla 90,28 mg/100g, 95,63 mg/100g, 188,42 mg/100 g, ve 195,33 mg/100g olarak belirlenmiştir, ve yüksek antioksidatif özellik sağlamaktadır ($p < 0,05$). Major flavonol de kuersetin olarak bulgulanmıştır ve aronya meyvesi, tozu (povderi), nutrasötik şurup SPAF ta sırasıyla 634,57 mg/100g; 542,80 mg/100g, ve 620,25 mg/100g değerlerinde belirlenmiştir. 3, 5, 10,15 dk demlenmiş aronya çaylarında ise kuersetinin sırasıyla 307,20 mg/100g; 328,96 mg/100g; 380,56 mg/100g; ve 387,25 mg/100g olarak tayin edildiği görülmektedir ve kuersetinin son derece güçlü antioksidan olduğu ve ilgili ürünlere antioksidatif stabilite sağladığı öngörülmektedir ($p < 0,05$).

Kuersetin ve klorojenik asitin 5-100 μ M konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon neticesinde, konsantrasyona bağımlı olarak SKBR-3 meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu optimum düzeyde inhibe ettiği saptanmıştır. 100 μ M kuersetinin SKBR-3 hücrelerini %56,25 düzeyine azalttığı ve hücre proliferasyonunu %43,75 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir, takiben klorojenik asitin SKBR-3 proliferasyonunu %62,5 düzeyine indirdiği ve hücre proliferasyonunu %37,50 düzeyinde inhibe ettiği bulgulanmıştır. Kateşin biyoaktifin yalnızca 10 μ M konsantrasyonda SKBR-3 hücrelerini %65,66'ya indirdiği ve hücre proliferasyonunu %34,34 olarak inhibe edebildiği görülmektedir ($p < 0,05$).

Tüm kromatografik, kimyasal ve sitolojik veriler ortaya koymaktadır ki major polifenolik maddeler olan klorojenik asit, kuersetin ve kateşinin son derece etkin antikarsinojen maddeler oldukları görülmektedir ve geliştirilen aronya ürünlerimizin inovatif antioksidatif ve antiproliferatif ürünler olarak sağlık alanında gıda takviyeleri olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler Aronya, *Aronia melanocarpa*, Antioksidan, meme CA, SKBR-3, Fenolik, Q-TOFF-MS

2019, 157 sh

ABSTRACT

M.Sc.

**THE DETAILED DETERMINATIONS OF PHENOLIC ANTIOXIDANTS
IN ARONIA (*ARONIA MELANOCARPA* SP.VIKING) BERRY FRUIT
BASED TEA AND NUTRACEUTICAL PRODUCTS: THE INVESTIGATION
OF THE USABILITY AS ANTIPROLIFERATIVE AND
ANTICARCINOGENIC FOOD SUPPLEMENTS
Kurtuluş BAKIR**

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Associate Professor Dr. Özlem TOKUŞOĞLU

Within the scope of this thesis research, aronya powder, aronya tea and specially developed nutraceutical pharmaceutical aronya syrup were produced as health products of Turkish aronia fruit (*Aronia melanocarpa* sp.Viking). Their antioxidant activity, antioxidant phenolic profiles, HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) profiles and Q-TOFF-MS (Quadropole Time of Flight Mass Spectrometry) profiles of major active bioactives were determined. Antiproliferative and anticarcinogenic effects on selected cancer cell lines (SKBR-2 breast cell lines) have been identified.

With analytical determinations, it has been determined phenolic acids, gallic acid, epigallocatechin, catechin, chlorogenic acid, hydroxycinnamic acid, neochlorogenic acid, vanillic acid, sirringic acid, caftaric acid, p-coumaric acid, ferulic acid, t-sinapic acid as flavanols (catechins); utin (quercetin-3-glycoside), kaempferol-3-rutinoside, quercitrin (quercetin-O-glycoside), quercetin, astragalın (kaempferol-O-glycoside), kaempferol as flavonols and their glycosides.

It has been identified the major phenolic substances are chlorogenic acid (ChA) and 321,56 mg/100g; 493,20 mg/100g, ; 202,38 mg/100g in aronia berry, aronia powder, and nutraceutical formula syrup SPAF ($p < 0,05$). Chlorogenic acid (ChA) was found major phenolic matter in 3/5/10/15 min brewed aronia teas that were determined as 90,28 mg/100g, 95,63 mg/100g, 188,42 mg/100 g, and 195,33 mg/100g, respectively and it has been provided strong antioxidative property ($p < 0,05$). It has been detected quercetin as major flavonol and 634,57 mg/100g; 542,80 mg/100g; 620,25 mg/100g in aronia berry, aronia powder, and nutraceutical formula syrup SPAF ($p < 0,05$). Quercetin (QE) was found major flavonol in 3/5/10/15 min brewed aronia teas that were determined as 307,20 mg/100g; 328,96 mg/100g; 380,56 mg/100g; and 387,25 mg/100g, respectively ($p < 0,05$). It has been predicted that quercetin provided strong antioxidative stability to above mentioned products due to it has extremely powerful antioxidant ($p < 0,05$).

It was determined that quercetin and chlorogenic acid inhibited the proliferation of SKBR-3 breast cancer cells as a result of their 5-100 μ M concentration through 48 hours incubation. It is seen that the 100 μ M quercetin decreases SKBR-3 cells to 56.25% level and inhibits the cell proliferation at the level of 43.75%. Subsequently, it was found that chlorogenic acid diminished SKBR-3 proliferation to 62.5% level and inhibited the SKBR-3 cell proliferation at the level of 37.50%. It is seen that catechin bioactive reduces SKBR-3 cells to 65.66% and inhibits the cell proliferation by 34.34% even at only 10 μ M concentration ($p < 0.05$).

Overall data including chromatographic, chemical and cytological reveal that chlorogenic acid, quercetin and catechin which are major polyphenolic substances are highly effective anticarcinogenic agents. Besides, it has been predicted that our developed aronia products can be used as food supplements in the field of health as innovative antioxidative and antiproliferative product.

Anahtar Kelimeler Aronya, *Aronia melanocarpa*, Antioxidant, breast CA, SKBR-3, phenolic, Q-TOFF-MS

2019, 157 page.

1.GİRİŞ

Aronya meyvesi üzüksü meyveler grubuna giren ve *Aronia melanocarpa* olarak belirtilen böğürtlen tipi meyvedir. Aronyalar, Avrupa ve Kuzey Amerika orijinlidir ve büyük ölçüde Kuzey Amerika'nın güneyine ait olan aronya, *Rosaceae* familyasında yer almaktadır. Geniş ölçüde de Danimarka, Doğu Avrupa, Rusya'da kültüre edilmektedir ve ülkemize de yeni olarak getirilip yetiştirilmesi söz konusu olmuştur ve birkaç lokasyonda ıslah çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Üzüksü meyveler içerisinde yer alan aronya (*Aronia melanocarpa*) 'nın insan sağlığına etkisi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, meyvelerinin antioksidan kapasitesi ve antosiyanin miktarı bakımından diğer üzüksü meyvelere göre en yüksek değere sahip olduğu ortaya konulmuştur. Epidemiyolojik çalışma verileri göstermiştir ki; aronya meyvesi kardiyovasküler rahatsızlıklar ve kanser gibi dejeneratif hastalıkları önlemede etkin rol oynamaktadır. Yüksek antioksidan aktivite; aronya meyvesinin yüksek antosiyanin polifenolik yapısından kaynaklıdır, aronyanın ayrıca kompleks polifenoller ve flavonoidlerin önemli bir kaynağı olduğu belirlenmiştir. Bu meyve türünün düzenli tüketiminin; kardiyovasküler hastalıklar, sindirim sistemi rahatsızlıkları ve bazı kanser hastalıklarına karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir.

Aronya meyvesinin depolamaya, mekanik hasada ve nakliye dayanıklılığı nedeni ile gittikçe popüleritesi artan meyve türü olduğu belirlenmiştir. Ortaya çıkan talebi karşılamak üzere dünya aronya ticaretine her geçen yıl farklı ülkeler girmekte, farklı üretim alanları yetiştiricilik için açılmaktadır.

Bu çalışma kapsamında Yalova'da yetiştirilen aronya meyvesinin gıda profili detaylı olarak aydınlatılmaya çalışılmış, aronya bazlı fonksiyonel gıdalar geliştirilmeye çalışılmıştır. Aronya meyvesi bazlı gıda ürünlerinde [aronya pover (aronya tozu), aronya ekstrakt, aronya çayı, aronya tableti ve aronyalı dondurmada] besin etiketi, detaylı fenolik antioksidan profil ortaya konulmuştur.

Çalışma kapsamında aronya meyvesi, meyve povderi, aronya meyve ayının farklı sürelerle demlenmiş formlarında ve özel nrasotik farmasötik takviye rn (SPAF) MCF-7 hücreleri kullanımıyla hücre kültürü uygulaması yapılmış olup antiproliferasyon sonuçları ortaya konulmuştur. Antioksidan aktivitesi ve antiproliferasyon değerleri belirlenmiş ürünlerde antikarsinojenik özellik belirlenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aronya Meyvesi: Botaniksel ve Agronomik Karakteristikleri

Aronya (chokeberry) meyvesi (Şekil 1), *Rosaceae* familyasına ait olan, çok sapsız, belirli dönemlerde yaprak döken çalı tipi bitki bazlıdır. Aronya, ağırlıklı olarak Kuzey Amerika bölgesinde yetişmektedir ve Doğu Avrupa bölgesinde de önemli düzeyde kültüre edilmektedir [62].

Aronya cinsi üç alt tür içermektedir:

- ◆ *A. arbutifolia* (L.) Pers – kırmızı aronya meyvesi
- ◆ *A. prunifolia* (Marsh.) Rehd. – mor aronya meyvesi
- ◆ *A. melanocarpa* (Michx.) Ell. – siyah aronya meyvesi



Şekil 1. Aronya (chokeberry) [*Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell.] Meyvesi.

Anavatanı Kuzey Amerika olan Aronya (*Aronia melanocarpa*), üzüksü bir meyve olup sağlık potansiyeli nedeniyle 1900'li yılların başlarında Almanya vasıtası ile Rusya'ya getirilmiş ve yetiştiriciliğine başlanmıştır. 1950'li yıllardan beri Doğu Avrupa ülkelerinde ticari olarak yetiştirilmektedir. Geniş çaplı üretim 1940'lı yıllardan bu yana

Rusya’da yapılmaktadır. Bugün Doğu Avrupa ve Almanya’da yaygın olarak yetiştirilmektedir [74].

Avrupa’da en yaygın aronya çeşitleri arasında Aron (Danimarka), Nero (Çek Cumhuriyeti), Viking (Finlandiya), Rubin (Rusya ve Finlandiya toprakları), Kurkumäcki” (Finlandiya), Hugin (İsveç), Fertödi (Macaristan), Albigowa, Dabrowice, Egerta, Kutno, Nova Wies, Hakkija, Ahonnen, Serina, Autum Magic, McKenzie, Morton, Galicjanka (Polonya), Nero, Viking (Türkiye) yer almaktadır [36, 107, 142] (Şekil 2).



Şekil 2. Aronya Yetiştirme Alanından Görüntüler.

Aronya, odunsu çok yıllık çalı formunda bir bitkidir. Olgun bir aronya bitkisi bir ocakta 40 ve daha fazla sürgün oluşturabilmektedir. Oldukça uzun ömürlü bir türdür. Çiçek tomurcukları bir yaşlı sürgünlerin üzerinde oluşur ve salkım şeklinde çiçeklenir, her salkımda 30’ a yakın çiçek bulunur. Çiçeklenme genellikle Mayıs ayında başlar, bu nedenle ilkbahar geç donlarından zarar görmez. Her sürgün üzerinde 10-15 meyveden oluşan salkımlar oluşmaktadır. Güneşli alanlar yetiştiricilik için önerilmektedir.

Aronya, her bir şemsiyede salkımda 30 kadar ufak beyaz çiçek oluşturur, kırmızı parlak (kırmızı aronya) haline ya da mor siyah meyve (siyah aronya) haline ulaşır (6–13 mm, 0.5–2 g) [3, 34, 130, 150].

Meyveler Ağustos sonu Eylül ayı ortalarında hasada gelmektedir. Hasat mekanik olarak Ağustos ve Eylül aylarında yapılmaktadır. İkinci yıldan itibaren verim alınabilmektedir. Beşinci yılda tam verim çağına ulaşmaktadır. Dolayısıyla, İlk olgunlaşmayı takiben beşinci yılda hektar başına 5-17 ton ürün alınmaktadır [3, 94].

4-6 hafta meyveler bozulmadan bitki üzerinde kalabilmektedir. Kendine verimlidir, tozlayıcıya gereksinim göstermez. Çiçeklenme için soğuklama ihtiyacı vardır. Çiçeklenme süresinin 800-1000 saat civarında olduğu bildirilmektedir. Yetiştiricilik için en uygun toprak pH'sı 6-6.5 arasındadır. Maksimum verime ulaşmak ve ekonomik ömrü uzatmak için budama, 4-5 yaşından itibaren her yıl yapılmalıdır. 4-5 yaşına gelen sürgünler dipten çıkarılmalıdır.

Hasat eğer elle yapılacaksa aşamalı olarak olgunlaşan meyveler toplanır, makinalı hasatta ise tüm meyveler olgunlaştığında (Ağustos sonu-Eylül ortası) bir seferde hasat yapılır. Aronya bitkisi yıllık 600-800 milimetre suya ihtiyaç duymaktadır. Meyve tutumundan hasat sonuna kadar düzenli şekilde sulama yapılmalıdır. Meyve kalitesi açısından bu gereklidir. Aksi takdirde meyveler küçük ve kalitesi düşük olacaktır [36, 46, 159]. Aronya ağacı yüksekliği olgunlaşmanın olduğu Mayıs ayından Hazirana dek 2-3 m' ye ulaşabilmektedir. Şemsiye yapılı bir çiçeklenme ve meyve tutumu söz konusudur (Şekil 3).



Şekil 3. Aronya Meyve Tutumunda Şemsiye Görünüm.

Siyah aronyada meyve kalite parametreleri üzerine gübreleme oranı etkisi göstermiştir ki; artan gübre uygulaması artan büyüme ve yüksek verimle sonuçlanmaktadır. Bunun yanısıra pigment içeriği ve toplam asitlik azalmaktadır. Bitki başına maksimum antosiyanin düzeyi, orta yüksek orandaki gübrelemede (50 kg N/ha, 44 kg P/ha, 100 kg K/ha) elde edilmiştir [60]. İstenilmeyen kahverengi bileşiklerin düzeyi ve istenilen antosiyanin düzeyi, şeker düzeyi, varyete niceliği ve fenolik profile bağlı olarak olgunlaşma sürecine bağlıdır. *Aronia melanocarpa*'da antosiyaninlerin birikimi üzerine mikroelementlerin etkisi önemli düzeydedir [90].

2.2. Aronya Meyvesinin Karakteristik Kimyasal Kompozisyonu

Aronya meyvesinin bileşenleri; bitkinin varyetesi, gübreleme etkisi, meyvelerin olgunlaşması, hasat tarihi veya habitat / lokasyon gibi bir dizi faktöre bağlıdır [145].

Aronya meyvesi veya taze sıkılmış aronya meyve suyu, kimyasal bileşimindeki yüksek sorbitol ve polifenol içerikleri nedeniyle diğer meyvelerden ayrılır [179, 3, 78]. Aronya meyvesi ve suyunun ayrıntılı bileşimi Tablo 1' de verilmiştir (Tablo1). Meyvelerin %17-29 düzeyinde kuru madde içeriği olduğu bildirilmiştir, %5-10 düzeyinde suda çözünmeyen madde tanımlanmıştır [78].

2.2.1. Kuru Madde

Siyah aronyalarda yaş meyve formunda kuru madde içeriği %15,3-19,5 aralığında belirlenmiştir [107]. Farklı bir çalışmada maksimum %29' a ulaştığı tesbit edilmiştir [74] (Tablo1).

2.2.2. Kül

Kül içeriği, gıdalarda organik maddenin tamamen yanmasını takiben kalan minerallere yani inorganik residüye karşın gelmektedir [47]. Siyah aronya meyvesinde mineral içeriği (kül değerleri) yaş meyve bazında 4.4-5.8 g/kg aralığında ve kuru madde bazında da % 2-3.8 olarak belirlenmiştir [74, 179]. Bir diğer çalışmada kül düzeyi, kurutulmuş aronya posasının farklı fraksiyonlarında %1,4-3,9 KM. olarak belirlenmiştir [143] (Tablo1).

2.2.3. Şeker

Aronya meyvesi toplam şeker içeriğinin 6,2-10,8 g/100g, invert şeker içeriğinin 8,83-12,48 g indirgen şeker /100 g olduğu bildirilmektedir [107]. Bir diğer çalışmada yine taze aronyalardaki invert şeker içeriğinin %16-18 aralığında olduğu tesbit edilmiştir [149].

Glikoz ve fruktoz toplamının kütlece 13-17,6 g /100 g arasında olduğu tespit edilmiştir [130]. Taze sıkılmış meyve suyunda, glikoz (aralık: 30 - 60 g / L; ortalama: 41 g / L) ve fruktoz (aralık: 28 - 58 g / L, ortalama: 38 g / L) olarak tanımlanmıştır [3]. Benzer şekilde, ortalama sorbitol düzeyi enzimatik olarak, taze sıkılmış bir meyve suyunda 80 g / L ve pastörize meyve suyunda 56 g / L düzeyinde belirlenmiştir [3, 182].

Test edilen bir dizi meyve ve böğürtlenler arasında, Aronyanın en yüksek sorbitol konsantrasyona sahip olduğu bulunmuştur; sorbitol içeriğinin olası aronyalı bir meyve suyu blendinde aronya suyu için ayırt edici biyomarker olacağı belirtilmektedir [54]. Sorbitol, diyetetik gıdalarla şeker yerine sıklıkla kullanılan tadlandırıcı tipidir ve uyarıcı olmayan zayıf müshil etkili (laksatif) bir tadlandırıcı olarak işlev gördüğü bilinmektedir. Sorbitol (şeker alkolü) baskın bileşendir. Aronya posasındaki

sakkaridlerin içeriğinin %2.7–3.5 aralığında olduğu bildirilmektedir [143], %60 üzerinde sakkarid meyve fraksiyonunda, yaklaşık %40 düzeyinde sakkarid çekirdek fraksiyonundadır. Aronya posasında çekirdek fraksiyonları, önemli düzeyde sakkaroz ve glukoz içermektedir.

2.2.4. Yağ

Aronya meyvelerinin toplam yağ içeriği, 0,14 g / 100 g yaş meyve olarak analiz edilmiştir [152]. Siyah aronya meyvesinde lipid kompozisyonu kapsamında ana bileşenlerin triaçilgliseroller olduğu ve triaçil fraksiyonları içerisinde ana bileşenlerin linoleik asid (%47,8-57,2), oleik asid (26,4-28,4%) ve palmitik (%11,0-15,5) asidler olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda, aronya çekirdek yağları aydınlatılmış olup, temel bileşenleri tanımlanmıştır [189]. Çekirdekler, başlıca yağ asidi olarak 19,3 g/kg linoleik asitli gliserit yağı ihtiva etmektedir. Çekirdek yağlarında, fosfatidilkolin, fosfatidilinositol ve fosfatidiletanolamin ile temsil edilen fosfolipitlerin toplam içeriğinin, 2,8 g/kg olduğu tesbitlenmiştir.

Tokoferol fraksiyonları içerisinde β -tokoferol (59,3–61,4%) baskın olan tokoferol olarak belirlenmiştir. Aronya tohum yağlarındaki tokoferol fraksiyonunda (55,5 mg/ kg) ise, β -tokoferol' ün yanında α -tokoferol baskın olarak belirlenmiştir [197].

Aronya meyvesinde toplam sterol düzeyi 1,2 g/kg kuru madde (KM) olarak belirlenmiştir. Sterol fraksiyonları içerisinde β -sitosterol (%74,3%) başlıca fraksiyondur. Ana bileşen olan β -sitosterol' ü takiben, kampesterol, stigmasterol ve Δ (5) -avenasterol diğer önemli steroller olarak tesbit edilmiştir.

2.2.5. Protein

Siyah aronyanın farklı büyüklükteki çekirdekli ya da çekirdeksiz fraksiyonlarının temel kompozisyonu incelendiğinde [143]; en yüksek protein fraksiyonunun çekirdekte olduğu belirlenmiştir (%24,1), çekirdeksiz bölümlerin protein içeriğinin düşük düzeyde

olduğu bulgulanmıştır (%6). Bu bağlamda, aronya posası kapsamındaki çekirdekler, protein kazanımı açısından önem taşıtmaktadır. Bir diğer çalışmada, yaş aronya meyvesi bazında kütlece 0,7 g/100 g düzeyinde protein içeriği belirlenmiştir [152]. Taze sıkılmış meyve suyunda ana bileşenin asparagin olarak tanımlandığı aminoasit içeriği söz konusudur [3].

2.2.6. Mineraller ve Vitaminler

Taze meyvelerin mineral içeriği (kül değerleri) iki ayrı çalışmada 440 mg/100 g [152] ve 580 mg/100 g [78] olarak tayin edilmiştir. Meyve işlemeden dolayı, meyve sularının mineral içeriğinin 300-640 mg/100 mL aralığında değişim gsterttiği belirlenmiştir [78, 174]. Bireysel makro ve mikro elementlerin belirlenmesi çeşitli çalışmalarda ayrıntılı olarak gerçekleştirilmiştir [3, 78, 119, 152].

Aronia meyve suyunda bağlı olarak yüksek oranda potasyum (K) ve inko (Zn) düzeyleri tespit edilmiştir. Siyah aronya meyvelerindeki ve mürver meyvelerindeki ağır metallerin içeriği (Pb, Cd), hasat lokasyonuna ve vejetasyon periyoduna bağlı olarak değişim gösterebilmektedir [108].

Taze sıkılmış meyve suyunda, vitamin B₁ (25-90 μ g/100 mL), vitamin B₂ (25–110 μ g/100 mL), vitamin B₆ (30-85 μ g/100 mL), vitamin C (5-100 mg/100 mL), pantotenik asit (50-380 μ g/100 mL) ve niasin (100–550 μ g/100 mL) olarak bulunmuştur [148, 3,152]. Aronya meyvelerinde, β -karoten ve β -kriptoksantin de nispeten yüksek düzeylerde tespit edilmiştir [123, 152].

2.2.7. Ham Lif

Aronya meyveleri, 100 g taze meyvede 5,62 g ağırlığa kadar ulaşan [5,62 g/100 g (FW)] ham lif içermektedir [152]. Taze siyah aronya meyveleri ve posaları, diyet lif açısından zengin olan meyveler arasında diyet lifin önemli bir kaynağı olarak gözönüne alınmaktadır. Taze meyvelerin ayrıca % 0,3–0,6 aralığında değişen nispeten düşük pektin içeriğine sahip oldukları gösterilmiştir [78, 150]. Aronia bazlı ham lif tozlarının (povderlerinin) NMR spektrumları ile mikrokristalli selüloz, pektinler, ligninler, ktin

benzeri polimerler ve kondense tanenler gibi çeşitli bileşenlerin tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Aronya posa formunun yüksek düzeyde selülozu, hemiselülozu ve lignini içeren diyet lifin iyi bir kaynağı olduğu ortaya konulmuştur [13, 106, 171].

Meyvelerden elde edilen lif (fiber) tozları (povderleri), koyu menekşe mor renkleri ile bilinen antosiyaninleri dikkate değer düzeyde içerirler [179].

Aronya posasının zayıf kadmiyum absorplayıcısı olarak işlev görme kapasiteside ifade edilmiştir [13].

2.2.8. Organik Asitler

Aronya meyvesi, diğer böğürtlen tipi meyveler ile karşılaştırıldığında, nispeten düşük asidite ile karakterize edilen bir meyvedir. Organik asitlerin toplam içeriği, diğer meyvelerle karşılaştırıldığında oldukça düşüktür ve yaş meyve ağırlığının %1-1,5' i kadardır [78, 152]. Tanımlanan başlıca asitler L-malik asit ve sitrik asittir [78, 152]. Farklı bölgelerden orijinli farklı kültürlerden alınan ve laboratuvar koşulları altında hazırlanan taze sıkılmış meyve sularında, toplam organik asit düzeyinin 5-19 g/L aralığında olduğu ve organik asitlerin ana bileşeninin de L-malik asit olduğu belirlenmiştir [3, 152, 78, 34].

Meyve suyundaki diğer asit bileşenlerinin detayları Tablo 1'de verilmiştir. Meyve asitliğinin pH'ın 3,3–3,9 arasında olduğu ve optimum pH'ın 3,46-3,6 olduğu belirlenmiştir [3, 34, 78, 152]. Aronya posasında mevcut olan serbest asitlerin düşük düzeyinin; şekerler ve potasyum tuzları gibi diğer çözünebilir maddelerle birlikte meyve suyuna transfer olan serbest asitlerle ilişkili olduğu saptanmıştır. Böylece enzimatik pektin hidrolizinin asidik ürünleri ve doğal organik asitlerinin düşük çözünürlüklü kalsiyum ve magnezyum tuzları, tümüyle posada kalabilmektedir. Bu durum serbest karboksilik asit grupları ile belirlenebilen düşük titre edilebilir asitlikle sonuçlanır.

İlave olarak; galakturonik asidin siyah aronya varyetelerinde belirlenen organik asitler arasında dominant organik asit olduğuna dair çalışmalara da rastlanmıştır [143].

Ancak çoğunlukta belirlenen temel organik asitlerin L-malik asit, sitrik asit, malik asid-kuinik asid olduğu bulgulanmıştır [107, 142].

2.2.9. Aroma Bileşenleri

Meyvelerden izole edilen siyanojenik bir glikozit olan amigdalin, taze meyvelerin acı badem kokusundan sorumludur. Prusik asit (hidrojen siyanür), meyvelerde mevcut olan endojen enzimler ya da ısı sayesinde hidroliz yoluyla serbest hale geçebilmektedir. Hidrojen siyanür, renksiz, çok zehirlidir (yetişkinler için LOLO <1 mg/kg) ve oda sıcaklığının biraz üzerinde kaynayan yüksek uçuculukta bir sıvıdır [78].

Aronya, yaş meyve bazında kütlice 20,1 mg/100 g düzeyinde amigdalin içerir, meyvenin suyunda kütlice 5,7 mg/100 g ve posasında ise 52,3 mg/100 g oranında amigdalin bulunur [78] (Tablo1). Amigdalin, ayrıca laevomandelonitril veya kısaca laetril olarak da adlandırılır. Amigdalin, bazı otoritelerce kanser için “tedavi edici” veya “önleyici” olarak atfedilmektedir. Son zamanlarda yayınlanan mevcut klinik kanıtların ışığında, laetrilin kanser hastaları için faydalı etkilere sahip olduğu iddiasının sağlıklı klinik veriler tarafından desteklenmediği ve güvenliğine ilişkin ciddi bir şüphe olduğu sonucuna varılmıştır [95, 96].

Aronia melanocarpa Elliot'da, sorbus türlerinin karakteristik bir bileşiği olan parasorbosid varlığı, literatür [173] tarafından doğrulanırken, literatür [78] parasorbosidin aronyada bulunmadığını bildirmiştir.

Siyah aronyanın uçucu bileşenleri, gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Tanımlanan 48 bileşiğin konsantrasyonları genel olarak bireysel eşik değerlerinin altında tesbitlenmiştir. Ana bileşikler benzaldehit siyanohidrin, hidrosiyanik asit ve benzaldehit olup [53], bir dizi benzen türevleri de aroma bileşikleri olarak belirlenmiştir; benzil alkol, 2-feniletanol, fenilasetaldehit, salisilaldehit, asetofenon, 2-hidroksiasetofenon, 4-metoksiasetofenon, fenol, 2-metoksifenol ve metil benzoat olarak rapor edilmiştir [3, 53].

Tablo 1. Aronia Meyveleri ve Meyve Suyunun Kimyasal Bileşimi.

Bileşenler	Meyve suyu(g/L)*		Meyveler (farklı çeşitler)
	Taze sıkılmış ^a [8]*	pastörize ^b [28]	
Rel. yoğunluk	1,081	1,064	-
Kuru madde, in%	19,5 °Brix	15,5	15,6 [152]; 20 [93]. 16,7 – 28,8.
pH	3,6	3,3	3,3 – 3,7; [150].
Glikoz	41	40	NA
Fruktoz	38	37	NA
Glikoz + Fruktöz	79	77	66 – 100 [152] 130 – 176 g/kg YM; [78]
Sukroz	ND	ND	ND
Sorbitol	80	55	
Diyet lifi	Eser; [150].	NA	56 g/kg YM; [152]
-Pektinler	3,7 g/kg; [34]	NA	3,4 – 5,8 g/kg YM; [78]
Yağ	NA	NA	0,14% YM; [152]
Protein	NA	NA	0,7% YM; [152]
Organik asitler			
I-Malik asit	9,0	11,1	13,1 g/kg YM; [152]
Tartarik asit	ND	NA	NA
Sitrik asit	500mg/L	247 mg/L	2,1 g/kg FW; [152]
İzositrik asit	65mg/L	NA	NA
Şikimik asit	80mg/L	NA	NA
Süksinik asit	1,5	0,160	ND (taze meyve) 800mg/kg (3 ay saklanmış meyveler) FW; [78].
Vitaminler			
C vitamin	200mg/L	ND	137 mg/kg YM ;[152] 13 – 270 mg/kg YM; [78].
Folat, µg/L	NA	35 µg/L	200 µg/kg YM; [148].
Vitamin B1	500 µg/L	NA	180 µg/kg YM; [152]
Vitamin B2	600 µg/L	NA	200 µg/kg YM; [152].
Vitamin B6	550 µg/L	NA	280 µg/kg YM; [152]

Tablo 1. Devam.

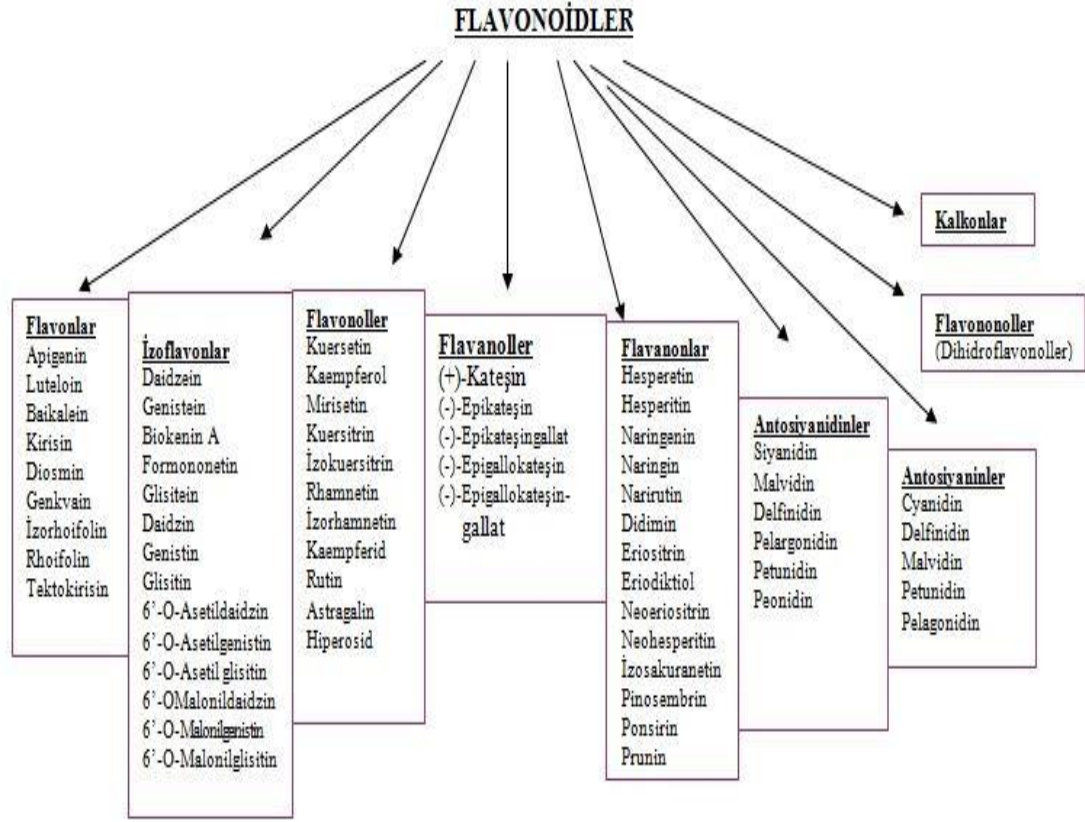
Niasin	3400 µg/L	NA	3000 µg/kg YM; [152]
Pantotenik Asit	2200 µg/L	NA	2790 µg/kg YM; [152].
Tokoferoller	NA	NA	17,1 mg/kg YM; [152].
Vitamin K	NA	NA	242 µg/kg YM; [152].
Mineraller			
Na, mg/L	5	5,7	26 mg/kg YM; [152].
K, mg/L	2 850	1 969	2 180 mg/kg YM; [152].
Ca, mg/L	150	185	322 mg/kg YM; [152].
Mg, mg/L	140	160	162 mg/kg YM; [152].
Fe, mg/L	4 (2 – 8)	0,4	9,3mg/kg YM; [152]
Zn, mg/L	1,3 (0,8 – 2,5)	0,6	1,47 mg/kg YM; [152].
I, µg/L	NA	< 5	NA
Kül	6,4; 4,6;[78].	3,6; 4,1; [78].	4 400; [152].; 5 800mg/kg YM.
Fitokimyasallar			
Karotenoitler	NA	70 µg/L	48.6mg/kg YM; [123].
-β-karoten	NA	32 µg/L	7.7 YM; [152]., 16.7mg/kg YM; [123]
-β- Kriptoksantin	NA	NA	4.63 YM; [152]., 12.2mg/kg YM; [123].
Violaksantin	NA	NA	13.0 mg/kg YM; [123].
Fenolikler	NA	6.3 – 6.95	7849 ^c mg/100 g KM; [111]. 7465 ^e mg/100 g KM [93]. 3760 ^d mg/100 g KM; [55]. 4210 ^d mg/100 g KM; [65]. 6902 ^d mg/100 g KM; [9]. 2556 ^d mg/100 g KM, wild; [195]. 2010 ^d mg/100 g KM; [187].
Amigdalın	57.5mg/kg; [78].	NA	201 mg/kg KM; [130].
* Aksi belirtilmedikçe. NA, analiz edilmedi; ND, tespit edilmedi; KM, kuru ağırlık; YM, taze ağırlık. ^a Laboratuvar koşullarında üretilen taze sıkılmış meyve suyu. ^b Ticari olarak üretilen Aronia suyu (% 100, pastörize, konsantre meyve suyu değil) ^c HPLC / DAD tarafından belirlenen tek bileşiklerin toplamı. ^d Folin-Ciocalteu yöntemi, standart olarak gallik aside dayalı konsantrasyon. ^e Folin-Ciocalteu yöntemi, standart olarak kateşin bazlı konsantrasyon.			



Şekil 4. Aronya Meyve Tutumunda Şemsiye Görünüm.

2.3. Fenolik Bileşik

Aromatik bir halka ve halkaya bağlı fonksiyonel türevleri de dahil bir ya da birden fazla OH gruplarını ihtiva eden maddeler, ‘fenolik bileşikler’ olarak tanımlanır. Fenolik bileşikler, bitkilerin gelişimi, çoğalması için zorunludur ve bitki biyokimyasında antioksidan ve enzim regülatörü olarak davranan ve gıda bileşenlerinin oksidatif stabilitesi ve mikrobiyal güvenliği açısından önemli etkileri olan antioksidan ve antikanser özellikli olabilen bileşiklerdir.



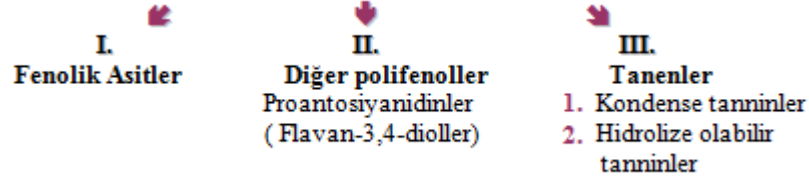
Şekil 5. Gıdalarda ve Yenilebilir Bitkilerde Mevcut Olan Flavonoidler [155, 156].

2.3.1. Flavonoidler ve Diğer Polifenolik Bileşikler

Genel yapıları 2-fenil-benzopiran halkasını (C₆-C₃-C₆) içeren flavonoidler (Şekil 5), bitki aleminin ikincil metabolitlerinden olup bitkilerin bileşiminde yer alan polifenollerin büyük bir bölümünü oluştururlar. Flavonoidlerin alt sınıfları; flavonlar, izoflavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, antosiyanidinler, antosiyaninler, flavononoller ve şalkonlar olmaktadır (Şekil 5) [155, 156].

Flavonoid bileşiklerin yanısıra, fenolik asitler, diğer polifenoller ve tanen bileşikleri de yenilebilir bitkiler ve çaylarında mevcut etken biyoaktifleri oluşturmaktadır (Şekil 6).

Diğer polifenolik bileşiler



Şekil 6. Yenilebilir Bitki ve Çaylarda Diğer Polifenoller.

2.3.2. Aronya Meyvesinde Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, belki de Aronia'da bulunan en önemli bileşenlerdir ve aynı zamanda aronya meyvesinin tıbbi özelliklerinin birçoğundan da sorumlu olan bileşiklerdir.

Aronya meyvelerinin, prosiyanidinler, antosiyaninler ve fenolik asitler bakımından içeriği oldukça yüksektir. Polifenollerin analizleri, standart koşullar olmadığı için birçok soruna neden olur.

Fenolik bileşenlerin analizi için HPLC / DAD ve HPLC / ESI-MS'ye kadar geniş bir yöntem yelpazesi mevcuttur ve Q-TOFF-MS gibi doğrulama yöntemleri de kullanılmaktadır. Doğru solvent seçimi ve doğru uygulanan ekstraksiyon koşullarının yanı sıra, fenolik olmayan (non-fenolik) bileşenlerin uzaklaştırılması da önerilmektedir [65, 73].

Son analitik metodlar, tanımlama, aydınlatma ve kantitatif analiz açısından üstün tesbitler sağlamaktadır. Analitiksel farklanmaların yanısıra bitki çeşidi, hasat zamanı, habitat, olgunlaşma düzeyi ve diğer sebepler de aronyanın içeriğini etkilemektedir.

Aronya meyvelerinin toplam fenolik içeriğinin, "Nero" varyetesi için 3440 mg/100 g [69], 3760 mg/100 g [55], ve "Viking" varyetesi için 4010 mg/100 g [66], 4210 mg/100 g kuru ağırlıktan [65], 7465 mg/100 g [93] ve 7849 mg/100 g kuru ağırlık [111] gibi yüksek bir aralığa değin olduğu belirlenmiştir. Tablo 1, kullanılan analitik

metod bazında fenolik madde içeriklerini göstermektedir. Tablo 2, şimdiye kadarki literatürlerde tanımlanan aronyaların içeriğindeki farklı fenolik bileşenleri özetlemektedir (Tablo 2).

Tablo 2. Aronya Meyvelerinde Bulunan Fenolik Fitokimyasallar.

Fenolik bileşenler	Meyveler (mg/100 g)	Referans
Prosiyanidinler (toplam)	5182 (KM) ^a , DP 23	[111].
	3992 (KM), DP 14	[93].
	664 (YM) ^a	[187].
Antosiyaninler (toplam)	307 – 631 (YM); 428 (YM), Yabani; 461 (YM)	[9, 130, 195].
	1480 (YM)	[78].
	770 – 970 (KM); 641 (KM), 1041 (KM)	[55, 65, 149].
	1959 (KM)	[111].
Cy-3-arabinozid	146 (YM); 142 (YM); 399 (YM), 582 (KM)	[78, 111, 141, 195].
Cy-3-galaktozid	315 (YM); 237 (YM); 990 (YM), 1 282 (KM)	[78, 111, 141, 195].
Cy-3-glikozid	10 (YM); 1.7 (YM); 37.6 (YM), 42 (KM)	[78, 111, 141, 195].
Cy-3-ksilosid	10 (YM); 47 (YM); 51.5 (YM), 53 (KM)	[78, 111, 141, 195].
Pel-3-arabinozid	2.3	[78].
Pel-3-galaktozid	Eser	[78].
Flavonoller		
Kuer türevleri (in sum)	> 71 (YM), 101 (KM)	[111,141].
- Kuer-3-galactoside	30.2 (YM); 37 (KM)	[111, 195].
- Kuer-3-glukozid	27.3 (YM); 22 (KM)	[111, 195].

Tablo 2. Devam.

- Kuer-3-rutinosid	15 (KM)	[111].
- diğer Kuer türevleri	27 (KM)	[111].
Flavanoller (Kateşinler)		
(-)-Epikateşin	15.4 (KM)	[111].
Fenolik Asitler		
Klorogenik asit	302 (KM), 61 (YM)	[111, 141].
Neoklorogenik asit		
ND, tespit edilmedi; Cy, siyanidin; Quer, quercetin; Pel, pelargonidin. ^a KM, kuru ağırlık; YM, taze ağırlık.		

Prosiyanidinler (PC'ler), aronyalardaki başlıca polifenolik bileşik sınıfı olarak aydınlatılmıştır [111]. PC'ler genel olarak birkaç monomerik birimin birleşmesinden oluşan oligomerik ve polimerik (epi) kateşinlerdir: 2-10 birim mevcut olduğunda, (epi) kateşin oligomerlerinden bahsedilirken, 10'dan fazla birim olduğunda (epi) kateşin polimerlerinden bahsedilir.

PC' ler monomerik bağlarının, pozisyonunda ve konfigürasyonunda farklılık gösterir, burada C4'C8 ve / veya C4'C6 bağları baskın tiplerdir (bunlar B tipi bağlar olarak adlandırılır). Aronya, sadece ana alt birim monomeri (-) – epicatechinli olan homojen B-tipi PC' ler içerir [111]. Kateşin birimlerinin oranı yaklaşık % 1,5' tir [32]. Gallikleştirilmiş alt birimler şu ana kadar saptanmadı [32, 187].

Farklı aronya varyeteleri ve çeşitlerinin de dahil olduğu sistemik araştırmaların mevcut olmamasının yanısıra, bitkinin çeşidi ve genetik özgeçmiş, PC içeriğini ve profil analizini etkileyen önemli bir faktör olarak ifade edilmektedir. Aronyalardaki PC bileşimi %0,78 oranında monomerler, %1,88 oranında dimerler, %1,55 oranında

trimerler, %6,07 oranında 4-6-merler, %7,96 oranında 7-10-merler ve %81,72 oranında >10-merler olarak rapor edilmektedir [187].

Farklı araştırmacılar tarafından, aronyalarda PC' lerin toplam içeriği küttelece 5182 mg/100 g kuru ağırlık [polimerizasyon derecesi (DP) = 23] [111], 3992 mg/100 g kuru ağırlık (DP=14) [93] ve 664 mg/100 g kuru ağırlık [187] olarak belirlenmiştir.

Posada polimerik PC' lerin içeriği 8192mg/100 g kuru ağırlık (DP = 34) [110] ve 5611mg/100 g kuru ağırlık [93], meyve suyunda ise 1579 mg/100 g kuru ağırlık (DP = 23) [111] ve 3652mg / 100 g kuru ağırlık [93] olarak bulundu. Antosiyaninlerin içeriğinin artırılması (şekil 1) siyah aronya ışlahında ana amaçtır [60]. Bu flavonoid sınıfı, meyvelere koyu kırmızı, mavi ve mor renklerini veren pigmentlerden sorumludur. *Aronia melanocarpa* meyveleri, başlıca siyanidin glikozitleri içeren antosiyaninlerin en zengin bitkisel kaynaklarından biridir [57,111, 9,149].

Aronya meyvelerinde, antosiyaninler toplam polifenollerin yaklaşık %25'ini temsil etmektedir [111].

İki farklı yılda toplanan siyah aronyanın sekiz genotipine ait (“Aron”, “Nero” ve “Viking” çeşitleri dahil) laboratuvar koşullarında basit pres kullanımıyla hazırlanan taze sıkılmış meyve sularında, toplam antosiyanin içeriği birinci yıl için 880–1400 mg/L ve ertesı yıl için ise 1290–1970 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu konuda, suya erişim gibi agronomik koşullar ya da olgunlaşma basamağındaki genotip farklılıklar etkili olmaktadır.

Aronya meyvelerindeki bireysel antosiyanidin düzeyleri yanısıra toplam antosiyanin içeriği posa ve meyve suyundaki antosiyanin konsantrasyonları sırasıyla 1837 ve 1173 mg/100 g kuru ağırlık (KM) olarak tespit edilmiştir [111].

Antosiyaninler bakımından zengin olan diğer meyveler ve böğürtlenler ile karşılaştırıldığında, siyah aronyaların basit bir antosiyanin profiline sahip olduğu görülmektedir [187, 149, 130].

“Nero”, “Rubina” ve “Viking” varyetelerinde antosiyanin bileşimleri aglikon yapı olarak siyanidin (Cy) bazlıdır. Bunlar, siyanidin 3-*O*-galaktozid (%68,9), siyanidin 3-*O*-arabinozid (%27,5), siyanidin 3-*O*-ksilosid (%2,3) ve siyanidin 3-*O*-glukozid (%1,3) olarak tanımlanmıştır [60, 148].

Antosiyanin dağılım şablonu ve ardışık dağılım düzeni aronya meyvelerinde, meyve suyunda ve posada aynıdır [111]. Eser miktarda pelargonidin 3-*O*-galaktozid ve pelargonidin arabinosid tespit edilmiştir [187]. Bu bağlamda, *Aronia melanocarpa* ekstraktındaki başlıca antosiyaninlerin tanımlanması için, ters fazlı HPLC kullanıldığında, UV spektrumunun ikinci ve üçüncü türevlerinin kullanışlı bir analiz dizaynı olduğu bildirilmiştir [97].

Antosiyanin ekstraktları giderek artan bir şekilde gıda ingrediyesi olarak kullanılmaktadır. Mevcut talep, meyvelerin renk özelliklerini korumalarını sağlamaktır. Aronya meyve ürünlerinin enzimatik esmerleşmesi antosiyaninlerin renk tonuna ve antioksidatif etkisine zarar vermektedir. Esmerleşme, kısmen doğal gıda renklendiricilerinin enzimatik degradasyonu vasıtasıyla söz konusu olmaktadır [61]. Renk tonu ve kararlılığı bakımından ekstraktların kullanımı sınırlanır ve ilgili faktörler kontrol altında tutulmalıdır [14].

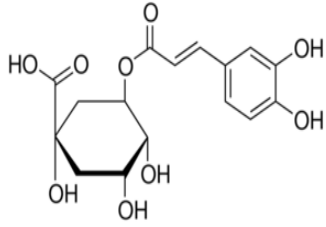
Antosiyaninlerde renk kalıcılığı için açılasyon sonderece avantajlıdır ve açillenmiş antosiyaninlerde renkler daha stabildir [14]. Belirli bir pH' da, renk kararlılığı esas olarak antosiyaninlerin ve renksiz fenolik bileşiklerin yapılarına bağlıdır. Renklendiricilerce zengin açillenmiş antosiyaninleri içeren ürünler (mor havuç, kırmızı turp ve kırmızı lahana), intramoleküler kopigmentasyon nedeniyle büyük kararlılık (stabilite) gösterirler [85].

Açillenmiş antosiyaninler içermeyen renklendiricilerde (mürver, frenk üzümü ve aronya) ise, intramoleküler kopigmentasyon renk korumada önemli bir rol oynar. Flavonoller bakımından zengin olan ve en yüksek kopigment/pigment oranına sahip olan renklendiriciler dikkate değer bir kararlılık gösterirler [85]. Bu bağlamda, antosiyaninlerinkinden daha büyük konsantrasyonlarda olan klorojenik asidin, aronya meyve sularının renk yoğunluğunu arttırdığı ve aynı zamanda copigmentasyon işleminde meyvelerde mevcut olan doğal kopigmentlerin katılımını teşvik ettiği bulunmuştur [175].

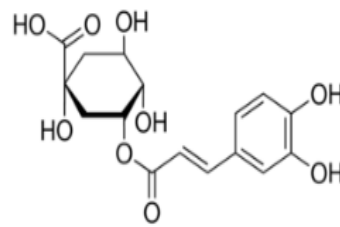
Kateşinler, kırmızı renklendiricilik işlemi üzerine negatif etkilidir, hızlıca içecek modellerinde sarımsıya döner. Bu etki, pH arttığı zaman daha belirgin olmaktadır. Sonuçta; renk, şeker eklenmesiyle fazla etkilenmemektedir [85].

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, en iyi fenolik madde kaynakları olan meyveler arasında aronya (chokeberry) ve üvez (rowanberry) gelmektedir [92]. Aronya ve üvezin üstünlüğü içerdikleri klorojenik ve neoklorojenik asitlerden dolayı olmaktadır. Klorojenik asit özellikle aronya meyvesinde ort.302 pulpda ort. 204 mg/100 g olarak, meyve suyunda ort. 416 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Tüm meyvedeki toplam fenolik maddelerin yaklaşık %4,5' unu oluşturmaktadır [111]. Flavanollerin ve özellikle epicatechinin düzeyi fenolik asitlerin başını çeken klorojenik asit düzeylerinden daha düşüktür ve toplam aronya fenoliklerinin yalnızca %1,3' ünü temsil etmektedir [111]. Özellikle son çalışmalarda da yapıda beş kuersetin türevinin aydınlatıldığı belirtilmektedir: 3-O-(6'-O-β-arabinozil-β-glukozid), 3-O-(6'-α-ramnozil-β-galaktozid), 3-O-(6'-α-ramnozil-β-glukozid), 3-O-β-galaktozid ve 3-O-β-glukozid [141]. Bunların düzeylerinin yaklaşık 71 mg/100 g taze meyve olduğu ifade edilmektedir [141]. Sırasıyla meyvede, pulpda ve meyve suyunda yer almakta olan üç kuersetin türevinin [3-O-(6'-α-ramnozil-β-glukozid)], 3-O-β-galaktozid ve 3-O-β-glukozid] konsantrasyonlarının sırasıyla 13–27, 36–50 ve 21–31 mg/100 g KM olduğu belirtilmektedir [111]. Söz konusu çalışmada belirtildiği üzere yapısı aydınlatılmayan kuersetin türevlerinin mevcudiyetinin de 27-82 mg/100 g KM aralığında olduğu ifade edilmektedir [111].

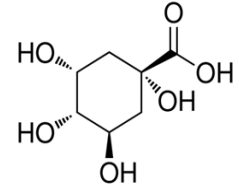
Fenolik Asitler



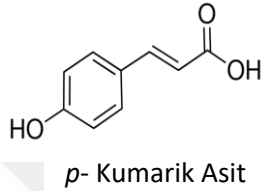
Klorogenik Asit
(5-Kafeoilkuinik Asit)



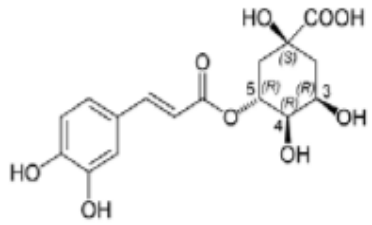
Neoklorogenik Asit
(3-Kafeoilkuinik Asit)



Kuinik Asit



p-Kumarik Asit

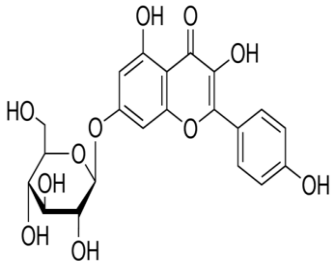


Kafeik Asit

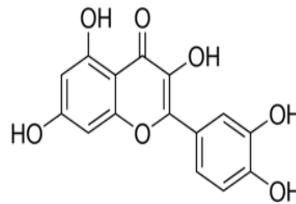
Kuinik Asit

Kriptoklorogenik Asit → 4-Kafeoilkuinik Asit

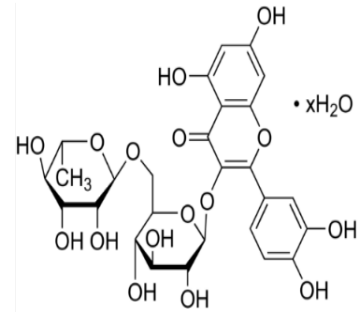
Flavonol ve Glikozitleri



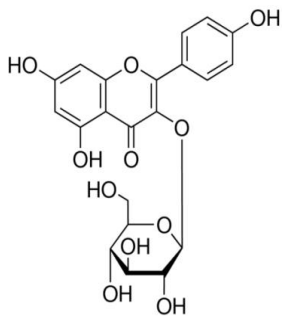
Kaemferol-7-glikozit



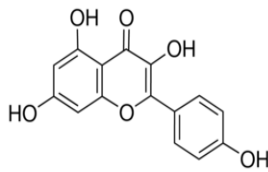
Kuersetin



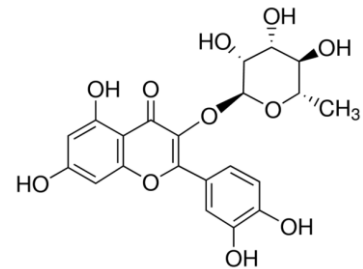
Rutin
(Kuersetin-3- glikozid)



Astragalin
(Kaemferol-3-rutinosid)



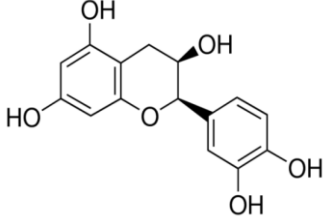
Kaemferol



Quercitrin
(Kuersetin-o-glikozit)

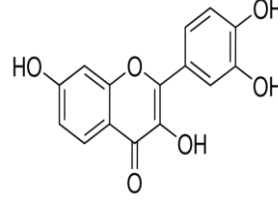
Şekil 7.(1). Aronya Meyvesi Bileşimindeki Majör Fitokimyasallar

Flavanoller (Katesinler)

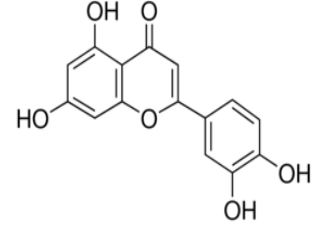


Epikateşin

Flavonlar

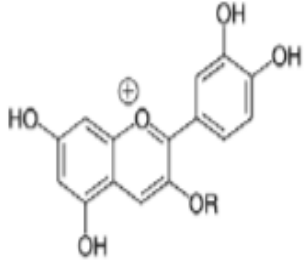


Fisetin



Luteolin

Antosiyaninler



R=galaktoz → siyanidin-3- galaktosid

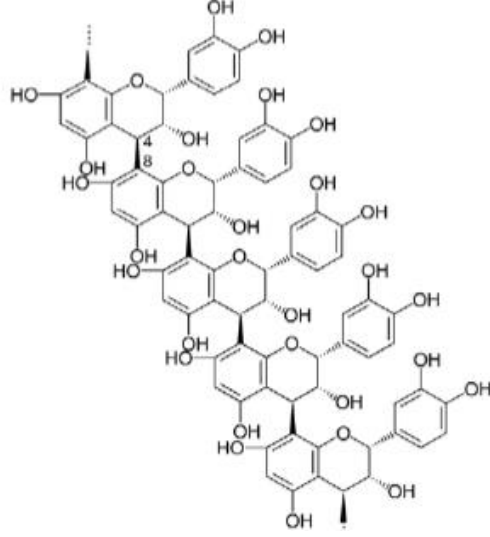
R=arabinos → siyanidin-3- rabinosid

R=ksiloz → siyanidin-3- ksilosid

R=glikoz → siyanidin-3- glikosid

Şekil 7.(2). Aronya Meyvesi Bileşimindeki Majör Fitokimyasallar.

B Tipi Prosiyanidinler (C4-C8 Bağlı Epikateşin Üniteleri İçeren)



Şekil 7.(3). Aronya Meyvesi Bileşimindeki Majör Fitokimyasallar.

2.3.3. Aronya Meyvesinde Yer Alan Bazı Önemli Polifenollerin Özellikleri

Klorogenik Asit: Aronya meyvesinde majör konsantrasyonda mevcut olduğu rapor edilen klorogenik asit (CA), lignin biyosentezinde bir ara madde olarak işlev gören kafeik asit ve (-) - kuinik asidin esteridir [12]. Bu sebeple klorogenik asit, bağırsak mikroflorası ile kafeik asit ve kuinik asit dahil olmak üzere çeşitli aromatik asit metabolitlerine hidrolize edilir [42]. "Klorogenik asitler", kuinik asitli hidroksisinamik asitlerin (kafeik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit) ester türevleridir [19] ve isminde "kloro" olmasına rağmen, klorogenik asitler klor içermez. Bitkilerde, meyvelerde ve sebzelerde mevcut olan fenolik asitlerdir. Klorogenik asit, aromatik bir ana yapı üzerinde komşu hidroksil (OH) gruplarına sahiptir ve in vitro çalışmalarda reaktif oksijen türlerini yok etmede etkindirler; antimutagenik, antikarsinojen, ve antioksidan aktivite sergilemektedirler [110].

Kaempferol 7-O-glikozit: Kaempferol 7-O-glikozit, flavonol glikozitlerin bir üyesidir. Bitki metaboliti ve radikal temizleyici olarak görevlere sahiptir [191, 48]. Kaempferol 7-O-glikozit bileşiği, E. coli, Aspergillus flavus , Aspergillus Niger üzerinde nispeten daha zayıf antimikrobiyal etkileresahip olmasına karşın, P. Aeurogenosa ve Salmonella Typhi üzerinde ise güçlü antimikrobiyal etki göstermektedir [136].

Astragalin: Astragalin, kaempferolün bir 3-O-glikozit formudur. Özel tıbbi bitkilerde mevcuttur. Ve antiinflamatuvar aktiviteyeye sahiptir [79, 144]. Araştırmalar, astragalin ile ön tedavinin ölümcül endotoksemi sırasında sağkalım süresini artırdığını ve akut akciğer hasarlı-lipopolisakkarit (LPS)'li bir rat modelinde iltihaplanmayı azaltabildiğini ortaya koymaktadır [144].

Luteolin: Luteolin, 3', 4', 5,7-tetrahidroksiflavon olup, meyveler, sebzeler ve şifalı tıbbi bitkiler dahil olmak üzere birçok bitki türünde bulunan yaygın bir flavonoiddir [81]. Luteolin en yoğun bitki yapraklarında bulunur, aynı zamanda meyve kabuklarında, polenlerinde de görülür [89]. Luteolin bakımından zengin bitkiler, geleneksel alternatif tıpta, hipertansiyon, enflamatuvar bozukluklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Anti-enflamasyon, anti-alerji ve antikarsinojenite gibi çok sayıda biyolojik etkiye sahip olan luteolin, ya bir antioksidan ya da bir oksidasyonu hızlandırıcı biyokimyasal olarak işlev görmektedir [190].

Fisetin: Fisetin (3,7,3', 4'-tetrahidroksi flavon) flavonoidler grubunun flavon polifenolüdür [113]. Renklendirici bir madde olarak birçok bitkide bulunabilmektedir [27]. Fisetin meyve suları, çaylar gibi meyve ve bitkisel bazlı kaynaklardan da ekstrakte edilebilmektedir [26]. Güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu ve çeşitli serbest radikallerin neden olduğu rahatsızlıklara ve hastalıklara karşı potansiyel olarak faydalı bir terapötik ajan olarak önerildiği rapor edilmektedir [128, 129]. Fisetinin antikarsinojen aktivitesini laboratuvarlarda yürütülen hücreler ve model hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar teyit etmektedir [151].

Epikateşin: Flavonoidlerin önemli alt sınıfı olan, güçlü antioksidatif ve antikanserojen etkileri ile insan sağlığı üzerinde son derece olumlu etkileri olan kateşinler (flavanoller) kapiler güçlendirici aktiviteleri, antiarterosklerotik etkileri (LDL'nin oksidasyonunu inhibe edici etkileri) ile antikarsinojen etkileri ve kalp rahatsızlıklarına ilişkin risk faktörlerini indirgeyici ajanlar olmaları sebebiyle de önemli biyoaktiflerdir. Kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşingallat olmak üzere alt sınıflara ayrılırlar [155, 156].

Bu grup dahilinde yer alan epicatechin, monomerik bir kateşindir. (-) - Epicatechin (2R, 3R) konfigürasyonlu, bir flavan-3-oldür. Antioksidan ve antikarsinojen olarak rol oynar ve (+) – Epicatechin' nin enantiyomeridir. Epicatechin genellikle bitkisel çaylarda ve yenilebilir bitkisel ürünlerde yer almaktadır [22]. İn vivo çalışmalar, düşük epikateşin seviyelerinin dolaşımında glukuronitler, metillenmiş ve sülfatlanmış formlar olarak emildiğini ve bulunduğunu göstermiştir. Son araştırmalar, epikateşinin ve onun in vivo metabolitlerinden biri olan 3'-O-metil epikateşinin, oksidatif stres ile indüklenen nöronal hücre ölümüne karşı koruyucu etkilerini göstermiştir [100]. Epikateşinin, ratların hayatta kalmasını sağlamanın yanı sıra, yaşa bağlı olarak çeşitli biyolojik belirteçlerdeki olumlu değişikliklerle bir anti-aging bileşiği olabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [134].

2.4. Aronya Meyvelerinin Potansiyel Genel Sağlık Etkileri

Fenolik bileşenlerin emilimi ve metabolizması ile ilgili veriler [88, 121] aronya meyvelerinin sağlık için potansiyel yararları olduğunu göstermektedir. Halen literatürlerde Aronia melanocarpa'nın meyvelerinin, meyve suyunun veya ekstraktlarının istenmeyen ve toksik etkileri ile ilgili hiçbir veriye rastlanamamıştır [172].

Aronya antosiyaninlerinin [192] yanı sıra, prosiyanidinlerinin ve klorojenik asitlerinin [4, 121] alımı ile bağlantılı olarak kaydedilen fizyolojik ve biyolojik etkiler ortaya konulmuştur. Bitkisel bir ilaç niteliği taşıdığı öngörölmüş olup kimyasalların zararlı etkilerini önleyici özellikleri son zamanlarda araştırılmıştır [29].

Mevcut insan hücre ve klinik çalışmaları ile ilgili verilerin toplanması sınırlı olduğundan, aronyanın en önemli potansiyel sağlık etkileri, in vitro çalışmalara ve mümkün olduğunca ratlarla yapılacak ziyade çalışmalarını da gereksinim bulunmaktadır.

2.4.1 Antioksidanlar Etkiler

Aronya meyve suyunun, aronya ekstraktının veya fenolik bileşenlerinin antioksidan özellikleri, farklı in vitro deneyler kullanılarak araştırılmaktadır. Bu

deneyler arasında metil linoleat oksidasyonu [65, 66], oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) [187, 195], troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) [10, 58, 111, 176], ferrik iyon azaltıcı antioksidan gücü (FRAP) [120] ve DPPH [9, 10, 29, 57, 58,111] ile anti radikal kapasite yer almaktadır.

ORAC yöntemi ile gerçekleştirilen ölçüm sonuçlarına göre, taze Aronya meyvelerinin, böğürtlenler ve araştırılan diğer meyveler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulgulanmıştır [30, 63, 101, 177, 178,180, 195].

Aronia suyunun, yaban mersini suyundan veya kızılıcık suyundan dört kat daha yüksek TEAC antioksidan kapasite değerlerine sahip olduğu ve böylece polifenol bakımından zengin içecekler arasında olduğunu belirlenmiştir [41, 127, 182]. Radikal temizleme faaliyetinden sorumlu olan en önemli bileşikler, toplam fenolik içerikte yer almaktadır ve ORAC veya TEAC değerleri arasında iyi bir korelasyon gözlenmektedir [58, 127, 187].

Antosiyaninlerin toplam antioksidan aktiviteye katkısının, taze aronya meyveleri için yaklaşık % 33 ve ticari bir Aronya suyu için yaklaşık % 42 olduğu ölçümlenmiştir [182, 195].

Prosiyanidinler ve o-dihidroksifenil grupları içeren antosiyanidinler, radikal temizleme aktivitelerinin yanı sıra, mükemmel metal şelatörlerdir ve demir (III) ve bakır (II) ile kompleks oluştururlar [52]. Biyolojik sistemlerdeki serbest demir ve bakır varlığı, Fenton reaksiyonu gibi serbest radikal reaksiyonlarını katalizler. Fenolik bileşenlerin iki değerli geçiş metallerini bağlama kabiliyeti, bu katyonların konsantrasyonunu ve dolayısıyla prooksidatif aktivitelerinin derecesini etkili bir şekilde azaltmaktadır [125].

Hayvan denemeleri sonuçlarına göre; aronya antosiyaninlerinin lipit peroksidasyonunu azalttığı ve antioksidan savunma sisteminde yer alan enzimlerin aktivitesini arttırdığı ifade edilmektedir [33, 37, 71, 72].

İn vitro ve in vivo sistemlerde, DPPH radikallerini güçlü bir temizleyicisi olduğu ve oluşan gastrik mukozal hasarı dozajına bağlı olarak önleyebildiği belirtilmiştir. Mide asidi salgısını baskılamaksızın gastrik mukozal hasar gelişiminini baskıladığı mekanizmalardan birinin, siyanidin türevleri tarafından aktif oksijenin temizlenmesi mekanizması olduğunu öne sürülmüştür [91].

Kayıkcılık mesleğinde çalışan bir grubun egzersize bağlı olarak kırmızı kan hücrelerinde oluşabilen oksidatif hasarının aronya meyve suyu takviyesi ile uygulanan bir diyetle sınırlandırıldığını gösteren veriler elde edilmiştir [117].

2.4.2 Kanser Hücrelerinin Çoğalmasının Önlenmesi

İn vitro çalışmaları [11, 86, 194] ve bir hayvan çalışmasını baz alan [40] raporda, aronya meyvelerini ve / veya aronya ekstratlarının kolon kanserine (CA) karşı çoğalmayı önleyici veya koruyucu etkilerinin olduğu ifade edilmiştir.

Aronia melanocarpa' dan elde edilen antosiyanin bakımından zengin bir ekstrenin, insanda HT-29 kolon CA hücreleri için programlanmış hücre ölümünü uyarmasına ek olarak büyümelerini de önlediği, ancak dönüştürülmüş olmayan NCM460 kolon hücrelerinin büyümesi üzerinde çok az etki yaptığı rapor edilmiştir [87, 194]. Aronya ekstraktının, antosiyanin bakımından zengin üzüm ve yabanmersini ekstraktlarına göre kolon CA hücre büyümesini daha fazla inhibe etmiş olduğu belirtilmektedir [194]. Bir diğer çalışma, aronya meyve suyuna maruz kalmanın, G2 / M hücre döngüsünü durdurarak, Caco-2 hücre çoğalmasını önlediğini göstermiştir [11]. Caco-2 hücreleri ile ilgili olguda; aronya meyve suyuna maruz kalmanın ardından, gen ekspresyon analizinin, erken dönemde adenomların ve karsinomların çoğunda azaldığı bilinen tümör bastırıcı karsinoembriyonik antijenle ilişkili hücre adezyon molekülü 1 (CEACAM1)' nin yukarı regüle edildiğini göstermiştir. Bu antikarsinojenik potansiyel, kolon kanserojeni azoksimetan ile muamele edilmiş erkek ratlar kullanılarak gerçekleştirilen bir hayvan çalışmasında, elde edilen verilerle daha da desteklenmiştir.

Aronya' dan elde edilen antosiyanin (siyanidin 3-0-glikozid) bakımından zengin ekstrakt, kolonik epitel hücre çoğalması oranını düşürmüştür [75].

2.4.3 Antimutajenik etkiler

Aronya meyvelerinden izole edilen fenolik bileşiklerin antimutajenik aktivite sergilediği de belirlenmiştir [5, 40].

Aronyadan izole edilen antosiyaninler, Ames testinde ve aynı zamanda kültürlenmiş insan lenfositleri ile yapılan kardeş kromatit değişim testinde benzo[a]piren ve 2-aminoflororenin mutajenik aktivitesini belirgin şekilde inhibe etmiştir [40].

Ayrıca, aronya meyve suyu alımının, aminopirin ve sodyum nitrit ile muamele edilmiş ratlarda, endojen N-nitrozamin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Aronya meyve suyu alımının, aminopirin ve sodyum nitrit ile muamele edilmiş sıçanlarda endojen N-nitrozamin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sonuç olarak, nitrozamin öncülleri ile beslenen ratların karaciğerlerinde gözlenen histopatolojik değişiklikler incelenmiştir ve aronya meyve suyu ile birlikte tedavi edilme süreci sonunda olumlu etkiler belirlenmiştir [5].

2.4.4 Karaciğeri koruyucu etkiler

Bir hayvan çalışmasında, diyetlerinde aronyadan dolayı antosiyaninleri ve de kadmiyum (Cd)'u birlikte alan ratların karaciğerinde ve böbreğinde kadmiyum toksisitesinin ve birikiminin azaldığı görülmüştür [71]. Kadmiyumun neden olduğu zararı azaltabilmesinin bir sonucu olarak, antosiyaninlerin metal iyonları ile kompleksleşme ve şelat bileşikleri sağladığı ifade edilmektedir.

Aronya meyve suyunun ratlardaki karaciğeri koruyucu etkisi, karbon tetraklorüre (CCl₄) şiddetli maruz kaldıktan sonra da gözlemlenmiştir [171]. CCl₄ nedeniyle oluşan karaciğeri sitotoksitesisi, sitokrom P450 ile onun metabolizmasına, yüksek oranda reaktif triklorometil serbest radikallerine bağlıdır. CCl₃ radikalinin oksijen ile reaksiyonu, en sonunda hücre ölümüyle sonuçlanan lipid peroksidasyonunu başlatır [171].

Aronya meyve suyu, rat karaciğeri ve plazmasındaki, malonodialdehit bileşeni ile ölçülen CCl₄ kaynaklı lipid peroksidasyon artışını önlemiştir. Ürün matriksi içerisindeki antosiyaninlerin ve / veya diğer fenolik bileşenlerin serbest radikalleri temizleme kabiliyetinin bu noktadaki etkisinin önemi ortaya konulmuştur [171].

2.4.5 Kalbi koruyan etkiler

Aronya meyvesinin, kardiyovasküler hastalıklar için çeşitli risk faktörlerini olumlu yönde etkileyebildiği rapor edilmektedir. İn vitro deneyler, fenolik bileşenlerin endotel hücrelerin korunmasına ve restorasyonuna, ve dolayısıyla işlevlerine katkıda bulunduğunu göstermektedir [44, 194].

Domuz koroner arterlerinde vazoaktif ve vazoprotektif özelliklerin yanı sıra antitrombosit etkiler de [7, 8, 109, 124] gözlemlenmiştir.

Ratlarda hiperlipidemik bir deney modelinde, diyetle alınan aronya meyve suyu, plazmadaki toplam kolesterol, LDL kolesterol ve plazma lipidlerinin yükselmesini engellemiştir [175].

Hafif hiperkolesterolemi olan erkeklerde, 6 hafta boyunca düzenli aronya meyve suyu içilmesi (günde 250 mL), serum total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeylerinde önemli bir azalmaya neden olurken, HDL kolesterol seviyesini yükseltmiştir. Ayrıca, serum glukozunda, homosistein ve fibrinojen konsantrasyonlarında ılımlı ancak istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir [138].

Aronya meyvelerinden elde edilen flavonoidce zengin ekstraktın benzer bir hipotansif etkisi, miyokard enfarktüsünden sonra, aynı anda statinlerle tedavi edilen ve diabetes mellitus tip II' si olan hastalarda rapor edilmiştir [104, 105, 135].

Miyokard infarktüsü sonrası hastalarda, kardiyovasküler risk belirteçlerinin belirginleştirilmesi yönünde kullanım etkisi bulunduğu, iskemik kalp hastalığının ikinci

derecede önlenmesi için olası bir klinik kullanım ajanı olması yönünde önerilebileceği söz konusudur [104].

2.4.6 Antidiyabetik etkiler

Aronia melanocarpa antosiyaninleri ile gerçekleştirilen araştırmalar, diabetes mellitus tip II ve diyabetle ilişkili komplikasyonların önlenmesinde ve kontrolünde faydalı olabileceğini göstermiştir [135, 174]. Aronya meyve suyunun diyabetik sıçanlara uygulandığı bir hayvan modelinde, aronyanın, hiperglisemiyi ve hipertrigliseridemiye azalttığı görülmüştür [174].

Bir insan çalışmasında, insüline bağımlı olmayan diyabeti olan hastalarda, 3 ay boyunca günlük 200 ml aronya meyve suyu alımı, açlık glukoz seviyelerinin düşürülmesinde etkili olmuştur. Aronya meyve suyu, HbA1c-glikosile edilmiş hemoglobin, total kolesterol ve lipid seviyeleri üzerinde de olumlu etki göstermiştir [135].

Söz konusu bulgular prosiyanidin yönünden zengin diğer gıdaların diyabet üzerindeki etkisini gösteren raporlarla uyumludur [115,118, 168].

Son zamanlarda yapılan insan çalışmaları, aronya meyve suyunun obezite bozukluklarının tedavisinde faydalı olabileceğini de teyit edici yöndedir [196].

2.5. Kanser Olgusu ve Antiproliferasyon

Kanser, genel tanımı ile, vücudumuzun çeşitli organ veya dokularında genetik ve çevresel koşulların etkisi ile oluşabilen ve hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan 100'den fazla hastalık grubunu içine alan olgudur. Çok çeşitli kanser tipleri olmasına karşın, hepsi anormal hücrelerin kontrol dışı çoğalması ile başlar ve tedavi edilmediğinde ciddi rahatsızlıklara, ölümlere yol açar.

Belirli tipteki kanserler için olabildiğince standart yaklaşımlar geliştirilmesine rağmen bireysel bir hastalık olduğu dikkate alınmalıdır ve dünya üzerindeki hiçbir

insanın DNA'sı birbirine benzemediği için kişilerin benzer tedavilere farklı yanıtlar oluşturması doğaldır.

Teknolojinin ilerlemesini takiben mevcut tedavilere ek olarak yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Standart olarak kabul edilen kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemlere ilave olarak aşular, biyolojik, hormonal, hedeflenmiş ve gen terapiler giderek artan sayıda kullanım alanı oluşturmaktadır ancak son yıllarda kemotreapotik ilaçları takiben antioksidatif bitkisel takviyeler de önem kazanmaktadır.

Canlıların temel yapı taşı hücreler, enzimler, hormonlar ve diğer uyarılar altında, gereksinmeye göre düzenli şekilde büyür, bölünür, yaşlanır ve ölürlür. Kanserde çeşitli etkenlerle değişime uğrayan hücreler kontrolsüz ve düzenli olmayan şekilde sürekli olarak büyür, bölünür. Kontrolsüz çoğalmış hücreler, kan, lenf ya da vücut boşlukları yoluyla primer lokalizasyonları dışındaki yerlere sıçrama yaparak (metastaz) oralarda da büyümeye devam eder ve insan hayatını tehdit eden hale gelirler. Bu bağlamda, işlevsel farklılıklar da ortaya çıkar, hücreler normalde yaptıkları fonksiyonları yapamaz duruma gelir ya da bazı yeni fonksiyonlar üstlenirler.

Kanser olgusu; ultraviyole ışınlar, iyonize radyasyon, kimyasal karsinojenlere maruziyet, beslenme faktörleri (malnutrisyon), alkol, virüsler, genetik faktörler gibi birden çok sebebe bağlı olarak gelişen bir hastalıktır [169].

Kanser insidans hızlarının ve profillerinin gelişmiş ve az gelişmiş ülkeler arasında farklılık gösterdiği rapor edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde erkeklerde daha çok akciğer ve prostat kanseri, kadınlarda ise meme kanseri ve kolorektal kanserler görülürken, az gelişmiş ülkelerde erkeklerde akciğer, mide ve karaciğer kanseri, kadınlarda ise meme ve serviks kanseri daha sık ortaya çıkmaktadır [169].

2.5.1. Sitotoksite ve Hücre Canlılığı

Uygun dozda alınmayan her madde metabolizmada zehir etkisi oluşturabilmektedir. Zehir, canlı organizmada zararlı etki gösteren herhangi bir madde

olarak tanımlanabilmektedir ve toksikoloji, zehir bilimi olmaktadır. Metabolizmadaki zehir etkisi, bir yapı değişikliği şeklinde olabileceği gibi biyokimyasal lezyon şeklinde de ortaya çıkabilmektedir. Oluşum gösteren etki, tersinir olabileceği gibi hücre ölümü şeklinde de söz konusu olabilmektedir. Canlı hücreler üzerinde kimyasal maddeye bağlı yapı ve fonksiyon değişimlerinin aydınlatılması amacıyla deneysel toksikolojik çalışmalar gerçekleştirilmektedir.

Hücre proliferasyon analizi için çeşitli yöntemler kullanılmakta olup, sıklıkla MTT yöntemi ile gerçekleştirilebilmektedir. MTT analizi; formazon boyalarının ya da MTT azalmasına bağlı olarak enzimatik aktivitenin kolorimetrik ölçümüne dayanan hücre çoğalma miktarının tespit edildiği yöntemdir. Söz konusu metodla kullanılacak olan herhangi bir terapötik ajanın hücre üzerindeki sitotoksik ya da proliferatif etkileri ortaya konulabilmektedir.

2.6. Aronya Meyvesi ve Kanser Araştırmaları

Aronya melanocarpa uygulamasının epiteliyal ovaryum kanseri hücre hattı SKOV-3 üzerine immunositokimyasal ve apoptotik etkileri ortaya konulmuştur [64]. Bu çalışma kapsamında ölümcül jinekolojik CA türlerinden biri olan epiteliyal ovaryum kanseri üzerine aronya meyvesi etkileri incelenmiştir ve *Aronia Melanocarpa*'nın SKOV-3 hücre hattına etkilerinin in vitro yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır. *Aronia Melanocarpa* konsantrasyonları 400 µg/ml, 300 µg/ml, 200 µg/ml, 150 µg/ml, 100 µg/ml, 75 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 10 µg/ml, 5 µg/ml, 1 µg/ml şeklinde ve 24 saat, 48 saat ve 72 saat aralıklarla uygulanmıştır. İlgili araştırmada, *Aronia Melanocarpa*'nın CA hücrelerine sitotoksik etkilerini saptamak için MTT testi ile etkin olan 5 doz seçilmiştir ve apoptozis üzerine etkileri Tunel yöntemiyle araştırılmıştır. Bu etken maddenin tümör hücrelerindeki PI3K, mTOR, p 38 MAPK sinyal yolağı üzerinden olan etkisi immünohistokimyasal (ICC) yöntemle belirlenmiştir.

Bilindiği üzere birçok kanser türleri gibi ovaryum kanseri de, başlangıçta bu kemoterapik ilaca cevap vermekte iken, uzun vadede, ilaca direnç gelişir ve tedavide

başarısız olunur. İlaç direncini baskılayabilmek için son yıllarda kemoterapotik ilaçlar ile birlikte antioksidanlar da tedavi için önerilmektedir [64].

Gerçekleştirilen çalışmada, sitotoksitite analizleri neticesinde *Aronia melanocarpa* baskılayıcı konsantrasyon (IC50) değerinin 50 µg/ml olduğu bulgulanmıştır. *Aronia Melanocarpa*'nın kontrol grubuna göre apoptotik etkilerinin de belirlendiği çalışmada, bu etkinliği PI3K/mTOR ve p 38 MAPK sinyal yolları üzerinden gerçekleştirdiği bulgulanı. Aronya muamelesinin antikemoterapotik ajan olan paklitakselle kombine edilmesi durumunda en etkili dozun 50 µg/ml *Aronia* ve 0,02 µM paklitaksel olduğu ifade edildi [64].

Siyah aronya ekstraktının meme kanseri üzerine biyolojik aktivitesinin incelendiği bir diğer araştırmada [67], kemoterapinin I.,II.,III.,IV. evrelerinden sonra, invaziv meme kanserindeki plazma proteinlerinin 3-nitrotyrosine düzeyi, invaziv meme CA lı hastaların plazma proteinlerine göre önemli derecede yüksek olarak bulgulanmıştır [67].

Bu çalışmada *A.melanocarpa*'nın ticari ekstraktı Aronox (Agropharm Ltd., Poland; batch no. 020/2007k), in vitro' da geliştirilen modelde *A.melanocarpa*'nın (50 µg/ml, 15 min, 37°C) ekstraktı, kemoterapinin I.,II.,III.,IV. evrelerinden sonraki invaziv meme kanserli hastalardan (47 invaziv meme kanserli kadın; yaş aralığı 43-72 ort.55.1) alınan plazma proteinlerinin modifikasyonlarını azalttığı tespit edilmiştir [67]. Tedavideki farklı evreler süresince hastalardan alınan plazmalarda yapılan incelemelerle test edilen ticari ekstraktın, antioksidan enzimlerin (süperoksid dismütaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimlerinin) modifikasyonunu azalttığı bulgulanmıştır [67].

A.melanocarpa meyvesi ekstraktının antimutajenik aktivite gösterdiği [40], meme kanserli hastalarda antioksidan aktivite ve belirgin bir immünomodülator aktivite gösterdiği önceki dönemlerde bulgulanmıştır [75, 86].

Siyah aronya (*Aronia melanocarpa*) suyunun, idrar yolu enfeksiyonlarının insidanslarını azalttığı bulgulanmıştır [45].

İdrar yolu enfeksiyonları (üriner enfeksiyonları), huzurevlerinde önemli bir problem olarak görülmektedir ve tedavi dayanağının antibiyotikler olduğu rapor edilmiştir. Üropatojenlerin antimikrobiyal ajanlara rezistansının artan prevalansı, yinelenen üriner enfeksiyonları önleyebilmek adına spesifik nütrientlere (cranberry; kıızılçık vb) olan eğilimi artırmıştır [45].

İlgili pilot araştırmada, 6 huzurevinde yapılan çalışmalarda, belirlenmiş denekler üzerinde altı ay süresince siyah aronya suyu tüketimi yapılmıştır. Huzurevi sakini deneklere 3 aylık bir süre boyunca plasebo içeceği, ardından diğer 3 ay boyunca da aronya suyu (grup A) veya tersi (B grubu) verilmiştir [45]. Çalışılan meyve suyu B-tipi prosiyanidinler, antosiyaninler ve klorogenik asitler dahil olmak üzere toplam fenolik içerik bakımından 715 mg gallik asit eşdeğeri, 100 ml-1 olarak karakterize edilmiştir. Günlük chokeberry suyu alımı, Grup A'da denek başına 156 mL (n = 110) ve Grup B'de (n = 126) denek başına 89 mL olarak belirlenmiştir.

İdrar yolu enfeksiyonu, söz konusu süreçteki çalışma süresi boyunca tıbbi olarak tedavi edilen tüm enfeksiyonların % 55'ini oluşturmaktadır [45].

Sonuçlar idrar yolu enfeksiyonları (İYE) sıklığında veya toplam antibiyotik kullanımında hemen bir azalma olmadığını ortaya koymuştur, bununla birlikte, sonraki 3 aylık aronya meyve suyu uygulaması sırasında, her iki grupta da idrar yolu enfeksiyonunda azalmayı takiben antibiyotik kullanımında da azalma ile sonuçlanmıştır İYE insidansı Grup A'da % 55, Grup B'de % 38 düzeyinde azalma göstermiştir. Diğer enfeksiyonlarda veya profilaktiklerde herhangi bir değişiklik gözlenmediği rapor edilmiştir [45].

Yapılan çalışmada polifenolce zengin bir aronya suyunun diyetle tekrarlı kullanımı sonrasında Caco-2 kolon hücrelerindeki değişimin belirlendiği çalışmada,

tümör baskılayıcı karsinoembriyonik antijene bağlı hücre adezyon molekülünün regülasyonu incelenmiştir [11].

Bilindiği üzere gelişen ülkelerde, kanser ölümlerine yol açan en önemli kanser tiplerinden biri kolon kanseridir. Polifenolce zengin kırmızı meyve ve böğürtlen tipi meyvelerin tüketiminin kolon kanserini azaltmakta olduğuna dair veriler mevcuttur ve ilişkin mekanizmalar hala yeterince açık değildir. Çalışma kapsamında, Subconfluent kolon karsinomu olan Caco-2 hücrelerinin tekrarlayan maruziyete tepkisi araştırılmıştır ve deneklere 4 gün periyodu boyunca günde 2 saat olmak üzere miks polifenoller içeren subtoksik dozda bir aronya suyu verilmiştir [11].

Gerçekleştirilen söz konusu çalışmada, fizyolojik koşullar altında, aronya suyunun in vitro gastrik ve pankreas sindirimine maruz bırakılmış olduğu ifade edilmektedir ve canlılık, proliferasyona etkiler ve hücre döngüsünün belirlendiği belirtilmektedir ve aronya tedavisine cevap olarak genlerin ekspresyonundaki değişikliklerin affimetrik oligonükleotid mikroarray kullanımıyla tarandığı ifade edilmektedir [11].

Çalışmada ekspresyonunun erken adenomlarında ve karsinomaların çoğunda azaldığı bilinen tümör baskılayıcı karsinoembriyonik antijene bağlı hücre adezyon molekülünün 1 (CEACAM1), hem mRNA hem de protein seviyelerinde yapılan işlemle (akış sitometrisi analiziyle de gösterildiği gibi) regüle edilmiş olduğu belirtilmektedir.

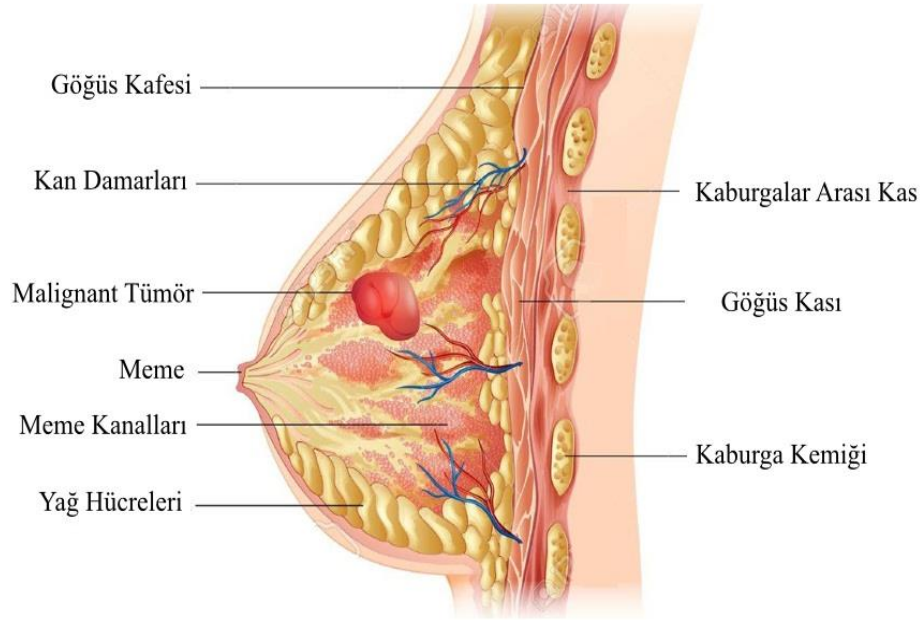
Hücre canlılığı ve hücre çoğalmasının sonuçları ortaya konulmuştur [11].

Kontrol hücrelerde canlılık gözlenmediği (yalnız %10 gibi küçük bir proliferasyon olduğu) belirtilmiştir. Muamele edilmemiş hücreler ile kıyaslandığında, Caco-2 hücrelerinin %2 ve %5 sindirilmiş aronya suyuna maruz bırakılması, sırasıyla ~%40 ve ~%70 inhibisyonla sonuçlanmış olduğu rapor edilmektedir [11]. İlgili araştırma kapsamında, aronya muamelesi vasıtasıyla Caco-2 hücre proliferasyonunun inhibisyonu, G2 / M hücre döngüsü tutuklaması ile ilişkilendirilmiştir.

2.7. Meme Kanseri (Meme CA) Olgusu

Meme kanseri (Meme CA), kadınlarda en sık görülen ve akciğer kanserinden sonra ikinci sırada ölüme yol açan kanser tipidir [59, 133]. Epidemiyolojik çalışma sonuçlarına göre prevalansı %22-26 dır bu noktada meme CA'ya bağlı mortalite riski %18 dolayında olmaktadır [114, 182].

Malign meme tümörlerinin klasifisiye edilmesi geleneksel yöntem olarak histolojik görünümüne göre yapılmaktadır ancak son yıllarda moleküler özelliklerine göre bazı alt tipler tanımlanmıştır [25, 189].



Şekil 8. Meme Yapısı ve CA Oluşumu

Gen ekspresyon çalışmalarını takiben östrojen reseptörü (ER) varlığı baz alınarak meme kanserlerinin alt tiplerini tanımlanmıştır [39, 56, 116, 158]

Günümüzde de geçerliliğini koruyan bu sınıflamaya göre;

ER pozitif tümörler; meme bezlerinin lümene bakan (luminal) hücrelerine benzer gen ekspresyonu, sitokeratin profili ve diğer luminal hücrelerle ilişkili belirleyicileri içerirler [39, 56, 116, 158, 189].

ER negatif tümörlerin bir kısmı İHK'sal olarak insan büyüme faktörü 2 reseptörü (CerbB2) pozitifler ya da tümör hücrelerinde insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (Her-2) gen amplifikasyonu gösterilebilmektedirler. Bu grup Her2 pozitif tümörler olarak ifade edilmektedir [39, 56, 116, 158]. Her2 negatif olan luminal grup dışı tümörler ise, meme bezlerinin normal bazal hücrelerine benzeyen özellikte gen ekspresyonu ve immün reaktivite göstermektedirler. Genellikle ER ve PR de negatif özellik söz konusu olduğundan bu grup bazal-benzeri (basallike) ya da triple (üçlü) negatif tümör grubu olarak adlandırılmaktadır [39, 56, 116, 158].

Araştırma sonuçlarına ve meta analizlere göre; meme tümörlerinin %75'inde ER ve/veya progesteron reseptörü (PR) bulunduğu belirlenmiştir ve birçok tümörün luminal grupta bulunduğu tesbit edilmiştir [189].

Luminal gruptaki tümörler farklı davranış göstermektedir ve bu davranış farklılığı baz alınarak luminal A ve B olarak alt tiplere ayrılmıştır. Meme kanserleri içerisinde, en yüksek prevalansa sahip olan grup luminal A grubu olmaktadır ve proliferatif aktivitesi, histolojik derecesi ve mitoz oranı düşük olan, Her2 negatif tümörleri kapsamaktadır. Luminal A tümörlerde prognoz durumu oldukça iyidir ve metastazlar çoğu kez kemiklerle sınırlıdır. Luminal-B tümörler ise, daha agresif ve seyirli süreç izler.

Meme kanserleri içerisinde Her2 aşırı ekspresyonu, tedavinin sürecini değiştiren önemli bir diğer parametredir. Literatüre göre Her2 aşırı ekspresyon oranının %15-25 arasında olduğu bildirilmektedir ve daha genç hastalarda ekspresyon oranı daha yüksek seviyededir. Meme CA olgularında, Her2 aşırı ekspresyonu bulgulanınca, Her2 reseptörlerini bloke edici özel hedefe yönelik ajanlar kullanılması son yıllarda yapılan önemli uygulamalar arasındadır [31, 43, 99, 160].

2.8. Meme Kanserinde Kullanılan Mevcut Kemoterapötik İlaçlar ve Alternatif Olarak Kullanılan Doğal Bitkiler Hususunda Yapılan Çalışmalar

Günümüzde kullanımda olan ilaçların %20'si geleneksel tıbbi bitkilerden hazırlanmaktadır. Tıbbi bitkilerden 100000'den fazla bileşik izole edilmiş ve bitkilerin sekonder metabolitleri olarak tanımlanan bu söz konusu bileşiklerden bir bölümünün sağlık açısından biyoaktif bileşenler olabileceği ve kanser başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılabileceği ve koruyucu olarak değerlendirilebileceği tespitlenmiştir [2].

Meme kanseri (meme CA) kadınlarda dünya genelinde mevcut olan önemli bir sağlık problemidir ve Amerikan Kanser Derneği tarafından kadınlarda akciğer kanserinden sonra ikinci ölüm nedeni olarak ifade edilmektedir. Karsinojen etkili olan steroidal östrojenin meme CA ya neden olduğu rapor edilmektedir. Endojen östrojenler, reseptörleri ve genotoksik metabolitleri aracılığıyla meme CA ya yol açan hücre büyümesi ve çoğalmasını stimüle etmektedir ve dolayısıyla meme CA meydana gelmektedir [2, 16, 188]. 1960'larda bilim insanları *Taxus brevifolia* kabuklarından elde ettiği ekstrenin CA tedavisinde etkili olabileceğini tesbitlemişler ve etken maddesi olan taksolün hücre siklusunun mikrotübül depolarizasyonunu bloke ederek durdurduğunu rapor etmişlerdir [35, 50].

Diğer mikrotübül inhibitörleri olarak ifade edilen veya tubulin interaktif ajanları arasında sayılabilecek olan ve *Catharanthus roseus* (sinonimi *Vinca rosea*)'den izole edilen vinkristin ve vinblastin bileşikleri meme kanseri tedavisinde günümüzde kullanılmaktadır [35, 50].

Meme kanseri tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerin (siklofosfamid cisplatin, doksorubisin, dosetaxel, epirubisin, gemitabin, mitoksantron, mitomisin vb) ciddi yan etkileri söz konusu olmaktadır (Tablo 3.) ve dolayısıyla tedavi potansiyeli oluşturabilecek doğal kaynaklı bileşiklerin izolasyonu ve olası etki mekanizmaları araştırılmaya devam etmektedir .

Son yıllarda üzerinde araştırmaların yoğunlaştığı ve meme kanseri üzerine etkili olduğu belirtilen bazı tıbbi bitkiler ve etkili bileşenleri üzerinde de çalışmalar devam etmektedir.

Tablo 3. Meme Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bazı Kemoterapötik Ajanlar ve Genel Etki Mekanizmaları ile Bazı Yan Etkileri.

Kemoterapötik Ajan	Genel Etki Mekanizması	Olası Yan Etkileri
Siklofosamid	Apoptotik hücre ölümü	Pulmoner yan etkiler ve kiloda artış
Cisplatin	DNA hasarı, apoptoz	Nefrotoksisite
Doksorubisin	DNA hasarı	Bilinç kaybı, anemi
Dosetaxel	Mitotik inhibisyon	Pulmoner toksisite,kolit,diyare
Epirubisin	DNA hasarı	Bulantı,kardiyotoksisite,
Fluorouzil	Timiditad sentezi ve DNA inhibisyonu	Kardiyotoksisite, anemi,gastrointestinal toksisite
Gemsitabin	Nükleik asit sentezi inhibisyonu	Gastrointestinal toksisite
Metotreksat	Hücre siklusunu durdurma	Anemi, kilo artışı,sarılık, kemik dansitesinde azalma
Mitosin	DNA alkilleyici ajan	Miyelotoksisite, yorgunluk, sistemik toksisite
Mitoksantron	Topoizomeraz inhibisyonu	Sistemik toksisite, alopesi

Meme CA üzerine kullanılan konvensiyonel protokollü ilaçlar ile birlikte kullanıldıklarına ilişkin çalışmaların mevcut olduğu bitkiler *Cimicifuga racemosa* (Black Cohosh, Karayılanotu) , *Curcuma longa* (Zerdeçal/Hint safranı), *Epilobium* sp.(Yakıotu), *Panax ginseng*, *Pfaffia paniculata* , *Rhodiola algida*, *Scutellaria barbata* (Kaside), *Silybum marianum* (Deve dikenini) , *Uncaria tomentosa* (Cat’s Claw, Kedi pençesi), *Vernonia amygdalina* *Viscum album* (Ökseotu), *Withania somnifera* (Ashwaganda,

Kargagözü) olmaktadır ilgili bitkiler kemotorapatik ilaçlarla birlikte tesbitli düzeylerde kullanılmış olup meme CA hücreleri üzerinde etkin sonuçlar alındığı ifade edilmektedir.

Yine meme CA üzerine kullanılan konvensiyonel protokollü ilaçların uygulandığı süreçte bazı potansiyel inhibitör meyve ve sebzelerin (*Allium sativum* (Sarımsak), *Brassica* türleri (lahana, karnabahar, brokoli, karaturp, brüksel lahanası), *Morinda citrifolia* (Noni meyvesi, Hint dutu) sitrus (narenciye) türleri (*Citrus sinensis* ve *C. reticulata*), *Punica granatum* (Nar) ve kabuğu, *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry Suyu= Turna yemişi), *Olea europea* (Zeytin)) eş zamanlı olarak düzenli kullanımı neticesinde meme CA hücre hatları üzerindeki olumlu etkiler bildirilmiştir.

2.9. Meme Kanseri Tedavi Sürecinde Konvensiyonel Protokollü İlaçlar Yanısıra Kullanım Alanı Bulan Bitkisel Çaylar

2.9.1. Yeşil Çay (Green Tea) Çalışmaları

Epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar çalışmaları, yeşil çay (*Camelia Sinensis*) tüketimi ile meme kanser riski arasında ters orantı olduğunu göstermektedir. Araştırma sonuçlarına göre, 103 postmenopoz dönemdeki bayan üzerinde yapılan plasebo kontrollü ve çift körlü çalışmada, 2 ay süresince günde bir kez olmak üzere bir gruba 400 mg ve diğer gruba da 800 mg yeşil çay kateşini olan epigallokateşin gallat (EGCG) verilmiştir. EGCG'nin, LDL-kolesterol düzeyi, şeker düzeyi üzerine olumlu etkileri belirlenmiştir, yeşil çayın kilo kontrolü ve kardiyovasküler rahatsızlıkları önleme potansiyeli bilindiğinden meme CA tedavisi sonrası kilo artışına karşı etkisi de incelenmiştir. Aşırı kilolu meme CA hastalarında karbonhidrat metabolizmasında düzelme, kiloda hafif düzeyde düşmeler ve HDL değerlerinde artışlar tesbitlenmiştir.

Söz konusu klinik veriler ve *in vitro* ile *in vivo* neticeleri, yeşil çay polifenollerinin meme CA da adjuvan tedavide kemopreventif ajanlar olarak kullanılabileceğini destekler [84, 147, 185, 186].

Yeşil çay ekstralarının, klasik antiöstrojen tamoksifen ilacı ile sinerjistik etki oluşturmakta olduğu bildirilmektedir. Östrojen reseptör pozitif olan yani ER+ olan MCF-7 (ZRT5, T47D) insan meme kanser hücrelerinin proliferasyonu, ilaç ve yeşil çay kombinasyonu ile tek başına uygulanan ilaçtan daha yüksek oranda baskılanmıştır. Yeşil çay ekstresi ve çay kateşinlerinin CA hücrelerinde *in vitro* ve *in vivo* proapoptotik etkileri de rapor edilmiştir. MCF-7 den farklı olan CA hücre hatlarında EGCG nin orta derecede proapoptotik aktivite gösterdiği bulgulanmıştır.

EGCG, kimyasal yapı itibariyle, metal şelat yapıcı ajan olmaktadır ve konsantrasyon düzeyine göre prooksidan ve antioksidan aktiviteye sahip olabilmektedir. 4T1 meme CA hücrelerinde, EGCG ve taksol ile birlikte muamelede taksolün tek başına olan etkisine nazaran ikili muamele hücre apoptozunda oldukça yüksek oran sağlanmıştır. 7 yıl süren faz çalışmalarında, 472 meme kanserli hastada, yeşil çay, tüketimi, aksiler lenf nodül metastazını premenopoz döneminde olan hastalarda azaltmıştır, aynı çalışma kapsamında postmenopoz dönemde olan hastalarda progesteron ve östrojen reseptörlerinin ekspresyonunu arttırdığı tesbit edilmiştir. Meme CA riski üzerinde uzun süreli gerçekleştirilen bir araştırmada, yeşil çay tüketiminin, menopoz döneminde kanser riski üzerine etkisi araştırılmış ve premenopoz dönemi bayanlarda uzun dönemde tüketilen yeşil çayın kanser riskini azalttığı rapor edilmiştir [84, 147, 185, 186].

2.9.2. Ekinezya Çayı (*Echinacea spp.*)

Echinacea varyetelerinden en fazla *E.purpurea* varyetesi araştırmalarda kullanılmaktadır. Ekinezya, ratlarda doğal inhibe edici hücreleri çoğalttığı belirlenmiştir ve antikarsinojen etkili oldukları rapor edilmiştir. Etkin madde olarak içerdiği flavonoid bileşenleri immünostimülant özellik taşımaktadır, makrofajlar tarafından fagositozu artırmakta olduğu tesbitlenmiştir ve lenfosit aktivitesi hızlanmaktadır. Ekinezyanın çay formunda çalışılan dozda bahsedildiği tüketiminin radyoterapi ve kemoterapinin zararını da azaltmakta olduğu rapor edilmektedir. Progresif CA'larda ise hastaya yaşam süresi açısından destek olduğu yönünde bulgular ortaya konulmuştur [83, 146].

2.9.3. Panax Ginseng Çayı

Ginseng, ABD, Avrupa, Almanya, Avusturya ve İngiltere farmakopelerinde kapsamlı olarak yer alan tıbbi bitkisel üründür ve dördüncü sırada satılmaktadır. Adjuvan meme CA tedavisinde enerjiyi, fiziksel ve psikomotor performansı yükseltmek amaçlı tüketilen ginseng, genel sağlığı düzeltme amaçlı olarak da kullanım alanı bulmaktadır.

Ginsengde mevcut olan ginsenosit biyoaktiflerin, immünomodülatör, stres ve yorgunluğa karşı etkin ve ayrıca antikarsinojenik etkileri olduğu rapor edilmektedir. *P. Ginseng*'in kemoterapi ve radyoterapi süresince doğal katil hücrelerin çalışmasını ve makrofajları desteklediği, antikor üretimini artırdığı ifade edilmektedir. Ginseng köklerinin antikanser etkisi araştırmaları özellikle, Rg3 ve Rh2 ginsenositlerinin aktivitesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Rh2'nin MCF-7 meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu azaltmakta olduğu bulgulanmıştır. İlaveten MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında hücre siklusunun G1 fazına etki etmekte ve CA hücrelerinin canlılığını azaltmaktadır.

Siyah ginsengte mevcut Rg5'in *in vitro* olarak MCF-1 meme kanseri hücre hattında güçlü sitotoksik aktivite gösterdiği ve siyah ginsengin Rg5 biyoaktifinin CA hücresinin apoptozunu birkaç farklı mekanizma yolları vasıtasıyla indüklediği bulgulanmıştır ve bu bağlamda antikarsinojen ilaç geliştirme açısından potansiyel etkin biyoaktif madde olabileceği ifade edilmiştir [6, 18, 131, 190].

2.10. Aronya Sağlık Ürünleri ve Aronya Bazlı Katma Değerli Ürünlerin Geliştirilmesinin Önemi

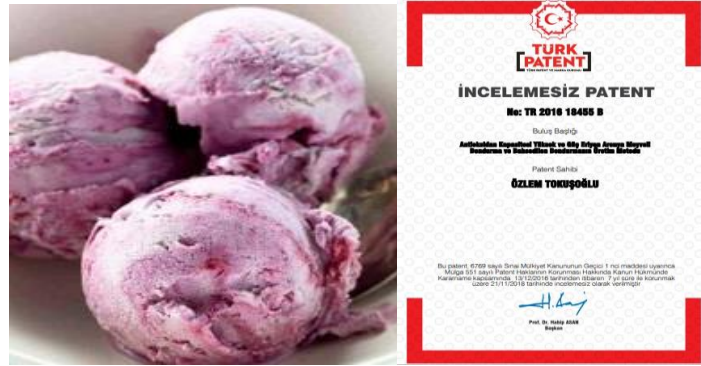
Diyabet, hipertansiyon, felç, kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser hastalıklarının giderek artması, bu hastalıklarla mücadelede önemli etkisi bulunan yüksek antioksidan içeriği bakımından zengin meyve türlerinin yetiştiriciliğine yönelik ihtiyacı artırmaktadır. Antioksidan içeriği bakımından üzümü meyve türleri içerisinde ilk sırada yer alan ve ülkemizde henüz az tanınan Aronya türlerinin yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması ve meyve karakteristik bileşenlerinin ekolojilere göre belirlenmesi

önem arz etmektedir. Zira bu meyve türü dünyada eczacılık ve gıda sanayiinde büyük ölçüde kullanılmaktadır.



Şekil 9. Eczacılık Alanında Kullanılan Aronya Ürünleri.

Aronya meyvesi bazlı önemli bir ürün de Tokuşoğlu (2018)[157] tarafından gerçekleştirilmiş olan aronyalı dondurma patentidir (Şekil 10). Antioksidan aktivitesi yüksek ve fenolik biyoaktif maddelerce zenginleştirilmiş fonksiyonel bir dondurma üretilmiştir.



Şekil 10. Aronyalı Dondurma Patent-Tokuşoğlu.

Türk aronya meyvesi, ilk kez dondurma ürününe işlenmiş ve ulusal patenti alınmıştır. Aronya meyvesi katkısı üretilen yeni fonksiyonel dondurmada, antioksidan kalitesinin ve erimeye dayanıklılığının yüksek olduğu belirlenmiştir. Özellikle de tüketicilerin sentetik veya güven verici olmayan kırmızı boyar gıda maddelerine duyarlı olduğu noktada, aronya meyvesi doğal renklendirici katkı olarak da işlev görmüştür (Şekil 10).

İlgili patente göre, 40°C civarına ısıtılmış süte, hacimce %9-11 aralığındaki yağsız süt tozunun eklenmesi ve hacimce %14-16 düzeyinde şekerin eklenmesi sonrası oluşturulan mikse stabilizör ve emülgatör (v/v olarak %0.3-0.4 olk eklenmesi)ilavesi ile (içerikte hacimce %25-30 guar gum, hacimce %25-30 ksantan gam eklenmesi) ana miks oluşumunu takiben yağ oranı %4-4,5 olacak şekilde krema ilavesi yapılmış, 80-85°C sıcaklıkta, 10-12 dk süre ile pastörizasyona tabi tutulmuştur. ±4°C'ye soğutulan ürün,13-15 sa süreyle olgunlaştırılmıştır ve takiben hacimce v/v %0,45-0,90 vanilya ve ABK (Aronya Böğürtleni Karışımı—hacimce %20-25 olarak) ilave edilmiştir, karışım FİNAL MİKS kesikli tipi dondurma makinesinde (-15 ila -18 °C'de 10-12 dk kadar dondurulmuş olup -38-40 derece civarındaki dondurucuda 24 sa süreyle sertleştirilmiştir; sertleşen dondurma -18 ila 20° C sıcaklık kontrolü ile depolanmıştır (Şekil 10). Aronya meyvesinin dondurma sektöründe doğal pembemsi-eflatun renk katkısı ve antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliği ortaya konulmuştur ve ulusal ve uluslararası literatüre de katkıda bulunulmuştur. Sade vanilyalı dondurmaya (2,84 ± 0,36 (µmol Trolox Eşdeğeri/g) göre aronya meyvesi katkılı vanilyalı dondurmada antioksidan aktivite (AA) değeri 76,55± 10,7 µmol Trolox Eşdeğeri/g olarak bulgulanmıştır. Sade vanilyalı dondurmada renk maddesi antosiyaninler bulgulanmaz iken, pastörize edilmiş aronya meyvesi pulpu ile yapılan aronyalı dondurmada 445,86 ± 18,3 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Aronyalı dondurmanın toplam fenolik madde düzeyinin kontrol dondurmaya göre 87,2 kat yüksek olduğu ve antioksidan aktivitesinin de kontrole göre 26,9 kat yüksek olduğu bulgulanmıştır. Sade vanilyalı dondurmada toplam fenolik madde 7,92 ± 1,72 ve aronya meyve pulplu dondurmada 690,65 ± 77,5 mg/kg olarak belirlenmiştir. Aronyalı dondurmada Hunter a değerinin (kırmızılık değerinin) 3.16 oranında arttığı, Hunter b değerinin (sarılık değerinin) 6.34 kademe azaldığı belirlenmiştir.

Ayrıca aronya meyvesinin depolamaya, mekanik hasada ve nakliyeye dayanıklılığı nedeni ile gittikçe popüleritesi artan meyve türleridir. Ortaya çıkan talebi karşılamak üzere dünya aronya ticaretine her geçen yıl farklı ülkeler girmekte, farklı üretim alanları yetiştiricilik için açılmaktadır.

Bu türlerin ülkemizde yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılmasıyla ve meyve biyokimyasal analizleri ile tıp, eczacılık ve gıda sanayiine (reçel, meyve suyu, doğal gıda boyası, taze tüketim, meyve çayı, kurutma teknolojisi, bitkisel ilaç, derin dondurmaya elverişli vb.) önemli katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Aronya; gerek taze ve gerekse işlenmiş olarak ciddi ekonomik değere sahiptir, bu meyve türü yüksek antioksidan ve fenolik madde içermektedir. Bu nedenle yetiştiriciliklerinin ülkemiz topraklarında da yaygınlaştırılması büyük önem arz etmektedir.

Diğer meyve türlerinin yetiştiriciliğinin yapılamadığı iklim ve toprak koşullarında da yetiştirilebilmeleri nedeniyle, bu bölgelerde yaşayan insanların gelir düzeyinin yükseltilmesine de katkı sağlanacaktır.

Dünyada da sağlık açısından değerlerinin son dönemde artan hastalıklar nedeni ile daha iyi anlaşılması sonucunda yetiştiricilik çalışmalarına başlanmıştır. Ülkemizde de bu meyve türlerinin bir an önce tanınması ve yetiştirilmeye başlanması ile dünyada yetiştiriciliği yapılan ülkeler arasında yer almamız mümkündür. Ayrıca ılıman iklim kuşağında yer alan ülkemizde bu meyve türlerinin yetiştiriciliklerinin kolaylıkla yapılabilecek olması nedeni ile üretici için iyi bir gelir kaynağı olacağı düşünülmektedir [153].

2.10.1. Çalışmamızın Amacı

Türk aronya meyvesi sağlık ürünü olarak aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik ürünü üretmek; geliştirilen inovatif ürünlerde antioksidan fenolik profili detaylı analitik yöntemlerle belirlemek, seçilen meme kanseri hücre hattı üzerinde olası antiproliferatif ve antikarsinojenik etkilerini tesbit etmek amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

Bu bölümde araştırmada kullanılan materyal ve analiz yöntemleri açıklanmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma Materyali

Proje materyali olarak Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova 'dan sağlanmış aronya örnekleri kullanılmıştır (Şekil 11). Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova 'dan sağlanmış aronya meyvelerinden Viking türü kullanılmıştır[153]. Ürün dondurulmuş vaziyette gönderilmiş ve işleme sürecine kadar -18 ° C muhafazası sağlanmıştır. Bu kapsamda aronya meyvesinden çay, toz ve özel nutrasötik üretimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 11. Aronya Meyve Taneleri.

3.1.1.1. Türk Aronyası Yetiştirilmesi

Bu araştırma kullandığımız ürünler, ekosistem partneri olunan proje kapsamından sağlanmıştır ve Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü liderliğinde 4 farklı lokasyonda 2017-2021 yılları arasında yürütölmeye devam etmektedir. Ayrıca Bilim Sanayi Teknoloji Bakanlığı BSTB-projemiz kapsamında da hasat sonrası kısmı ile gerçekleştirilmiştir. Projede 4 adet aronya çeşidi kullanılacaktır. Bunların dökümü aşağıda verilmiştir (Tablo 4)[154].

Tablo 4. Aronya Yetiştiriciliği ve Türk Tipini Oluşturmak İçin Kullanılan Yabancı Genotip/Çeşit ve Orijinleri.

Tür	Çeşit	Orijin
Aronya	Nero	Çek Cumhuriyeti
	Viking	Finlandiya
	Aron	Danimarka
	Galicjanka	Polonya

3.1.1.2.Çeşit Özellikleri

Nero ve Viking çeşitleri son derece verimli, antioksidan içeriği yüksek çeşitlerdir. Dünyada en çok yetiştiriciliği yapılan Aronya çeşitleridir. Aron Danimarka'da ıslah edilmiş oldukça iri meyveli, verimli ve antioksidan içeriği yüksek bir çeşittir. Nero ve Viking'den sonra dünyada en çok yetiştiriciliği yapılan çeşittir. Galicjanka, Polonya'da yeni geliştirilmiş bir çeşittir. Makineli hasada uygundur. Meyvelerinin hepsi aynı anda hasada gelmektedir [62, 107].

Çalışmamız kapsamında yalnızca Viking genotipi kullanılmış olup ele geçen 'Türk Aronyası Viking genotipi için aşağıdaki agronomik şartlar kullanılmıştır.

Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Deneme Alanı- Yalova yıllık ortalama yağış miktarı 700 mm civarındadır. Nispi nem % 70, toprak Ph'sı 7

civarında olarak seçilmiştir. Tınlı toprak yapısı ve taban suyu probleminin bulunmaması dikkate alınmıştır.

Aronya fidanları 2017 yılı sonbaharında araziye dikilmiştir. 2017 yılı sonbaharında plantasyonların kurulması aşamasında toprak işleme yapılmış ve dikim çukurları açılmıştır. 2 yaşlı tüplü fidanlar ile 2x3 m dikim aralıkları ile aronya plantasyonu kurulmuştur. Tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrür olarak kurulmuş denemelerde deneme alanı içerisinde sıcaklık ve nem ölçer yerleştirilmiştir. Dikim sonrasındaki vegetasyon dönemlerinde sulama, gübreleme ve yabancı ot alma işlemleri yapılmıştır.

Tesis edilen aronya plantasyonlarında 2018-2019 yıllarında morfolojik, fenolojik ve pomolojik gözlem ölçüm ve değerlendirmeler yapılmış olup kalite düzeyi iyi zirai normda belirlenen numune grubu laboratuvarımıza intikal ettirilmiştir[153].

3.2. Aronya Ürünleri Üretimi

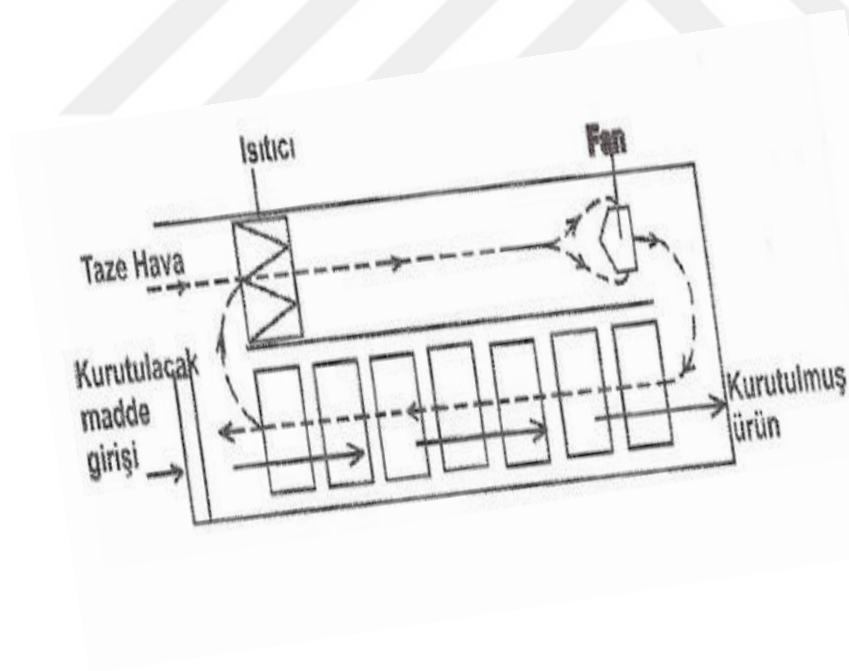
Seçilenen aronya meyvelerinin laboratuvara getirilmesi sonucu uygun kurutma işlemlerini takiben aşağıdaki ürünler yapılmıştır. Şekil 12’de görülen aronya ürünleri üretilmiştir[154].



Şekil 12. Üretimi Yapılmış Aronya Ürünleri.

3.2.1. Aronya Tozu

Aronya (*Aronia melanocarpa* sp. *Viking*) meyvesi ayıklama ve yıkama işlemlerinden sonra tünel tipi kurutucuda kurutma işlemi yapılmıştır (İzmir/Torbalı 2018 Mart). Ray üzerinde tünel boyunca hareket etme prensibiyle çalışan konveyör üzerindeki araba sistemde aronya meyvelerimiz 15 sa süresince, 45 °C’de %3 nem düzeyine erişinceye değin kurutulmuştur; ürünümüz her m² alana 15 kg ürün yerleştirilmiş olunarak kurutulmuş olup 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada daha fazla sıcaklık verilirken ikinci aşamada daha az sıcaklık uygulaması yapılmıştır. Çıkış ucunda kurutulmuş ürün taşıyan ardıl 6 vagonlu araba sisteminden alınan kurutulmuş final ürünlerimiz, sanite edilmiş çelik bıçaklı mikser ile (Waring, USA) 0.5 meshe kadar öğütülerek toz (povder) haline getirilmiştir; vakum paketlenme sistemine alınarak analizlerde ve diğer ürünlerin üretiminde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Aronya Tozu—Final Ürünü) (Şekil 14)[154].



Şekil 13. Tünel Kurutucuda Kurutma İşlemi.



Şekil 14. Kurutma Sonrası Ürün (Solda) ve Öğütme Sonrası Ürün (Sağda).

3.2.2. Aronya Çay Üretimi

Aronya (*Aronia melanocarpa* sp. *Viking*) meyvesine ayıklama ve yıkama işlemlerinden sonra vakumlu kurutucuda kurutma işlemi yapılmıştır (BAKTAT GIDA Bursa/Gemlik 2017 Aralık).

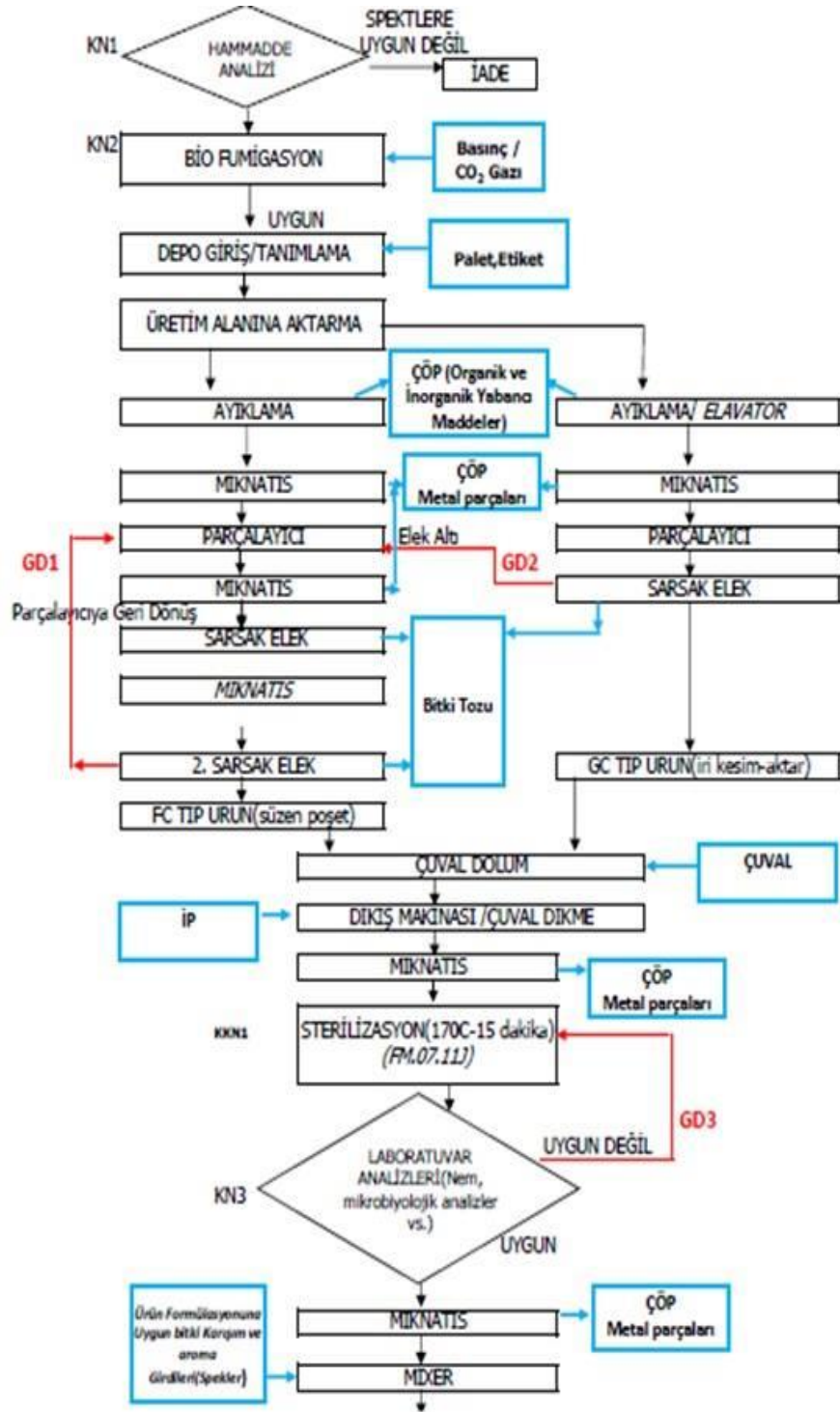
Vakumlu kurutucu sistemde aronya meyvelerimiz 1. gün 6 sa süresince, 48,5 °C’de 100 mbar basınç altında başlanarak, 80,7°C’de 230 mbar basınç altında tamamlanmıştır. 2. gün ön öğütme işlemi yapılan aronya meyvelerimiz 3 sa. 20 dak. süresince 120°C’de 230 mbar basınç altında başlanarak, 84,3°C’de 230 mbar basınç altında %4,14 nem düzeyine erişinceye değin kurutulmuştur; ürünümüz her bir kurutma tepsisine 5 kg ürün yerleştirilerek kurutulmuş olup 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada daha fazla sıcaklık verilirken ikinci aşamada daha az sıcaklık uygulaması yapılmıştır (Tablo 5).

Kurutulmuş final ürünlerimiz, sanite edilmiş çelik bıçaklı mikser ile (Waring, USA) 0.5 meshe kadar öğütülerek toz (povder) haline getirilmiştir; vakum paketlenme

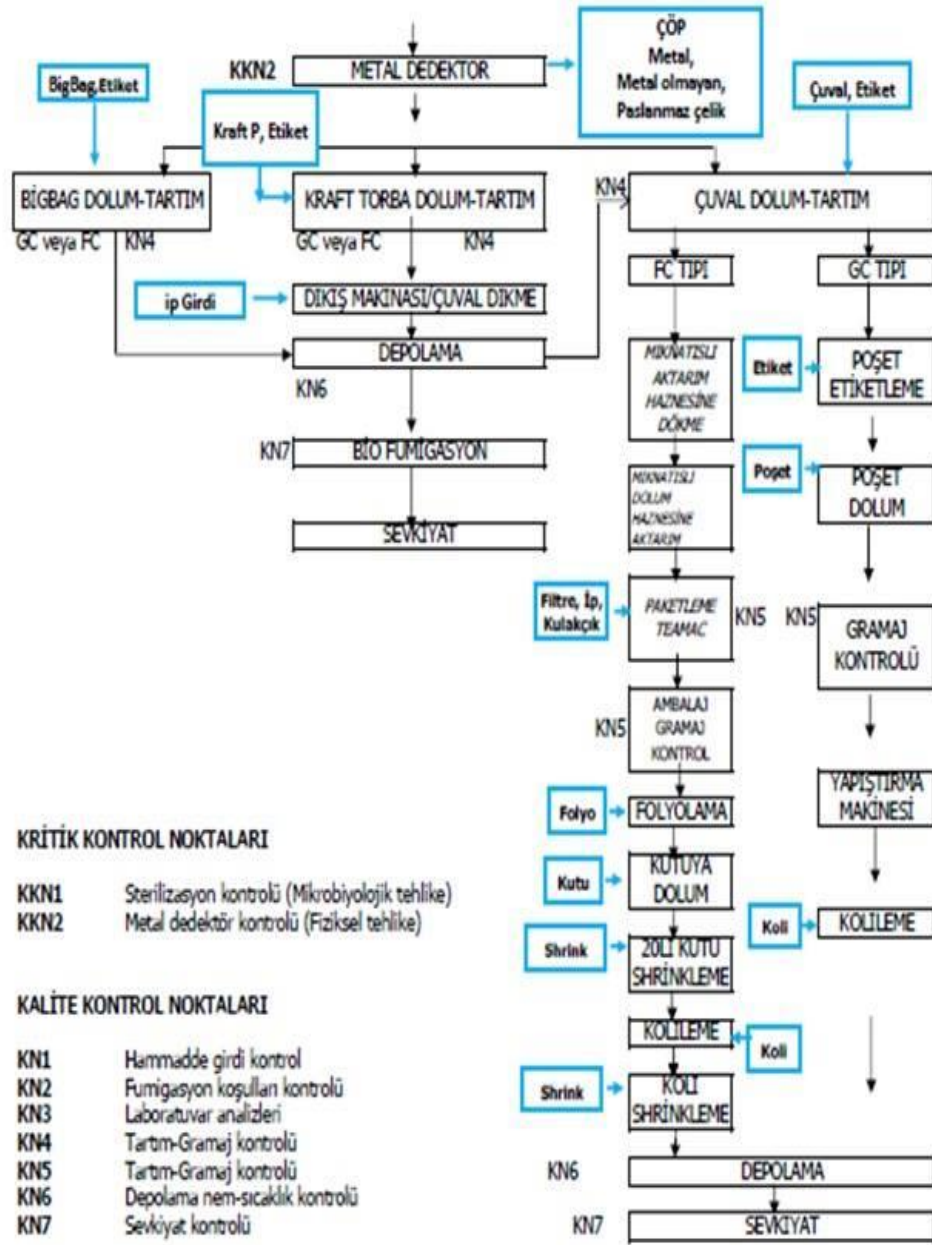
sistemine alınarak analizlerde ve diğer ürünlerin üretiminde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Aronya Çayı—Final Ürünü)[154].

Tablo 5. Aronyaların Vakum Altında Kurutma Sırasındaki Sıcaklık ve Basınç Değerleri.

Saat	Sıcaklık (°C)	Vakum (mbar)	Açıklama
1. gün			
11:30	48,5	100	
11:45	57,0	230	
12:00	62,1	230	
12:15	67,3	230	
12:30	67,3	230	
14:10	67,6	210	
14:45	67,4	230	
15:45	67,3	230	
16:20	62,3	200	
17:20	80,7	230	
2. gün			
10:30	120,0	230	Mikserde kırılacak 4 tepsi ürün ayrılmıştır. Kalan ürünler kurutulmuştur.
12:50	63,3	230	Mikserde kırılan 4 tepsi ürün kurutulmuştur.
13:50	84,3	230	



Şekil 15.(1). Aronya Çayı Üretim Şeması.



Şekil 15.(2). Aronya Çayı Üretim Şeması.



Şekil 16. Vakum Altında Fırınlanmış Ürün (Solda) ve Kurutma Sonrası Ürün (Sağda).

3.2.3. Özel Nutrasötik Farmasötik Takviye Ürün

Kısım 3.2.2.de üretilen aronya bitki çayı ürünü Kısım 3.5. de ifade edilen duyuşal testlerde değerlendirilmiş olup seğimlenmiş bir demleme süresi kalitesi oluşturulmuştur.

Demleme süresi en fazla tercih edilen çay ürünü seğimlenmesi sonrası demlenip oda sıcaklığına soğutulularak 24 ± 1 °C, tarafımızdan geliştirilen iki fenolik asit ve bir flavonol kombinasyonu içeren özel antioksidanlarca fortifiye edilmiştir ve batch sistemde karışımlanarak 45 °C de pastörize edilmiştir (Dokuz Eylül Teknoloji Geliştirme Bölgesi, İzmir). Elde edilen ürün ‘’aronya sağlık şurubu’’ olarak vakumlu şişelenmiştir (SpilInnova Antioksidan şurup, Izmir)[154].

3.3. Kimyasal Malzemeler

Biyoaktif madde analizlerinde kullanılan rutin (CAS No.153-18-4), quinic asit (CAS No.77-95-2), klorojenik asit (CAS No.327-97-9), epicatechin (CAS No.490-46-0), luteolin (CAS NO.491-70-3), p-kumarik asit (CAS No.501-98-4), kafeik asit (CAS No.331-39-5), gallik asit (CAS No.149-91-7), fisetin (CAS No.528-48-3), astragalin(CAS No. 480-10-4), hidroksisinnamik asit (CAS No.614-60-8), neoklorojenik asit (CAS No.906-33-2), vanilik asit (CAS No.121-34-6), siringik asit

(CAS No.530-57-4), kaftarik asit (CAS No.67879-58-7), ferulik asit (CAS No.537-98-4), t-sinapic asit (CAS No.530-59-6), rosemarinik asit (CAS No.20283-92-5), kaempferol-3-rutinoside (CAS No.17650-84-9), quercitrin(quercetin-o-glikozid) (CAS No.522-123), kaempferol (CAS No.520-18-3), quercetin (CAS No.117-39-5), keampferol-7-o-glucoside (CAS No.520-18-3) standart çözeltileri SIGMA Chemical Company (St.Louis, MO)'den, formik asid, asetonitril, fosforik asid (H₃PO₄), sodyum dihidrojenfosfat (NaH₂PO₄), hidroklorik asid (HCl), metanol (CH₃OH) (HPLC saflığında), aseton (HPLC saflığında), kloroform (HPLC saflığında) E. MERCK Co. (Darmstadt, Germany)'den, HPLC saflığında su (H₂O) LABSCAN'den, tert-butilhidrokinon (TBHQ), SIGMA Chemical Company (St.Louis, MO)'den satın alınmıştır.

Kromatografik çalışmalarda kullanılan RP-HPLC kolon (5- μ m Hypersil-ODS kolon (250 x 4.6 mm) [PHENOMENEX, CAL, USA], HPLC enjektör (25 μ L) (RHEODYNE,7125,USA), 0.45 μ m ve 0.50 μ m'lik filtreler (ACRODISC CR PTFE, Germany)'den satın alınmıştır.

Hücre Kültürü ve Ekstre Konsantrasyonlarının Uygulanmasında SKBR-3 Meme CA Hücre Hatları, Germany'den DEU kanalıyla intikal edilmiştir. %10 FCS, besiyeri (RPMI 1640 çözeltili, 10.000 hücreli, 96'lık plakalı), dimetilsülfoksit (DMSO) satın alınmıştır.

3.4. Temel Analizler

ISO –1839'e göre laboratuvar tipi değirmende öğütülerek 0,5 μ m çaplı elekten geçirilerek elenen aronya çay örneklerinin analizlere hazırlanması sonrası ISO–1573'e göre çaylarda temel analizler gerçekleştirilmiştir (n=3)

3.4.1. Brix Analizi

Çözünen kuru madde (Brix) miktarı refraktometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla ATAGO marka RX-7000 α model abbe refraktometresi kullanılmıştır. Ölçümler 20°C'de yapılmış ve sonuçlar °Briks olarak ifade edilmiştir.

3.4.2. pH Analizi

Asitlik Analizi (pH) TS 1125 ISO 750'daki metoda göre yapılmıştır[162].

3.4.3. Nem Analizi

Nem analizi TS 3687 ISO 7703'deki metoda göre yapılmıştır. Sabit tartıma getirilen petri kutuları veya nikel kurutma kaplarının içerisine 4-5 g homojen hale getirilmiş örnekten tartılmıştır (M_1). Kurutma kabı etüve yerleştirilerek sıcaklığı $103\pm 2^\circ\text{C}$ 'a ayarlanmıştır. 3-4 saat sonunda kurutma kapları desikatörde soğutulup tartım alınmıştır (M_2)[168].

$$\% \text{ Nem} = [(M_1 - M_2) / m] \times 100$$

M_1 = Alınan örnek ağırlığı + sabit tartıma getirilen kurutma kabının ağırlığı

M_2 = Kurutulmuş örnek + sabit tartıma getirilen kurutma kabının ağırlığı

m = Alınan örneğin ağırlığı

3.4.4. Toplam Kül Analizi

Toplam kül analizi TS 2131 ISO 928 kapsamında yapılmıştır. Porselen krozelerin içerisine nitrik asit (HNO_3) koyularak bir gün beklenmiş ertesi gün musluk suyu ile iyice yıkanıp saf sudan geçirilerek kurutulduktan sonra sabit tartıma getirilmiştir. Krozenin darası kaydedilip (M_1) numuneden 3-5 g örnek krozeye tartılmıştır. Krozeler bir gece 110°C 'da etüvde bekletilerek örneğin yavaş yavaş kuruması sağlanmıştır. 520°C 'deki kül fırınına koyularak 5-6 saat bekletilmiş bu sürenin sonunda eğer karbonlaşmış kısım varsa süre biraz daha uzatılmıştır. Daha sonra krozeler desikatöre alınarak oda sıcaklığına getirilip tartım alınmıştır (M_2)[166].

$$\% \text{ Kül} = [(M_2 - M_1) / m] \times 100$$

M_2 = Yakmadan sonraki kroze + kül ağırlığı

M_1 = Sabit tartıma getirilen krozenin ağırlığı

m = Alınan örnek ağırlığı

3.4.5. Toplam Şeker Analizi

Şeker tayini yapılırken TS 1466'deki metoda göre yapılmıştır.

3.4.5. Duyusal Analiz

Duyusal analiz aronya meyvesi, tozu, nutrasötik şurup (SPAF) ve 4 farklı demleme süresi uygulanmış Aronya çayı üzerinde yapılmıştır. Duyusal analiz için 10

farklı kişiye tadım yaptırılmıştır. Demleme süreleri için 3 dk demleme kod 285, 5 dk demleme kod 335, 10 dk demleme kod 437 ve 15 dk demleme kod 535 olarak adlandırılmıştır. Çay örneklerinin demleme işleminde 3 gram örnek ve 100 ml pH =7,50 olan Erikli su kullanılmıştır. Tadım sırasında deneklere çay numunelerini değerlendirme aralığında ağız hissini sağlamak amaçlı dilim ekmek ve pH=7,50 Erikli su verilmiştir. Tadımlar sonucunda elde edilen test panelist formu sonuçları ortalama değer olarak verilmiştir. Kalite değerlendirme testi aronya çayı panelist formu örneği aşağıda verilmiştir (Şekil 18). Diğer ürünler için benzer form örneği düzenlenmiştir.



Şekil 17. Duyusal Analiz Uygulaması.

ARONYA ÇAYI DUYUSAL TEST PANELİST FORMU**Sh-1****PANELİST ve GÖREVİ :****TARİH :****ÜRÜN :** Farklı Demleme Uygulanmış Aronya Çay Numuneleri**ANALİZ TİPİ :** Kalite Derecelendirme Testi (Puanlama)

TALİMATLAR : Dört farklı demlenmiş aronya meyve çaylarında renk, koku, tad, aroma, burukluk, ve lezzet profilleri açısından genel kabul edilebilirliğine göre analiz edilecektir. Etiketlendirilerek numaralandırılmış örnekler için burukluk ölçüsüne ilişkin eğiliminizi aşağıda belirtilmiş skorlar dikkate alıp kutucukları doldurarak belirleyiniz.

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ARONYA ÇAYI DUYUSAL TEST PANELİST FORMU**Sh-2**

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kod 437	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 335	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 538	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kod 285	:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PANELE İLİŞKİN NOTLAR**NOT-1****Derecelendirme Notasyonu**

1= içim kalitesi çok düşük

3= içilebilir

5= vasat kaliteli

7= iyi derecede kalite

9 =son derece kaliteli

NOT-2

Çay numunelerini değerlendirme aralığında ağız hissini sağlama amaçlı ürünler dilinlenmiş ekmekek ve pH=7.50 olan içme suyu olarak ("ERİKLİ") verilmiştir.

Şekil 18. Duyusal Analiz Test Panalist Formu Örneği.

3.5. Toplam Fenolik Madde Analizi

Folin Ciocalteu fenol reaksiyonuna göre toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik belirleme tayini UV Spektrofotometre cihazıyla kolorimetrik olarak yapılmıştır [137]. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit (GA) kullanılmıştır. Standart grafik oluşturmak amacıyla beş farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltisinden (0,1-0,5 mg/ml) tüplere alınarak hacmi 1 ml'ye saf suyla tamamlanmıştır. Folin-Ciocalteu reaktifi (2,5 ml) ve sodyum karbonat çözeltisi (7,5 ml, %20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Metanol, etanol, etil asetat, kloroform, aseton ve saf su kullanılarak hazırlanan örnek çözeltilerinden 0,5 ml tüplere alınarak üzerine Folin- Ciocalteu reaktifi ile işlem yapılmıştır. Reaksiyon sonunda örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda şahide karşı okunmuştur. Örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı mgGAE/100g olarak verilmiştir.

3.6. Kromatografik Analizler

3.6.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizleri

3.6.1.1. Fenolik Asitler ve Kateşin Bileşikleri YanYana Tayin- HPLC Analizleri

Aronya meyve, aronya tozu (povder), aronya çay, aronyalı özel takviye şurupta fenolik asitlerin kateşinlerle yanyana tesbiti gerçekleştirilmiştir[154].

1 g numune metanol/HPLC grade su /Trifloroasetik Asit (TFA) (50:50:0.1) karışım erlenmayerde çözülerek 10 mL ye tamamlanmıştır. Karışım 30 dk süreyle oda sıcaklığında buz banyosunda (± 4 °C de) bekletilmiştir ve 3000 rpm de 5 dk süreyle santrifujlenmiştir ve 0,45 μ m naylon filtrede (Agilent, Palo Alto, CA) ile filtre edilmiştir ve final ekstakt elde edilmiştir. 10 μ L direkt olarak HPLC ye enjekte edilmiştir.

HPLC kromatogramlarında stok çözeltiden çeşitli konsantrasyonlarda hazırladığımız ara çözeltilere karşı çizilen kalibrasyon grafikleri kullanımı ile kantitatif tayinler gerçekleştirilmiştir.

Her bir fenolik asidin standardı 5'er mg olarak tartılarak 10 ml lik balonjojede karışım yapılmış ve 1:1 MeOH/su ile çözülmesini takiben 10 ml ye tamamlanarak stok çözelti elde edilmiştir. 50;20;10;5; 2;1; 0,5; 0,2; 0,1 ve 0,05 mg/L çalışma çözeltileri ile kalibrasyon grafiği çizimlenmiştir * ($R^2= 99.2$) (n=3).

Mobil faz, iki çözücü karışımından hazırlanmıştır [mobil faz A: metanol/su/formik asit (10/88/2 v/v); mobil faz B: metanol/su/formik asit (90/8/2 v/v)]. Dereceli elüsyon ile gerçekleştirilen seperasyonumuzda 150 x 4.6 mm, 5 μ m C18 kolon (Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18) kullanılmıştır. Dereceli elüsyon sistem koşulları: 0. dk, %100 A; 0-20 dk, %80 A; 25-50 dk, %50 A; 50- 54dk, %50 A; 54-64 dk, %0 A ve 64-70 dk, %100 A. Dedektör UV Absorbans dedektör olup, 280 nm'de okunmuştur. Kolon sıcaklığı ± 4 °C, akış hızı 1 ml/dk, enjeksiyon hacmi 10 μ L olarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.1.2. Flavonollerin Analizleri

Aronya meyve, aronya tozu (povder), aronya çay, aronyalı özel takviye şurupta flavonollerin yanyana tesbiti gerçekleştirilmiştir[154].

5 g aronya çayı üzerine 500 mL distile su ilavesi sonrası 10 dk süreyle 4 °C'lik buz banyosunda karıştırılmış ve filtrasyon sonucu ele geçen filtrat, distile su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır. 500 mL lik örnek çözeltilerden 25 mL aronya çay ekstraktı alınmıştır 25 mL eklenerek 2 sa süreyle 90 °C'de geri soğutucu altında reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyonu takiben oda sıcaklığına soğutulan numunelerden 4ml, vidalı kapaklı cam tüplere alınmış, geri kalan kısmı N₂ gazı altında derin dondurucu (-28 °C)'da saklanmıştır. Tüplere alınan 4 mL'lik kısım HPLC enjeksiyonu öncesi ard arda 0,50 μ m ve 0,45 μ m'lik filtreler (*Acrodisc CR PTFE, German*)'den geçirilmek suretiyle filtre edilmiştir. Filtre edilen ekstraktın 10 μ L' si HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)'nde izokratik yöntemle (n=3) olarak gerçekleştirilmiş olan aronya çay örneklerinin flavonol tayinlerinde Hewlett Packard ekipman (HP 1050 ChemStation Software) kullanılmış olup, kolon Hypersil-ODS kolon (250 x 4,6 mm ; 5- μ m) [*Phenomenex, CAL, USA*], dedektör Waters 486 Tunable Absorbans dedektörü, mobil faz,: Asetonitril / fosfat tamponu (

25/ 75 v/v , pH 2,4) olarak kullanılmıştır. 266 nm UV absorbans sistemde akış hızı, 1,2 mL/dk, hassasiyet 0,05 A.U.F.S, kolon sıcaklığı 30 °C olarak uygulanmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 µl olarak gerçekleştirilmiştir.

Tokuşoğlu (2000) [155]' e göre hazırlanan fosfat tamponu ($H_2PO_4^- / H_3PO_4$) (0,025 M / 0,0628 M) gereğince 9,7968 g tartılan $NaH_2PO_4 \cdot 2 H_2O$ üzerine 1,7 mL H_3PO_4 ilavesiyle 1 lt ye tamamlanmış olan ve pH =2,4 olan (0,025+0,0628) M fosfat tampon çözeltisi ile 1 lt, (25/ 75 v/v), asetonitril/fosfat tampon çözeltisi mobil faz olarak hazırlanmıştır. 5 dk degas işlemini takiben kullanıma konulmuştur.

Flavonol bileşiklerinin analizleri için standard maddeler aşağıdaki gibi hazırlanmıştır. Kuersetin (Que) 10 mg Que/ 3mL metanol ana stok çözeltisinden, 25 µL Que /1 mL metanol ara stok çözeltisi, Kaempferol (Kaemp) 10 mg Kaemp/ 3mL metanol ana stok çözeltisinden, 25 µL Kaemp /1 mL metanol ara stok çözeltisi, Astragalin (Ast) 10 mg Ast/ 3mL metanol ana stok çözeltisinden, 25 µL Ast/1 mL metanol ara stok çözeltisi hazırlanmıştır.

1 mL metanolde 25µL bireysel flavonol standardının çözülmesiyle hazırlanmış ara stok çözeltilerimizin her birinin 5-25 µL arasında değişen konsantrasyonlardaki çalışma çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrileri lineer olarak ($R^2 = 0.999$) belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan Hypersil ODS kolon ile (250 x 4,6 mm; 5-µm) elde edilen kromatogramlarda standartlar için saptanan alıkonma süreleriyle (retention time) aronya ürünlerine ilişkin kromatogramlardaki alıkonma süreleri karşılaştırılarak kuersetin, kaempferol ve astragalin bileşiklerinin kantitatif olarak tayini HPLC kromatogramlarından elde edilmiş olan integre alanlar kullanılmak suretiyle bu kalibrasyon eğrilerinden elde edilen değerler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.6.2. LC-QTOF-MS Metot

Kromatografik ayırım; ikili pompa, gaz giderici, otomatik örnek dağıtıcı ile donatılmış bir HPLC Agilent 1260 Infinity serisi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Poroshell 120 EC-C18 (3.0X50 mm,

parçacık boyutu 2,7 μm) (Agilent) kolonu bileşikleri ayırmak için tercih edilmiştir. Mobil fazlar tabloda verilen basamaklara dayanan gradient elüsyonu kullanılarak, su ve % 0,1 formik asit karışımı mobil faz A ve asetonyril mobil faz B olarak kullanılmıştır. Kolon 30 °C 'de tutulmuş, enjekte edilen örnek hacmi 2 μL ve kullanılan akış oranı 0,5 mL / dak olarak belirlenmiştir. Gradient elüsyonu şu şekildedir: 0–0,5 min, 5% B; 0,5–2 min, 25% B; 2–4 min, 50% B; 4–6 min, 75% B; 6–10 min, 95% B; kolon şartlanması için 10-16 min, 5%B.

MS analizi, kurutucu gaz akışı 140 L/dk; nebilözör gaz basıncı 35 psi; kurutucu gaz sıcaklığı 290°C; sheath gaz sıcaklığı 400°C; sheath gaz akışı 12 L/dk azotta pozitif iyonda çalışan Agilent Dual Jet Stream elektrosprey iyonizasyon (Dual AJS ESI) arayüzü ile donatılmış bir Agilent 6550 iFunnel yüksek çözünürlüklü Doğru Kütle QTOF-MS kullanılarak yürütülmüştür. Kütle spektrumları, 50-1700 m/z 'lik bir kütle aralığında negatif iyonizasyon modunda kaydedilmiştir.

Entegrasyon ve veri detaylandırma “MassHunter Workstation” yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Agilent METLIN Metabolomiks veritabanı, kütüphane ve tam kütle kişisel bileşik veri tabanı ve kütüphanesi (METLIN_AM_PCDL) analitleri tanımlamada kullanılmıştır.

Tablo 6. ESI-MS Değişkenleri.

Kurutucu gaz akışı	14,0 L / dakika
Kurutucu gaz sıcaklığı	35 psi
Nebilözör gaz basıncı	290 °C
Sheath gaz sıcaklığı	400 °C
Sheath gaz akışı	12 L/dak

3.6.3. Toplam Antosiyanin Analizi

Antosiyaninlerin kantitatif analizi için pH-diferansiyel metot olarak adlandırılan kolorimetrik bir yöntem kullanılmıştır [38]. Bu metoda göre;

antosiyeninler (%95 etanol:1,5 N HCl (85:15) çözgeni ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 1 ml ekstrakt pH =1 olan tampon çözelti (0,2 M KCl: 0,2 M HCl= 25:67; v/v) ile absorbans değeri 0,6 ile 0,8 arasında olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra aynı miktar ekstrakt pH sı 4,5 olan tampon çözelti (1M sodyum asetat: 1 M HCl:Su= 100:60:90; v/v/v) ile seyreltilir ve seyreltilen örnekler karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra örneğin maksimum dalga boyunda absorbansları okundu. pH 4,5 ve pH 1,5 arasındaki absorbans farkı ortalama örneğin içerdiği ya da temel bir antosiyenin molar ekstinksiyon katsayısına bölünerek toplam antosiyenin miktarı belirlenmiştir. Antosiyenin miktarı denklem 3,1'den yararlanılarak hesaplanmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

$$\text{Konsantrasyon (mg Ant/L)} = (\text{Abs } 510 \text{ nm} \times 10^3 \times \text{MW} \times \text{DF}) / (\epsilon \cdot L)$$

ϵ : Siyanidin-3-glikozitin molar absorpsivitesi = 29.600

(Abs 510 nm): (ApH 1 - ApH 4.5)

D.F: Seyreltme faktörü

L: Küvet uzunluğu=1 cm

MW: Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı = 445,2

3.6.4. Antioksidan Aktivite Analizleri

Elde edilen ekstraktların toplam antioksidan aktivite (AA) analizleri, DPPH radikal yakalama yöntemine göre belirlenmiş olup UV spektrofotometrik olarak 517 nm'de ölçümlenmiştir. Yöntem kapsamında, 0,1 mM, 1,1- diphenyl-2-picryl hidrazyl (DPPH) etanollü çözelti hazırlanmış olup, 1:3 (v/v) oranında ekstraktlarla muamele edilmiş olup farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20, 25, 30 µg/ml) çözeltiler hazırlanmıştır, karışımlar çalkalanarak oda sıcaklığında (24 ±1 °C) 30 dk bekletilmiştir ve UV-VIS spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları alınmıştır. Referans standart maddeler olarak askorbik asid (vitamin C), α-tokoferol, BHA (butillenmiş hidroksi anisol) ve BHT (butillenmiş hidroksi tolüen) ayrı ayrı kullanmıştır, DPPH serbest radikalinin %50'sini inhibe etmek için gerekli olan örnek konsantrasyonları (örneklerin IC 50 değerleri) log/doz inhibisyon kurvesi kullanılmak suretiyle belirlenerek karşılaştırılmıştır. Reaksiyon karışımının düşük absorbansı yüksek serbest radikal aktiviteyi belirlemiştir. DPPH yakalama aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

DPPH yakalayıcı etki (%) (Yüzde İnhibisyon) = $A_0 - A_1 / A_0 \times 100$. A_0 = Kontrol reaksiyonun absorbansı, A_0 standart örneğin ya da ekstrakt örneklerinin absorbansı olarak ifade edilmiştir.

Antioksidan aktivite denemeleri, birbirinden bağımsız 3 tekrar ve her grup 4 örnek olarak çalışılmıştır.

3.6.5. Organik Asit Analizi

Majör organik asitler (malik asit, kuinik asit, sitrik asit) HPLC- DAD ile 210 nm de tayin edilmiştir. Analitlerin tayininde, izokratik elüsyon kullanılmış olup, Supelco LiChrosorb RP-18 column (250 mm \times 4 mm I.D., 5 μ m) gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 30 $^{\circ}$ C, mobil faz olarak suda 0,02 mol/l potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) kullanılmış ve pH 2,5'a fosforik asit ile ayarlanmıştır, organik modifiyer olarak asetonitril eklenmiştir [0,02 mol/l KH_2PO_4 /1 lt H_2O +%1 asetonitril (v/v)]. Akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 μ l dir.

3.7. Hücre Kültürü Analizleri

3.7.1. Hücre Sitotoksitesi Yapılacak Materyalin Muamelesi

Aronya meyvesi etanol ekstraktında, toz çay etanol ekstraktında, aronya çayı deminde (10 dk demleme) ve nutrasötik özel ürün SPAF (şurup) kullanılmıştır. Diğer temel analizler, duyuusal analizler ve kromatografik analizler dikkate alınarak hücre analizleri yapılacak materyal tespit edilmiştir[154].

Hücre analizleri için katı numunelerin hazırlanması belirtildiği gibi yapılmıştır. 5 g meyve powder tartılmıştır, 30 ml etanol (%70, v/v) ilave edilmiştir ve Sonorex Digital 10 P Ultrasonic Banyoda 20 dk süresince 40 $^{\circ}$ C`de ekstrakte edilmiştir ve ekstrakt filtre edilmiştir (Whatman 42). Filtre üzerinde kalan aronya liyofilizati 50 ml lik erlen içinde iki kez 10 ml etanol (%70, v/v) ile yıkanmıştır ve bir araya toplanmıştır. Final ekstreler steril laboratuvar numune kaplarına aktarılarak hücre analizinde kullanılacak laboratuvara transfer edilmiştir.

Likid numunelerimiz olan aronya çayı ve nutrasötik takviye ürün-şurup *SPAF direkt olarak hücre analizinde kullanılmak üzere hazırlanmıştır ve laboratuvara transfer edilmiştir.

3.7.2. Hücre Kültürü ve Ekstre Konsantrasyonlarının Uygulanması

SKBR-3 (insan meme adenokarsinoma) hücre dizisi Dokuz Eylül Teknoloji Geliştirme Bölgesi projesi kanalıyla Baran MBGL, İzmir'den temin edilmiştir.

Hücreler, %10 FCS, %10 RPMI 1640, %1 penisillin/streptomisin solüsyonundan oluşan besiyeri ortamında, 37 °C'de %5 CO₂ inkübatöründe kültüre edilmiştir. Hücrelerin istenilen düzeyde çoğalmasının ve hücre canlılığın değerlendirilebilmesi için, hücreler tripan mavisi ile boyanarak sayım gerçekleştirilmiştir. Yeterli sayıya ulaşan CA hücreleri, 96'lık plakalara her bir kuyucukta 10.000 hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekilmiştir.

Aronya meyvesi ekstresi, aronya kuru çay ekstresi, aronya çay-10 dk dem, ve geliştirilen aronya nutrasötik şurup SPAF olmak üzere numunelerimiz, dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözüldürülerek, stok solüsyon hazırlanmıştır; akabinde bu stok solüsyondan hücre kültür besiyeri içinde gerekli seyreltmeler yapılarak 25; 50; 100; 200; 300 µgr/ml ekstre konsantrasyonları elde edilerek ara stok çözeltiler hazırlanmıştır (En yüksek konsantrasyonda DMSO oranı % 0,1).

Takiben, plakaların içerisindeki besiyeri uzaklaştırılmış olup, kuyucuklara besiyeri içerisinde hazırlanan ekstreler uygulanmıştır. Çalışmada, hücrelerin besiyeri ortamında kültüre edildiği 'kontrol' ve besiyeri ortamı % 0,1 oranında DMSO içeren 'DMSO kontrol' grupları da oluşturulmuştur; sonrasında plakalar 24 ve 48 saatlik inkübasyonlara bırakılmıştır (n=3).

3.7.3. Sitotoksisite ve Antiproliferasyon Belirleme- MTT Metodu

Sitotoksisite belirleme için MTT metodu kullanılmış olup, aronya meyvesi ekstresi, aronya kuru çay ekstresi, aronya çay-10 dk dem, ve geliştirilen aronya nutrasötik şurup SPAF numunelerimizde olası antiproliferasyon düzeyleri belirlenmeye çalışılmıştır[154].

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) stok çözeltilisinden, besiyeri ile çalışma çözeltileri hazırlanmıştır.

Aronya meyvesi ekstresi (AME), aronya kuru çay ekstresi (AÇE), aronya çay dem-10 dk (AÇD) dem ve geliştirilen aronya nutrasötik şurup (SPAF) numunelerimizde farklı konsantrasyonlarının uygulandığı plakaların inkübasyon süreleri sonunda, plakadaki besiyerleri uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa MTT çalışma çözeltilisinden, 100 µl/kuyucuk olacak şekilde ilave edilmiştir. Plaka 3-4 saat süreyle etüvde inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda plakadaki her bir kuyucuğa, çözücü olarak 100 µl DMSO eklenmiştir.

Plakaların absorbans değerleri ELISA (BL, İzmir) cihazında 570 nm dalga boyunda, her bir grupta 8 kuyucuk olacak şekilde okutulmuştur (n=3).

3.8. İstatiksel Analiz

Tüm sonuçları SPSS 11,5 (Statistic Program for Social and Science) yazılım programında 'ortalama ± S.E.(Standart hata)' olarak hesaplanmıştır. MTT değerleri tek yönlü ANOVA ve poc hoc olarak Tukey s'b testi, analiz edilmiştir. Anlamlılık değerleri; $p>0,05$ fark yok, $p<0,05^*$ fark var, $p<0,01^{**}$ önemli derecede fark var, $p<0,001^{***}$ çok önemli derecede fark var olarak değerlendirilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmamız kapsamında, Türk aronya meyvesi Aronya var.Viking orijinli aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik ürünü (SPAF) üretilmesi sonrası tüm aronya ürünlerinde antioksidan temel kalite analizlerini takiben, toplam fenolik madde, antosiyanin içerik, antioksidan aktivite belirlenmiş olup, söz konusu ürünlerde polifenolik profil detaylı analitik yöntemlerle belirlenmiştir, seçilen meme kanseri hücre hattı üzerinde olası antiproliferatif ve antikarsinojenik etkiler ortaya konulmuştur.

4.1.Temel Kalite Analizleri

4.1.1. Brix ve pH Analizi

Aronya meyvesinde brix miktarı 25,66 tespit edilmiştir. Aronya meyvesinde pH: 3,68 tespit edilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Aronya Meyvesinde Brix ve pH Değerleri.

ÜRÜN	°Brix	pH Değeri
ARONYA MEYVE	19,7 - 26,80 (ort. 25,66)	3,45-3,72 (ort. 3,68)

4.1.2.Nem

Aronya meyvesi, çayı ve tozu üzerinde yapılan TS 541 standartlarına göre yapılan nem analizi sonucunda aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi aronya meyvesi için 74,34 (g/100g), aronya çayı için 4,14 (g/100g) ve aronya tozu için 2,00 (g/100g) olarak belirlenmiştir (n:6)(Tablo 8).

Tablo 8. Nem Analizi Sonuçları (g/100g).

ÜRÜN	NEM(g/100g)
ARONYA MEYVE	74,34± 2,42 (TS 541)
ARONYA ÇAYI	4,14 ± 0,25 (TS 541)
ARONYA TOZU	2,00± 0,05 (TS 541)



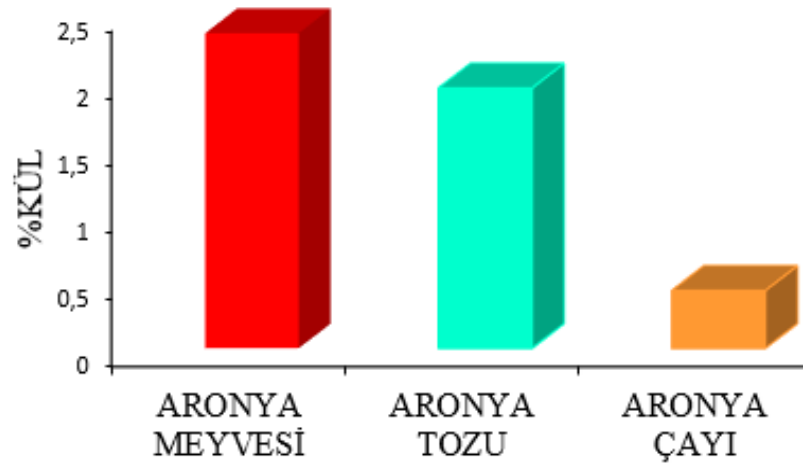
Şekil 19. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Nem Düzeyi.

4.1.3. Kül Analizi

Aronya meyvesi, çayı ve tozu üzerinde TS EN ISO 2171 standartlarına göre yapılan kül analizi sonucunda aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi kül miktarları aronya meyvesi için 0,43 (g/100g); aronya çayı için 2,35 (g/100g) ve aronya tozu için 1,94 (g/100g) olarak belirlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Kül Analizi Sonuçları (g/100g).

ÜRÜN	KÜL (g/100g)
ARONYA MEYVE	0,43 ± 0,05(TS EN ISO 2171)
ARONYA ÇAYI	2,35 ± 0,1(TS EN ISO 2171)
ARONYA TOZU	1,94 ± 0,26 (TS EN ISO 2171)



Şekil 20. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Kül Düzeyi.

4.1.4. Toplam Şeker Analizi

Aronya meyvesi, çayı ve tozu üzerinde TS 1466 standartlarına göre yapılan toplam şeker analizi sonucunda aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi toplam şeker miktarları aronya meyvesi için 8,19 (g/100g); aronya çayı için 27,76 (g/100g) ve aronya tozu için 27,97 (g/100g) olarak tespit edilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Toplam Şeker Analizi Sonuçları (g/100g).

ÜRÜN	TOPLAM ŞEKER(g/100g)
ARONYA MEYVE	8,19 ± 0,32 (TS 1466)
ARONYA ÇAYI	27,76 ± 2,92 (TS 1466)
ARONYA TOZU	27,97 ± 1,87 (TS 1466)



Şekil 21. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Şeker Düzeyi.

4.1.4 Duyusal Analiz

Aronya meyvesi, tozu ve özel nutrasötik farmasötik takviye ürün (SPAF) için yapılan duyusal analizde sonucunda Tablo 11’ daki veriler elde edilmiştir. Aronya meyvesine göre aronya tozu ve aronya nutrasötik şurup (SPAF) renk, koku, tad, aroma, burukluk ve genel kabul edilebilirlik bakımında daha iyi sonuçlanmıştır.

Tablo 11. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Duyusal Analiz Tablosu.

	RENK (ort.)	KOKU (ort.)	TAT (ort.)	AROMA (ort.)	BURUKLUK (ort.)	GENEL KABUL EDİLEBİLİRLİK (ort.)
ARONYA MEYVE	9,0	6,6	4,7	5,5	7,2	5,8
ARONYA TOZ	7,3	7,1	7,8	8,2	6,1	7,9
ARONYA NUTRASÖTİK ŞURUP (SPAF)	8,2	7,7	8,3	8,7	5,3	8,5

Ort.= panelistlerin değerlendirme ortalaması

Derecelendirme ve notasyon

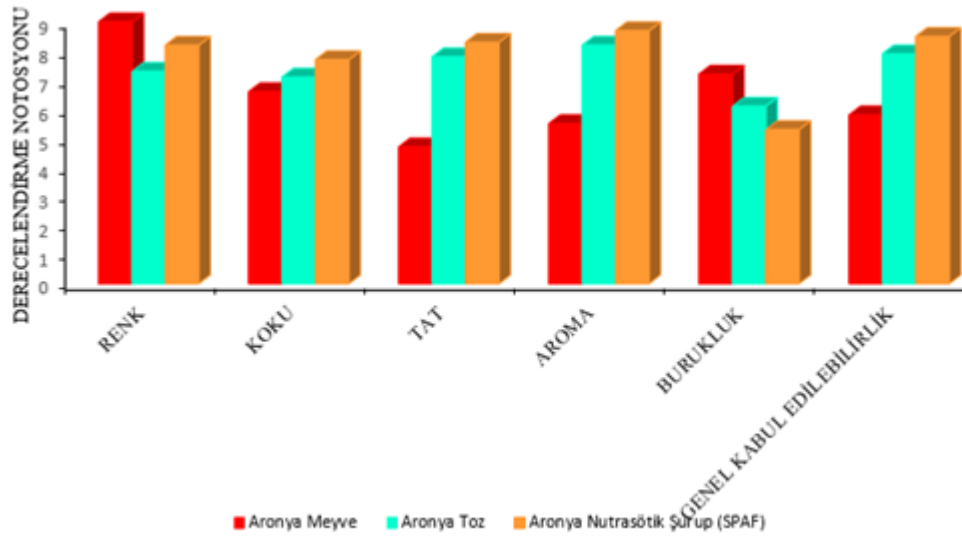
1: içim kalitesi çok düşük.

3: içilebilir.

5: vasat kaliteli

7: iyi derecede kalite

9: son derece kaliteli

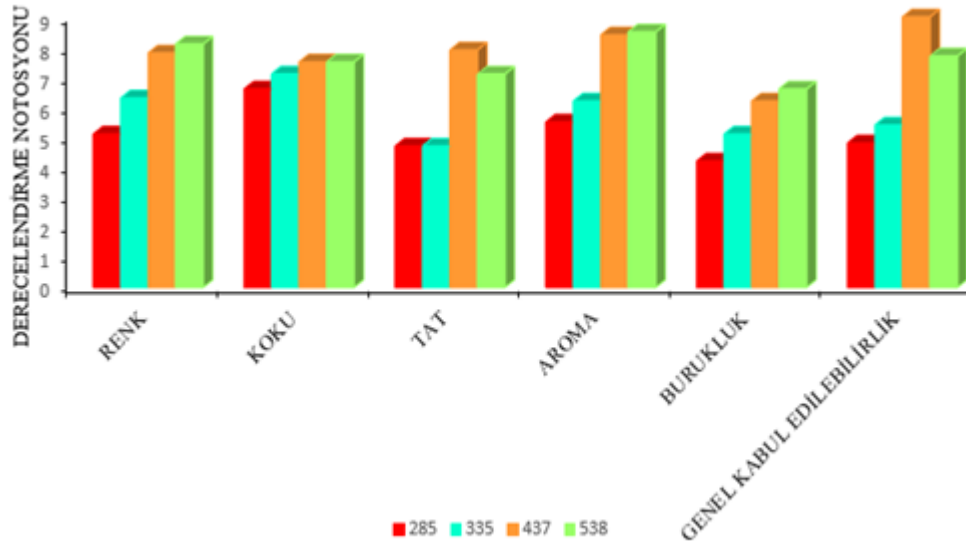


Şekil 22. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Duyusal Analiz Düzeyi.

3 dk, 5 dk,10 dk ve 15 dk demleme süreleri için aronya çaylarında yapılan tadımlar sonucunda tablodaki ortalama veriler elde edilmiştir. Tadımlar sonucu elde edilen test panelist formu sonuçlarına göre ortalama değer olarak kod 437 adıyla verilen 10 dakikalık demleme süresi renk, koku, tad, aroma, burukluk ve genel kabul edilebilirlik bakımından en tatmin edici sonuçları almıştır (Tablo 12)

Tablo 12. Aronya Çayı Duyusal Analiz Değerlendirme Tablosu.

	RENK (ort.)	KOKU (ort.)	TAT (ort.)	AROMA (ort.)	BURUKLUK (ort.)	GENEL KABUL EDİLEBİLİRLİK (ort.)
KOD 285	5,1	6,6	4,7	5,5	4,2	4,8
KOD 335	6,3	7,1	4,7	6,2	5,1	5,4
KOD 437	7,8	7,5	7,9	8,4	6,2	9,0
KOD 538	8,1	7,5	7,1	8,5	6,6	7,7
Ort.= panelistlerin değerlendirme ortalaması						
Derecelendirme ve notasyon						
1: içim kalitesi çok düşük.						
3: içilebilir.						
5: vasat kaliteli						
7: iyi derecede kalite						
9: son derece kaliteli						



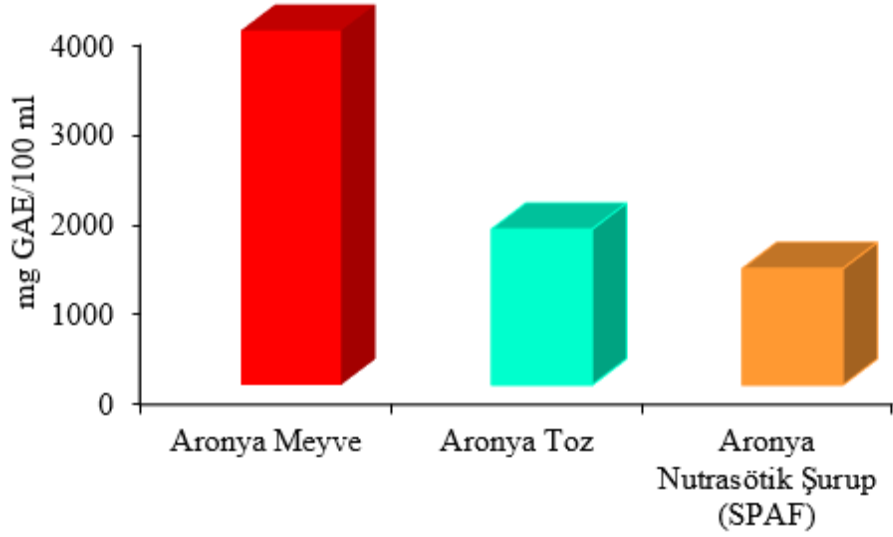
Şekil 23. Aronya Çayı Duyusal Analiz Düzeyi.

4.2. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarları

Tabloda 13 'de görüldüğü gibi toplam fenolik madde tayininde aronya meyvesi için toplam fenolik madde miktarı $3946,49 \pm 134,92$ (mg GAE/100g)(n=3), aronya aronya tozu için $1733,13 \pm 16,87$ (mg GAE/100g)(n=3), aronya nutrasötik şurup (SPAF) için $1294,86 \pm 59,31$ (mg GAE/100g)(n=3) tespit edilmiştir.

Tablo 13. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Fenolik Madde.

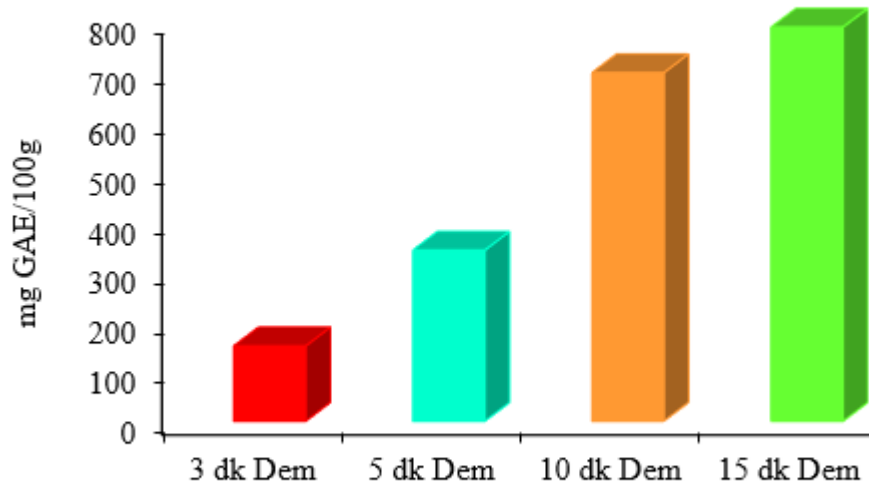
	Aronya meyve	Aronya toz	Aronya Çay	Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF)
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/100 g)(n=3)	$3946,49 \pm 134,92$	$1733,13 \pm 16,87$	$150,23 \pm 1,01$ (3 dk demde) $341,86 \pm 3,23$ (5 dk demde) $696,92 \pm 67,23$ (10 dk demde) $787,92 \pm 130,24$ (15dk demde)	$1294,86 \pm 59,31$



Şekil 24. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup(SPAF) Toplam Fenolik Madde Düzeyi.

Tabloda 13 'de görüldüğü gibi aronya çaylarının farklı demleme sürelerinde toplam fenolik madde tayininde 3 dk demleme için $150,23 \pm 1,01$ (mg GAE/100 g)(n=3), 5 dk demleme için $341,86 \pm 3,23$ (mg GAE/100g)(n=3) 10 dk demleme için $696,92 \pm 67,23$ (mg GAE/100 ml)(n=3) 15 dk demleme için $787,92 \pm 130,24$ (mg GAE/100 ml)(n=3) tespit edilmiştir.

Şekil 25'de görüldüğü gibi aronya çayı 15 dk demleme süresinin toplam fenolik madde miktarı daha yüksek düzeyde bulgulanmıştır. Aronya çayı 15 dk demleme toplam fenolik madde miktarının yüksek düzeyde çıkması demleme süresi arttıkça fenolik madde miktarı geçişinin artmasından kaynaklanmaktadır.



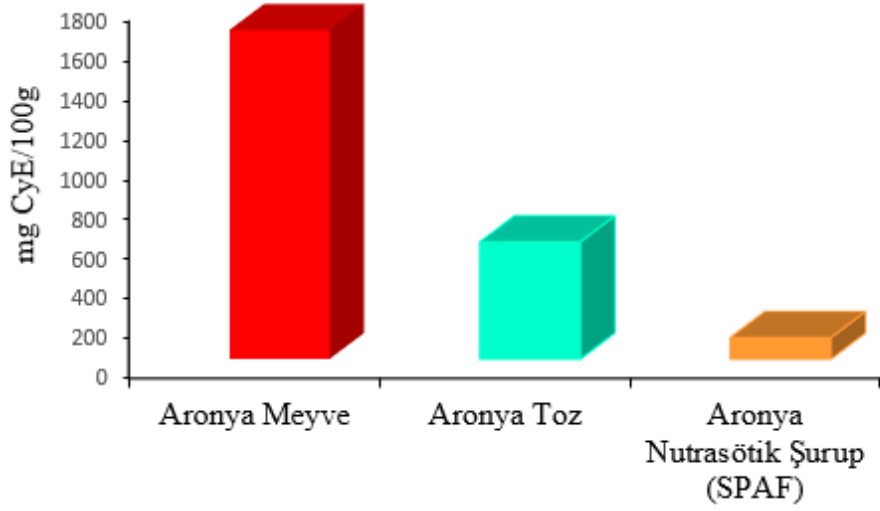
Şekil 25. Farklı Demleme Sürelerindeki Toplam Fenolik Madde Düzeyi.

4.3. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki Toplam Antosiyanin (TA) Miktarları

Tabloda 14’de görüldüğü gibi toplam antosiyanin miktarları aronya meyvesi için $1658,81 \pm 14,22$ (mgCyE/100g)(n=3), aronya tozu için $589,63 \pm 5,96$ (mgCyE/100g)(n=3) ve aronya nutrasötik şurup (SPAF) için $106,85 \pm 9,55$ (mgCyE/100g)(n=3) tespit edilmiştir.

Tablo 14. Aronya ve Aronya Ürünlerinde Toplam Antosiyanin.

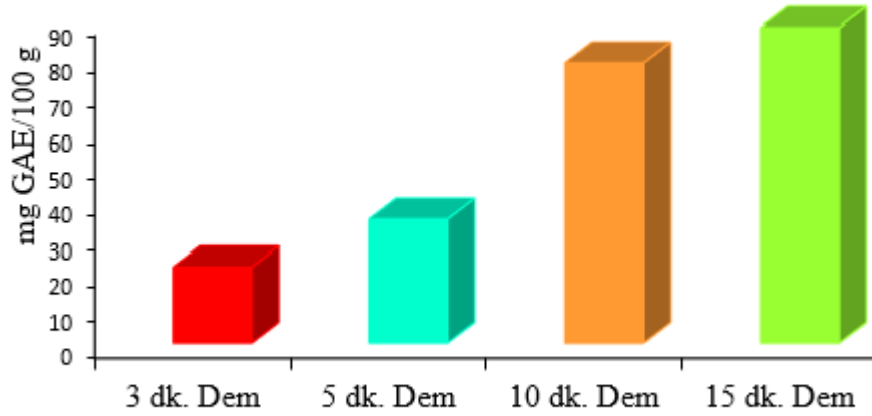
	Aronya Meyve	Aronya Toz	Aronya Çay	Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF)
Toplam Antosiyanin (mg CyE/100g)(n=3)	$1658,81 \pm 14,22$	$589,63 \pm 5,96$	$21,28 \pm 0,47$ (3 dk demde) $34,56 \pm 0,12$ (5 dk demde) $78,14 \pm 9,08$ (10 dk demde) $87,92 \pm 6,16$ (15 dk demde)	$106,85 \pm 9,55$



Şekil 26. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Toplam Antosiyanin Düzeyi.

Tabloda 14 'de görüldüğü gibi aronya çaylarının farklı demleme sürelerinde toplam antosiyanin madde tayininde 3 dk demleme için $21,28 \pm 0,47$ (mgCyE/100g)(n=3), 5 dk demleme için $34,56 \pm 0,12$ (mgCyE/100g)(n=3), 10 dk demleme için $78,14 \pm 9,08$ (mgCyE/100g)(n=3), 15 dk demleme için $87,92 \pm 6,16$ (mgCyE/100g)(n=3) tespit edilmiştir.

Şekil 27'de görüldüğü gibi aronya çayı 15 dk demleme süresinin toplam fenolik madde miktarı daha yüksek düzeyde bulgulanmıştır. Aronya çayı 15 dk demleme toplam fenolik madde miktarının yüksek düzeyde çıkması demleme süresi arttıkça fenolik madde miktarı geçişinin artmasından kaynaklanmaktadır.



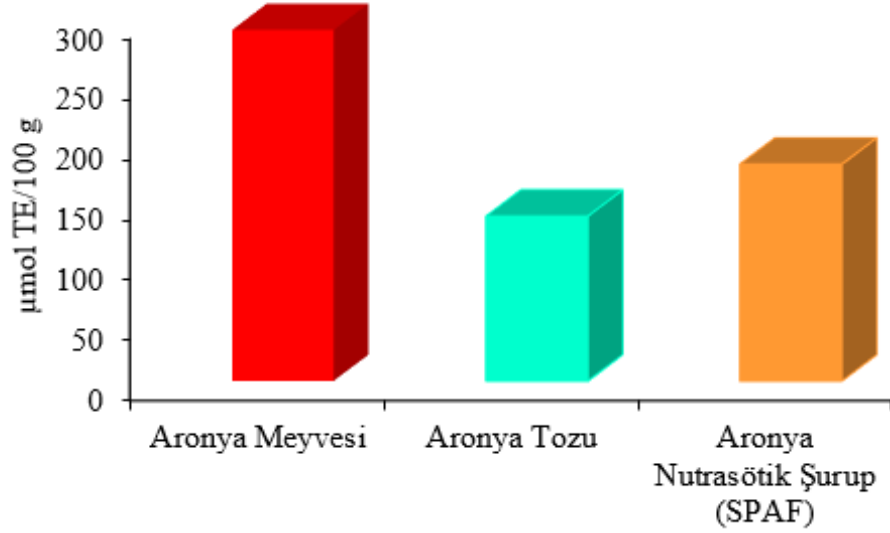
Şekil 27. Aronya Çayı Farklı Demleme Sürelerinde Toplam Antosiyanin Düzeyi.

4.4. Aronya ve Aronya Ürünlerindeki DPPH Antioksidan Aktivite (AA) Miktarlarının Tayini

Tablo 15’de görüldüğü gibi DPPH antioksidan aktivite miktarları aronya meyvesi için toplam fenolik madde miktarı $291,34 \pm 3,82$ ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) ($n=3$), aronya tozu için $136,72 \pm 10,57$ ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) ($n=3$) ve aronya nutrasötik şurup (SPAF) için $190,52 \pm 12,35$ ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) ($n=3$) tespit edilmiştir.

Tablo 15. Aronya ve Aronya Ürünlerinde DPPH Antioksidan Aktivite

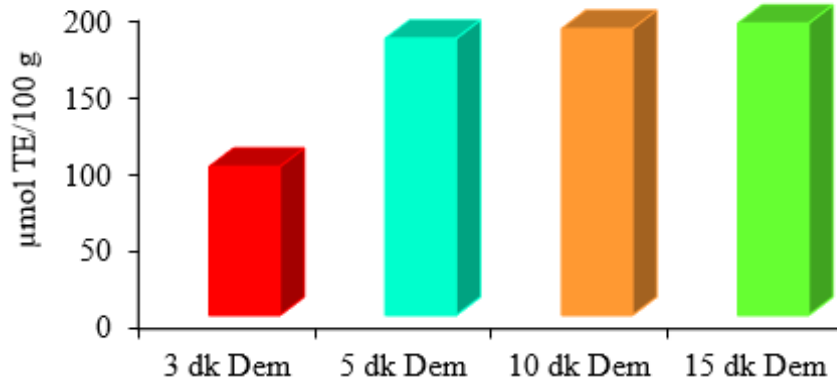
	Aronya Meyve	Aronya Toz	Aronya Çay	Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF)
DPPH Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) ($n=3$)	$291,34 \pm 3,82$	$136,72 \pm 10,57$	$96,55 \pm 5,72$ (3 dk demde) $179,86 \pm 18,63$ (5 dk demde) $186,20 \pm 20,42$ (10 dk demde) $189,72 \pm 10,55$ (15 dk demde)	$190,52 \pm 12,35$
TE: Mikromol troloks eşdeğeri				



Şekil 28. Aronya Meyve, Toz ve Nutrasötik Şurup (SPAF) DPPH Antioksidan Aktivite Düzeyi.

Tabloda 15 'de görüldüğü gibi farklı demleme sürelerinde toplam antosiyan DPPH antioksidan aktivite tayininde 3 dk demleme için DPPH antioksidan aktivite $96,55 \pm 5,72$ (mg GAE/100 g) (n=3), 5 dk demleme için $179,86 \pm 18,63$ (mg GAE/100 g) (n=3) 10 dk demleme için $186,20 \pm 20,42$ (mg GAE/100 g) (n=3) 15 dk demleme için $22,56 \pm 1,58$ $189,72 \pm 10,55$ (mg GAE/100 g) (n=3) tespit edilmiştir.

Şekil 29'de görüldüğü gibi aronya çayı 15 dk demleme süresinin toplam DPPH antioksidan aktivite daha yüksek düzeyde bulgulanmıştır. Aronya çayı 15 dk demleme DPPH antioksidan aktivitenin yüksek düzeyde çıkması demleme süresi arttıkça madde miktarı geçişinin artmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 29. Aronya Çayı Farklı Demleme Sürelerinde DPPH Antioksidan Aktivite Düzeyi.

4.5. Organik Asit Analizi

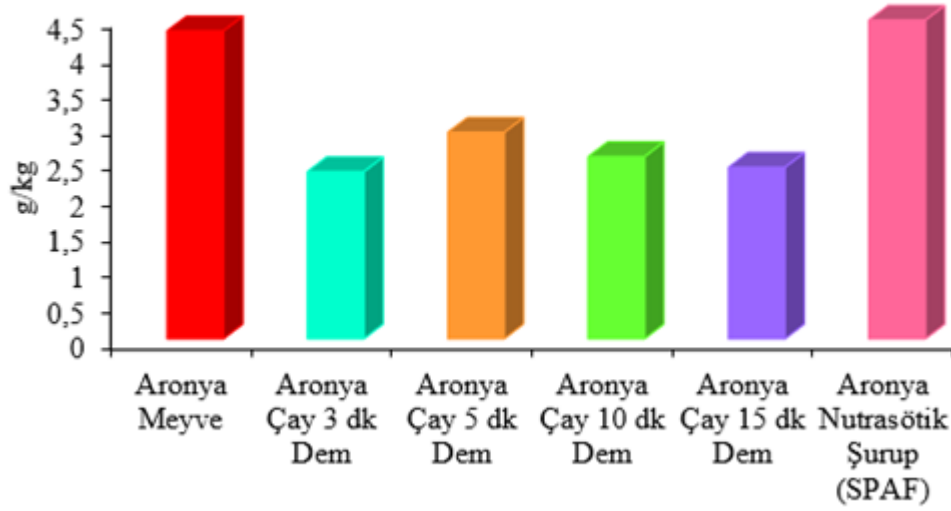
Aronya meyvesi, aronya çay demisi ve aronya nutrasötik SPAF şurupta bir karboksilik asit olarak kuinik asit ve trikarboksilli asitler olarak malik asit ve sitrik asit tayin edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 16. Aronya Meyvesi, Aronya Çay Demisi ve Aronya Nutrasötik Şurupta (SPAF)

Organik Asit Miktarları.

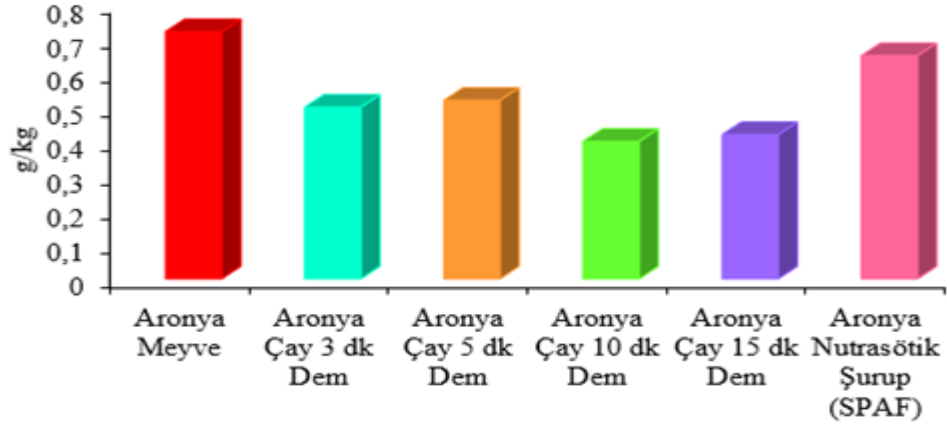
Organik Asitler	g/kg Meyve	g/kg Çay	g/kg SPAF Formül
Malik asit	4,31 ± 0,56	2,34 ± 0,02 (3 dk demde)	4,46 ± 0,12
		2,89 ± 0,05 (5 dk demde)	
		2,55 ± 0,03 (10 dk demde)	
		2,40 ± 0,05 (15 dk demde)	
Sitrik asit	0,72 ± 0,05	0,50 ± 0,02 (3k demde)	0,65 ± 0,02
		0,52 ± 0,02 (5 dk demde)	
		0,40 ± 0,05 (10 dk demde)	
		0,42 ± 0,01 (15 dk demde)	
Kuinik asit	3,98 ± 0,07	2,55 ± 0,05 (3 dk demde)	5,22 ± 0,05
		2,20 ± 0,02 (5 dk demde)	
		1,85 ± 0,05 (10 dk demde)	
		1,67 ± 0,01 (15 dk demde)	

Malik asit miktarı meyve için $4,31 \pm 0,56$ (g/kg), çayda 3 dk demleme için $2,34 \pm 0,02$ (g/kg), 5 dk demleme için $2,89 \pm 0,05$ (g/kg), 10 dk demleme için $2,55 \pm 0,03$ (g/kg), 15 dk demleme için $2,40 \pm 0,05$ (g/kg) ve nutrasötik şurup (SPAF) için $4,46 \pm 0,12$ (g/kg) tespit edilmiştir (Şekil 30).



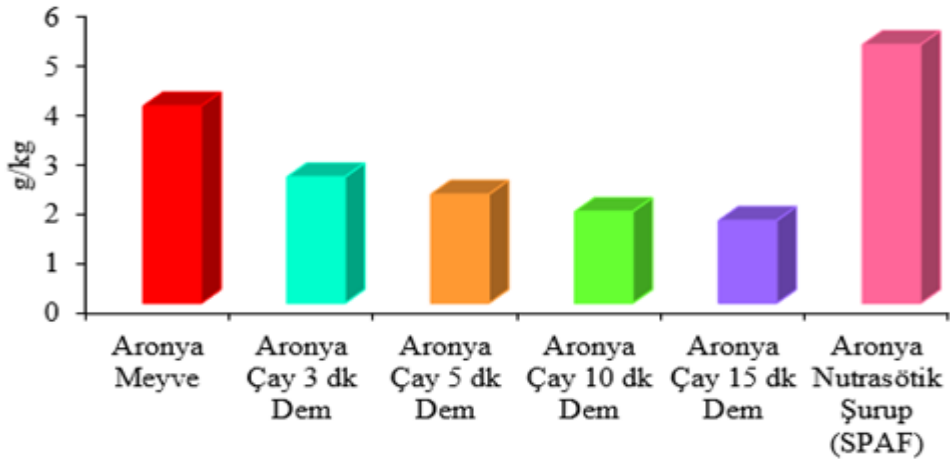
Şekil 30. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Malik Asit Düzeyi.

Sitrik asit miktarı meyve için $0,72 \pm 0,05$ (g/kg), çayda 3 dk demleme için $0,50 \pm 0,02$ (g/kg), 5 dk demleme için $0,52 \pm 0,02$ (g/kg), 10 dk demleme için $0,40 \pm 0,05$ (g/kg), 15 dk demleme için $0,42 \pm 0,01$ (g/kg) ve nutrasötik şurup (SPAF) için $0,65 \pm 0,02$ (g/kg) tespit edilmiştir (Şekil 31).



Şekil 31. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Sitrik Asit Düzeyi.

Kuinik asit miktarı meyve için $3,98 \pm 0,07$ (g/kg), çayda 3 dk demleme için $2,55 \pm 0,05$ (g/kg), 5 dk demleme için $2,20 \pm 0,02$ (g/kg), 10 dk demleme için $1,85 \pm 0,05$ (g/kg), 15 dk demleme için $1,67 \pm 0,01$ (g/kg) ve nutrasötik şurup (SPAF) için $5,22 \pm 0,05$ (g/kg) tespit edilmiştir (Şekil 32).



Şekil 32. Aronya Meyve, Çay Demleri ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kuinik Asit Düzeyi.

4.6. Kromatografik Analizler; Fenolik Madde Profili

Kalitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilen araştırma kapsamındaki Türk aronya meyvesi aronya var.Viking orijinli aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik ürününde (SPAF), fenolik asitler, flavanol (kateşinler), flavonol bileşikleri kalitatif olarak Q-TOFF- Kütle Spektrometresinde ve kantitatif olarak da HPLC-DAD ile tayin edilmiştir; sırasıyla Kısım 4.5.1, 4.5.2., ve 4.5.3.de yer alan kromatogramlarında da iyi düzeyde ayrıldıkları görülmektedir (Şekil 33, 34, 48, 56).

4.6.1. Fenolik Asitlerin Analizleri

Fenolik asitleri oluşturan gallik asit, klorogenik asit (5-kafeoylkuinik asit) hidroksisinnamik asit, neoklorogenik asit (3-kafeoylkuinik asit), vanilik asit, siringik asit, kaftarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinapik asit ve rosmarinic asit kullanılarak Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)'de aynı base-line üzerinde yan yana belirlenmiş olup kantitatif olarak tayinleri gerçekleştirilmiştir.

İncelenen Türk aronya meyvesi aronya var.Viking orijinli aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik ürününde fenolik asitler 0,52-493,20 mg/100g aralığında tespit edilmiştir (Tablo 18).

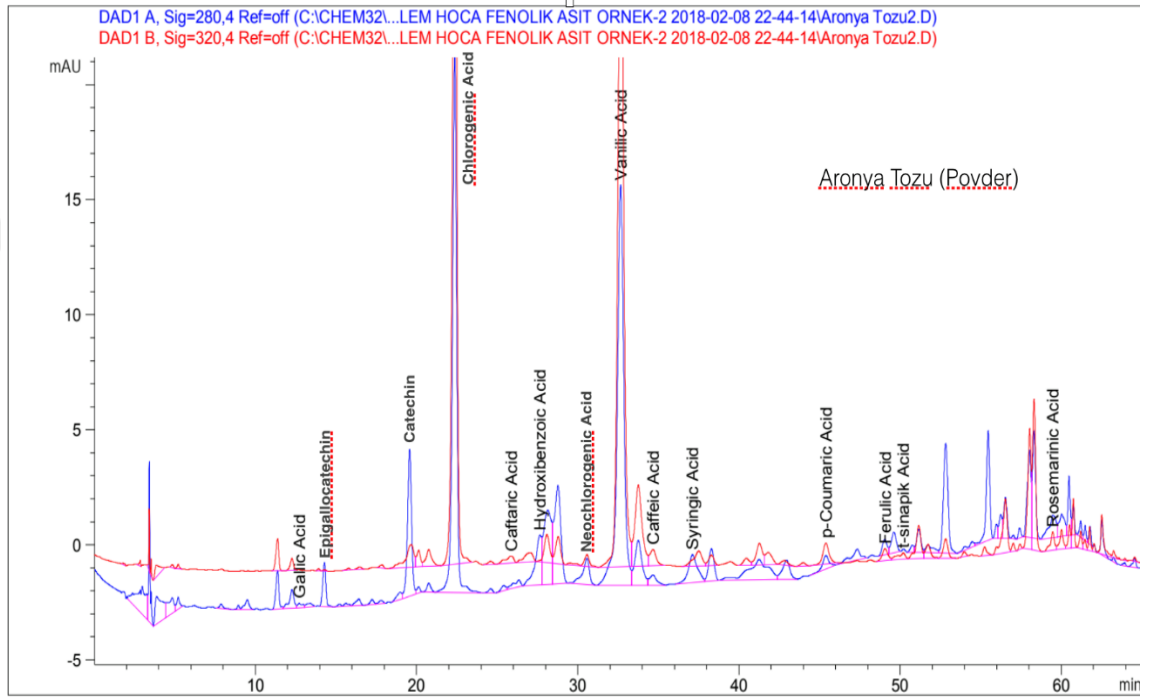
Tablo 17. Aronya meyve, Toz (povder), Çaylar ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Fenolik Asitlerin Alıkonma Zamanları (retention time-dk) (RT), ve Kantitatif Miktarları (mg/100g).

Fenolik Asitler ve Flavanoller (Kateşinler)	Alıkonma Zamanı (Retention Time) (R.T.) Meyve	Alıkonma Zamanı (Retention Time) (R.T.) Toz (Powder)	Alıkonma Zamanı (Retention Time) (R.T.) Çay	Alıkonma Zamanı (Retention Time) (R.T.) Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF)
DAD-Signal 280 nm				
Gallik Asit	12.72	12.71	12.88	—
Epigallokateşin	14.05	14.09	14.10	—
Kateşin	19.40	19.43	19.44	19.42
Klorogenik Asit	22.50	22.53	22.76	22.75
Hidroksisinnamik Asit	27.60	27.66	26.98	—
Neoklorogenik Asit	30.64	30.68	30.97	30.72
Vanilik Asit	32.65	32.67	32.54	—
Siringik Asit	37.15	37.12	36.66	—
DAD-Signal 320 nm				
Kaftarik Asit	25.87	25.89	—	—
Kafeik Asit	34.66	34.67	—	—
p-Kumarik Asit	45.37	45.40	—	—
Ferulik Asit	49.05	49.07	—	—
t-Sinapik Asit	50.23	50.20	—	—
Rosemarinik Asit	59.45	59.47	59.47	59.98

Tablo 18. Aronya Meyvesi, Tozu, Farklı Demleme Sürelerindeki Çayı ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Fenolik Asit Miktarları (mg/100g).

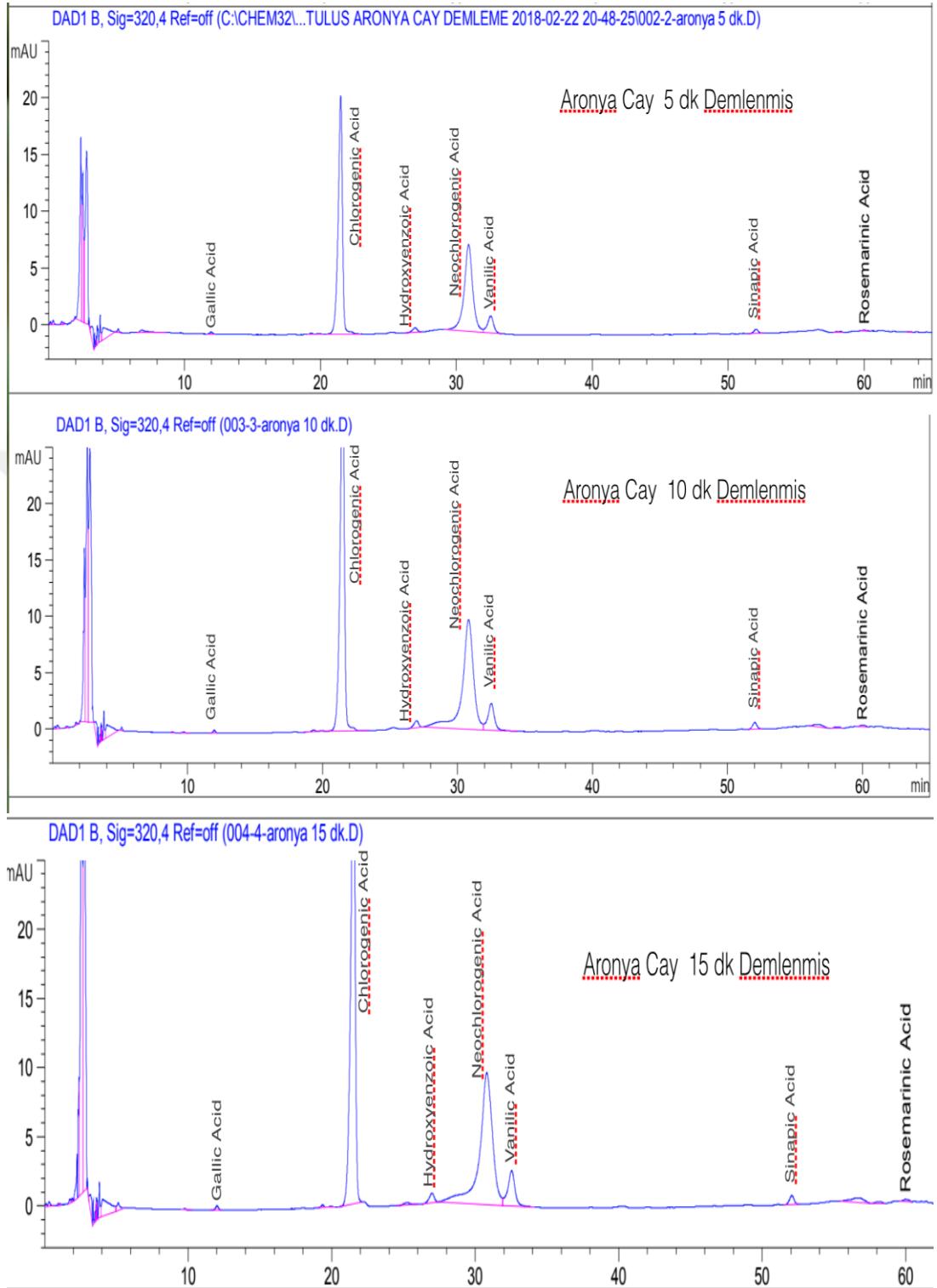
Fenolik Asitler ve Flavanoller (Kateşinler)	mg/100 g Meyve	mg/100 g Toz (Povder)	mg/100 g Çay	mg/100 g Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF)
DAD-Signal 280 nm				
Gallik Asit	2,23	5,37	0,52 (3 dk demde) 0,76 (5 dk demde) 1,12 (10 dk demde) 1,33 (15 dk demde)	—
Epigallokateşin	9,35	7,52	8,45 (3 dk demde) 13,32 (5 dk demde) 19,26 (10 dk demde) 20,44 (15 dk demde)	—
Kateşin	34,46	35,67	38,16 (3 dk demde) 41,55 (5 dk demde) 30,78 (10 dk demde) 30,96 (15 dk demde)	—
Klorojenik Asit	321,56	493,20	90,28 (3 dk demde) 95,63 (5 dk demde) 188,42 (10 dk demde) 195,33 (15 dk demde)	202,38
Hidroksisinnamik Asit	4,17	6,26	3,08 (3 dk demde) 3,44 (5 dk demde) 4,69 (10 dk demde) 4,90 (15 dk demde)	—
Neoklorojenik Asit	274,35	186,56	42,55 (3 dk demde) 58,03 (5 dk demde) 67,62 (10 dk demde) 65,58 (15 dk demde)	123,38
Vanilik Asit	30,12	38,67	10,96 (3 dk demde) 11,56 (5 dk demde) 15,67 (10 dk demde) 12,78 (15 dk demde)	—
Siringik Asit	7,63	4,12	—	—
DAD-Signal 320 nm				
Kaftarik Asit	1,88	3,24	—	—
Kafeik Asit	6,49	6,12	—	—
p-Kumarik Asit	3,27	4,91	—	—
Ferulik Asit	2,15	2,33	—	—
t-Sinapik Asit	1,52	1,59	0,55 (3 dk demde) 1,02 (5 dk demde) 1,25 (10 dk demde) 1,22 (15 dk demde)	—
Rosemarinik Asit	2,58	2,07	0,60 (3 dk demde) 0,62 (5 dk demde) 0,89 (10 dk demde) 0,54 (15 dk demde)	—

Şekil 33’da yer alan aronya tozu (povder)ndaki gallik asit, klorojenik asit (5-kafeoylkuinik asit), hidroksisinnamik asit, neoklorojenik asit (3-kafeoylkuinik asit), vanilik asit, siringik asit, kaftarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinapik asit ve rosemarinik asidin yan yana tayin edilmiş kromatogramları görülmektedir.



Şekil 33. Aronya Tozu (povder) Kromatogramı.

Şekil 34’de 5 dk, 10 dk ve 15 dk larda demlenmiş aronya çaylarında gallik asit, klorojenik asit (5-kafeoylkuinik asit), hidroksisinnamik asit, neoklorojenik asit (3-kafeoylkuinik asit), vanilik asit, siringik asit ve rosemarinik asidin yan yana tayin edilmiş kromatogramları görülmektedir. Özel formülasyonlu aronya nutrasötik şurupta (SPAF), klorojenik asit (5-kafeoylkuinik asit), neoklorojenik asit (3-kafeoylkuinik asit), kuinik asit major olarak belirlenmiştir.

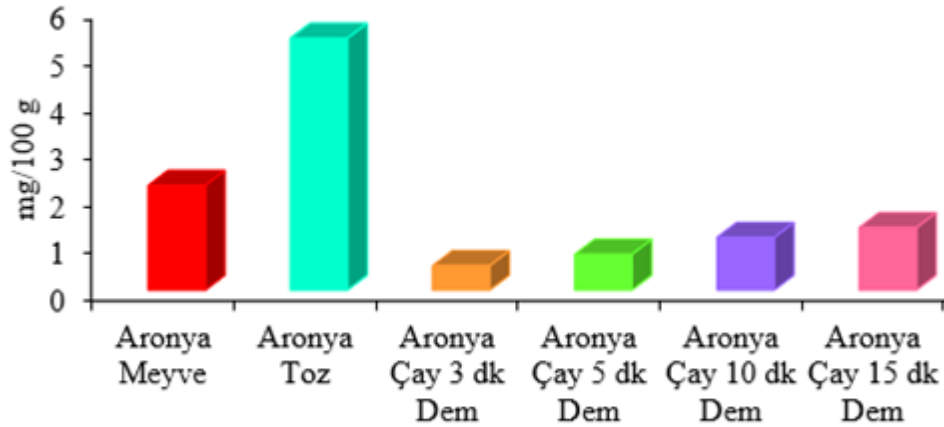


Şekil 34. 5 dk, 10 dk ve 15 dk larda Demlenmiş Aronya Çay Kromatogramı.

Araştırmamız dahilinde geliştirdiğimiz Türk aronya meyvesi aronya var.Viking orijinli aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik şurupta (SPAF), fenolik asit bileşiklerine ilişkin kromatogramlardan elde edilen sonuçlara göre, Tablo 18. de görülen veriler elde edilmiştir; sırasıyla meyve, toz (povder), çaylar ve nutrasötik şuruptaki (SPAF) asitlerin alıkonma zamanları (retention time-dk) (RT), ve kantitatif miktarlari (mg/100g) tayin edilmiştir (Tablo 17).

Tablo 18'de görüldüğü gibi fenolik asitlerin kantitatif miktarları (mg/100g) aronya meyvesi, tozu farklı demleme sürelerindeki çayları ve nutrasötik şurup (SPAF) için tespit edilmiştir.

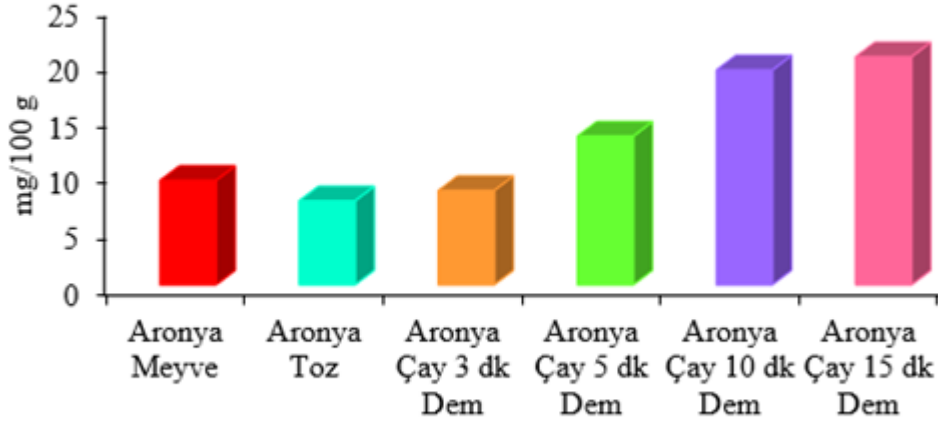
Gallik asit için meyvede 2.23 (mg/100g), tozda 5.37 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 0,52(mg/100g), 5 dk demlemede 0.76 (mg/100g), 10 dk demlemede 1.12 (mg/100g), 15 dk demlemede 1.33 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 35).



Şekil 35. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinin Gallik Asit Düzeyi.

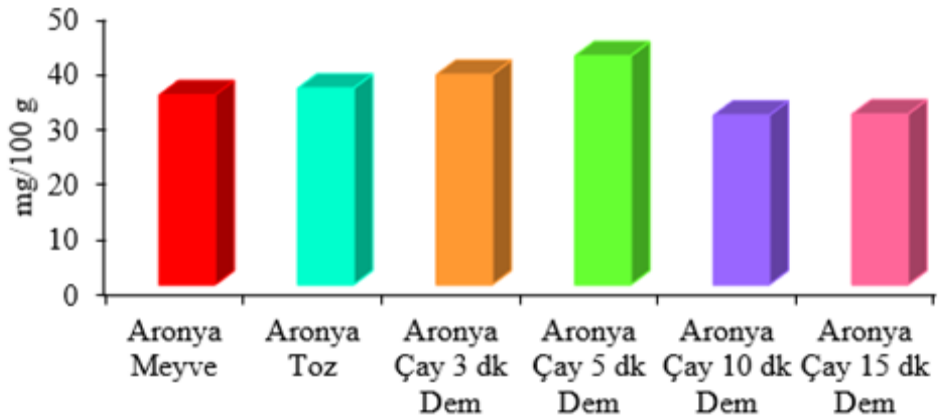
Epigallokateşin için meyvede 9,35 (mg/100g), tozda 7,52 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 8,45 (mg/100g), 5 dk demlemede 13,32 (mg/100g), 10 dk

demlemede 19,26 (mg/100g), 15 dk demlemede 20,44 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 36).



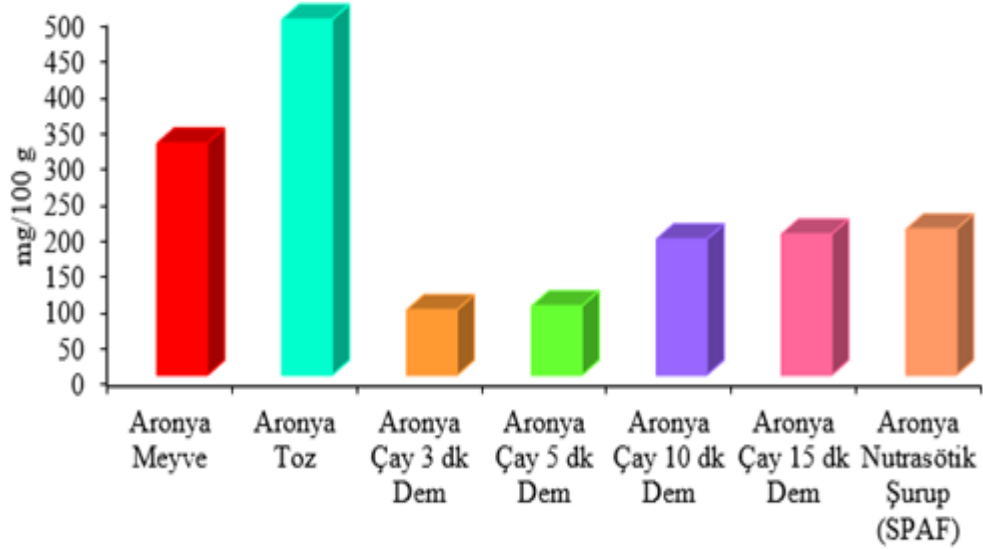
Şekil 36. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinin Epigallocateşin Düzeyi.

Kateşin için meyvede 34,46 (mg/100g), tozda 35,67 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 38,16 (mg/100g), 5 dk demlemede 41,55 (mg/100g), 10 dk demlemede 30,78 (mg/100g), 15 dk demlemede 30,96 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 37).



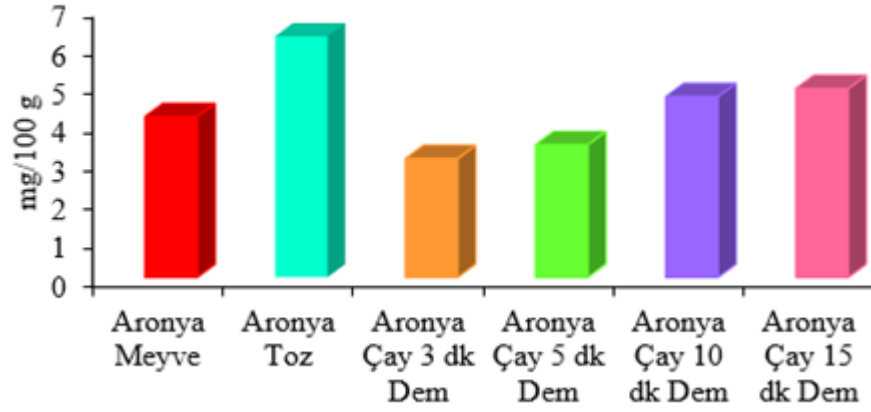
Şekil 37. Aronya Meyve, Toz ve Çay Kateşin Düzeyi.

Klorojenik asit için meyvede 321.56 (mg/100g), tozda 493.20 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 90,28 (mg/100g), 5 dk demlemede 95.63 (mg/100g), 10 dk demlemede 188.42 (mg/100g), 15 dk demlemede 195.33 (mg/100g) ve nutrasötik şurup (SPAF) için 202.38 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 38).



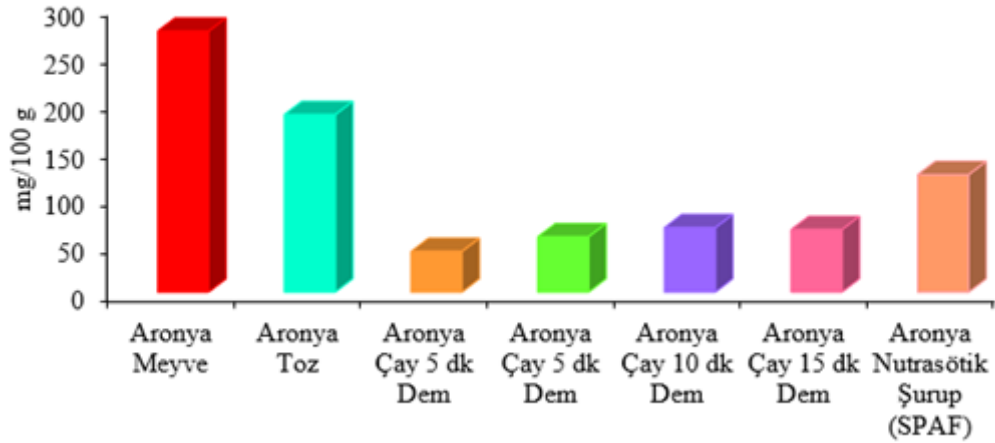
Şekil 38. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Klorojenik Asit Düzeyi.

Hidroksisinnamik asit için meyvede 4.17 (mg/100g), tozda 6.26 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 3,08 (mg/100g), 5 dk demlemede 3.44 (mg/100g), 10 dk demlemede 4.69 (mg/100g), 15 dk demlemede 4.90 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 39).



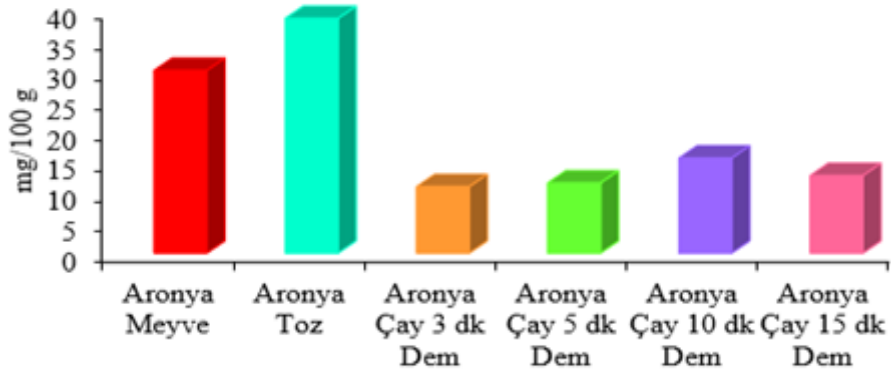
Şekil 39. Aronya Meyve, Toz ve Çay Hidrosinamik Asit Düzeyi.

Neoklorojenik asit için meyvede 274.35 (mg/100g), tozda 186.56 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 42,55 (mg/100g), 5 dk demlemede 58.03 (mg/100g), 10 dk demlemede 67.62 (mg/100g), 15 dk demlemede 65.58 (mg/100 g) ve nutrasötik şurup (SPAF) için 123.38 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 40).



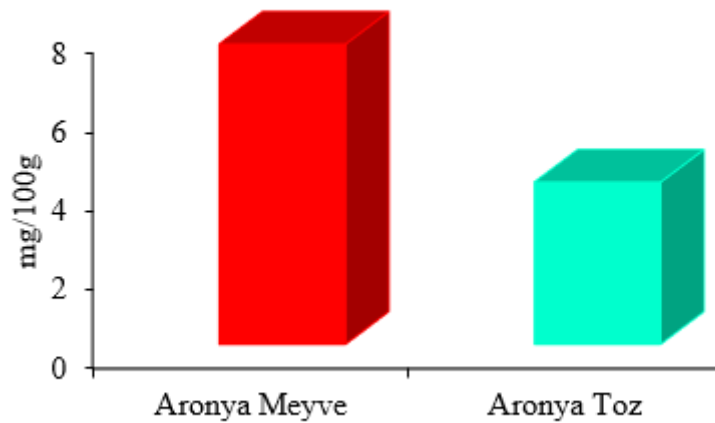
Şekil 40. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Neoklorojenik Asit Düzeyi.

Vanilik asit için meyvede 30.12 (mg/100g), tozda 38.67 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 10,96 (mg/100g), 5 dk demlemede 11.56 (mg/100g), 10 dk demlemede 15.67 (mg/100g), 15 dk demlemede 12.78 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 41).



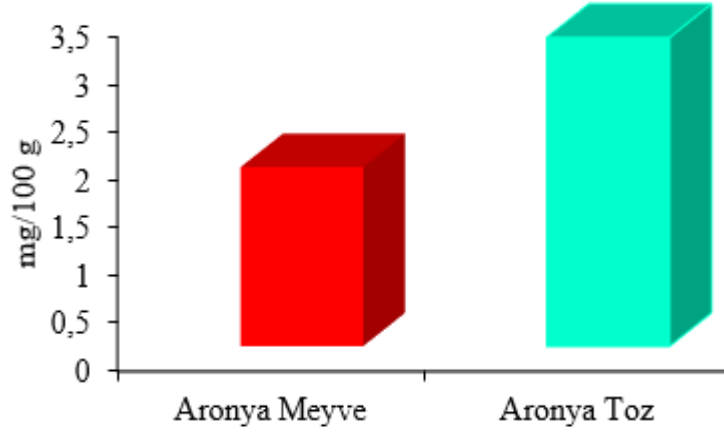
Şekil 41. Aronya Meyve, Toz ve Çay Vanilik Asit Düzeyi.

Siringik asit meyvede 7.63 (mg/100g), tozda 4.12 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 42).



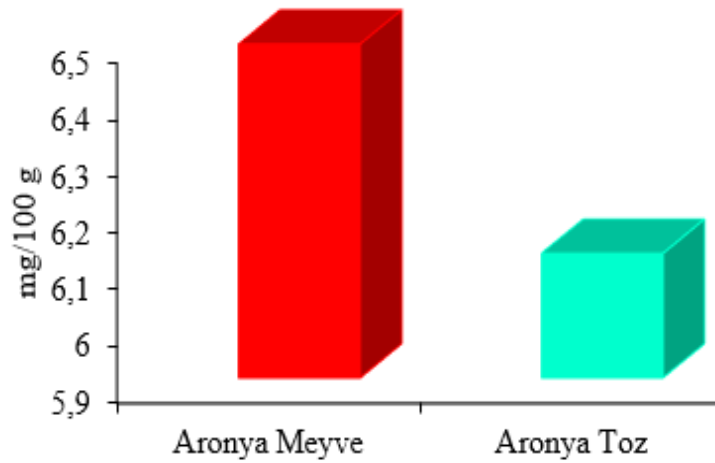
Şekil 42. Aronya Meyve ve Toz Siringik Asit Düzeyi.

Kaftarik asit meyvede 1.88 (mg/100g), tozda 3.24 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 43).



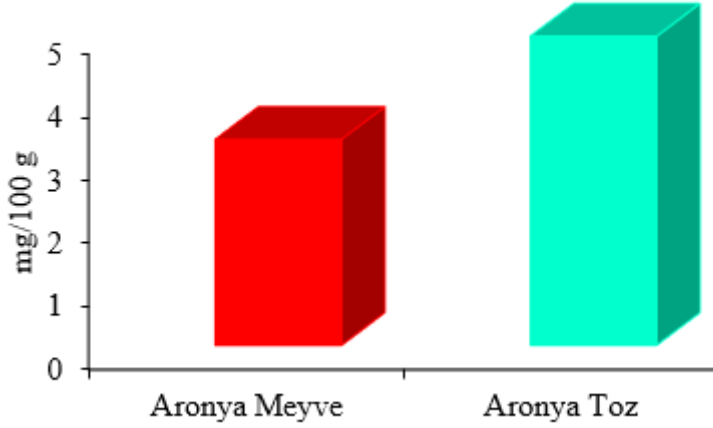
Şekil 43. Aronya Meyve ve Toz Kaftarik Asit Düzeyi.

Kafeik asit meyvede 6.49 (mg/100g), tozda 6.12 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 44).



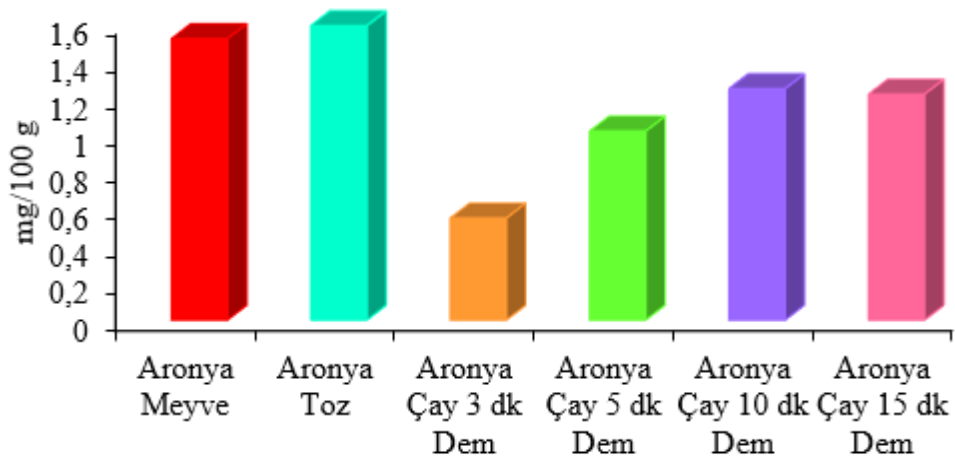
Şekil 44. Aronya Meyve ve Toz Kafeik Asit Düzeyi.

p-Kumarik asit meyvede 3.27 (mg/100g), tozda 4.91 (mg/100g); ferulik asit meyvede 2.15 (mg/100g), tozda 2.33 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 45).



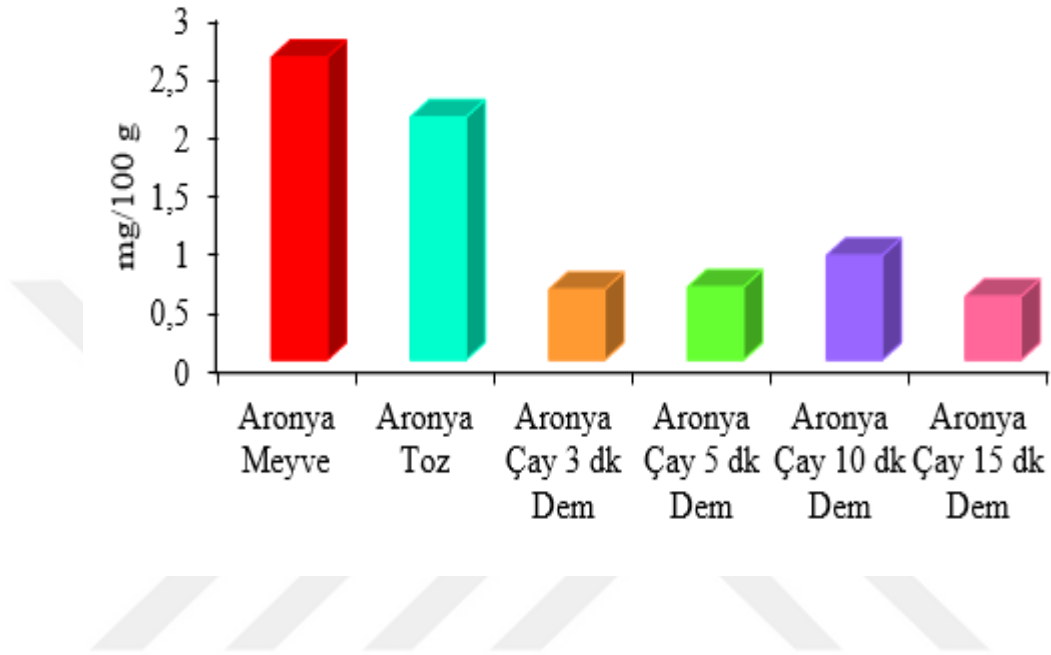
Şekil 45. Aronya Meyve ve Toz *p*-Kumarik Asit Düzeyi.

t-Sinapik asit meyvede 1.52 (mg/100g), tozda 1.59 (mg/100g), çay ürünü için 3 dk demlemede 0,55 (mg/100g), 5 dk demlemede 1.02 (mg/100g), 10 dk demlemede 1.25 (mg/100g), 15 dk demlemede 1.22 (mg/100g) tespit edilmiştir (Şekil 46).



Şekil 46. Aronya Meyve, Toz ve Çay *t*-Sinapik Asit Düzeyi.

Rosemarinik asid meyvede 2.58 (mg/100g), tozda 1.59 (mg/100g), çay ürünü için 3dk demlemede 0,60 (mg/100g), 5 dk demlemede 0.62 (mg/100g), 10 dk demlemede 0.89 (mg/100g), 15 dk demlemede 0.54 (mg/100g) olarak tespit edilmiştir (Şekil 47).



Şekil 47. Aronya Meyve, Toz ve Çay Rosemarinik Asit Düzeyi.

4.6.2 Flavanoller ve Glikozidleri

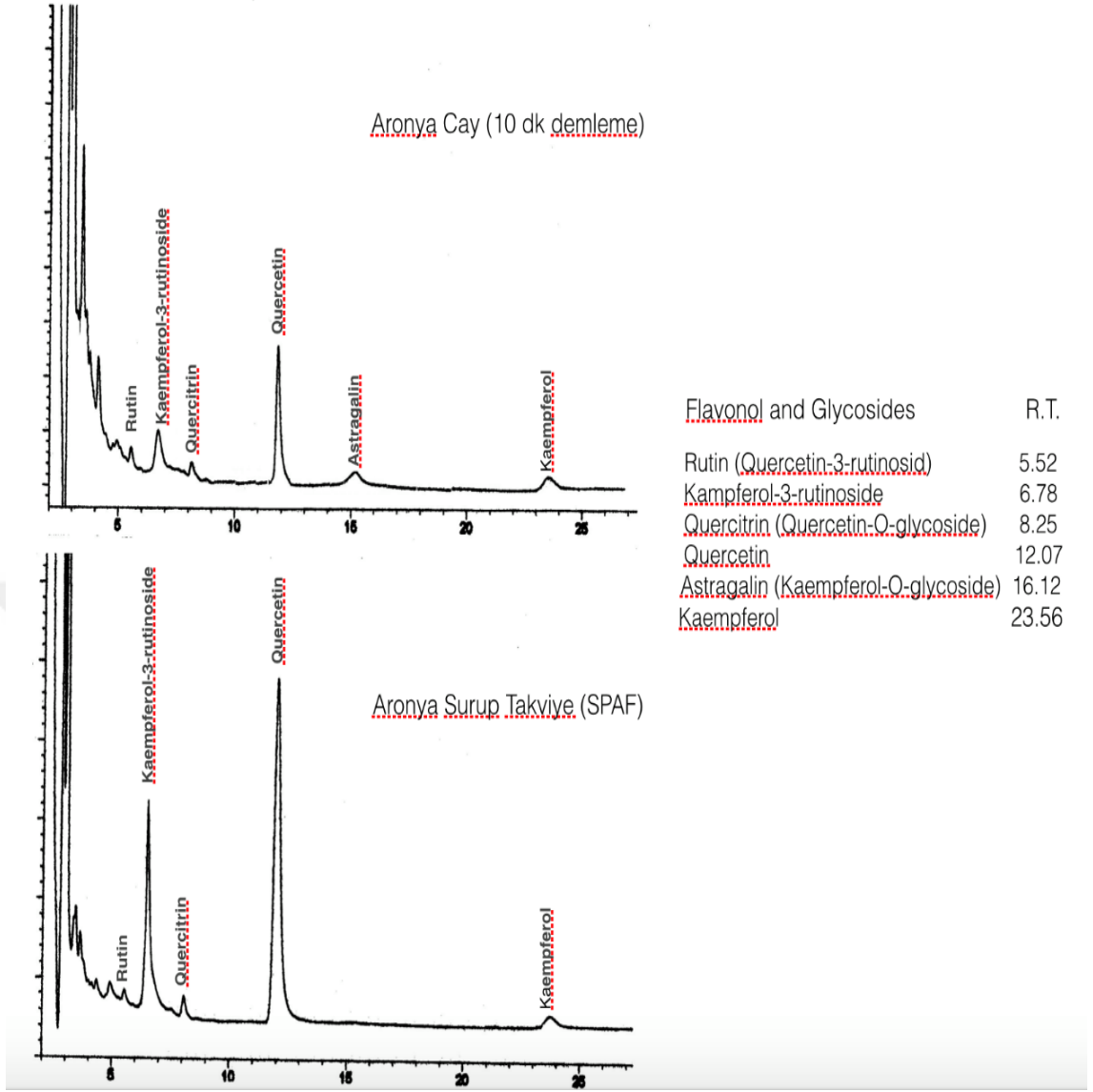
Flavanoller ve Glikozidleri oluşturan Rutin (Kuersetin-3-glikozid), Kaempferol-3-rutinoside, Kuersitrin (Kuersetin-O-glikozid), Kuersetin, Astragalin (Kaempferol-O-glikozid) ve Kaempferol kullanılarak Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)'de aynı base-line üzerinde yan yana belirlenmiş olup kantitatif olarak tayinleri gerçekleştirilmiştir.

İncelenen Türk aronya meyvesi aronya var.Viking orijinli aronya tozu, aronya çayı ve özel formülasyonlu aronya nutrasötik şuruptaki (SPAF) flavanol ve glikozitleri 22,86-634,57 mg/100g aralığında tespit edilmiştir (Tablo 19).

Tablo 19. Aronya Meyvesi, Tozu, Farklı Demleme Sürelerindeki Çayı ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Flavonoller ve Glikozidleri Miktarı.

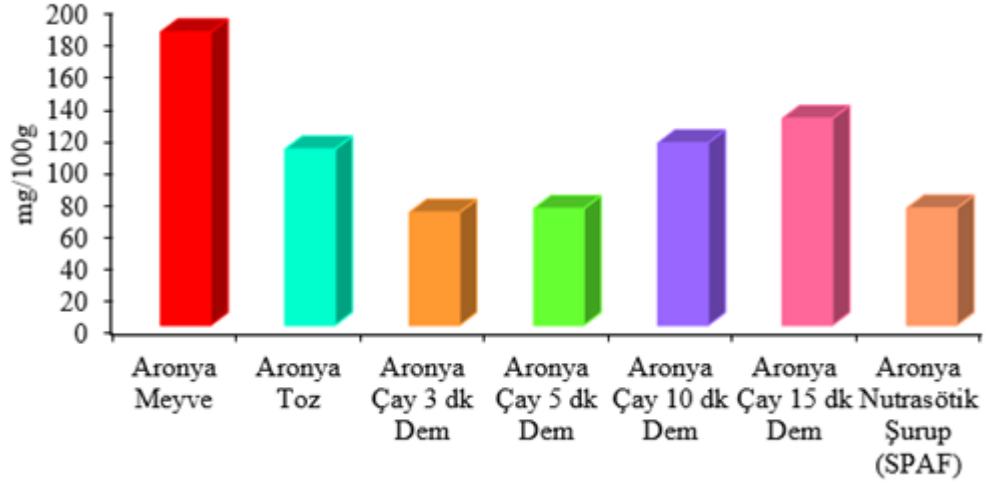
Flavonoller ve Glikozidleri	mg/100 g Meyve	mg/100 g Toz (Povder)	mg/100 g Çay	mg/100 g SPAF Formül
Rutin (Kuersetin-3-glikozid)	182,46	109,56	70,13 (3 dk demde) 72,52 (5 dk demde) 113,40 (10 dk demde) 128,66 (15 dk demde)	72,76
Kaempferol-3-rutinosid	87,25	73,58	96,72 (3 dk demde) 94,26 (5 dk demde) 60,56 (10 dk demde) 48,93 (15 dk demde)	143,92
Kuersitrin (Kuersetin-O-glikozid)	45,22	32,16	40,36 (3 dk demde) 44,58 (5 dk demde) 28,62 (10 dk demde) 35,27 (15 dk demde)	—
Kuersetin	634,57	542,80	307,20 (3 dk demde) 328,96 (5 dk demde) 380,56 (10 dk demde) 387,25 (15 dk demde)	620,25
Astragalin (Kaempferol-O-glikozid)	59,3	54,56	42,52 (3 dk demde) 38,45 (5 dk demde) 63,56 (10 dk demde) 60,40 (15 dk demde)	—
Kaempferol	38,3	35,62	29,37 (3 dk demde) 27,12 (5 dk demde) 28,35 (10 dk demde) 26,27 (15 dk demde)	22,86

Şekil 48’de yer alan aronya çayın ve Nutrasötik Şurup (SPAF)daki Rutin (Kuersetin-3-glikozid), Kaempferol-3-rutinosid, Kuersitrin (Kuersetin-O-glikozid), Kuercetin, Astragalin (Kaempferol-O-glikozid) ve Kaempferolün yan yana tayin edilmiş kromatogramları görülmektedir.



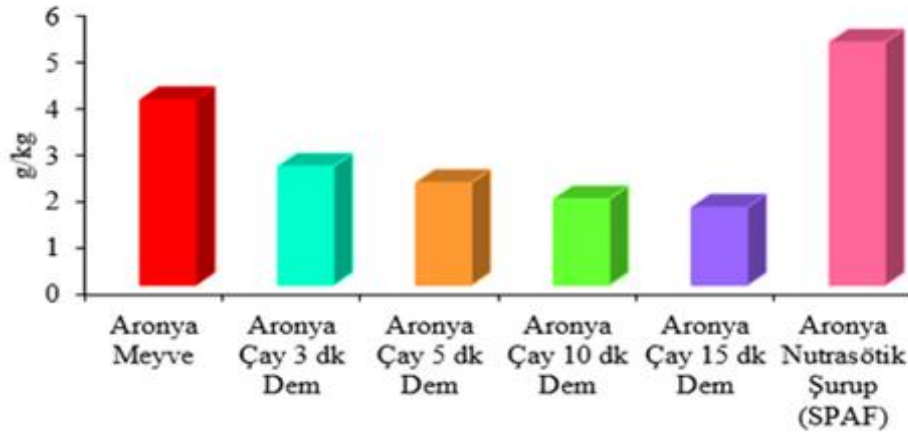
Şekil 48. Aronya Çay ve Aronya Nutrasötik Şurup Flavonol ve Glikozitleri Kromotoğramı.

Rutin (Kuersetin-3-glikozid) aronya meyvesinde 182,46 mg/100g, tozunda 109,56 mg/100g, çayı için 3 dk demlemede 70,13 mg/100g, 5 dk demde 72,52 mg/100g, 10 dk demde 113,40 mg/100g, 15 dk demde 128,66 mg/100g ve nutrasötik şurup (SPAF) da 72,76 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 49).



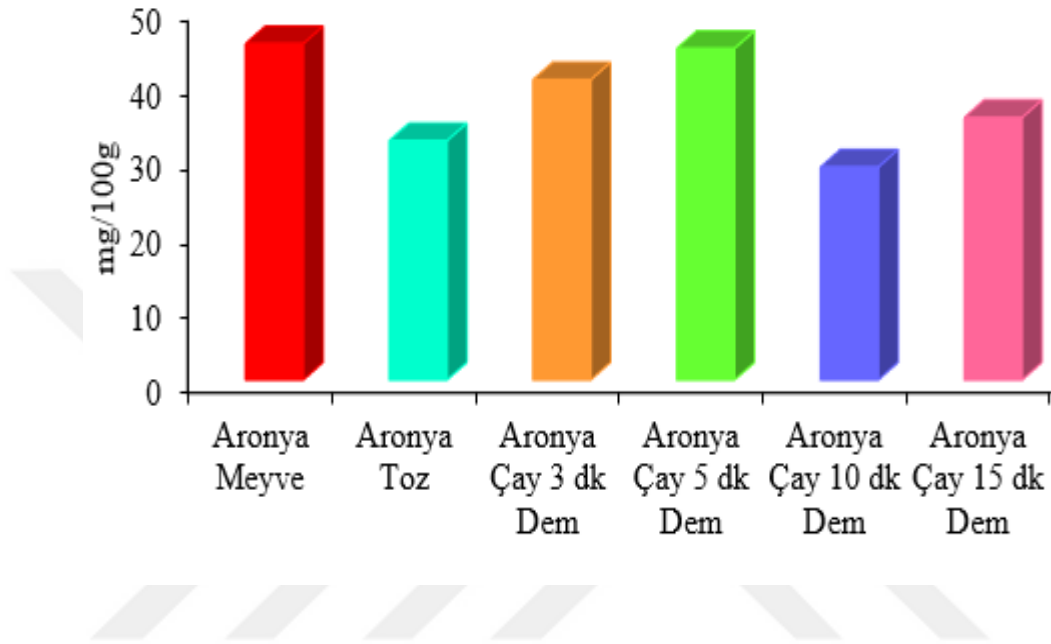
Şekil 49. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Rutin (Kuersetin-3-glikozid) Düzeyi.

Kaempferol-3-rutinosid aronya meyvesinde 87,25 mg/100g, tozunda 73,58 mg/100g, çayı için 3 dk demlemede 96,72 mg/100g, 5 dk demde 94,26 mg/100g, 10 dk demde 60,56 mg/100g, 15 dk demde 48,93 mg/100g ve nutrasötik şurup (SPAF) da 143,92 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 50).



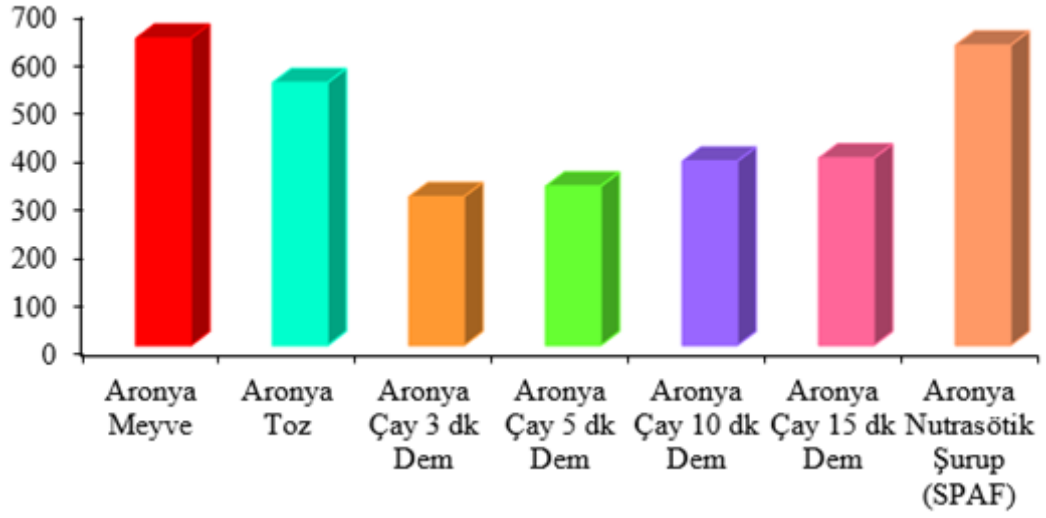
Şekil 50. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kaempferol-3-rutinosid Düzeyi.

Kuersitrin (Kuersetin-O-glikozid) aronya meyvesinde 45,22 mg/100g, tozunda 32,16 mg/100g, çayı için 3 dk demlemede 40,36 mg/100g, 5 dk demde 44,58 mg/100g, 10 dk demde 28,62 mg/100g ve 15 dk demde 35,27 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 51).



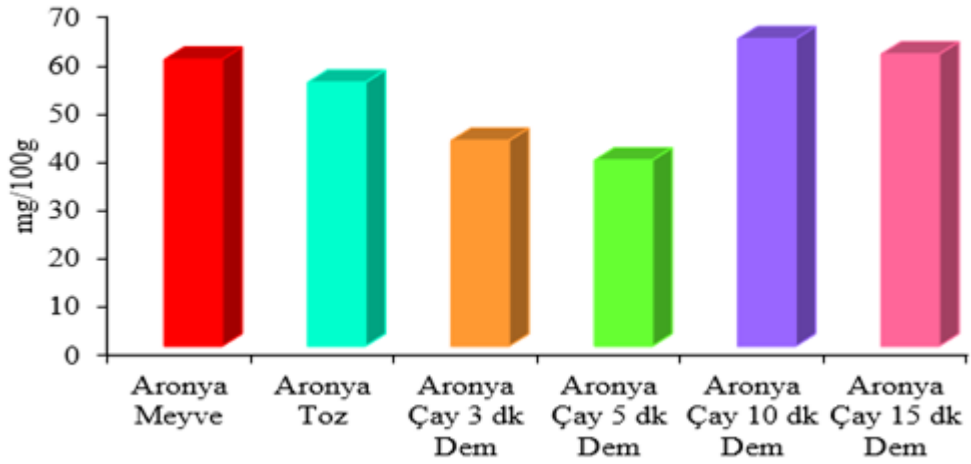
Şekil 51. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinde Kuersitrin (Kuersetin-O-glikozid) Düzeyi.

Kuersetin aronya meyvesinde 634,57 mg/100g, tozunda 542,80 mg/100g, çayı için 3 dk demlemede 307,20 mg/100g, 5 dk demde 328,96 mg/100g, 10 dk demde 380,56 mg/100g, 15 dk demde 387,25 mg/100g ve nutrasötik şurup (SPAF) da 620,25 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 52).



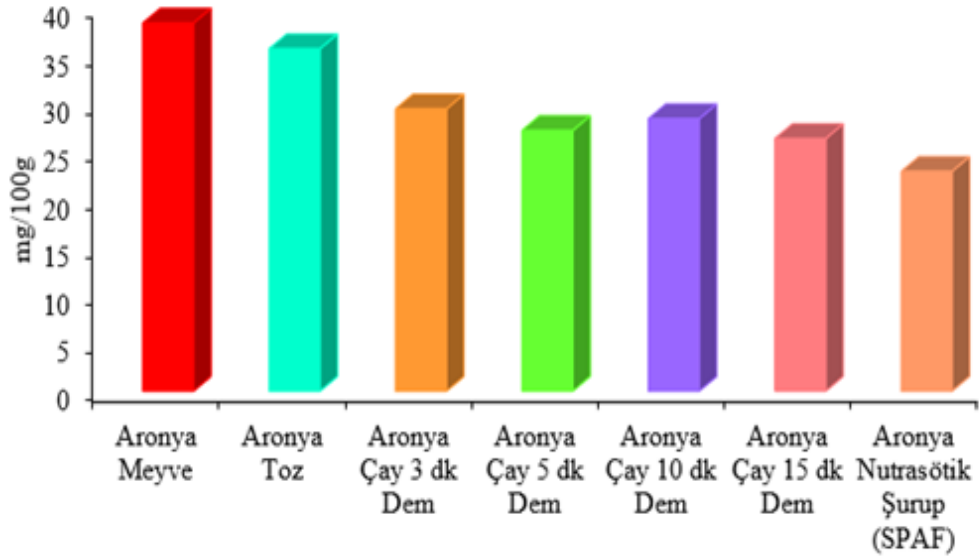
Şekil 52. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kueretin Düzeyi.

Astragalin (Kaempferol-O-glikozid) aronya meyvesinde 59,30 mg/100g, tozunda 54,56 mg/100g, çayı için 3 dk demlemede 42,52 mg/100g, 5 dk demde 38,45 mg/100g, 10 dk demde 63,56 mg/100g ve 15 dk demde 60,40 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 53).



Şekil 53. Aronya Meyve, Toz ve Çay Ürünlerinde Astragalin (Kaempferol-O-glikozid) Düzeyi.

Kaempferol aronya meyvesinde 38,3 mg/100g, tozunda 35,62 mg/100g, çayı için 3 dk demde 29,37 mg/100g, 5 dk demde 27,12 mg/100g, 10 dk demde 28,35 mg/100g, 15 dk demde 26,27 mg/100g ve nutrasötik şurup (SPAF) da 22,86 mg/100g tespit edilmiştir (Şekil 54).



Şekil 54. Aronya Meyve, Toz, Çay ve Nutrasötik Şurup (SPAF) Kaempferol Grafiği

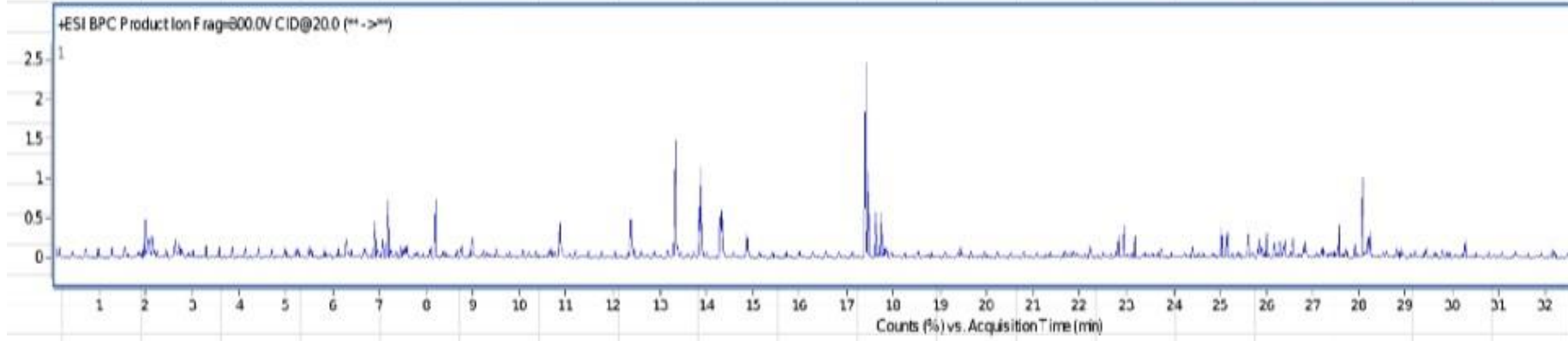
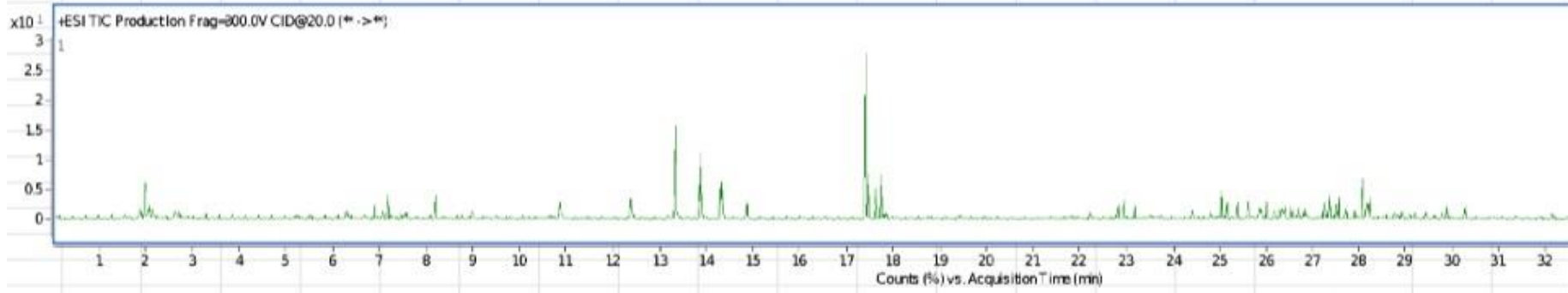
4.6.3 Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi Analizleri (Q-TOFF-MS Analizleri)

Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (Quadrupole Time-Of-Flight Mass Spectrometry) (Q-TOF-MS), maddelerin bağlı kütleleri üzerinden atom bileşimi ve dizilimini bulmak için kullanılan analitik yöntem olmaktadır. Tayinlerde 4-kutuplu kütle spektrometresi ve uçuş zamanlı kütle spektroskopisi metodları kullanılmaktadır.



Şekil 55. Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Cihazı
(Foto-K.Bakır).

Aronya meyvesi (*Aronia melanocarpa* var. Viking), aronya tozu, aronya çay demi ve nutrasötik aronya şurupta (SPAF), Q-TOFF-MS analizleri etkin veri eldemizi sağlamıştır. Örnek toplamsal iyon kromatogramları olarak Şekil 56 sırasıyla aronya çay demi-10 dk ve aronya nutrasötik surup SPAF da total ion kromatogramlarını göstermektedir ve bireysel Q-TOFF-MS kromatogramları da (Epikateşin, chlorogenic acit, kaempferol-7-glikozid, quercetin, kafeik asit, astragalin, rutin, malik asid, sitrik asit, quinic asit) m/z oranları ile, RT bilgileri ile, ve detaylı fragmentasyonları gösteren genişletilmiş MS spektrumları ile aşağıda yer almaktadır (Şekil 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67,) ve kantitatif HPLC sonuçlarımızı konfirme etmektedir.

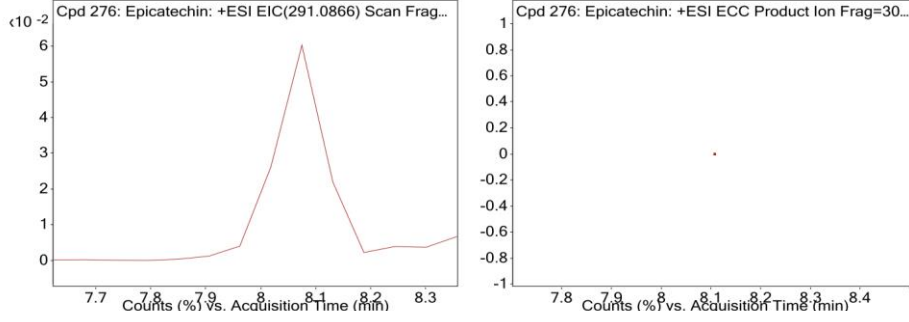


Şekil 56. Q-TOFF-MS Total Ion Kromatogramları- 10 dk Dem Aronya Çayı (Üstte), Aronya Nutrasötik Şurup (SPAF).

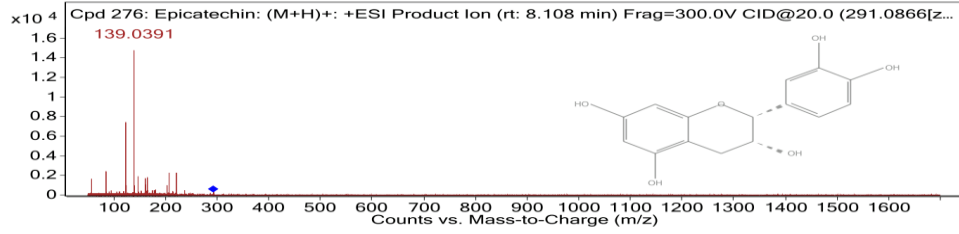
Epikateşin

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 276: Epicatechin	Epicatechin	291.0866	8.108	Auto MS/MS	290.0794

Compound Chromatograms



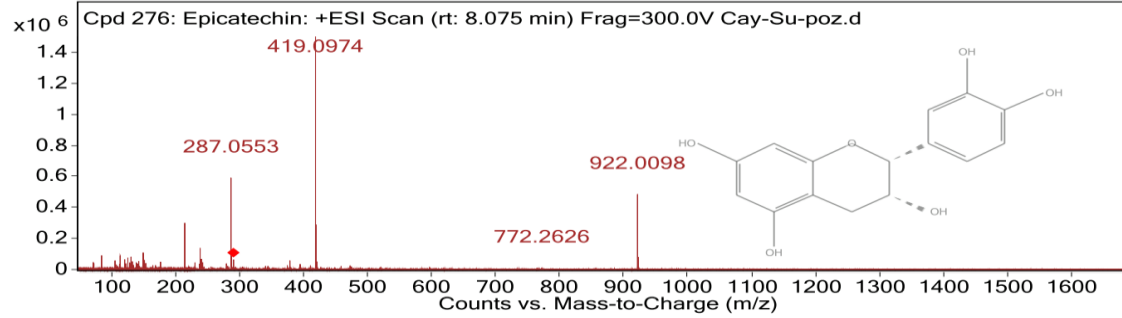
MS/MS Spectrum



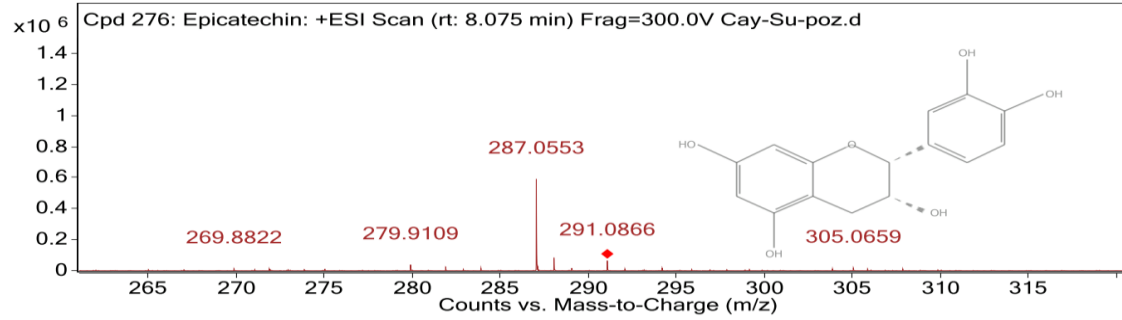
MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
57.0697	1654.6
84.9597	2672.49
123.0441	7494.89
139.0391	14760.31
147.045	1907.06
161.0606	1073.63
161.0959	1707.15
165.0546	1867.13
207.0654	2361.07
221.1178	2341.47

Şekil 57.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Epikateşin Analizi.



MS Zoomed Spectrum



Tablo 20. Epikateşin MS Spektrum Pik Listesi.

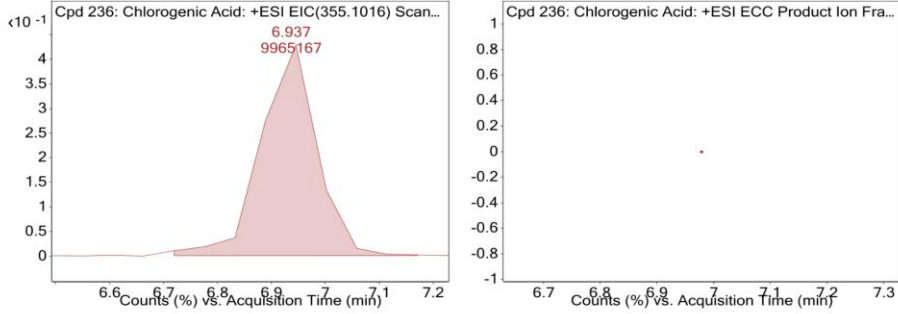
m/z	z	Abund
84,9599		93602,85
113,9637		98849,76
149,9529		112911,12
214,9184	1	299879,6
238,8847		138253,39
287,0553	1	592877,06
288,0588	1	86519,17
419,0974	1	1509188,63
420,1013	1	289582,73
922,0098	1	485203,12

Şekil 57.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Epikateşin Analizi.

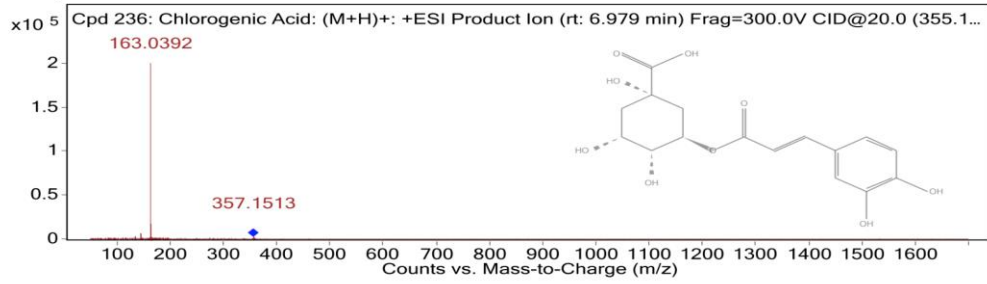
Klorogenik Asit

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 236: Chlorogenic Acid	Chlorogenic Acid	355.1016	6.979	Auto MS/MS	354.0943

Compound Chromatograms



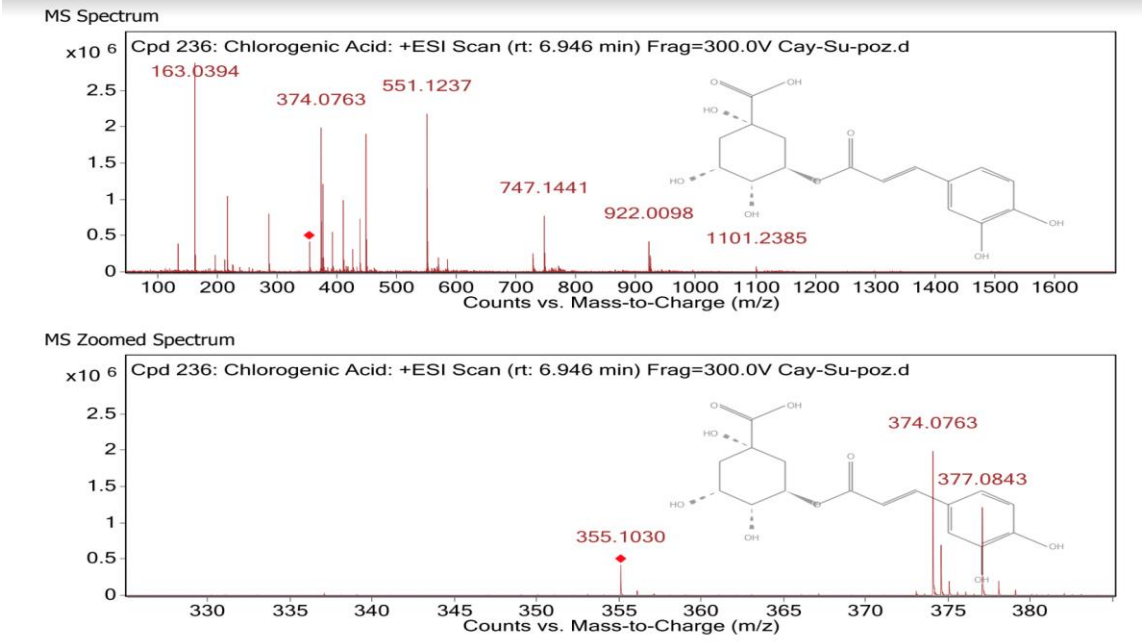
MS/MS Spectrum



MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
89.0386	1305.89
117.0334	1701.51
135.0445	3143.95
145.0283	6539.75
163.0392	205948.22
164.0422	17761.13
165.0447	1895.91
181.0495	1558.55
357.1513	10110.08
358.1548	1725.35

Şekil 58.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Klorogenik Asit Analizi.



Tablo 21. Klorogenik Asit Ms Spectrum Pik Listesi

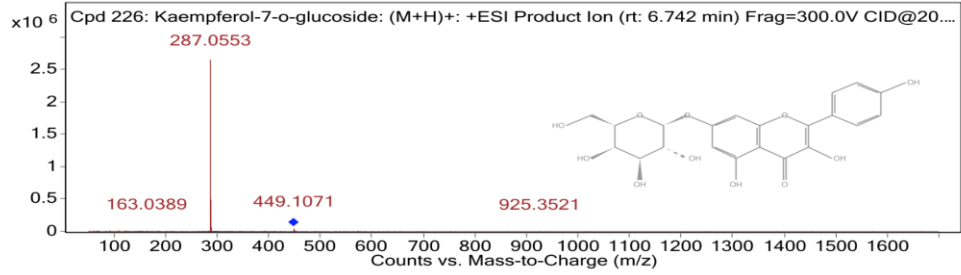
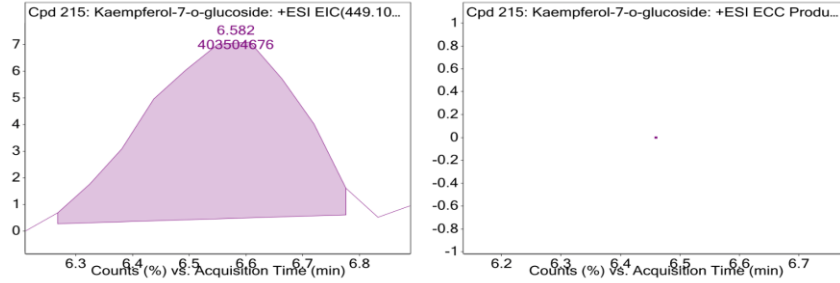
m/z	z	Abund
163,0394	1	2983721,75
217,5422	2	1046018,62
287,0555	1	802338,39
374,0763	2	2137319,3
377,0843	1	1243901,82
411,1263	1	1059906,68
449,1079	1	1929603,27
551,1237	2	2181225,03
551,6252	2	1155425,98
747,1441	2	800334,93

Şekil 58.(2) Q-TOFF (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Klorogenik Asit Analizi.

Keampferol-7-glikozid

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 215: Kaempferol-7-o-glucoside	Kaempferol-7-o-glucoside	449.1084	6.46	Auto MS/MS	448.1011

Compound Chromatograms

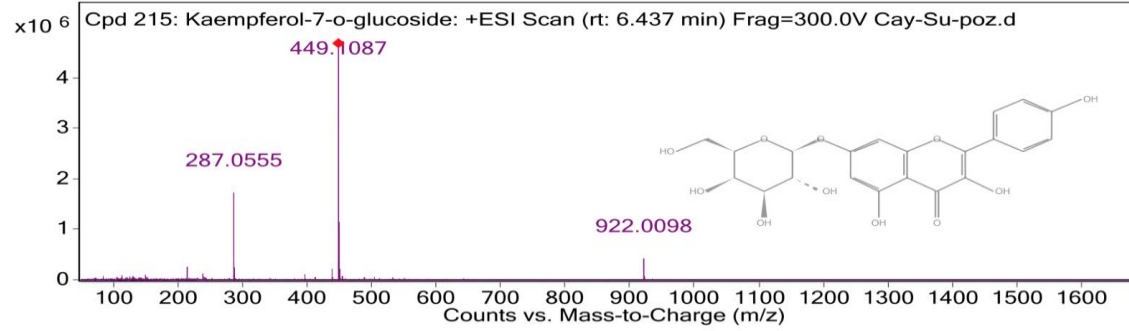


MS/MS Spectrum Peak List

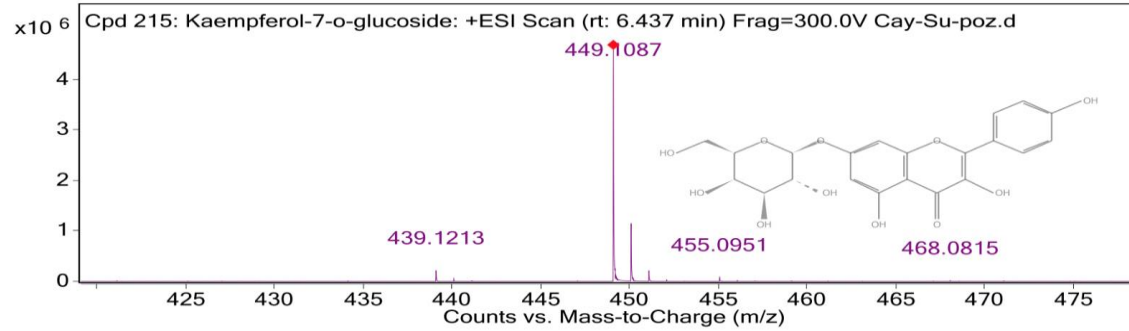
m/z	Abund
163.0389	5706.67
287.0553	2650584.87
288.0584	506661.37
289.0607	67232.55
290.0633	6058.29
393.0489	7206.17
449.1071	48920.51
450.1095	14121.76
450.1342	23206.56
451.1392	4184.76

Şekil 59.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kaempferol-7-glikozid Analizi.

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 22. Keampferol-7-glikozid MS Specturum Listesi.

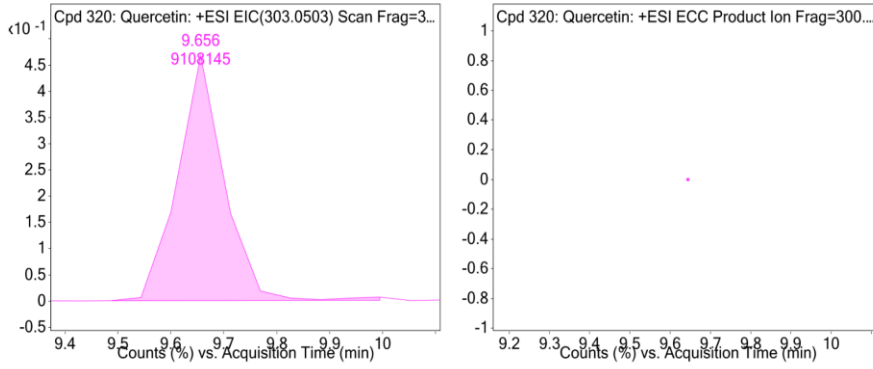
m/z	z	Abund
214,9184		255866,39
238,8847		124250,03
287,0555	1	1724927,67
288,0591	1	253481,19
397,1468	1	109647,64
439,1213	1	230786,75
449,1087	1	4801006,81
450,1112	1	1150203,9
451,114	1	218442,28
922,0098	1	423206,95

Şekil 59.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Keampferol-7-glikozid Analizi.

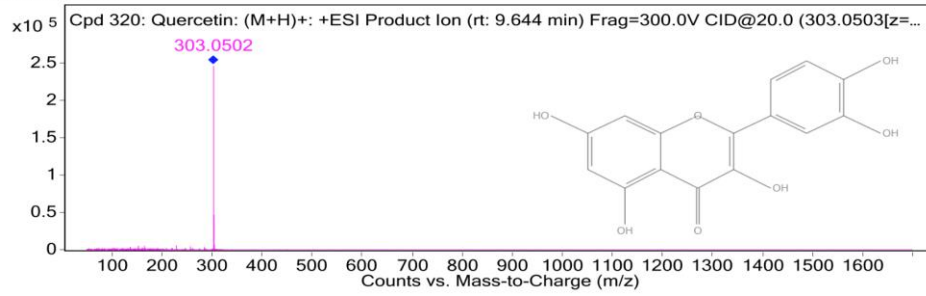
Kuersetin

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 320: Quercetin	Quercetin	303.0503	9.644	Auto MS/MS	302.043

Compound Chromatograms



MSMS Spectrum



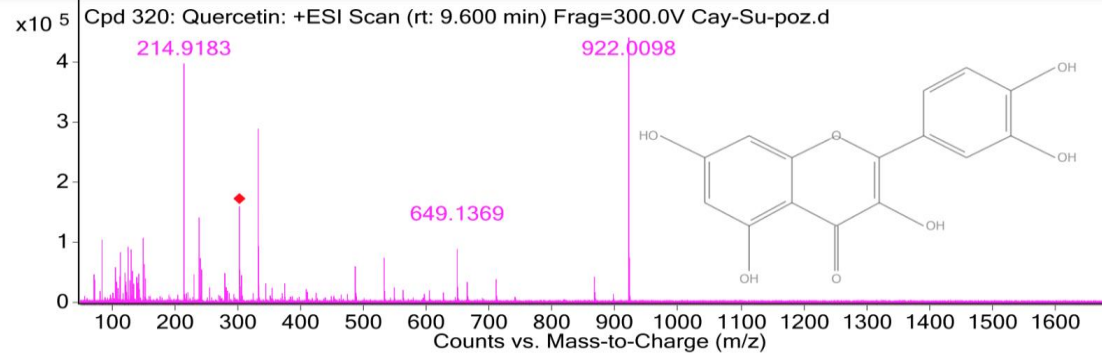
MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
137.0234	3532.69
153.0187	5096.78
161.0286	2833.8
165.0185	5269.96
229.0497	5538.44
257.0443	4633.21
285.0386	3336.89
303.0502	259573.3
304.0532	48118.91
305.055	6541.21

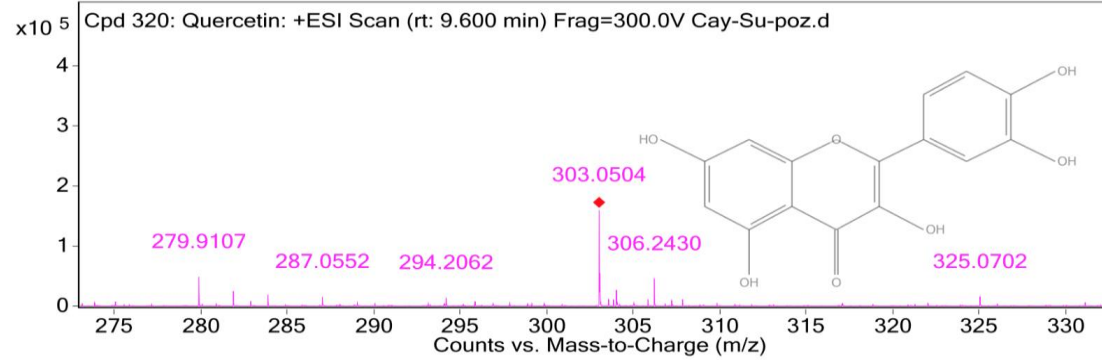
Şekil 60.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kuersetin Analizi.



MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 23. Kuersetin MS Spectrum Listesi

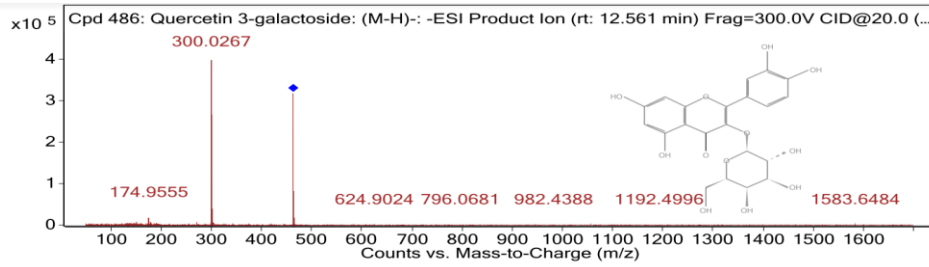
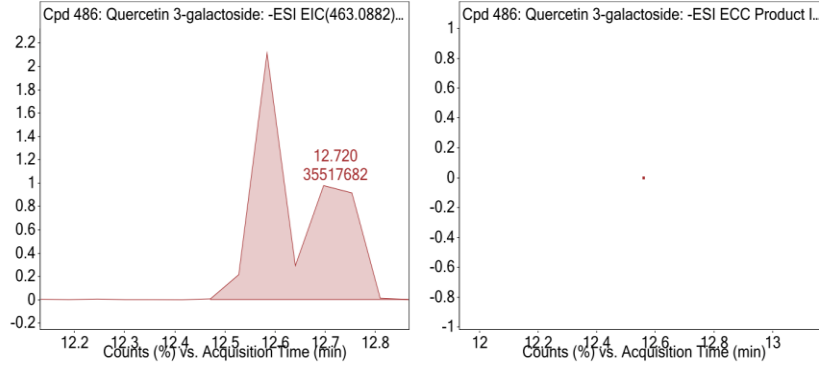
m/z	z	Abund
84,96		106839,01
125,9865		93879,21
149,953		111970,06
214,9183	1	396562,88
238,8847		141247,95
303,0504	1	170687,52
333,5559	2	292666,13
333,5573	2	93553
649,1369	1	92471,28
922,0098	1	440147,43

Şekil 60.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kuersetin Analizi.

Kuersetin- 3-galaktozid

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 486: Quercetin 3-galactoside	Quercetin 3-galactoside	463.0882	12.561	Auto MS/MS	464.0954

Compound Chromatograms



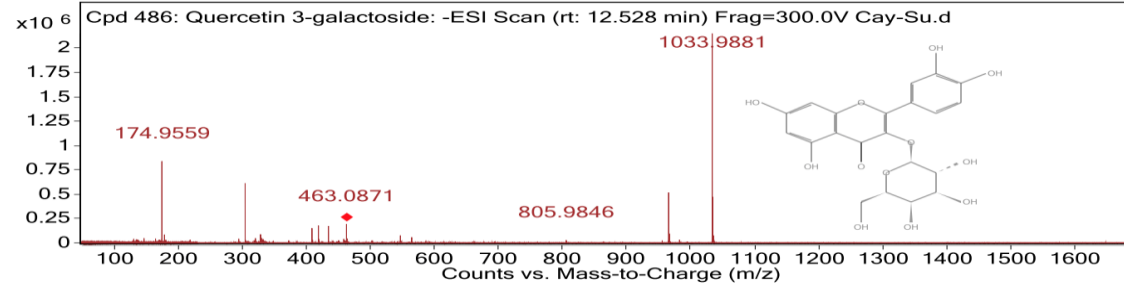
MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
151.0033	7813.83
174.9555	17529.54
178.998	7361.05
271.024	7065.63
300.0267	398247.08
301.0338	267658.62
302.0366	39870.88
463.0865	326123.25
464.0896	84585.61
465.0914	17921.91

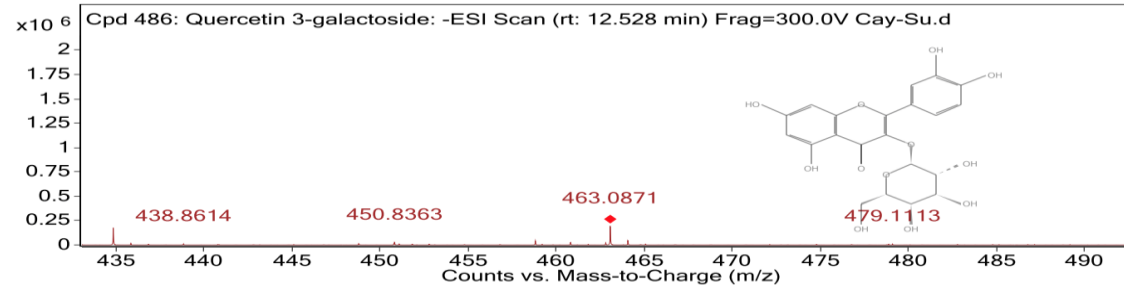
Şekil 61.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kuersetin-3-galaktozid Analizi.



MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 24. Kuersetin-3- galaktozid MS Specturum listesi.

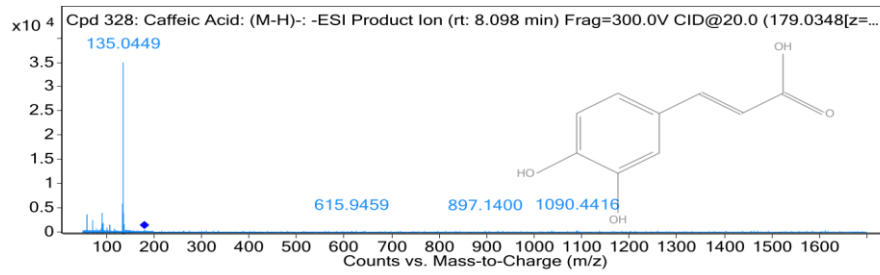
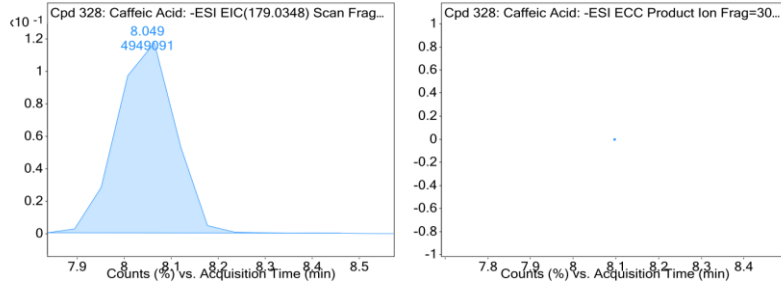
m/z	z	Abound
174,9559	1	839042,19
304,9131	1	616330,79
409,1492	1	154686,47
419,22,74	1	191007,51
434,8706	1	180880,13
463,0871	1	202724,73
966,0004	1	518395,79
967,004	1	97598,52
1033,9881	1	2151358,9
1034,9915	1	490270,62

Şekil 61.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Quercetin-3-galaktozid Analizi.

Kafeik Asit

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 328: Caffeic Acid	Caffeic Acid	179.0348	8.098	Auto MS/MS	180.0421

Compound Chromatograms

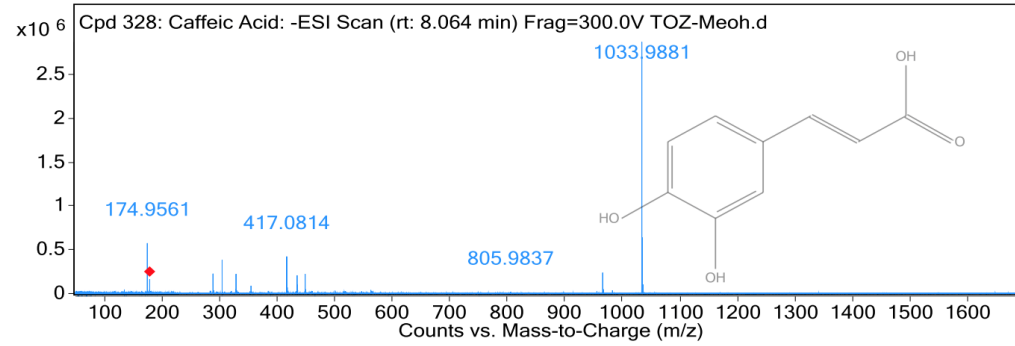


MS/MS Spectrum Peak List

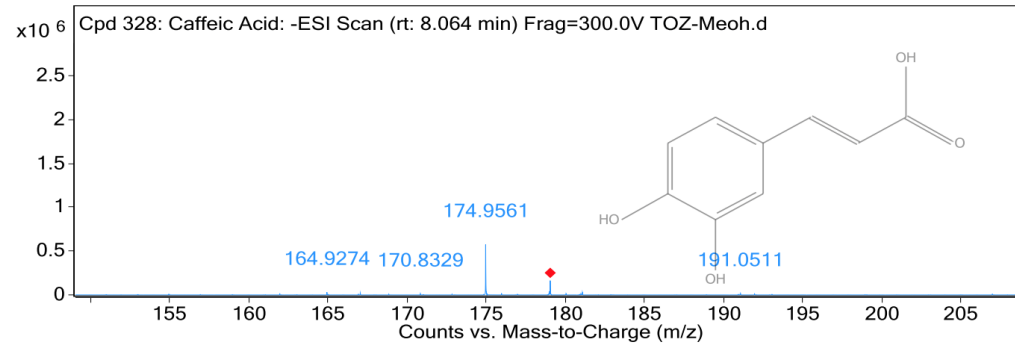
m/z	Abund
59.0139	3667.85
71.0135	2452.16
90.9703	1629.79
90.9977	4276.13
92.9945	1862.1
107.0503	1522.42
134.0366	6005.46
135.0449	37646.03
136.0483	4015.83
136.9221	1646.94

Şekil 62.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kafeik Asit Analizi.

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum

**Tablo 25.** Kafeik Asit MS Specturum Listesi.

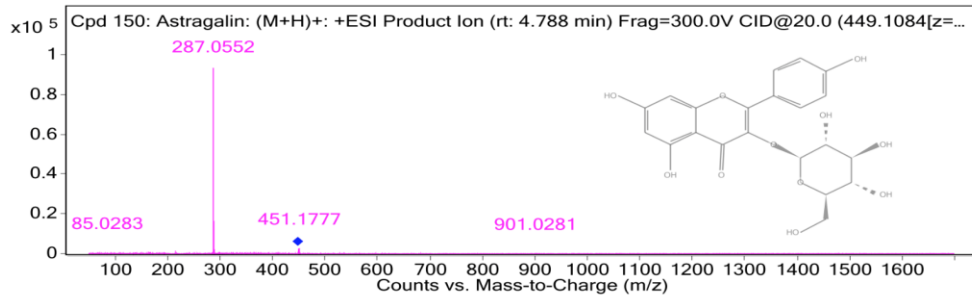
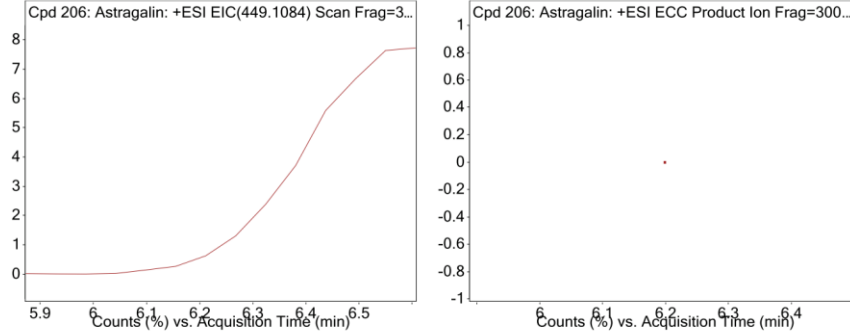
m/z	z	Abund
174,956	1	662285,12
304,9137	1	454407,98
340,1026	1	644351,47
434,8705		132023,96
441,196	1	148100,68
481,0976	1	289538,08
966,0001	1	503079,33
1033,9881	1	3052135,77
1034,9907	1	701877,95
1035,9927	1	112167,13

Şekil 62.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kafeik Asit Analizi.

Astragalin (Kaempferol-O-glikozid)

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 206: Astragalin	Astragalin	449.1084	6.199	Auto MS/MS	448.1011

Compound Chromatograms

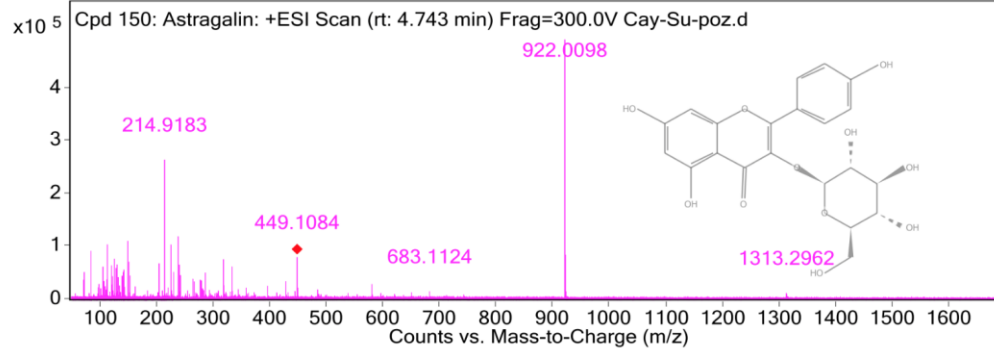


MS/MS Spectrum Peak List

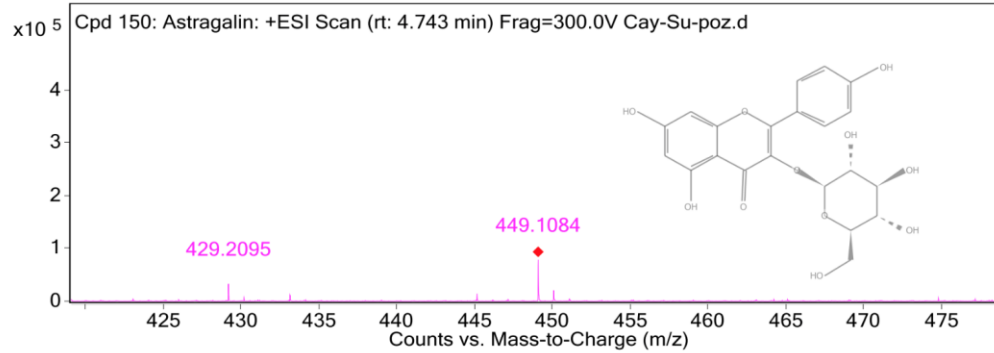
m/z	Abund
85.0283	575.78
163.0385	962.92
214.9174	1389.61
287.0552	93509.95
288.0584	16994.38
289.0615	2204.93
449.1083	2558.19
449.1623	2096.36
450.1101	596.67
451.1777	2903.01

Şekil 63.(1). Q-Toff (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Astragalin (Kaempferol-O-glikozid) Analizi.

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 26. Astragalin(Kaempferol-O-glikozid) MS Spectrum Listesi.

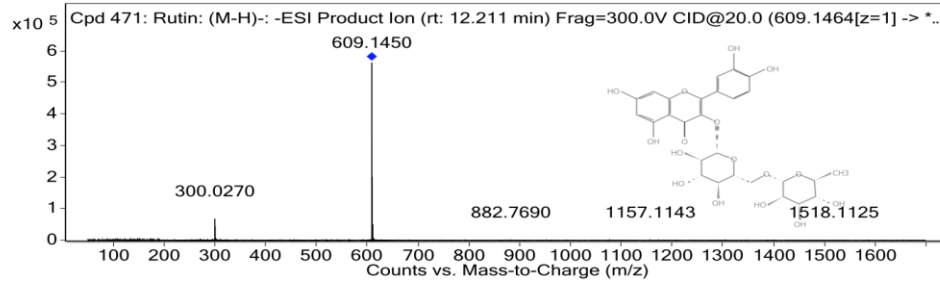
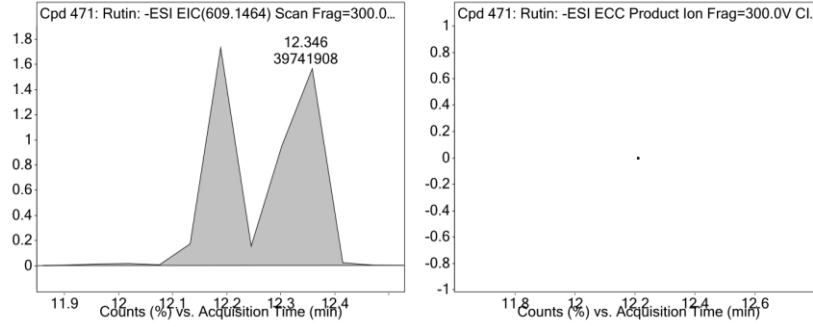
m/z	z	Abund
84,9598		92612,48
113,9637		107098,43
125,9863		76728,61
149,9529		114210,08
214,9183		263030,77
226,1919	1	102095,99
238,8848		117894,88
449,1084	1	79302,92
922,0098	1	490658,05
923,0132		

Şekil 63.(2). Q-Toff (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Astragalin(Kaempferol-O-glikozid) Analizi.

Rutin (Kuersetin-3-glikozid)

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 471: Rutin	Rutin	609.1464	12.211	Auto MS/MS	610.1537

Compound Chromatograms



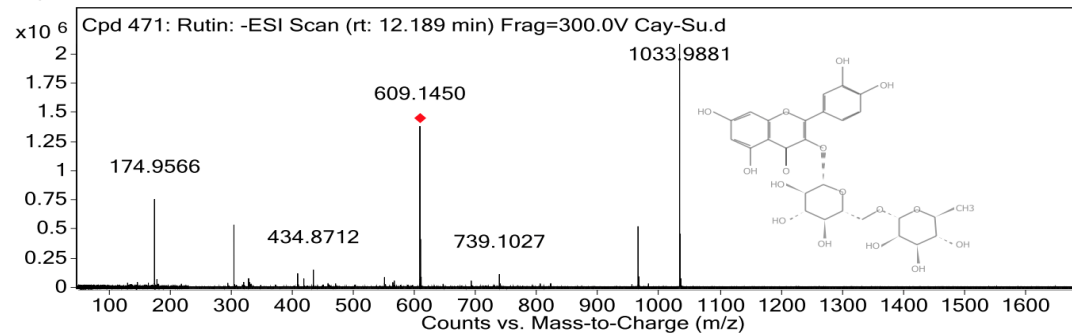
MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
151.004	2862.36
271.0238	3659.33
300.027	67546.61
301.0338	42400.06
302.0374	5858.32
304.9123	2627.05
609.145	582315.13
610.1483	202327.79
611.15	49565.79
612.1529	6544.49

Şekil 64.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Rutin (Kuersetin-3-glikozid) Analizi.



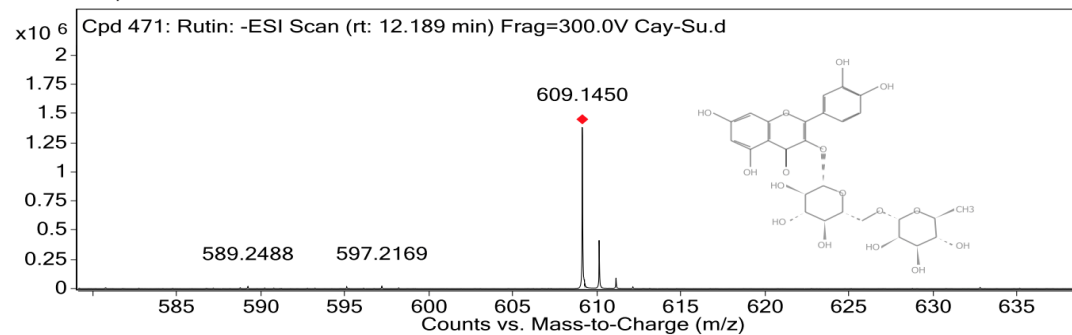
MS Spectrum



Tablo 27. Rutin (Kuersetin-3-glikozid) MS Specturum Listesi.

m/z	z	Abund
174,9566	1	756031,01
304,9141	1	540966,07
409,1495	1	121911,12
434,8712	1	156007,17
609,145	1	1430661,12
610,1489	1	420158,18
739,1027	1	112873,21
966,0003	1	523564,5
1033,9881	1	2089819,86
1034,9914	1	477117,19

MS Zoomed Spectrum

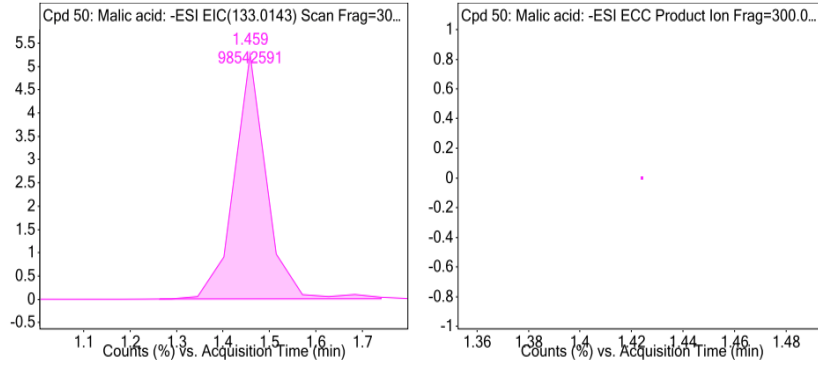


Şekil 64.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Rutin (Kuersetin-3-glikozid) Analizi.

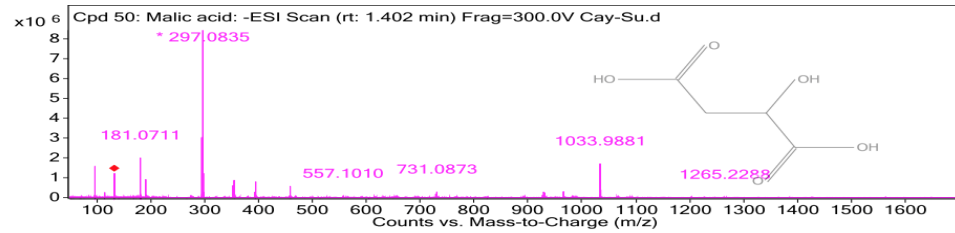
Malik Asit

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 50: Malic acid	Malic acid	133.0143	1.424	Auto MS/MS	134.0216

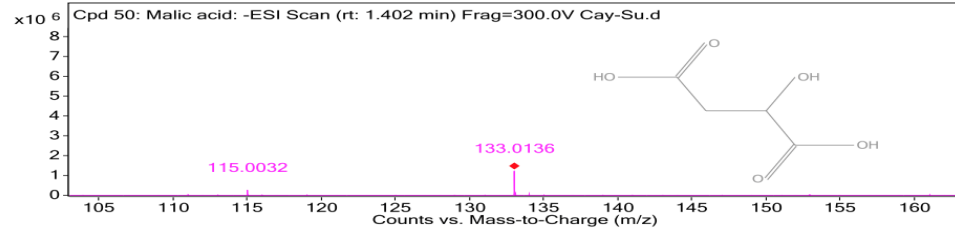
Compound Chromatograms



MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



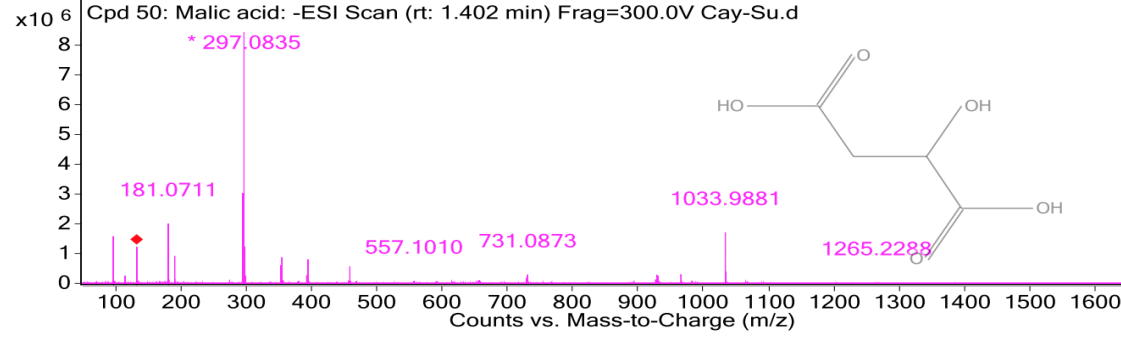
MS Spectrum Peak List

m/z	z	Abund
96.9595		1626379.56
133.0136	1	1239833.88
181.0711	1	2118022.03
191.0553	1	917567.51
295.066	1	3144838.87
297.0835	1	8441778.99
298.0848	1	1280345.07
355.0865	1	875529.89
395.0484	1	814896.19
1033.9881	1	1714006.12

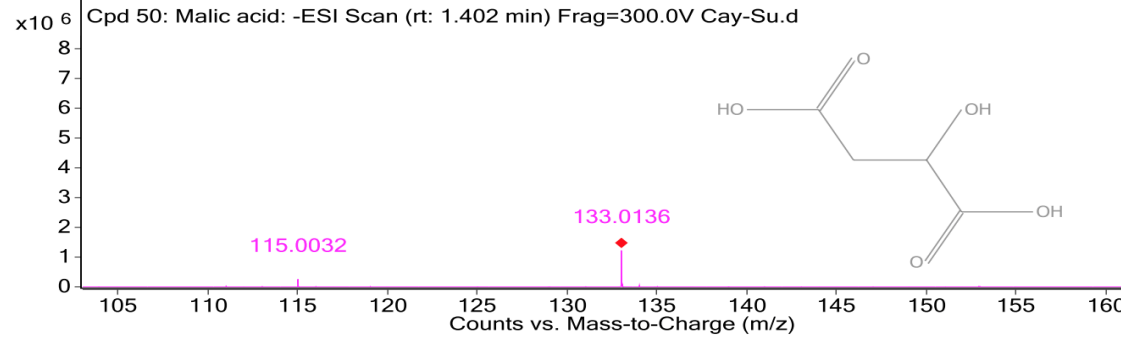
MSMS Spectrum

Şekil 65.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Malik Asit Analizi.

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 28. Malik Asit MS Specturumu Listesi.

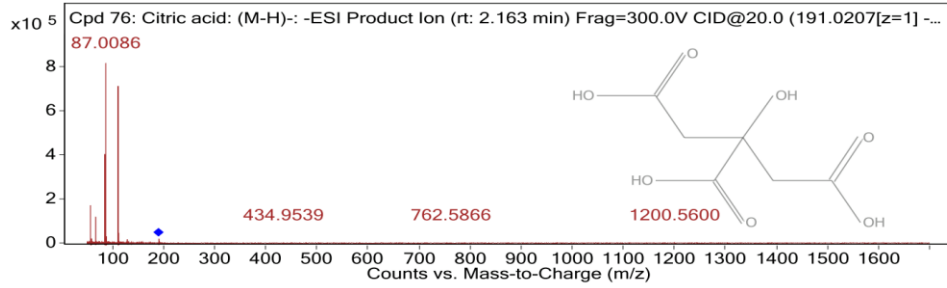
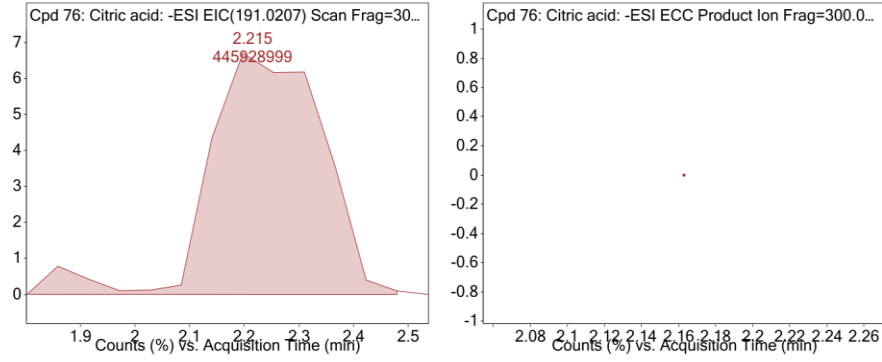
m/z	z	Abund
96,9595		1626379,56
133,0136	1	1239833,88
181,0711	1	2118022,03
191,0553	1	2118022,03
295,066	1	3144838,87
297,0835	1	8441778,99
298,0848	1	1280345,07
355,0865	1	875529,89
395,0484	1	814896,19
1033,9881	1	1714006,12

Şekil 65.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Malik Asit Analizi-1

Sitrik Asit

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 76: Citric acid	Citric acid	191.0207	2.163	Auto MS/MS	192.028

Compound Chromatograms

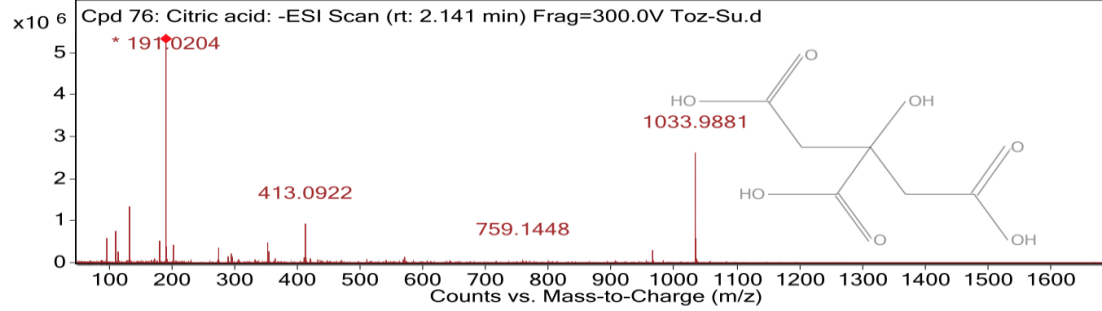


MS/MS Spectrum Peak List

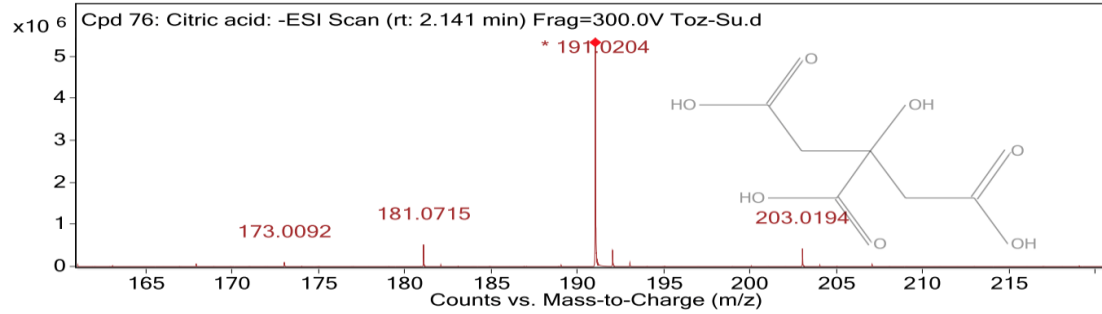
m/z	Abund
57.0344	171383.42
59.0135	20229.8
67.0187	121088.92
85.0292	434295.37
86.0327	21169.74
87.0086	815600.28
88.0121	29814.35
111.0085	753972.62
112.0118	45752.74
191.0557	18955.14

Şekil 66.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Sitrik Asit Analizi.

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum



Tablo 29. Sitrik Asit MS Specturum Listesi

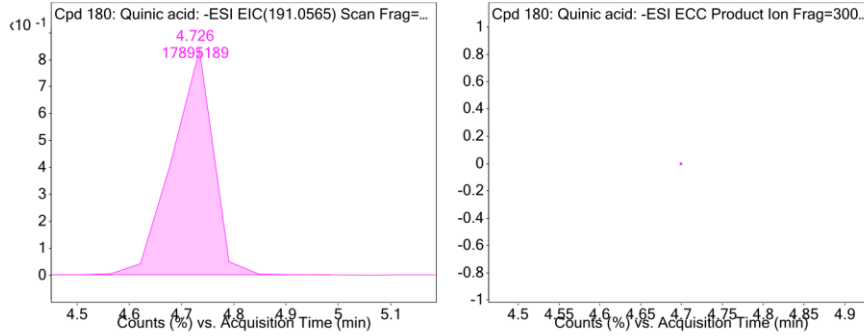
m/z	z	Abund
96,96		606022,78
111,0086	1	803292,14
133,014	1	1352976,43
181,0715	1	548012,06
191,0204	1	5772495,39
203,0194	1	447161,53
353,0716	1	491981,8
413,0922	1	928976,46
1033,9881	1	2624413,83
1034,9908	1	594205,47

Şekil 66.(2). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Sitrik Asit Analizi.

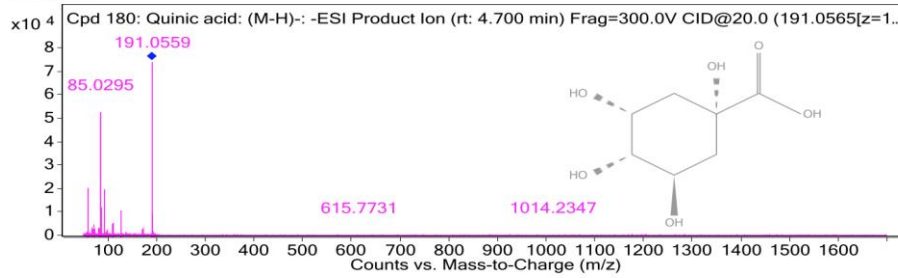
Kuinik Asit

Compound Label	Name	m/z	RT	Algorithm	Mass
Cpd 180: Quinic acid	Quinic acid	191.0565	4.7	Auto MS/MS	192.0638

Compound Chromatograms



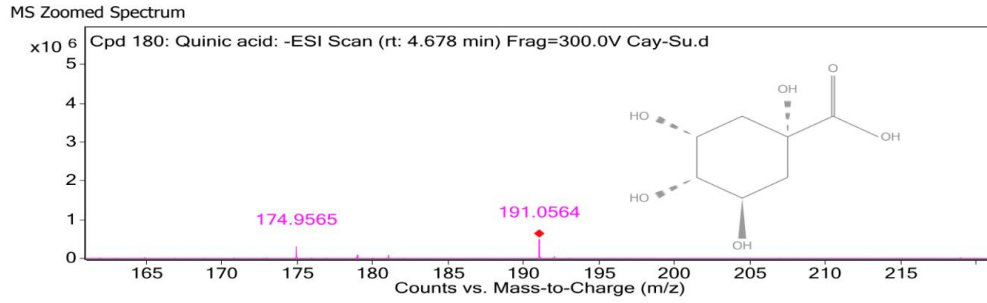
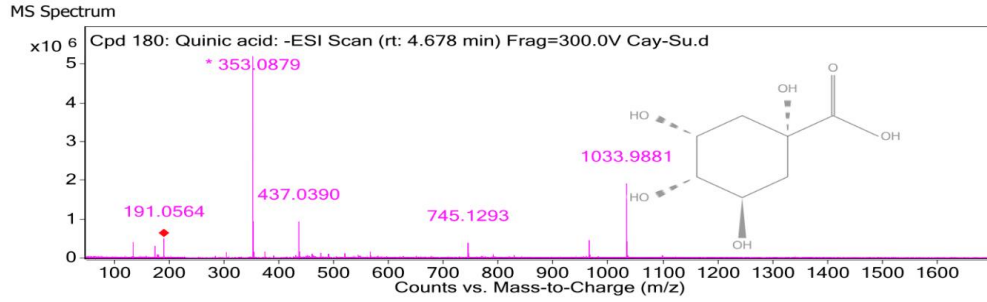
MSMS Spectrum



MS/MS Spectrum Peak List

m/z	Abund
59.014	20436.66
71.0138	4627.86
85.0295	54867.68
87.0086	11893.7
93.0346	19639.89
109.0294	4828.2
111.0448	5605.67
127.0401	10746.5
191.0559	74120.48

Şekil 67.(1). Q-TOFF-MS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kuinik Asit Analizi.



Tablo 30. Kuinik Asit MS SPECTRUM Listesi.

m/z	z	Abund
135,0451	1	415909,98
174,9565		305229,4
191,0564	1	497929,94
353,0879	1	5200732,92
354,0904	1	967438,59
437,039	1	994413,61
745,1293	1	389814,5
966,001	1	456207,99
1033,9881	1	1924139,94
1034,9912	1	433817,06

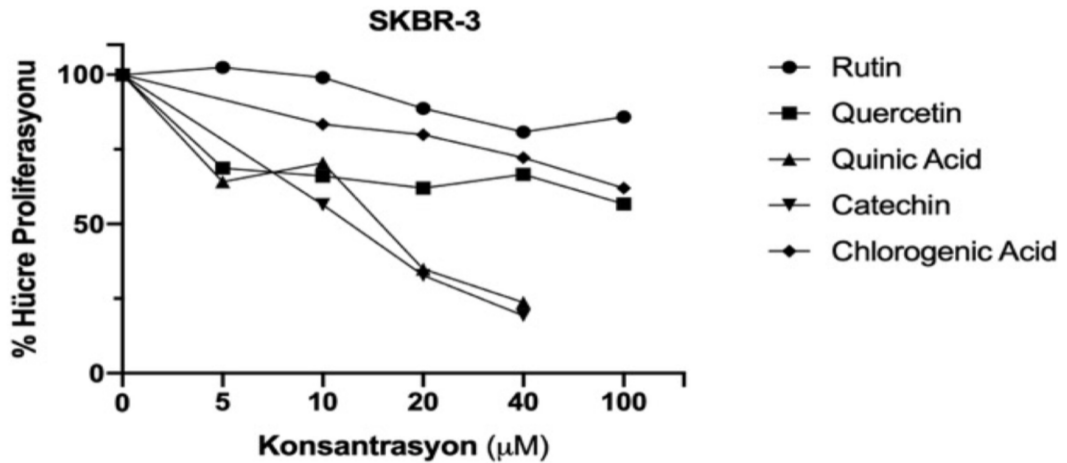
Şekil 67.(2). Q-TOFF (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi) Kuinik Asit Analizi.

4.7. Hücre Sitotoksitesi Analizleri

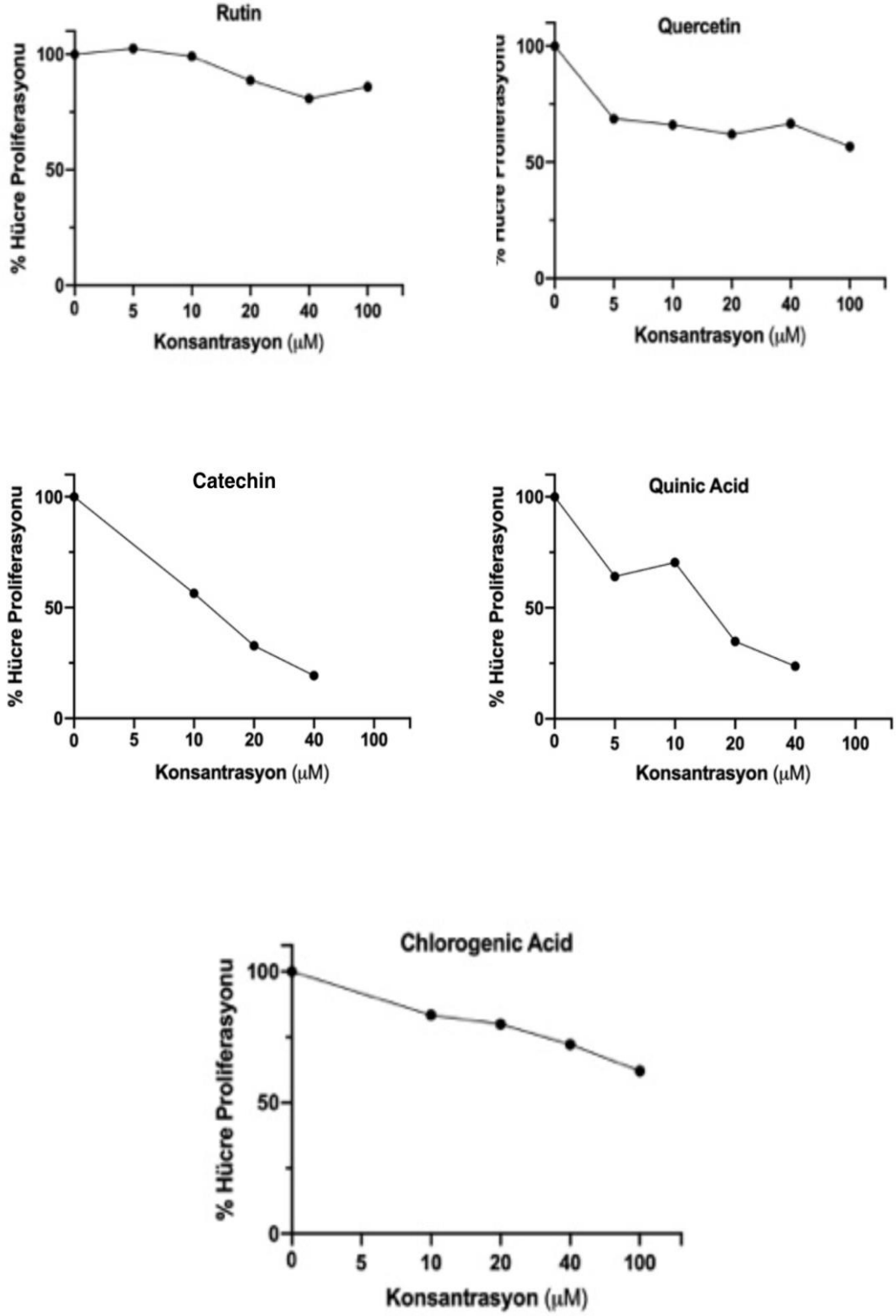
MTT, (3-(4,5-dimethyliazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) bir tetrazolyum tuzu olup, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimine spesifik bir ajandır. MTT yönteminde, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimi, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayarak suda çözünmeyen formazan tuzları oluşturmaktadır. MTT yönteminde spektrofotometrik olarak ölçülen değer, kültürdeki hücrelerin metabolik aktivitelerini göstermektedir ve bu değer, yaşayan hücre sayısı ile ilişkilidir. Proliferasyon arttıkça formazon tuzu oluşumuna bağlı olarak absorbans değeri artış göstermektedir [1].

Çalışmamızda, aronya meyvesi-etanol ekstraktında, toz çay-etanol ekstraktında, aronya çayı demined (10 dk demlenmiş ve elek ölçüsü 0.5 um olan çay deminde) ve nutrasötik özel ürün SPAF`da (surupta) MTT sonuçlarına göre, SKBR-3 meme hücre hatları üzerinde konsantrasyona ve zamana bağlı olarak olası sitotoksik ve antiproliferatif etkiler tespit edilmiştir.

Şekil 68. de ve 69. de, SKBR-3 meme hücre hatlarında proliferasyonun inhibe edilmesine etken olan fenolik maddeler ve inhibisyon düzeyleri görülmektedir (Şekil 68, Şekil 69).



Şekil 68. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Etkin Olan Fenolikler.

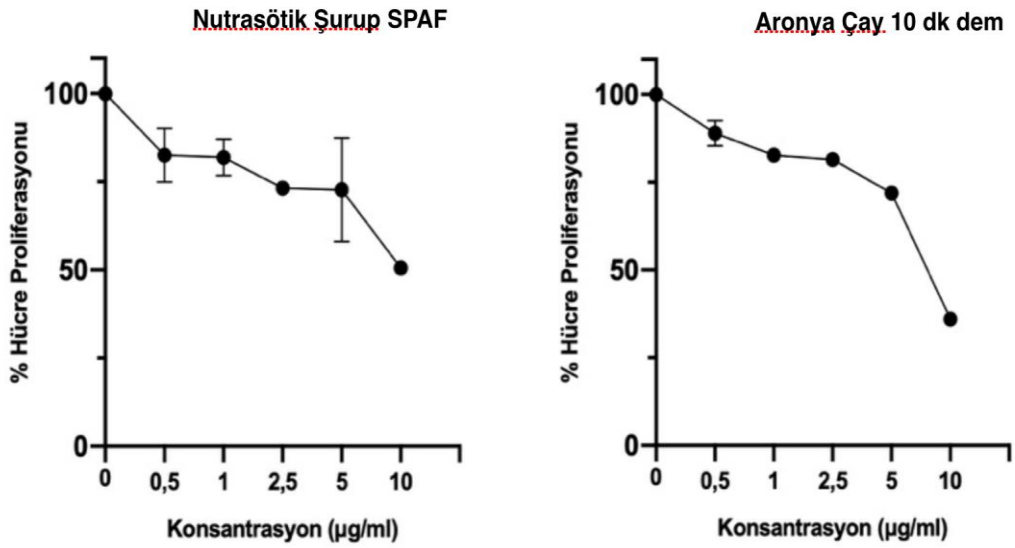
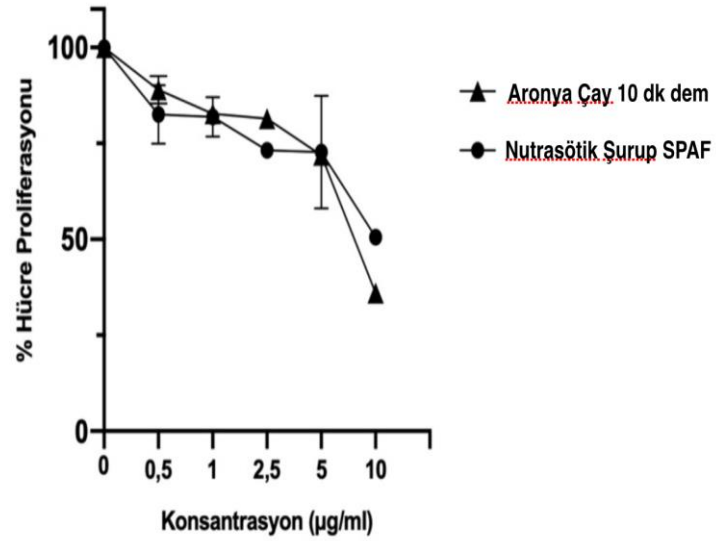


Şekil 69. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Etkin Olan Bireysel Fenolik Asitler ve Flavonoidler

SKBR-3 hücre hatlarında gerçekleştirilen çalışmalarda, kateşin, quercetin, klorogenik asit, kuinik asit ve rutin 5-100 μ M konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonunda doza bağımlı olarak SKBR=3 hücrelerinde, hücre canlılığı /hücre büyümesini inhibe ettiği ve antiproliferasyonu arttırdığı tespit edilmiştir. %Hücre proliferasyonu, Rutin < Klorogenik asit < Kuersetin< Kuinik asid < Kateşin sıralamasında olarak belirlenmiştir.

SKBR-3 hücre hatlarında gerçekleştirilen araştırmamızda, quercetin ve klorogenik asitin 5-100 μ M konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon neticesinde, konsantrasyona bağımlı olarak SKBR-3 hücrelerinin proliferasyonunu optimum düzeyde inhibe ettiği görülmektedir. Şekil 68 ve Şekil 69`da da görüldüğü üzere en yüksek biyoaktif konsantrasyonu olan 100 μ M verildiğinde; quercetin SKBR-3 hücrelerini %56,25 düzeyine düşürdüğü ve hücre proliferasyonunu %43,75 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir, takiben klorogenik asitin SKBR-3 proliferasyonunu %62,5 düzeyine indirdiği ve hücre proliferasyonunu %37,50 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir.

Şekil 68 ve 69 den de görüleceği üzere kateşin biyoaktifin yalnızca 10 μ M konsantrasyonda SKBR-3 hücrelerini %65,66 `ya indirmediği ve hücre proliferasyonunu %34,34 olarak inhibe edebildiği görülmektedir.

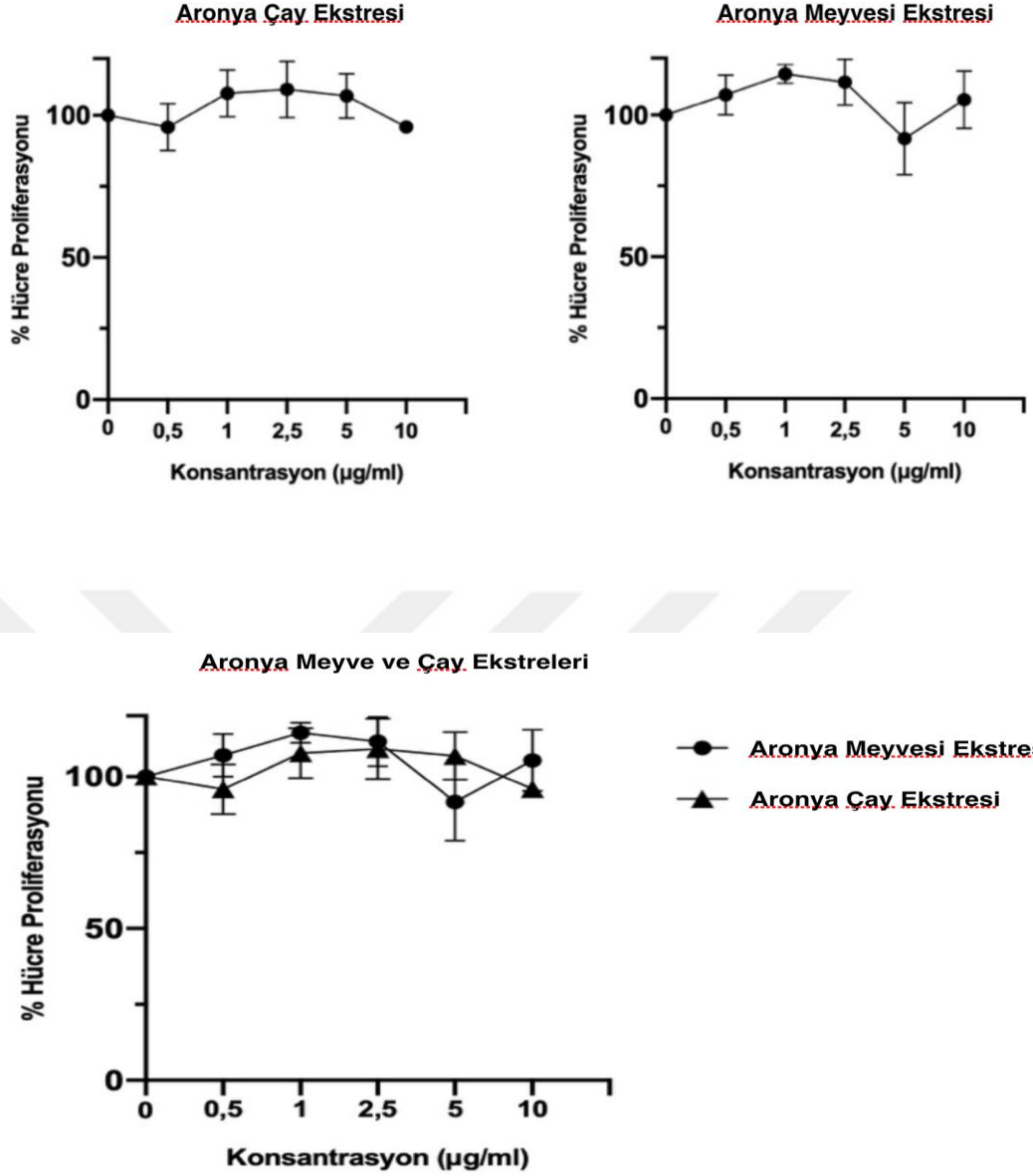


Şekil 70. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Aronya Çay-10 dk dem ve Nutrasotik Şurup (SPAF) Numunelerinin Etkileri.

SKBR-3 meme kanseri hücre hatlarında gerçekleştirilen araştırmamızda, biyoaktif standart etken maddelerin antiproliferasyonunun irdelenmesini takiben, aronya meyvesi-etanol ekstraktında, toz çay-etanol ekstraktında, aronya ayı deminde(10 dk demlenmiş ve elek ölçüsü 0.5 μm olan çay deminde) ve nutrasötik özel ürün SPAF`da (surupta), MTT sonuçlarına göre, SKBR-3 meme hücre hatları üzerinde konsantrasyona ve zamana bağlı olarak olası sitotoksik ve antiproliferatif etkiler tespit edilmiştir (şekil 70).

şekil 70`den görüldüğü üzere 0,5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonunda ürün dozuna bağlı olarak SKBR-3 hücrelerinde, hücre canlılığı /hücre büyümesinin inhibe edildiği ve antiproliferasyonun düzeyi bulgulanmıştır (şekil 70).

10 dk demlenmiş aronya ayı deminin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonunda SKBR-3 hücrelerini %71,86 düzeyine azalttığı ve hücre proliferasyonunu %28,14 düzeyinde inhibe ettiği tespit edilirken yine aynı konsantrasyondaki (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) nutrasotik takviye şurup SPAF`ın SKBR-3 proliferasyonunu %74 düzeyine indirdiği ve hücre proliferasyonunu %26 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir (şekil 56). 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonucunda 10 dk demlenmiş aronya ayı deminin ve nutrasotik takviye surup SPAF`ın sırasıyla SKBR-3 hücrelerini %36,50 ve %49 düzeylerine azaltıldığı dolayısıyla sırasıyla %63,50 ve %51 düzeylerinde hücre proliferasyonunun inhibe ettiği saptanmıştır, son derece güçlü antiproliteratif numuneler oldukları ortaya konulmuştur (şekil 70).



Şekil 71. SKBR-3 Meme CA Hatlarının Antiproliferasyonunda Aronya Çay Ekstresi ve Aronya Meyve Ekstresi Numunelerinin Etkileri.

Kısım 3.7.1. de ekstraksiyon metodolojisi izah edilmiş olan aronya çay ve aronya meyve ekstralarının SKBR-3 meme kanseri hücre hatlarında gerçekleştirildiği araştırmamızda, MTT sonuçlarına göre, SKBR-3 meme hücre hatları üzerinde konsantrasyona ve zamana bağlı olarak sitotoksik ve antiproliferatif etkiler Şekil 71`de görüldüğü gibi tespit edilmiştir.

0,5-10 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonunda aronya çay ekstresi ve aronya meyve ekstresi dozlarına bağımlı olarak SKBR-3 hücrelerinde antiproliferasyonun düzeyi bulgulanmıştır (Şekil 71).

Aronya çay ekstresinin (aronya çay etanol ekstraktı), 10 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon sonunda SKBR-3 hücrelerini %93,75 düzeyine azalttığı ve hücre proliferasyonunu %6,25 düzeyinde inhibe ettiği belirlenirken, aronya meyve ekstresinin (aronya meyve etanol ekstraktının) 5 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonu ve 48 saatlik inkubasyonu sonucunda CA hücrelerinin %88,5 düzeyine azaltıldığı dolayısıyla %11,5 antiproliferatif etkide olduğu tespit edilmiştir.

Sitotoksik etkiler, istatistiksel olarak kontrole göre, 48 saatte 25 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda ($p \leq 0.05$) olarak belirlenmiş olup aronya 10 dk demlenmiş çay ve SPAF şurup numunelerinin çok etkin antiproliferasyon gösterdiği bulgulanmıştır. Çalışmamızla, insan SKBR-3 meme kanser hücrelerinde aronya çayının deminin (10 dk demlenmiş formunun) aronya etanol ekstresine göre son derece etkin olduğu ve sitotoksik etkili olduğu tespit edilmiştir (Şekil 70, Şekil 71) ve terapötik özellikli olabileceği öngörülmektedir. Aronyadan elde edilen nutrasotik takviye şurup- SPAF 'ın da önemli düzeyde etkili antiproliferatif etki göstertmesinden dolayı terapötik etkili takviye olarak kullanılabilceği önerilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türk aronya meyvesi (*Aronia melanocarpa* var. Viking) sağlık ürünleri olarak aronya tozu, aronya çayı ve özel geliştirilmiş nutrasötik aronya şurubu SPAF üretimi gerçekleştirilmiştir, mevcut inovatif ürünlerde temel ürün profilleri, toplam fenolik madde içerikleri, toplam antosiyanin miktarları, antioksidan aktivite düzeyleri ve Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (Quadrupole Time of Flight Mass Spektrometrisi) (Q-TOFF-MS) vasıtasıyla da detaylı fenolik biyoaktif profilleri belirlenmiştir. Duyusal analiz kalite derecelendirme testleri ile de geliştirilen ürünlerin lezzet ve genel kabul edilebilirlik normları ortaya konulmuştur, tüm değerlendirmeler göz önüne alınarak ticarileştirilecek aronya sağlık ürünleri tespit edilmiştir ve sektörel olarak değerlendirilmesi planlanan ürünler seçilerek seçilenmiş SKBR-3 kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif ve antikarsinojenik etkiler tespit edilmeye çalışılmıştır.

Aronya meyvesi, aronya çayı ve aronya tozunda nem düzeyinin % 2,0- 74,34 aralığında değiştiği belirlenirken (Tablo 8) şeker düzeylerinin de %8,19 - 27,97 aralığında olduğu (Tablo 10) belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Aronya meyvesi ve geliştirilen aronya ürünlerinin toplam fenolik madde (TFM) içeriği açısından zengin olduğu görülmektedir (Tablo 13). Aronya meyvesi, toz form (povder) ve aronya nutrasotik şurup SPAF ürünlerinde 1294,86 – 3946,49 mg Gallik Asit Eşdeğeri (GAE) /100 g aralığında olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). 3 dk, 5 dk, 10 dk, 15 dk demlenmiş aronya çayların da, 150,23- 787,92 mg GAE /100 g olarak belirlenmiş olup duyusal testlerle elde edilen sonuçlara göre 10 dk demlenmiş aronya çayının lezzet ve içim kalitesi öne çıkmıştır ve 9,0 skalası ile değer almıştır (Tablo 12); 10 dk demlenmiş olan aronya çayında TFM, 696,92 ±67,23 mg GAE /100 g olarak belirlenmiştir. Nutrasotik aronya şurubu SPAF da 1294,86 ±59,31 mg GAE /100 g olarak tayin edilmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 13).

Antioksidan etkili renk bileşikleri olan antosiyaninlerin ise (Tablo 14), aronya meyvesi, tozu, 3 dk, 5 dk, 10 dk, 15 dk demlenmiş aronya çaylarında ve SPAF şurupta, 21,28 – 1658,81 mg Siyanidin Eşdeğeri (CyE) /100 g düzeylerinde

olduğu ve 10 dk demlenmiş aronya çaylarında 78,14±9,08 mg CyE/100 ml olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). DPPH Antioksidan Aktivite (AA) değerlerinin ise çalışılan ürünlerde 96,55- 291,34 μmol Trolox Eşdeğeri (TE) /100 g aralığında olduğu belirlenmiştir (Tablo 15). 10 dk demlenmiş aronya ayında 186,20±20,42 μmol TE /100 g ve 15 dk demlenmiş çayda 189,72±10,55 μmol TE /100 g olduğu belirlenmiş olup istatistiksel açıdan 10 ve 15 dk demlenmiş aylarda AA açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p < 0,05$), nutrasotik şurup SPAF`da AA`nin 190,52±12,35 μmol TE/100g değerinde olduğu bulgulanmış olup ilgili ürünlerde yüksek antioksidan aktivite görülmektedir.

Aronya meyvesi, aronya ayı ve aronya tozu ve nutrasotik aronya takviye şurup SPAF`da organik asitler malik, sitrik ve kuinik asit olarak belirlenmiştir (Tablo 16) ve malik asid 2,34-4,46 g/kg olarak sitrik asit 0,40-0,72 g/kg olarak, kuinik asit 2,20-5,22 g/kg aralığında tespit edilmiştir. Özellikle kuinik asidin antioksidan etkisi olduğu rapor edilmektedir ve rnlerimizdeki içeriği iyi seviyede bulunmuştur.

Aronya meyvesi, tozu, aronya ayı ve nutrasotik takviye şurup SPAF` ta, fenolik profil HPLC ve Q-TOFF MS ile tayin edilmiştir. Fenolik asitlerin ve flavanollerin (katesinlerin) alıkonma zamanları (RT) olarak gallik asit, epigallokateşin, kateşin, klorogenik asit, hidroksisinnamik asit, neoklorogenik asit, vanilik asit, siringik asit, kaftarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinapik asit, rosemarinik asit sıralamasındadır; aynı kromatogramda yan yana aynı baseline üzerinde tayin gerçekleştirilmiştir (şekil 33, şekil 34). Aronya meyvesi, tozu, aronya ayı ve nutrasotik takviye şurup SPAF`taki, major fenolik asitlerin ve flavanollerin (kateşinlerin) 90,28-493,20 mg/100g klorogenik asit (ChA); 42.55-274,34 mg/100g neoklorogenik asit (NCA), 30,97-35,67 mg/100g kateşin (C), 10,96-38,67 mg/100g vanilik asit (VA), 7,52-20,44 mg/100g epigallokateşin (EGC) olduğu görülmektedir ($p < 0,05$) (Tablo 18). En major fenolik madde klorogenik asidin aronya meyvesi, tozu (povderi), nutrasotik şurup SPAF`ta sırasıyla 321,56 mg/100g, 493,20 mg/100g, ve 202,38 mg/100g değerlerinde bulgulandığı görülmektedir. 3k, 5dk, 10 dk,15 dk demlenmiş aronya çaylarında ise klorojenik, asidin sırasıyla 90,28 mg/100g, 95,63 mg/100g, 188,42 mg/100 g, ve 195,33 mg/100g olarak belirlendiği görülmektedir ve önemli antioksidatif özellik sağlamaktadır ($p < 0,05$) (Tablo 18).

Flavonollerin ve flavanol glikozidlerin alıkonma zamanları (RT) Şekil 48`deki kromatogramda görüldüğü üzere rutin (kuersetin-3-glikozid), kaempferol-3-rutinosid, kuersitrin (kuersetin-O-glikosid), kuersetin, astragalin (kaempferol-O-glikosid), kaempferol sıralamasındadır. Aronya meyvesi, tozu, aronya çayı ve nutrasotik takviye şurup SPAF`taki, major flavanol ve glikozidlerin; 307,20- 634,57 mg/100 g kuersetin, 70,13-182,46 mg/100g rutin (kuersetin-3-O-glikozid), 48,93-143,92 mg/100 g kaempferol-3-rutinosid ve 38,45- 63,56 mg/100g astragalin (kaempferol-3-O-glukozid) olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 19).

En major flavanol quercetin aronya meyvesi, tozu (povderi), nutrasotik şurup SPAF`ta sırasıyla 634,57 mg/100g; 542,80 mg/100g, ve 620,25 mg/100g değerlerinde saptandığı görülmektedir. Farklı demleme sürelerinde çalışılan çaylarda; 3k, 5dk, 10 dk, 15 dk demlenmiş aronya çaylarında ise kuersetinin sırasıyla 307,20 mg/100g; 328,96 mg/100g; 380,56 mg/100g; ve 387,25 mg/100g olarak tayin edildiği görülmektedir ve kuersetinin son derece güçlü antioksidan olduğu ve ilgili ürünlere antioksidatif stabilite sağladığı öngörülmektedir ($p < 0,05$) (Tablo 19).

Çalışmamızda, aronya meyvesi-etanol ekstraktında, toz çay-etanol ekstraktında, aronya çayı deminde (10 dk demlenmiş ve elek ölçüsü $0.5 \mu\text{m}$ olan çay deminde) ve nutrasötik özel ürün SPAF`da (şurupta) MTT sonuçlarına göre, SKBR-3 meme hücre hatları üzerinde konsantrasyona ve zamana bağlı olarak olası sitotoksik ve antiproliferatif etkiler tespit edilmiştir.

SKBR-3 hücre hatlarında gerçekleştirilen araştırmamızda, quercetin ve klorojenik asitin $5-100 \mu\text{M}$ konsantrasyon ve 48 saatlik inkubasyon neticesinde, konsantrasyona bağımlı olarak SKBR-3 hücrelerinin proliferasyonunu optimum düzeyde inhibe ettiği görülmektedir. Şekil 68 ve Şekil 69`dan da görüldüğü üzere en yüksek biyoaktif konsantrasyonu olan $100 \mu\text{M}$ verildiğinde; kuersetinin SKBR-3 hücrelerini %56,25 düzeyine düşürdüğü ve hücre proliferasyonunu %43,75 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir, takiben klorojenik asitin SKBR-3 proliferasyonunu %62,5 düzeyine indirdiği ve hücre proliferasyonunu %37,50 düzeyinde inhibe ettiği görülmektedir, son derece önemli sonuçlardır. Şekil 68 ve 69 dan da görüleceği üzere kateşin biyoaktifin yalnızca $10 \mu\text{M}$ konsantrasyonda SKBR-

3 hücrelerini %65,66`ya indirgeğiği ve hücre proliferasyonunu %34,34 olarak inhibe edebildiği görölmektedir.

Tüm kromatografik, kimyasal ve sitolojik veriler ortaya koymaktadır ki major polifenolik maddeler olan klorogenik asit, kuersetin ve kateşinin son derece etkin antokarsinogen maddeler oldukları görölmektedir ve geliştirilen aronya ürünlerimizin inovatif antioksidatif ve antiproliferatif ürünler olarak sağlık alanında gıda takviyeleri olarak kullanılabileceği öngörölmektedir.



KAYNAKLAR

1. Altay Ahmet, Antioxidant and cytotoxic properties of salvia fruticosa m. and its effects on gene expressions of some CYP450 and antioxidant enzymes in HT-29 cell line, Ortadoğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ), Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Ankara (Yük.Lisans & Lisans Ortadoğu Teknik Üniv. Biyokimya Bölümü),2015, 131s.(Doktora Tezi).
2. American Cancer Society (ACS), Cancer Statistics 2006. From http://www.cancer.org/docroot/PRO/content/PRO_1_1_Cancer_Statistics_2006_presentation.asp
3. Ara V. Schwarzfruchtige Aronia: Gesund – und bald “in aller Munde” Flüssiges Obst 2002; 10: 653–8.
4. Aron PM, Kennedy JA. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. Mol Nutr Food Res 2008; 52: 70–104.
5. Atanasova-Goranova VK, Dimova PI, Pevicharova GT. Effect of food products on endogenous generation of N-nitrosamines in rats. Br J Nutr 1997; 78: 335–45.
6. Bao P.P., Lu W.,Cui Y., Ginseng and Ganoderma Lucidum Use After Breast Cancer Diagnosis and Quality of Life: A Report From The Shanghai Breast Cancer Survival Study 2012. PLoSOne, 7(6), e39343.
7. Bell DR, Burt TD. Phenolic acids contained in anthocyanin enriched extracts from elderberry, bilberry and chokeberry possess endothelium dependent and independent vasorelaxation properties in porcine coronary arteries. Faseb J 2007; 21: A366.
8. Bell DR, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. J Appl Physiol 2006; 100: 1164–70.
9. Benvenuti S, Pellati F, Melegari M, Bertelli D. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. J Food Sci 2004; 69: FCT164–FCT9.
10. Bermudez-Soto MJ, Tomas-Barberan FA. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. Eur Food Res Technol 2004; 219: 133–41.
11. Bermudez-Soto MJ, Larrosa M, Garcia-Cantalejo JM, Espin JC, Tomas-Barberan FA, Garcia-Conesa M. Up-regulation of tumor suppressor

carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in human colon cancer Caco-2 cells following repetitive exposure to dietary levels of a polyphenol-rich chokeberry juice. *J Nutr Biochem* 2007; 18: 259–71.

12. Boerjan, Wout; Ralph, John; Baucher, Marie, 2003. "Lignin biosynthesis". *Annual Review of Plant Biology* 2003. 54: 519–546.
13. Borycka B, Stachowiak J. Relations between cadmium and magnesium and Aronia fractional dietary fibre. *Food Chem* 2008; 107: 44–8.
14. Bridle P, Timberlake CF. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. *Food Chem* 1997; 58: 103–9.
15. Carlson, J.R, Bauer, B.A., Vincent, A., Limburg, P.J., Wilson, T.,. Reading the tea leaves: anticarcinogenic properties of (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Mayo Clinic Proceedings* 2007, 82, 725-732.
16. Cavalieri, E., Chakravarti, D., Guttenplan, J., Hart, E., Ingle, J., Jankowiak, R.,. Catechol estrogen quinones as initiators of breast and other human cancers: implications for biomarkers of susceptibility and cancer prevention. *Biochimica Biophysica Acta*,2006.1766(1), 63-78.
17. Ceylan, F. D., Çatalkaya, G., Çapanoğlu, E., Biogenic Amines in Traditional Fermented Turkish Foods. *International Food Congress on Novel Approaches in Food Industry*, May 2014, Kuşadası, Turkey (Poster presentation).
18. Chung A.S., Park K.M. 2016. Anticancer and Antineurodegenerative Effects of Ginsenoids, *From Studies in Natural Products Chemistry*, ed.Attur Rahman,2016 vol 50 (4).
19. Clifford, M. N.; Johnston, K. L.; Knigh, S.; Kuhnert, N., "Hierarchical Scheme for LC-MS Identification of Chlorogenic Acids". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51 (10): 2900–2911.
20. Clifford M.N., Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden, *J. Sci. Food Agric.*, 1999; 79, pp. 362-372.
21. Cooke D, Schwarz M, Boocock D, Winterhalter P, StewardWP, Gescher AJ et al. Effect of cyanidin-3-glucoside and an anthocyanin mixture from bilberry on adenoma development in the ApcMin mouse model of intestinal carcinogenesis – relationship with tissue anthocyanin levels. *Int J Cancer* 2006, 119: 2213–20
22. Crystal F. Haskell-Ramsay, Jeroen Schmitt, Lucas Actis-Goretta, “The Impact of Epicatechin on Human Cognition: The Role of Cerebral Blood Flow” *Nutrients*, 2018, 10(8), 986.

23. Çatalkaya, G., Çapanoğlu, E., Raes, K., In vitro Bioaccessibility of Anthocyanins in Black Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*) Added Yogurts. 4th International Conference of Food Digestion, March 2015, Naples, Italy (Poster presentation).
24. Çatalkaya, G., Ceylan, F.D., Yüce, H., Eskicioğlu, V., Çapanoğlu, E., Erdil, D., A Review on Multi Residue Pesticide Analysis of Fruits and Vegetables by Gas Chromatography (GC) and Liquid Chromatography (LC). International Food Congress on Novel Approaches in Food Industry, May 2014, Kuşadası, Turkey (Poster presentation).
25. De Ronde J.J., Hannemann J., Halfwerk H., Mulder L., Straver M.E., Vrancken Peeters M.J., Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:119-126
26. De Santi, C.; Pietrabissa, A.; Mosca, F.; Pacifici, G. M., "Methylation of quercetin and fisetin, flavonoids widely distributed in edible vegetables, fruits and wine, by human liver". *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2002, 40 (5): 207–212.
27. Dhar S.B., Kumar K.A., Meghana K.; Kumar, Mahesh K.J., Madhusudana K., Sunder R.S., Ramakrishna S., "Ameliorative Effect of Fisetin on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats via Modulation of NF- κ B Activation and Antioxidant Defence" 2014, *Plos one*. 9 (9): e105070.
28. Ding M, Feng R, Wang SY, Bowman L, Lu Y, Qian Y et al. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *J Biol Chem* 2006, 281: 17359–68.
29. Duthie SJ. Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol Nutr Food Res* 2007, 51: 665–74.
30. Ehlenfeldt MK, Prior RL. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 2222–7.
31. Eliyatkin N, Özgür H, Erçetin P, Aktaş S, Küpeliöğlu A., Meme karsinomlarında HER-2 durumunun immünohistokimyasal ve moleküler analizlerle değerlendirilmesi. *Tepecik Eğit ve Araşt Hast Dergisi* 2015, 25(1):19-27.

32. Esatbeyoglu T, Winterhalter P. Research project Dietary procyanidins – From a better understanding of human health effects to functionalised foods. Isolation, characterisation and analysis of procyanidins Internal Report; 2008.
33. Faff J, Frankiewicz-Jozko A. Effect of anthocyanins from Aronia melanocarpa on the exercise-induced oxidative stress in rat tissues. *Biol Sport* 2003; 20: 15–23.
34. Fan-Yung AF, Rechits MA. Veränderungen der chemischen Zusammensetzung von Apfelbeeren während der Lagerung und Verarbeitung; Nachrichten höhere Lehranstalten Krasnodar. *Izv Vyssh Uchebn Zaved, Pishch Tekhnol* 1977; 1: 76–8.
35. Ferlini C., Ojima I., Distefano M, Gallo D., Riva A., Morazzoni P., Bombardelli E., Mancuso S., Scambia G., *Current Medicinal Chemistry- Anti-Cancer Agents*, 2003,3, 133- 138.
36. Fidancı, A., 2015. Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi Ve Yetiştirme Teknikleri. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri, Bahçe (Özel Sayı), Cilt I: Meyvecilik,2015 s: 1177-1180.
37. Frankiewicz-Jozko A., Faff J. Effect of anthocyanin pigments from fruits of Aronia melanocarpa on the exercise-induced increase in lipid peroxidation marker in rat tissues. *Biol Sport* 1999; 16: 31–8.
38. Fuleki T., Francis F.J., *Quantitative Methods for Anthocyanins. Extraction and Determination of Total Anthocyanin in Cranberries. Journal of Food Science.*1968,Cited by:289.
39. Fu X., Osborne CK., Schiff R., *Biology and therapeutic potential of PI3K signaling in ER+/HER2-negative breast cancer* 2013, *Breast* 22 (Suppl 2):12-18.
40. Gasiorowski K., Szyba K., Brokos B., Kolaczynska B., Jankowiak Włodarczyk M., Oszmianski J., *Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from Aronia melanocarpa fruits. Cancer Lett* 1997, 119: 37–46.
41. Gil MI., Tomas-Barberan FA., Hess-Pierce B., Holcroft DM., Kader AA., *Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem* 2000; 48: 4581–9.
42. Gonthier M.P.,Verny M.A., Besson C., Rémésy C., Scalbert A., *Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats, J. Nutr.*, 2003, 133, pp. 1853-1859.

43. Gutierrez C., Schiff R., HER2: biology, detection, and clinical implications 2011. Arch Pathol Lab Med 135:55-62.
44. Han GL., Li CM., Mazza G., Yang XG., Effect of anthocyanin rich fruit extract on PGE2 produced by endothelial cells. Wei Sheng Yan Jiu 2005, 34: 581-4.
45. Handeland M., Grudeb N., Torpc T., Slimestad R., Black chokeberry juice reduces incidences of urinary tract infection among nursing home residents in the long term-a pilot study. Nutrition Research 2014, 34, 518-525.
46. Hannan, J. M., Aronia Berries. Iowa State University Extension and Outreach, Commercial Horticulture Field Specialist 2013. <https://www.agmrc.org/commodities-products/fruits/aronia-berries/>
47. Harbers L.H., Ash Analysis. In:SS Nielsen, editör. Food Analysis,2nd edition, 1998,pp, 141-149, Aspen Publication Inc. Gaithersburg. Maryland.
48. Harborne Jeffrey B., Williams Christine A., Smith Dale M., "Species-specific kaempferol derivatives in ferns of the Appalachian Asplenium complex". Biochemical Systematics and Ecology 1973, 1 (1): 51-54.
49. Hardin JW., The enigmatic chokeberries (Aronia, Rosaceae). Bull Torrey Bot Club 1973; 100: 178-84.
50. He, X., Liu, R.H., Phytochemicals of apple peels: isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2008, 56, 9905-9910.
51. Herzig, J., "Studien über Quercetin und seine Derivate, VII. Abhandlung" [Studies on Quercetin and its Derivatives, Treatise VII]. Monatshefte für Chemie (in German) 1891, 12 (1): 177-90.
52. Hider RC., Liu ZD., Khodr HH., Metal chelating of polyphenols In: Packer L, editor. Methods in enzymology, flavonoids and other polyphenols, Vol. 335 San Diego: Academic Press 2001, 190-203.
53. Hirvi T, Honkanen E. Analysis of the volatile constituents of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Ell). J Sci Food Agric 1985; 36: 808-10.
54. Hofsommer HJ., Koswig S., Zum Nachweis von Aronia in schwarzer Johannisbeere. Flüssiges Obst 2005; 72: 289-93.
55. Hudec J., Bakos D., Mravec D., Kobida L., Burdova M., Turianica I et al. Content of phenolic compounds and free polyamines in black chokeberry (*Aronia*

melanocarpa) after application of polyamine biosynthesis regulators. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 3625–8.

56. Ignatiadis M., Bedard P., HaibeKains B., Singhal S., Loi S., Criscitiello C., A meta analysis of gene expression profiling studies identifies clinically relevant oncogenic pathways in basal like breast cancer 2009, *Cancer Res*;69:106.

57. Jakobek L., Seruga M., Novak I., Medvidovic-Kosanovic M., Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Dtsch Lebensmitt Rundsch* 2007; 103: 369–78.

58. Jakobek L., Seruga M., Medvidovic-Kosanovic M., Novak I., Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Dtsch Lebensmitt Rundsch* 2007; 103: 58–64.

59. Jemal A., Bray F., Center MM., Ferlay J., Ward E., Forman D., Global cancer statistics 2011, *CA Cancer J Clin*, 61(2):69-90.

60. Jeppsson N., Johansson R., Changes in fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) during maturation. *J Hortic Sci Biotechnol* 2000, 75: 340–5.

61. Jeppsson N., The effects of fertilizer rate on vegetative growth, yield and fruit quality, with special respect to pigments, in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) cv. “Viking”. *Sci Hortic* 2000; 83: 127–37.

62. Jeppsson N., The effect of cultivar and cracking on fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and hybrids between chokeberry and rowan (*Sorbus*). *Gartenbauwissenschaft* 2000; 65: 93–8.

63. Kalt W., Forney CF., Martin A., Prior RL., Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 4638–44.

64. Kara S., Aronya melanocarpa uygulamasının epiteliyal ovaryum kanseri hücre hattı SKOV-3 üzerine immunositokimyasal ve apoptotik etkilerinin incelenmesi. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yük.lisans Tezi, 2018, 132 sh.

65. Kähkönen MP., Hopia AI., HeinonenM., Berry phenolics and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4076–82.

66. Kähkönen MP., Hopia AI., Vuorela HJ., Rauha JP., Pihlaja K., Kujala TS., et al., Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 3954 –62.

67. Kedzierska M., Malinowska J., Kontek B., Kołodziejczyk-Czepas J., Czernek U., Potemski P., Piekarski J., Jeziorski A., Olas B., Chemotherapy modulates the biological activity of breast cancer patients plasma: The protective properties of black chokeberry extract. *Food and Chemical Toxicology* 2013. 53, 126–132.
68. Klaus-Peter, Phenolic constituents of the fern *Phegopteris connectilis*. *Adam, Phytochemistry*, Volume 52, Issue 5, November 1999, Pages 929–934.
69. Kolesnikov MP., Gins VK., Phenolic substances in medicinal plants. *Appl Biochem Microbiol* 2001; 37:392–9. Translated from Kolesnikov MP, Gins VK. Phenolic compounds in medicinal plants. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 2001; 37: 457–65.
70. Kowalczyk E., Kopff A., Fijalkowski P., Kopff M., Niedworok J., Blaszczyk J., et al., Effect of anthocyanins on selected biochemical parameters in rats exposed to cadmium. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 543–8.
71. Kowalczyk E., Kopff A., Niedworok J., Kopff M., Jankowski A., Anthocyanins – an adjunct to cardiovascular therapy? *Kardiol Pol* 2002; 57: 332–6.
72. Kowalczyk E., Charyk K., Fijalkowski P., Niedworok J., Blaszczyk J., Kowalski J., Protective influence of natural anthocyanins of *Aronia melanocarpa* on selected parameters of antioxidative status in experimental intoxication with sulphide-2-chloroethyl-3-chloropropyl. *Pol J Environ Stud* 2004; 13: 339–41.
73. Kraemer-Schafhalter A., Fuchs H., Pfannhauser W., Solid-phase extraction (SPE) – a comparison of 16 materials for the purification of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* var Nero. *J Sci Food Agric* 1998; 78: 435–40.
74. Kulling S.E., Rawel H.M., Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med.* 2008 Oct;74(13):1625-34. doi: 10.1055/s-0028-1088306. Epub 2008 Oct 20.
75. Lala G., Malik M., Zhao CW., He J., Kwon Y., Giusti MM. et al., Anthocyaninrich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. *Nutr Cancer* 2006; 54: 84–93.
76. Lee D., Cuendet M., Vigo JS., Graham JG., Cabieses F., Fong HH., Pezzuto JM., Kinghorn AD., "A novel cyclooxygenase-inhibitory stilbenolignan from the seeds of *Aiphanes aculeata*", *Organic Letters* 2001, 3 (14): 2169–71.
77. Lehmann H., About the aptitude of the black rowanberries (*Aronia melanocarpa*) for industrial processing. *Lebensmittelindustrie* 1982; 29: 175–7.

78. Lehmann H., Die Aroniabeere und ihre Verarbeitung. Flüssiges Obst 1990; 57: 746–52.
79. Li F., Liang D., Yang Z., Wang T., Wang W., Song X., Astragalosin suppresses inflammatory responses via down-regulation of NF- κ B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced mastitis in a murine model. *Int Immunopharmacol.* 2013,17:478–82.
80. Lin A.C., Bridging Positivist and Interpretivist Approaches to Qualitative Methods. *Policy Studies Journal* 1998, 26, 162- 180.
81. Lin Y., Shi R., Wang X., Shen H., “Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy” *Current Cancer Drug Targets*, 8, (7), 2008, 634-646(13).
82. López-Lázaro M., "Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin". *Mini Rev Med Chem* 2009, 9 (1): 31–59.
83. Luettig, B., Steinmüller, C., Gifford, G.E., Wagner, H., Lohmann-Matthes, M.L., Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *Journal of the National. Cancer Institute* 1989, 3, 669-675.
84. Luo, T., Wang, J., Yin, Y., Hua, H., Jing, J., Sun, X., Li, M., Zhang, J.Y., (-)-Epigallocatechin gallate sensitizes breast cancer cells to paclitaxel in a murine model of breast carcinoma. *Breast Cancer Research* 2010, 12(1), R8.
85. Malien-Aubert C., Dangles O., Amiot MJ., Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 170–6.
86. Malik M., Zhao CW., Schoene N., Guisti MM., Moyer MP., Magnuson BA., Anthocyanin- rich extract from *Aronia melanocarpa* E. induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutr Cancer* 2003; 46: 186–96.
87. Malik, M., Zhao, C., Schoene, N., Guisti, M.M., Moyer, M.P., Magnuson, B.A., Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutr. Cancer* 2003, 46, 186–196.
88. Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans.I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 230S–42S.
89. Mann J., *Secondary Metabolism* (2nd ed.). Oxford, UK: Oxford University 1992, Press. pp. 279–280. ISBN 978-0-19-855529-2.

90. Martynov EG., Influence of trace elements on the accumulation of anthocyanins in the fruit of *Aronia melanocarpa*. *Chem Nat Comp* 1979; 14: 451 – 2.
91. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T., Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 2226–9.
92. Mattila P., Hellstrom J., Torronen R., Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 7193–9.
93. Mayer-Miebach E., Adamiuk M., Behnsilian D., Research project Dietary procyanidins – From a better understanding of human health effects to functionalised foods. Process engineering to improve procyanidin stability and extractability Internal Report; 2008.
94. McKay S.A. Demand increasing for aronia and elderberry in North America. Available at April 19, 2008. (Reprinted from: *New York Berry News*, Vol. 3 No.11, March 17, 2004.
95. Milazzo S., Ernst E., Lejeune S., Schmidt K., Laetrile treatment for cancer *Cochrane Database Syst Rev*; 2006: CD005476.
96. Milazzo S., Lejeune S., Ernst E., Laetrile for cancer: a systematic review of the clinical evidence. *Support Care Cancer* 2007; 15: 583–95.
97. Minkiewicz P., Pliszka B., Dziuba J., Oszmianski J., Second and third derivatives of UV spectra as a tool for identification of major anthocyanins from *Aronia melanocarpa* extract, separated using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Collect Czech Chem Commun* 2004; 69: 1443–52.
98. Miski U.M., Neuman P., Mabry T.J., "Flavonoids of *Salvia tomentosa* (Labiatae)". *Journal of Natural Products* 1979. 42 (4): 261–3.
99. Moasser M.M., The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene* 2007, 26:6469-6487.
100. Mohsen M., Kuhnle G., Rechner A., Schroeter H., Rose S., Jenner P., Rice-Evans C., "Uptake and metabolism of epicatechin and its Access to the brain after oral ingestion" *Free Radical Biology & Medicine* 2002, 33 (12), 1693–1702.
101. Moyer M.P., Hummer K.E., Finn C.E., Frei B., Wrolstad R.E., Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 519–25.
102. Myung, S.K., Bae, W.K., Oh, S.M., Kim, Y., Ju, W., Sung, J., Lee, Y., Ko, J., Song, J.I., Choi, H.J., Green tea consumption and risk of stomach cancer: a meta-

analysis of epidemiologic studies. *International Journal of Cancer* 2009, 124, 670-677.

103. Nakachi K., Suemasu K., Suga K., Takeo T., Imai K., Higashi Y., Influence of drinking green tea on breast cancer malignancy among Japanese patients. *Japanese Journal of Cancer Research* 1998, 89, 254-261.

104. Naruszewicz M., Laniewska I., Millo B., Dluzniewski M., Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis* 2007; 194: e179–84.

105. Naruszewicz M., Daniewski M., Laniewska I., Pikto-Pietkiewicz W., Millo B., Zapolska-Downar D., Effect of anthocyanins from chokeberry (*Aronia melanocarpa*) on blood pressure, inflammatory mediators and cell adhesion molecules in patients with a history of myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis Suppl* 2003; 4: 143.

106. Nawirska A., Kwasniewska M., Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chem* 2005; 91: 221–5.

107. Ocmian I., The Impact of Foliar Application of Calcium Fertilizers on the Quality of Highbush Blueberry Fruits Belonging to the ‘Duke’ Cultivar, *Not Bot Horti Agrobo*, 2012, 40(2): 163-169.

108. Ognik K., Rusinek E., Sembratowicz I., Truchlinski J., Contents of heavy metals, nitrate (V), and nitrate (III) in fruits of elderberry and black chokeberry depending on harvest site and vegetation period. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2006; 57: 235–41.

109. Olas B., Wachowicz B., Tomczak A., Erler J., Stochmal A, Oleszek W. Comparative anti-platelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from: berries of *Aronia melanocarpa*, seeds of grape and bark of *Yucca schidigera* in vitro. *Platelets* 2008; 19: 70–7.

110. Olthof MR., Hollman PC., Zock PL., Katan MB., “Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans” *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 73, Issue 3, March 2001, Pages 532–538.

111. Oszmianski J., Wojdylo A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 2005; 221: 809–13.
112. Ozguc S., Kayalar H., Zeybek U. Meme Kanserinde Etkili Tibbi Bitkiler ve Sekonder Metabolitleri. 2018. *Ankara Ecz. Fak. Derg. / J. Fac. Pharm. Ankara*, 42(X): 1-21.
113. Park H., Lee S., Oh J., Lee M., Yoon K., Park H., Kim JW., Song H., Kim S., “Anti-inflammatory activity of fisetin in human mast cells (HMC-1)” *Pharmacological Research*, 55, 2007, 31–37.
114. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P., Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *International Journal of Cancer* 2001,p. 153-6.
115. Peng X., Cheng K.W., Ma J., Chen B., Ho C.T., Lo C., Cinnamon bark proanthocyanidins as reactive carbonyl scavengers to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 1907–11.
116. Perou C.M., Sørlie T., Eisen M.B., Van de Rijn M., Jeffrey S.S., Rees C.A., Molecular portraits of human breast tumours 2000, *Nature* ;406:747-752.
117. Pilaczynska-Szczesniak L., Skarpanska-Steinborn A., Deskur E., Basta P., Horoszkiewicz-Hassan M., The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005; 15: 48–58.
118. Pinent M., Blay M., Blade M.C., Salvado M.J., Arola L., Ardevol A., Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology* 2004; 145: 4985–90.
119. Pliszka B., Huszcza-Ciolkowska G., Wierzbicka E., Effects of extraction conditions on the content of anthocyanins and bioelements in berry fruit extracts. *Commun Soil Sci Plant* 2008, 39: 753–62.
120. Pool-Zobel B.L., Bub A., Schroder N., Rechkemmer G., Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells. *Eur J Nutr* 1999; 38: 227– 34.
121. Prior R.L., Gu L., Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry* 2005; 66: 2264–80.

122. Rawel H.M., Kulling S.E., Nutritional contribution of coffee, cacao and tea phenolics to human health. *J Verbr Lebensm* 2007; 2: 399–406.
123. Razungles A., Oszmianski J., Sapis J.C., Determination of carotenoids in fruits of *Rosa* sp. (*Rosa canina* and *Rosa rugosa*) and of chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *J Food Sci* 1989; 54: 774–5.
124. Ryszawa N., Kawczynska-Drozdz A., Pryjma J., Czesnikiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 611–26.
125. Scalbert A., Deprez S., Mila I., Albrecht A.M., Proanthocyanidins and human health: Systemic effects and local effects in the gut. *Biofactors* 2000; 13: 115–20
126. Scott R.W., Skirvin R.M., Black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Michx.): A semi-edible fruit with no pests. *J Am Pomol Soc* 2007; 61: 135–7.
127. Seeram N.P., Aviram M., Zhang Y., Henning S.M., Feng L., Dreher M., Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol- rich beverages in the United States. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 1415– 22.
128. Sengupta B., Banerjee A., Sengupta P.K., Interactions of the plant flavonoid fisetin with macromolecular targets: insights from fluorescence spectroscopic studies. *J Photochem Photobiol B* 2005;80:79–86.
129. Sengupta B., Banerjee A., Sengupta P.K., Investigations on the binding and antioxidant properties of the plant flavonoid fisetin in model biomembranes. *FEBS Lett* 2004;570:77–81.
130. Seidemann J., Chokeberries a fruit little-known till now. *Dtsch Lebensmitt Rundsch* 1993; 89: 149–51.
131. Shin-Jung Kim S.J., Kim A.K., Anti-Breast Cancer Activity of Fine Black Ginseng (*Panax Ginseng* Meyer) and Ginsenoside Rg5. *Journal of Ginseng Research*, 2015, 39(2), 125-134.
132. Shrubsole M.J., Lu W., Chen Z., Shu X.O., Zheng Y., Dai Q., Cai Q., Gu K., Ruan Z.X., Gao Y.T., Zheng W., Drinking green tea modestly reduces breast cancer risk. *The Journal of Nutrition* 2009, 139(2), 310-316.
133. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A., Cancer statistics, *Cancer J Clin* 2015, 265(1):5-29.
134. Si H., Fu Z., Pon Velayutham Anandh Babu, Wei Zhen, Tanya LeRoith, Mary Pat Meaney, Kevin A. Voelker, Zhenquan Jia, Robert W. Grange, Dongmin

Liu, Dietary Epicatechin Promotes Survival of Obese Diabetic Mice and *Drosophila melanogaster*, *The Journal of Nutrition*, Volume 141, Issue 6, June 2011, Pages 1095–1100.

135. Simeonov S.B., Botushanov N.P., Karahanian E.B., Pavlova M.B., Husianitis H.K., Troev D.M., Effects of *Aronia melanocarpa* juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus. *Folia Med (Plovdiv)* 2002; 44: 20–3.

136. Singh W.D., Sharma S.K., Rani R., Mishra S., Sharma R.A., Kaempferol-7-O-Glucoside and their Antimicrobial Screening isolate from *Cassia renigera*, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2011; 3(2): 30-34.

137. Singleton V.L., Rosa R.O., Lamuela-Raventós M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 1999, Volume 299, Pages 152-178

138. Skoczynska A., Jedrychowska I., Poreba R., Affelska-Jercha A., Turczyn B., Wojakowska A., Influence of chokeberry juice on arterial blood pressure and lipid parameters in men with mild hypercholesterolemia. *Pharmacol Rep* 2007; 59: 177–82.

139. Skoczynska A., Jedrychowska I., Poreba R., Affelska A., Turczyn B., The influence of chokeberry juice on arterial blood pressure. *Pharmacol Rep* 2007; 59 (Suppl. 1): 66.

140. Skupien K., Oszmianski J., The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. *Agric Food Sci* 2007; 16: 46 – 55

141. Slimestad R., Torskangerpoll K., Nateland H.S., Johannessen T., Giske N.H., Flavonols from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J Food Compost Anal* 2005; 18: 61–8.

142. Šnebergrová J., Čížková H., Neradová E., Kapci B., Rajchl A., Voldřich M., Variability of characteristic components of aronia. *Czech J. Food Sci.* 2014 32: 25–30.

143. Sójka, M., Kołodziejczyk, K., Milala, J., Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by products. *Industrial Crops and Products* 2013, 51, 77 – 86.

144. Soromou L.W., Chen N., Jiang L., Huo M., Wei M., Chu X., Astragalín attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by down-regulating NF- κ B signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 419:256–61.

145. Skupień K., Oszmiański J., Influence of titanium treatment on antioxidants content and antioxidant activity of strawberries. *Acta Sci.Pol. Technol. Aliment* 2007, 6 (4), 83-93
146. Steffani N.D., The anti-carcinogenic effect of *Echinacea purpurea* and *Echinacea pallida* on a mammalian breast cancer cell line. A Dissertation Submitted to the School of Graduate Studies of Tennessee State University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Biological Sciences 2005.
147. Stendell-Hollis N.R., Thomson C.A., Thompson P.A., Bea J.W., Cussler E.C., Hakim I.A., Green tea improves metabolic biomarkers, not weight or body composition: a pilot study in overweight breast cancer survivors. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 2010, 23(6), 590-600.
148. Stralsjo L., Ahlin H., Witthoft C.M., Jastrebova J., Folate determination in Swedish berries by radioprotein-binding assay (RPBA) and high performance liquid chromatography (HPLC). *Eur Food Res Technol* 2003; 216: 264–9.
149. Strigl A.W., Leitner E., Pfannhauser W., Qualitative und quantitative Analyse der Anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx Ell) mittels TLC, HPLC and UV/VIS Spectrometrie. *Z Lebensm Unters Forsch* 1995; 201: 266–8.
150. Strigl A.W., Leitner E., Pfannhauser W., Die schwarze Apfelbeere (*Aronia melanocarpa*) als natürliche Farbstoffquelle. *Dtsch Lebensmitt Rundsch* 1995; 91: 177–80.
151. Syed D.N., "Inhibition of Akt/mTOR signaling by the dietary flavonoid fisetin". *Anticancer Agents Med Chem* 2013, 13 (7): 995–1001.
152. Tanaka T., Tanaka A., Chemical components and characteristics of black chokeberry. *J Jpn Soc Food Sci Technol* 2001; 48: 606–10.
153. Tokusoğlu Ö. 2017. Proje Yardımcı Araştırmacı---- Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) ve Mürver (*Sambucus nigra* L.) Meyve Türlerinin Farklı Ekolojilerde Yetiştiriciliği, Meyve Karakteristik Bileşenleri ve Biyoyararlılığının İncelenmesi”. TAGEM Projesi- YABK Enstitüsü-Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı- Ankara TAGEM BBAD/17/A08/P10/01 -- DEVAM EDEN PROJE 2017 (Başlangıç /Bitiş Tarihi 01.01.2017 -Devam Ediyor)
154. Tokusoglu Ö. 2018. Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Projesi. Proje

Yöneticisi. DEPARK Teknopark Univ.Sanayii İşbirliği Projesi BSTB 047226 Tamamlanmış Proje. Aronya (Aronia melanocarpa) Meyvesi Sağlık Ürünleri (Ekstrakt,Toz ve Aronya Çayı ve Tableti) Üretimi: İnovatif Ürünlerde Biyoyararlılık, Antioksidan Fenolik Profil ve Seçimlenmiş Kanser Hücre Hattı Üzerinde Olası Antikarsinojenik Etkilerinin Tesbiti. Baş.Tarihi: 05.01.2018 Bitiş Tarihi: Devam Ediyor. SPİL INNOVA Arge Gıda Danışmanlık Ltd.Şti., DEPARK TEKNOPARK, Dokuz Eylül Üniversitesi Teknoloji Geliştirme Bölgesi, İnciraltı Yerleşkesi, Balçova, İZMİR Proje Araştırmacı: Y.BOZ, S.P.ENGIN, K.BAKIR, A.ÖZTÜRK, A.BAKLAN Fon: BSTB, Dokuz Eylül TGB.

155. Tokuşoğlu Ö., Hall C., Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry & Applications. 2011. ISBN: 9781439806654; ISBN-10: 1439806659. 459 page. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida,USA.

156. Tokuşoğlu Ö., Balaban M.O., Evaluation of odor and color changes of muscadine grapes stored at different temperatures by Electronic Nose and Computer Vision. In Proceedings of the 2000 IFT Annual Meeting, pp.61-62, June 11-14, Dallas, Texas, USA (2000).

157. Tokuşoğlu Ö.“Antioksidan Kapasitesi Yüksek ve Güç Eriyen Aronya Meyveli

Dondurma ve Bahsedilen Dondurmanın Üretim Metodu“. PT2016-00779. No:TPE-2016-GE-502034 Sayfa: 10 sayfa. Resim/Şekil: 1 sayfa,2018.

158. Tran B., Bedard P.L., Luminal-B breast cancer and novel therapeutic targets. Breast Cancer Res 2011;13:221.

159. Trinklein, D., Aronia: A Berry Good Plant. Missouri Environment and Garden 2007, 13 (9): 86.

160. Tsutsui S., Ohno S., Murakami S., Kataoka A., Kinoshita J., Hachitanda Y., Prognostic significance of the coexpression of p53 protein and c-erbB2 in breast cancer. Am J Surg 2003, 185:165-167.

161. TS 541, Kuru İncir,2006.

162. TS 1125 ISO 750, Meyve ve Sebze Ürünleri-Titrasyon Asitliği Tayini,2002.

163. TS 1466 Domates Salçası ve Püresi,2008.

164. TS ISO 1573:1980 Tea – Determination Of Loss In Mass At 103 Degrees C,2015.

165. TS ISO 1839, Çay Numune Alma,1998.

166. TS 2131 ISO 928, Baharat ve Çeşni Veren Bitkiler-Toplam Kül Tayini,2001.

167. TS EN ISO 2171, Tahıllar, Baklagiller ve Yan Ürünleri- Yakılarak Kül

Muhtevasının Tayini, 2013.

168. TS 3687 ISO 7703 Kurutulmuş Şeftali- Özellikler ve Deney Metotları, 1998.

169. Urios P., Grigoroza-Borsos A.M., Peyroux J., Sternberg M., Inhibition of advanced glycation by flavonoids. A nutritional implication for preventing diabetes complications. *J Soc Biol* 2007; 201: 189–98.

170. Üçer O., Tokuşoğlu Ö., Specific Cancer Clinical Studies and Drug Interactions on Nutraceutical Fruit and Plant Powders [Chapter 8] 2018, p.151-184. In BOOK Food By-Product Based Functional Food Powders, (The Nutraceuticals: Basic Research/Clinical Application Series Book) CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, USA. ISBN 9781482224375, Cat # K22366.

171. Ünçel M., Aköz G., Yıldırım Z., Pişkin G., Değirmenci M., Solakoğlu K.D., Ayaz D., Akbulut G., Diniz G., Meme kanserinin klinikopatolojik özelliklerinin moleküler alt tipe göre değerlendirilmesi Evaluation of clinicopathological features of breast cancer according to molecular subtypes. *Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi* 2015, 25(3):151-156.

172. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliev I., Belcheva A., Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from Aronia melanocarpa on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2004; 56: 195–201.

173. Valcheva-Kuzmanova S.V., Belcheva A., Current knowledge of Aronia melanocarpa as amedicinal plant. *Folia Med (Plovdiv)* 2006; 48: 11–7.

174. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Mihova V., Krasnaliev I., Borisova P., Belcheva A., Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods Hum Nutr* 2007; 62: 19–24.

175. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Tancheva S., Belcheva A., Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29: 101–5.

176. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Tsanova-Savova S., Mihova V., Krasnaliev I., Borisova P., Lipid-lowering effects of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed cholesterol-containing diets. *J Food Biochem* 2007; 31: 589–602.

177. Valcheva-Kuzmanova S., Gadjeva V., Ivanova D., Belcheva A., Antioxidant activity of Aronia melanocarpa fruit juice in vitro. *Acta Aliment* 2007; 36: 425–8.

178. Wang H., Cao G., Prior R.L., Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 701–5.
179. Wang S.Y., Stretch A.W., Antioxidant capacity in cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 969–74.
180. Wawer I., *The power of nature: Aronia melanocarpa*, 1st edition London: Nature's Print Ltd; 2006: 1–168.
181. Way T.D., Lee H.H., Kao M.C., Lin J.K., Black tea polyphenol theaflavins inhibit aromatase activity and attenuate tamoxifen resistance in HER2/neu-transfected human breast cancer cells through tyrosine kinase suppression. *European Journal of Cancer*.2004, 40(14), 2165-2174.
182. Weinges K., Schick H., Schilling G., Irgartinger H., Oeser T., Composition of an anthocyan concentrate from *Aronia melanocarpa* Elliot – X-ray analysis of tetraacetyl parasorboside. *Eur J Org Chem* 1998; 1: 189–92.
183. Wiese S, Kruse HP, Kulling SE., Research project “Dietary procyanidins – From a better understanding of human health effects to functionalised foods. Bioavailability and biological activity of procyanidins Internal Report; 2008.
184. Wilska J.J., Korzuchowska A., Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation – Influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. *Z Lebensm Unters Forsch* 1996; 203: 38–42.
185. Wooster R., Weber B.L., Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003, 348(23): 2339-47.
186. Wu A.H., Yu M.C., Tseng C., Hankin J., Pike M.C., Green tea and risk of breast cancer in Asian Americans. *International Journal of Cancer* 2003,106(4),574-579.
187. Wu A.H., Spicer D., Stanczyk F.Z., Tseng C., Yang C.S., Pike M.C., Effect of 2-month controlled green tea intervention on lipoprotein cholesterol, glucose, and hormone levels in healthy postmenopausal women. *Cancer Prevention Research* 2012, 5(3), 393- 402.
188. Wu X.L., Gu L.W., Prior R.L., McKay S., Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 7846–56.
189. Yager J.D., Davidson N.E., Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *The New England Journal of Medicine* 2006, 354(3), 270-282.

190. Yersal Ö., Yiğit M., Meydan N., Barutca S., Retrospective evaluation of breast cancer patients with five or more axillary lymph node involvement achieving 5-year overall survival, *The European Research Journal*, 2019, 268-273.
191. Yong C., Xiao-Ou S., Yu-Tang G., Hui C., Meng-Hua T., Wei Z., Association of Ginseng Use With Survival and Quality of Life Among Breast Cancer Patients. *American Journal of Epidemiology* 2006, 163, 645-653.
192. Xu W., Liu J., Li C., Wu H.Z., Liu Y.W., "Kaempferol-7-O- β -d-glucoside (KG) isolated from *Smilax china* L. rhizome induces G2/M phase arrest and apoptosis on HeLa cells in a p53-independent manner". *Cancer Letters* 2008, 264 (2): 229-240.
193. Zafra-Stone S., Yasmin T., Bagchi M., Chatterjee A., Vinson J.A., Bagchi D., Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 675–83.
194. Zapolska-Downar D., Kosmider A., Naruszewicz M., Flavonoids-rich extract from chokeberry fruits inhibits oxLDL-induced apoptosis of endothelial cells. *Atherosclerosis Suppl* 2006; 7: 223.
195. Zhao C., Giusti M.M., Malik M., Moyer M.P., Magnuson B.A. Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 6122–8.
196. Zheng W., Wang S.Y., Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 502–9.
197. Zielinska-Przyjemska M., Olejnik A., Dobrowolska-Zachwieja A., Grajek W., Effects of *Aronia melanocarpa* polyphenols on oxidative metabolism and apoptosis of neutrophils from obese and non-obese individuals. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2007; 6: 75–87.
198. Zlatanov M.D., Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *J Sci Food Agric* 1999; 79: 1620–4.

EKLER

EK A: Etik Kurul Raporu

T.C.
Celal Bayar Üniversitesi
Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu
Karar Formu

KARAR TARİH / NO	29 / 06 / 2016 / 20478486 - 258						
ARAŞTIRMANIN ADI	ARONYA (Aronia melanocarpa (Michx) Elliot) Meyvesi Ekstraktı, Aronya Tozu ve Aronya Çayının Biyoyararlılık, Antioksidan Fenolik Profil ve Seçimlenmiş Kansere Hatları Üzerinde Olası Antikarsinojen Etkilerinin (Antiproliferasyon ve Sitotoksikite Özelliklerinin) Belirlenmesi						
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU – CBÜ Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü						
ARAŞTIRMA EKİBİ	Ziraat Müh. Sevgi Poyraz Engin ,- Dr. Burhan Erenoğlu,- Dr. Yılmaz Boz,- Prof. Dr. Resul Gerçekcioğlu						
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>		YÜKSEK LİSANS--DOKTORA TEZİ <input type="checkbox"/>		AKADEMİK AMAÇLI <input checked="" type="checkbox"/>		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	28 / 06 / 2016 / Tarih ve 226 sayılı; düzeltme dilekçesi						
KARAR BİLGİLERİ	Düzeltilme dilekçesi incelenmiş; araştırma başvuru formu ve gerekli ekleri ile birlikte bilimsel ve Etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir						
Ünvanı/Adı/Soyadı		Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplamına Katılmayan Üye	Ünvanı/Adı/Soyadı		Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplamına Katılmayan Üye
Prof. Dr. Zeki ARI Tıbbi Biyokimya AD		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Doç. Dr. Ayşen TÜREDİ YILDIRIM Çocuk Hematolojisi		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Erol Ozan Psikiyatri AD		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Yrd. Doç. Dr. Selim ALTAN Tıbbi Etik AD		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Yrd. Doç. Dr. Dilek ÇEÇEN Cerrahi Hemşireliği AD		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mukadder YILMAZER Avukat		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Serdar TOK BESYO		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	İhsan AVCI Sivili Üye		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p>Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. <u>Araştırmanız Her Hangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme – Denetleme" Görevi Gereği Lüzumu Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir.</u> Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname – Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.</p> <p style="text-align: right;">Prof. Dr. Zeki ARI Başkan</p>							

EK B: Aronya Meyvesi Viking Türüne Ait Tescil Belgesi



T.C.
GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yalova

Sayı :17397286-105.05-E.3123045
Konu :Meyvecilik

07.12.2017

Sayın İlgili MAKAMA

Enstitümüz tarafından ARGE çalışmaları yapılan Aronya üzümşü meyve türüne ait 'Viking' çeşidi Kurumumuz adına 2017 yılında tescil edilmiştir. 'Nero' Aronya çeşidi tescil işlemleri devam etmektedir.

Bilgilerinize sunarım.

 e-imzalıdır

Dr. Yılmaz BOZ
Müdür

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak Doğrulama Kodu : BSVTKFLYEMWQVQWOWU CD Evrak Takip Adresi: <http://www.turkiye.gov.tr/gida-tarim-hayvancilik-bakanligi-e-by-s>
Süleymanbey Mah. Araştırma Sok.
Tel: (0226) 814 25 20 Faks:
E-Posta: yalova.arastirma@tarim.gov.tr Kep: yalova.arastirma@ghb.hs01.kep.tr

Bilgi için: Sevgi FOYRAZ ENGİN
Mühendis

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kurtuluş BAKIR

Doğum Yeri ve Yılı : Diyarbakır/1991

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : krtlsbkr@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Diyarbakır Süleyman Demirel Lisesi, 2009

Lisans : Tunceli Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2013

Mesleki Deneyim

TEİAŞ SOMA ELEKTRİK TEK. GEL. VE EĞİT. TES. İŞL. MÜD.,2014-(halen).