

T.C.  
KILIS 7 ARALIK UNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KILIS VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN YÖRESEL BİBER (*Capsicum annum*)  
KURUTMALIĞININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ VE FİTOKİMYASAL,  
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN YANIT YÜZEY METODU İLE  
OPTİMİZASYONU

Mehmet Fatih EREN

DANIŞMAN: Doç. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2019

KILIS

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Doç.Dr. H. Aysun Mercimek TAKCI danışmanlığında, Mehmet Fatih EREN tarafından hazırlanan “Kilis ve Çevresinde Üretilen Yöresel Biber (*Capsicum annum*) Kurutmalığının Antimikrobiyal Aktivitesi ve Fitokimyasal, Antioksidan Özelliklerinin Yanıt Yüzey Metodu İle Optimizasyonu” adlı tez çalışması 10/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK** Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı (Kurumu)	İmza
Başkan	Prof. Dr Lale DÖNBAK (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji ABD)	
Üye	Doç. Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI (Kilis 7 Aralık Üniv. Fen Edebiyat Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD)	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Rima ÇELİK MISIRLI..... (Kilis 7 Aralık Üniv. Fen Edebiyat Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD)	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 10/06/2019 tarih ve ...../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

**Tez No:** .....

**ÜNVANI ADI SOYADI**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### **KİLİS VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN YÖRESEL BİBER (*Capsicum annuum*) KURUTMALIĞININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ VE FİTOKİMYASAL, ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN YANIT YÜZEY METODU İLE OPTİMİZASYONU**

Mehmet Fatih EREN

Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

DANIŞMAN: Doç. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

Yıl: 2019

Sayfa: 60

Bu çalışmada kurutulmuş biberin (*Capsicum annuum* L.) antioksidan aktivite ve fitokimyasal özelliklerini belirlemek için metanol ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey metoduna göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Biber kurusu ekstraktlarında % verim biber kurusu konsantrasyonuna bağlı olarak artmış, %32.30 ile 71.55 arasında hesaplanmıştır. Toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği ise biber kurusu konsantrasyonuna bağlı artmıştır. En yüksek fenolik içerik 3.91908 mg GAE/g belirlenmiş ve bu değere 42.5°C, 60 dak. ve 1000 mg/20 mL’de ulaşılmıştır. En yüksek toplam flavonoid 0.210 mg/RE/g olarak belirlenmiş ve bu değere 25°C’de, 45 dak 1000 mg/20 mL ve 60 °C’de 45 dak 1000 mg/20 mL’de rastlanmıştır. DPPH radikal giderme aktivitesi %36-85 arasında kaydedilmiş olup en yüksek antioksidan aktiviteye 25°C’de, 45 dak 1000 mg/20 mL’de rastlanmıştır. En yüksek indirgeme kapasitesi 0.40 absorbans değeri 25°C’de, 45 dak 1000 mg/20 mL; 42.5°C’de, 30 dak 1000 mg/20 mL ve 60 °C’de 45 dak 1000 mg/20 mL’de gözlenmiştir. % şelatlama aktivitesi %4.47 ve 26.01 aralığında olup en yüksek aktivite 25°C’de, 45 dak 1000 mg/20 mL’dedir. DPPH radikal giderme aktivitesi ve şelatlama aktivitesi üzerindeki en önemli bağımsız değişken biber kurusu konsantrasyonu iken, indirgeme kapasitesi tayininde ise ekstraksiyon süresidir. Ayrıca ekstraktların test bakterileri üzerinde antimikrobiyal aktivitesine rastlanmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal, Fenolik, Flavonoid, *Capsicum annuum*, Antioksidan, Kurutulmuş biber

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND OPTIMIZATION OF PHYTOCHEMICALS, ANTIOXIDANT PROPERTIES BY THE RESPONSE SURFACE METHOD OF LOCAL DRIED PEPPER (*Capsicum annum*) PRODUCED IN KILIS

Mehmet Fatih EREN

Kilis 7 Aralık University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

Year: 2019

Page: 60

The optimization study of methanolic extractions performed to determine antioxidant activity and phytochemical properties of dried pepper (*Capsicum annum* L.) by the surface response method. % yield of extracts increased based on dried pepper concentration and was calculated between 32.30 and 71.55%. Total phenolic and flavonoid contents also increased depending upon dried pepper concentration. The highest phenolic content was determined as 3.91908 mg GAE/g and this value was obtained at 42.5°C, 60 min. and 1000 mg/20 mL. The highest total flavonoid was determined as 0.210 mg/REg and this value was reached at 25°C, 45 min. 1000 mg/20 mL and 60 °C 45 min. 1000 mg/20 mL. DPPH radical scavenging activity was recorded between 36-85% and the highest antioxidant activity was found at 25°C, 45 min 1000 mg/20 mL. The highest reduction capacity was 0.40 absorbance and this value was observed at 25°C, 45 min 1000 mg/20 mL; 42.5°C, 30 min. 1000 mg/20 mL and 60 °C 45 min. 1000 mg/20 mL. % chelating activity was between 4.47 and 26.01% and the highest activity was at 25°C, 45 min. 1000 mg/20 mL. The most important independent variable on DPPH radical scavenging and chelating activity was the dried pepper concentration. But this variable for the reduction capacity was the extraction time. In addition to antioxidant activity analyses, the antimicrobial activity of the extracts against the test bacteria was not encountered.

**Keywords:** Antimicrobial, Phenolic, Flavonoids, *Capsicum annum*, Antioxidant, Dried Pepper

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, konunun belirlenmesinden bitişine kadar, teorik ve deneysel hemen her aşamada öneri, destek ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın hocam Doç. Dr. H. AYSUN MERCİMEK TAKCI'ya,

Laboratuvar çalışmalarında bilgisini ve desteğini esirgemeyen ikinci danışmanım sayın Dr. Öğr. Filiz UÇAN TÜRKMEN'e ve Gıda Mühendisliği bölümüne,

Her zaman olduğu gibi bu çalışmada da bana yardım ve desteğini esirgemeyen kadim dostum Mustafa GÜNEŞ'e ve beni evlatları görerek bana kapılarını açan değerli ailesine,

Ayrıca laboratuvar aşamasında çalışmama katkılarından dolayı yüksek lisans öğrencisi sevgili Pemra BAKIRHAN'a,

Ve hem lisans hem de yüksek lisans eğitimimde maddi ve manevi desteğinin hiçbir zaman esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Mehmet Fatih EREN

Kilis, 2019

## İÇİNDEKİLER TABLOSU

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER TABLOSU.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Biber Hakkında Genel Bilgiler.....	2
1.1.1. Solanaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	2
1.1.2. Capsicum Cinsinin Karakteristik Özellikleri.....	3
1.1.3. <i>Capsicum annum</i> Türüne Ait Spesifik Bilgiler.....	3
1.2. Biberin Kullanım Alanları.....	5
1.2.1. Tıbbi Alan.....	5
1.2.2. Gıda Sanayisi Alanı.....	5
1.2.2.1. Kurutmalık Dolmalık Biber.....	5
1.3. Dünyada ve Türkiye’de Biber Üretimi.....	6
1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan İlişkisi.....	7
1.4.1. Doğal Antioksidanlar.....	8
1.4.2. Fenolik Maddeler.....	8
1.4.3. Flavonoid.....	9
1.4.4. Askorbik Asit.....	9
1.4.5. E vitamini.....	10
1.4.6. Karotenoidler.....	10
1.5. Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	10
1.6. Önceki Çalışmalar.....	11
2. MATERYAL VE METOT.....	12
2.1. MATEYAL.....	12
2.1.1. Bitkisel Materyal.....	12
2.1.2. Kullanılan Mikroorganizmalar.....	12
2.1.3. Kullanılan Çözeltiler.....	12

2.1.4.Kullanılan Besiyerleri .....	13
2.1.4.1. Mueller-Hinton Agar (MHA) .....	13
2.1.4.2. Nutrient Broth .....	13
2.2. METOT .....	14
2.2.1.Bitki ekstraktlarının hazırlanması .....	14
2.2.2.Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi .....	16
2.2.2.1.Disk Difüzyon Yöntemi .....	16
2.2.3.Ekstraktların Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi .....	16
2.2.3.1.DPPH Radikali Giderme Aktivitesi .....	16
2.2.3.2.Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitelerinin Tayini .....	17
2.2.3.3.İndirgeme Kapasitesi Tayini .....	17
2.2.3.4.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini .....	18
2.2.3.5.Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini .....	18
2.3 İstatiksel Analizler .....	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	20
3.1 Ekstraksiyon Verimi (%) .....	20
3.2 Total fenolik ve flavonoid madde içerikleri .....	24
3.3 Antioksidan Aktivite .....	30
3.3.1 Antioksidan aktivite analiz sonuçları .....	30
3.4. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları .....	37
4. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	41
KAYNAKÇA .....	42
ÖZGEÇMİŞ .....	49

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
$\delta$	Sigma
$\mu\text{M}$	Mikromolar
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
ANOVA	Kuadratik model varyans analizi
BHT	Butilhidroksitoluen
BHA	Bütilhidroksianisol
dak	Dakika
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
$\text{H}_2$	Hidrojen
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen peroksit
$\text{HCl}$	Hidroklorikasit
kcal	Kilokalori
L	Litre
M	Molar
mcg	Mikrogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre



mM	Milimolar
nm	Nanometre
$O_2^{\cdot-}$	Süper oksit
$OH^{\cdot-}$	Hidroksil
RE	Rutin eşdeğeri
$RO^{\cdot-}$	Alkoksil radikal
$ROO^{\cdot}$	Peroksit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TCA	Trikloro Asetik Asit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Biber kuruşu.....	12
Şekil 2.2. Kurutmalıkların toz haline getirilmesi .....	14
Şekil 2.3. Fenolik madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi .....	18
Şekil 2.4. Flavonoid madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi .....	19
Şekil 3.1. % ekstraksiyon verimi için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği .....	21
Şekil 3.2. % ekstraksiyon verimi yüzey yanıt grafiği .....	23
Şekil 3.3. Total fenolik (a) ve flavonoid içerik (b) için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği.....	26
Şekil 3.4. Total fenolik içeriğin yüzey yanıt grafiği .....	27
Şekil 3.5. Total flavonoid içeriğin yüzey yanıt grafiği .....	28
Şekil 3.6. a) DPPH, b) indirgeme kapasitesi ve c) metal iyonları şelatlama aktiviteleri için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği .....	32
Şekil 3.7. DPPH radikali giderme aktivitesi analizinin yüzey yanıt grafiği .....	34
Şekil 3.8. İndirgeme kapasitesi analizinin yüzey yanıt grafiği .....	35
Şekil 3.9. Metal iyonları şelatlama aktivitesi analizinin yüzey yanıt grafiği.....	36
Şekil 3.10. Antimikrobiyal aktivite sonuçları .....	39

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1. 2012-2016 Yılları Arası Dünya’da Üretilen Ortalama Biber Miktarı (FAO).6	
Tablo 1.2. 2015-2018 Yılları arası Türkiye’ de Üretilen Biber Miktarı (TÜİK)..... 7	
Tablo 2.1. Deneysel çalışmada incelenen parametrelerin seviye değerleri ..... 15	
Tablo 2.2. Üç bağımsız değişken için Box-Behnken deneme planı, 3 merkez noktalı (8, 10 ve 14) 15 deney ..... 15	
Tablo 3.1. Ekstraksiyon verimine yönelik deneysel ve tahmin edilen değerler.....20	
Tablo 3.2. % ekstraksiyon verimin için varyans analizi .....22	
Tablo 3.3. Total fenolik ve flavonoid içeriğine yönelik deneysel ve tahmin edilen değerler..... 24	
Tablo 3.4. Total fenolik ve flavonoid içerik için varyans analizi .....26	
Tablo 3.5. Antioksidan aktivite analizleri için Box- Behnken deneme planı deneysel ve tahmin edilen değerler.....31	
Tablo 3.6. Antioksidan aktivite analiz sonuçları varyans analizi .....33	
Tablo 3.7. Ekstraksiyon denemelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları.....37	

## 1.GİRİŞ

Bitkiler tarafından insan ve hayvanların yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan glikoz, aminoasit, yağ asidi, gliserol, vitamin gibi organik bileşikler üretilmekte ve hücrel solunumda kullanılan oksijen atmosfere salınmaktadır. İnsanlar için besin ve oksijen kaynağının yanı sıra birçok faydası olan bitkilerin en önemli faydalarından biride şüphesiz tıbbi amaçlı kullanılmasıdır. Tıbbi aromatik bitkiler çok eski tarihlerden bugüne kadar tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Arslan ve ark., 2001). Dünyada her geçen gün tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin antioksidan, antikanser ve antibakteriyel özellikleri belirlenmektedir. Bitki çeşitliliği açısından zengin olan ülkemizde yaklaşık 500 kadar tıbbi bitki olduğu tahmin edilmekte olup; bu bitkilerin yaklaşık 200 tanesinin ihrac potansiyelinin olduğu bildirilmektedir.(Baytop, 1999; Ekim ve ark., 2000; Aydın, 2004).Bu bitkiler antibakteriyel ve antioksidan gibi özelliklerinden dolayı insan hastalıklarının kontrolü içinde çok önemlidir (Güler ve ark., 2015).

Tıbbi bitkiler günümüzde birçok ilacın ana bileşenini oluşturmaktadır. Gelişen teknoloji ile birlikte birçok bitkinin analizleri yapılmaktadır. Özellikle tedavi edilemeyen ve çağımızın vebasası olarak adlandırılan kanser hastalığı için bitkisel tedavi yöntemleri araştırılmaktadır.

Ülkemizde birçok tıbbi bitki satılmakta ve halk tarafından tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Özellikle kış aylarında soğuk algınlığına karşı bitki çayları tüketilmektedir. Tohum, kök, dal, yaprak ve çiçek gibi bitki kısımlarının insan sağlığı üzerinde etkisinin bilimsel verilere dayandırılmaması; bu gibi tıbbi bitkileri hastalık tedavisi için kullanmanın kişi sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin de olabileceğini unutmamak gerekir.

İçerdiği kapsaisin, C vitamini gibi bileşiklerle güçlü bir antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olan biber (*Capsicum annum L.*) halkımız tarafından bolca tüketilmektedir. Özellikle kış aylarında yazın kurutulan dolmalık biberler soframızın vazgeçilmezleri arasındadır.

Bu çalışmada Kilis ve çevresindeki illerde üretilen dolmalık biber kurutmasının metanol ekstraksiyonlarının % verimi, *in vitro* fitokimyasal özellikleri ve antioksidan aktiviteleri

üzerinde sıcaklık, zaman ve biber konsantrasyon parametrelerinin etkileri yanıt yüzey metodolojisinin Box Behnken deney tasarım modeli kullanılarak optimize edilmiştir.

### **1.1. Biber Hakkında Genel Bilgiler**

Biber (*Capsicum annum*), Magnoliophyta (kapalı tohumlular) bölümünde Magnoliopsida (çift çenekliler) sınıfındaki, Solanales takımında, Solanaceae familyası içinde patlıcan, domates, patates ve tütün ile birlikte yer alır. *Capsicum* türleri Meksika, Güney Peru ve Bolivya kökenli olup; 5 ekili kültür ve yüzlerce varyete içerir (Grubben, 1977). Biber bitkisinin kökeni Orta Amerika ülkelerine dayanmaktadır. Yapılan sınıflandırma çalışmalarında *Capsicum* cinsinin orijinlerinin türlere göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Acı biberlerin Güney Brezilya ve Bolivya kökenli olduğu bildirilmiştir (McLeod ve ark., 1983; Pickersgill, 1984). Biber kültürünün Amerika üzerinden Avrupa'ya oradan da Çin ve Hindistan'a kadar yayıldığı bildirilmiştir. Ticari olarak üretilmeye başlaması 1600'lü yıllardan itibaren olmuştur (Dewitt ve Gerlach, 1990). Kültürü yapılan türleri ise *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Caspsicum chinens*, *Capsicum baccatum* ve *Capsicum pubescens*'dir (Pickersgil, 1997).

Biber, Türkiye'ye ise 1500-1600 yılları arasında Osmanlı Devleti zamanında birçok ülkeyle yapılan ticaret sonucunda girmiştir. Biberin, karabibere rakip olarak birçok ülkeye de pazarlandığı bildirilmiştir (Andrews, 1999).

#### **1.1.1. Solanaceae Familyasının Genel Özellikleri**

Solanaceae familyası çoğunluğu otsu bir kısmı odunlu türlerden oluşan kozmopolit bir familyadır. Genellikle salgı tüylüdürler ve çeşitli alkaloid sentezlerler. İletim demetleri bikolateral tiptedir. Yaprakları almaşlı, ayanın şekli çok çeşitlidir. Stipül yoktur. Çiçekler iki eşeyli, düzenli, 5 sepalli ve petallidir. Sepaller ve petaller birleşik genellikle çan veya huni şeklindedir. Karolla tüpüne bağlı 5 stamen vardır. Ovaryum üst durumlu iki karpelli (bazılarında 5) karpeller birleşik, ovül ve çok sayıdadır. Meyve çok tohumlu üzüksü ya da kapsüldür.

Familya üyelerinin birçoğu alkaloitler ve bazı çok yüksek toksik bileşenler içerir. Ayrıca skoloplamin, hiyosikamin ve nikotin gibi bileşenleri de içermektedir.

Solanaceae familyası, ekonomik açıdan da önemi olan bir bitki familyasıdır (Sarkinen ve ark., 2013). Patates, biber, domates ve patlıcan gibi sebzeler, büyük bir sanayi sektörü oluşturan tütün, güzel avratotu, adamotu, banotu gibi tıbbi önemi olan alkaloidler taşıyan bitkileri vardır. Gösterişli çiçeklerinden dolayı süs bitkisi olarak yetiştirilenler de vardır.

### **1.1.2. Capsicum Cinsinin Karakteristik Özellikleri**

Capsicum cinsinin anavatanı Güney ve Orta Amerika'dır. Biberin tüm doğal popülasyonları diploid kromozumlu ve aynı kromozom sayısına  $2n=24$ 'e sahiptir. Yabani biber türlerinde ise  $2n=48$  kromozoma rastlamak mümkündür (Krug, 1986). En az 25 yabani türü olduğu bildirilen Capsicum cinsinin günümüzde kültürü yapılan 5 türü bulunmaktadır. Bunlar; *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*, *Capsicum baccatum* ve *Capsicum pubescens*'dir.

#### **Capsicum cinsine ait morfolojik özellikler ise şunlardır;**

Boyu 2 metreye kadar uzanan tek yıllık otsu ve çok dallı bir bitkidir. Meyveleri şekil renk ve büyüklük bakımından farklılık göstermektedir. Yaprakları ise çevre koşullarına göre oval ve sivri uçlu şekilde olmaktadır. Çiçek renkleri türlere göre değişmekte ve beyaz ya da mor renktedir. Dişi ve erkek organ aynı çiçek üzerinde bulunduğundan erselik bir yapı göstermektedir. Dıştan bakıldığında 5 petalli, 5 sepalli, 5 erkek organlı ve 3-5 karpele sahip dişi organlı bir çiçek yapısı görülmektedir (IBPGR, 1983)

### **1.1.3. Capsicum annum Türüne Ait Spesifik Bilgiler**

**Alem:** Plantae

**Şube:** Magnoliophyta

**Sınıf:** Magnoliopsida

**Altsınıf:** Asteridae

**Takım:** Solanales

**Familya:** Solanaceae

**Cins:** Capsicum

**Tür:** *Capsicum annum* L

Yukardaki sistematığe sahip olan *Capsicum annum* L. türü hem ülkemizde hem de dünyada taze, kuru ya da toz şeklinde tüketilmektedir. Ayrıca ülkemiz de salça (paste)

şeklinde de tüketilmektedir. Başta C vitamini olmak üzere A, B1, B2, E ve K vitaminleri bakımından zengindir. Biberde ayrıca diğer sebzelerde nadir bulunan P vitamininde bulunur. Yapılan analizlerde 100 g yeşil tatlı biberde 29 kcal, 4,2 g karbonhidrat, 0,2 g yağ, 1,1g protein, 1,4 g selüloz ve 92,6 g su bulunduğu anlaşılmıştır (Keleş, 2007).

Askorbik asit ve oksidasyon sonucu oluşan dehidroaskorbik asit içeren C vitamini, antioksidan özellikleri nedeniyle insan vücudunda birçok biyolojik etkiye sahiptir (Davey ve ark., 2000; Yahia ve ark., 2001). C vitamini bakımından zengin olan biberin bir tanesi bile insanın günlük C vitamini ihtiyacını karşılayabilmektedir. Biberde bulunan C vitamini miktarı turunçgillerinkinden fazladır. Biberde, 340 mg/100 g kadar C vitamini bulunabilmektedir (Palevitch ve Craker, 1996).

Biberde acılık kantitatif kalıtım sonucu ortaya çıkar. Bu kalıtım birçok gen ve çevre faktörlerince belirlenir. Acılık derecesi, Capsicum tür ve çeşidine göre değişmekle birlikte ve meyvenin gelişim evresi gibi farklı etmenlerden de etkilenmektedir (Rahman ve Inden, 2012). Ayrıca acılık derecesi içerdiği kapsaisin oranına göre değişmektedir. Biberde acı olmasını sağlayan madde kapsaisin ( $C_{18}H_{27}O_3N$ )'dir. Kapsaisin güçlü bir alkaloid olup soğuk ve sıcak şartlara karşı dirençlidir (İşlek, 2009). Biberin yapısında kapsaisin, homokapsaisin, homodihidrookapsaisin, dihidrookapsaisin ve nordihidrookapsaisin olarak adlandırılan kapsaisinoid çeşitleri bulunmaktadır. Biber türlerinde kapsaisinoid içeriğinin farklılık gösterdiği açıklanmıştır (Thomas ve ark., 1982). Kapsaisinoidler genellikle biberde tohumlarda ve plasenta bölgesinde bulunur (Dong, 2000).

Biberlerde, antioksidanlar, antiinflamatuvar, antialerjenik ve antikanserojen aktiviteler gösteren birçok biyokimyasal ve farmakolojik özelliğe sahip fitokimyasal bileşik vardır (Lee ve ark., 2005). Askorbik asit, karotenoidler, tokoferoller, flavonoidler ve kapsaisinoid gibi fitokimyasal bileşimler biberde çokça bulunmaktadır. Ayrıca biber, antioksidan, antimutajen, hipokolestoremik ve immuno baskılayıcı özelliklere sahip olduğundan bakteriyel gelişimleri inhibe ederek antibakteriyel aktivite göstermektedir (Orobiyi ve ark., 2013).

Biber bitkisi, domates veya patatesinki gibi beyaz çiçekler üreten küçük, gür, otsu tek yıllık bitkidir. Meyveleri yüzlerce çeşit arasında şekil, boyut ve renk açısından farklılık gösterir. Olgunluğa erişmemiş meyveleri yeşil renklidir. Olgunlaşınca sarı, turuncu ve kırmızı renklerini alabilmektedir. Biberlerin kırmızı rengi, olgunlaşma sırasında sentezlenen çeşitli karotenoid pigmentleri sayesinde olmaktadır. Bu karotenoidler kapsantin, kapsorubin ve kripto-kapsin'dir (Deepa ve ark., 2007).

## **1.2. Biberin Kullanım Alanları**

### **1.2.1. Tıbbi Alan**

Biberde bulunan biyoflavonoid (P vitamini) kan basıncını ayarlar ve kan dolaşımını uyarır. Biber sindirim sisteminde mide ve salgı bezleri üzerine etki ederek daha iyi çalışmalarını sağlar. Suyunu sıkıp sürüldüğünde romatizmaya faydalı olduğu bildirilmiştir (Baytop, 1999 ; Lee ve ark., 2003). Biberde bulunan kapsaisin maddesi mide ve bağırsak hareketlerini hızlandırır, hazımı kolaylaştırır, emilimi teşvik eder ve peristaltik hareketleri hızlandırır (Şalk ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda kapsaisinin serumda kolesterol düzeyine etki ettiği belirlenmiştir (Srinivasan ve Sambaiah, 1991). Kapsaisinin kandaki kolestrol ve trigliserit değerlerinin azalmasını sağlayarak damar sertliği (ateroskleroz) oluşma olasılığını azalttığı bildirilmiştir (Kawada ve ark., 1986). Kapsonoidler, farmasötik endüstrisinde nörolojik etkinlikleri bakımından önemli olan alkaloidlerdir (Hayman ve Kam, 2008). Ayrıca olgun kırmızı biberlerin kanser riskini azaltabileceği de ispatlanmıştır (Nishino ve ark., 2009).

### **1.2.2. Gıda Sanayisi Alanı**

Polien alkol grubundan önemli renk maddeleri içeren kırmızıbiber, bu yönüyle gıda sanayisinde boyar madde olarak kullanılmaktadır. Yumurta sarısını koyulaştırması sebebiyle de tavuk yemi yapımında da kullanılmaktadır (Arıkan B, 2004).

Biber Türk mutfağında taze, toz biber, salça ve kurutmalık olarak çeşitli yemeklerde kullanılarak tüketilir. Bunların yanında turşusu da yapılmakta ve tüketilmektedir. Ayrıca gıda sanayisinde biberden ketçap ve acı sos da üretilmektedir.

#### **1.2.2.1. Kurutmalık Dolmalık Biber**



Gıda maddelerinin bozulmaması için kullanılan en eski muhafaza yöntemi kurutmadır. Gıdaların büyük bir kısmı belli oranlarda su içerir. Mikroorganizmaların üreme ve gelişmeleri için yapacakları enzimatik reaksiyonlar için su gereklidir. Bu suyun uzaklaştırılması gıdaları, mikroorganizmaların gelişimiyle meydana gelen çürümelere, kokuşmaya ve bozulmaya aynı zamanda enzimatik reaksiyonlara ve oksidasyona karşı korumaktadır. Ayrıca taşıma ve depolamada kolaylık sağlayacak daha düşük ağırlık ve hacimde olmalarına olanak sağlar (Brasiello ve ark., 2013). Kurutma öncesinde yapılacak yıkama işlemiyle meyve ve sebze üzerindeki kirler ve kirlerle birlikte mikroorganizmaları uzaklaştırılır böylece mikrobiyal yük azalmış olur (Susuz ve ark., 2009).

Gaziantep, Kilis ve Kahramanmaraş gibi güney ve güneydoğu illerinde yazın mahsul edilen patlıcan, biber, domates, bamy ve kabak gibi gıdalar kurutulmuş kışında lezzetli şekilde tüketilmektedir. Yöre halkı tarafından bahçelerden veya manavlardan elde edilen dolmalık biberler; yıkama, ayıklama, tohumunu ve sapını çıkarma işlemlerinden sonra iplere takılarak güneş altında kurutulmaktadır.

### 1.3.Dünyada ve Türkiye’de Biber Üretimi

Biber dünyanın en önemli sebze ve baharat bitkilerinden bir tanesidir (Zewdie ve ark., 2004). Tüm dünya da olduğu gibi ülkemizde de kültürü yapılan ve ihracatı gerçekleştirilen önemli bir sebze türüdür. 2012-2016 yılları arasında FAO verilerine göre dünya genelinde her yıl ortalama 27 milyon biber üretildi; bu yıllar arasında en çok üreten ülke 16.3970.997 milyon ton ile Çin ilk sırada yer alırken 2.436.796 milyon ton ile Meksika ikinci sırada; 2.195.872 milyon ton ile Türkiye 3. Sırada yer almaktadır.(Tablo 1.1). Biber üretim miktarı her yıl %4-10 arasında artmaktadır (Anon, 2007).

**Tablo 1.1.** 2012-2016 Yılları Arası Dünya’da Üretilen Ortalama Biber Miktarı (FAO)

ÜLKELER	ÜRETİM (ton)	ORAN(%)
ÇİN	16.397.097	60.51
MEKSİKA	2.436.796	8.99
TÜRKİYE	2.195.872	8.10
ENDONEZYA	1.846.929	6.81
DİĞERLERİ	4.219.652	15.57
<b>Toplam</b>	<b>27.096.346</b>	<b>100</b>

Ülkemizde 2018 TÜİK verilerine göre 1.128.060 ton salçalık biber; 397.175 ton dolmalık biber; 930.349 ton sivri biber; 99.390 ton ise çarliston biber olmak şartıyla toplam 2.554.974 ton biber üretilmiştir.(Tablo 1.2).

**Tablo 1.2.** 2015-2018 Yılları arası Türkiye’ de Üretilen Biber Miktarı (TÜİK)

Yıllar	Salçalık	Dolmalık	Sivri	Çarliston	TOPLAM
2015	879.775	393.109	919.004	115.568	2.307.456
2016	957.030	418.435	967.466	114.891	2.457.822
2017	1.107.713	420.904	945.361	134.194	2.608.172
2018	1.128.060	397.175	930.349	99.390	2.554.974

#### 1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan İlişkisi

Hücrelerde meydana gelen birtakım kimyasal tepkimeler sonucunda serbest radikaller oluşur (Akkuş, 1995). Bir ya da birden fazla eşlenmemiş elektronu bulunan atom ya da moleküllere serbest radikaller denilmektedir. Bileşiğin üzerinde yer alan nokta (·) işareti elektronlarının ortaklaşmamış olduğunu gösterir. Eşleşmemiş elektronu sayesinde oldukça reaktif olan bu maddeler herhangi bir etkileşim içine girerek elektron alırlar ya da kaybederler. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), peroksit ( $ROO^{\cdot}$ ), hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), gibi oksijen ihtiva eden serbest oksijen radikalleri kararsız yapıya sahip olduğundan kolay bir şekilde reaksiyona giren bileşiklerdir. Serbest radikaller ve reaktif oksijen çeşitleri insan vücudunda ya temel metabolik faaliyetler sonucu ya da dış kaynaklardan elde edilir.

Serbest radikaller, hücre içinde kimyasal reaksiyonlara ve protein oksidasyonuna neden olurlar. Ayrıca DNA'nın hasar görmesini ve hücre içinde lipit peroksidasyonu sağlarlar (Kil ve ark., 2009). Bağışıklık sistemi elemanlarından nötrofil ve makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmaları için gerekli olan bu serbest radikallerin çok sayıda üretilmesi doku hasarına ve hücrelerin ölmesine yol açmaktadır (Halliwell ve ark., 1992). Bu maddeler vücudun sağlıklı hücrelerine saldırabilir ve lipidler, proteinler, nükleik asitler ve diğer küçük moleküller ile reaksiyona girerek yapılarını ve işlevlerini yitirmelerini sağlar (Moure ve ark., 2001). Canlı organizmanın serbest radikallerin zararlı faaliyetlerinden kendilerini koruması için antioksidatif gibi bir korunma sistemine sahip olduğu belirlenmiştir. Antioksidanlar çok sayıda radikal oluşumunun sınırlandırılmasından radikal reaksiyonlarının durdurulmasından ve hasarlı olan

moleküllerin ortadan kaldırılmasından sorumlu moleküllerdir (Gönenç ve ark., 2002). Bir antioksidan, H<sub>2</sub> veya elektronları serbest radikallere vererek ya da lipidlerin oksidasyon oranını azaltarak oksidasyonu önleyen veya inhibe eden bir ajandır.

Yapılan bazı çalışmalarda meyve ve sebzelerdeki askorbik asit, α-tokoferol, karotenoidler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi doğal bileşiklerin reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Halvorsen ve ark., 2002). Antioksidanlar vücuda olumsuz etkiler yapan serbest radikallerle birtakım reaksiyonlara girerek bunların neden olduğu reaksiyonları durdurur ve böylece vücudumuzdaki önemli yapıların hasar görmesini engeller. Bu zincir reaksiyonların devam etmesine izin verilirse, hücrel bileşenlere zarar verebilir ve hücrelerin ve hatta tüm organizmanın ölümüne neden olabilir.

Antioksidanlar, çok düşük miktarlarda dahi serbest radikallerin sebep olduğu organik bileşiklerin oksidasyonunu durduran bileşiklerdir. Antioksidanlar yapay ve doğal olmak üzere iki kısma ayrılır. Doğal antioksidanların önemli bir kısmının bitkisel kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Bunlara örnek olarak askorbik asit (C vitamini), α-tokoferol (E vitamini), karotenoidler, polifenoller ve flavonoidler verilebilir. Bu doğal olan antioksidanların en önemli grubu ise fenolik maddelerdir (Rice-Evans ve ark., 1997).

#### **1.4.1. Doğal Antioksidanlar**

#### **1.4.2 Fenolik Maddeler**

En az bir aromatik halkaya sahip ve buna bağlı bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren kimyasal bileşenlerdir. Bitkilerde yaygın olarak bulunan bu maddeler bitki metabolizmasında sekonder metabolit olarak üretilir. İnsanlar fenolik bileşikler üretemezler. Bu nedenle, bu bileşikler esas olarak günlük diyet yoluyla alınmalıdır (Materska ve Perucka, 2005).

Antioksidan rollerine ek olarak, fenolik bileşikler biber rengini, lezzetini ve keskinliğini belirlemede önemlidir (Estrada ve ark., 2002). Polifenolik bileşikler potansiyel antioksidan bileşiklerdir ve serbest radikalleri önleyerek, metalleri tutuklayarak ve lipid peroksidasyonunu önleyerek işlev görürler (Durmaz, 2002). Bitki fenolleri, redoks özelliğinden dolayı tepkimelerde indirgeyici ajan hidrojen verici, tekli oksijen önleyici ve metal şelatlayıcı olarak etkilerini gösterirler (Can ve ark., 2005).

### 1.4.3.Flavonoid

Flavonoidler, bir C6-C3-C6 konfigürasyonunda düzenlenen, on beş karbon atomundan oluşan düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bitkilerin tohum, çiçek, yaprak ve kabuk kısımlarında 4000'in üzerinde farklı yapıda flavonoidin olduğu belirlenmiştir. Flavonoidin molekül yapısı; aromatik A halkası ve bunun yanında bulunan heterosiklik C halkası ile bu halkaya bağlı ikinci aromatik B halkasından oluşmaktadır. Fenolik hidroksil grubu ise bu halkalara bağlanarak bu moleküllerin antioksidan etkiye sahip olmalarını sağlar. Farklı bitki türlerinde veya aynı bitkinin değişik kısımlarında bulunan flavonoidler de büyük yapısal farklılıklar vardır (Cadenas, E.ve Packer, L. 2002).

Flavonoidler, antioksidan etkilerini;

- ksantin oksidaz ve siklooksijenaz gibi enzimlerin çalışmasını durdurarak
- metal iyonları ile birlikte şelat yapı oluşturarak,
- başka antioksidanlar ile etkileşim içine girerek,
- süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri gibi bazı serbest radikalleri yakalayarak etkilerini göstermektedirler (Can ve ark., 2005).

### 1.4.4. Askorbik Asit

C Vitamini, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalini nötralize eden suda çözünür bir antioksidandır (Podsdek, 2007). Altı karbonlu bir lakton yapısına sahiptir (Cadenas, E.ve Packer, L. 2002). C vitamini bitkilerde kloroplastlarda fotosentez sonucu sentezlenirken birçok hayvanın karaciğer ve böbreklerinden glikoz monomerlerinden sentezlenmektedir (Wheeler ve ark., 1998). İnsanlar bu vitamini vücutta sentezleyemezler (Woodall, A. ve Ames, B. 1997). C vitaminin suda çözündüğünden depo edilemez ve fazlası idrarla dışarı atılır. Bu yüzden günlük gereksinimlerini sebze ve meyve tüketerek karşılamaktadırlar (Bendich, 1997). C vitamini; çilek, portakal, kivi, greyluft, kavun ve mango gibi birçok meyvede brokoli, Brüksel lahanası, kırmızı veya yeşil biber, domates, lahana, patates ve karnabahar gibi birçok sebze de ayrıca meyve sularında fazla miktarlarda bulunur (Cadenas E. ve Packer, L. 2002). C vitamini süper oksit, singlet oksijen ve ozon gibi reaktif oksijen türlerini; azot dioksit, peroksinitrit gibi reaktif azot türlerini ve hipoklorik asit gibi reaktif klor

türlerini kolay bir şekilde süpürür ve substratlarını oksidatif hasarlardan korurlar (Hallıwell, 1996).

#### **1.4.5. E vitamini**

E vitamini yağda çözünen bir vitamindir ve ihtiyaçtan fazlası depo edilir. E vitamini ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) tokoferollerini ve tokotrienolleri grubunu içermektedir. Özellikle  $\alpha$ -tokoferoller en yüksek biyolojik aktiviteye sahiptirler (Bjorneboe ve ark., 1990 ; Brigelius-Flohe ve ark., 1999).  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidanlar, serbest radikalleri ve lipid peroksit radikallerini temizleyerek onların vücutta yaptıkları hasarı onarırlar (Tüzün ve Garip, 2005). E vitaminini önemli bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. Ayrıca lipid peroksidasyonuna karşı savunma yaptığı ve hücre zarlarını da serbest radikal saldırısına karşı koruduğu düşünülmektedir (Horwitt 1986; Van Gossum ve ark.,1988). Gıdaların büyük bir çoğunluğunda eser miktarda dahi olsa bulunmaktadır.

#### **1.4.6. Karotenoidler**

Bitkisel ve hayvansal dokularda rastlanan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Yağda çözünebilen bileşiklerdir. Karotenoidler özellikle sarı ve koyu yeşil renkli sebze ve meyvelerde bulunurlar. Karoten, karotendioksigenaz enziminin merkezdeki çift bağı kırmasıyla A vitaminine dönüşür. Gıdalarda bulunan karotenoidler, sekiz izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşmuş likopen türevi polienlerdir. Karotenoidler, özellikle likopen, güçlü singlet oksijen süpürücü olarak rol oynarlar; hücre ve diğer vücut komponentlerini serbest radikallerin saldırılarından korurlar (Durmaz, 2002). Gıdalarda bulunan karotenoidlerin en önemlileri  $\alpha$  ve  $\beta$  karoten, likopen ve  $\beta$ -kriptoksantin'dir (Can ve ark., 2005).

### **1.5. Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktivitesi**

Günümüzde pek çok patojen mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı direnç kazanması bilim adamlarını yeni antimikrobiyal ajanlar aramaya sevk etmiştir. Bitkiler antimikrobiyal ajanlar için önemli bir kaynak oluşturmaktadırlar. Bitkisel olmayan ilaçlarla yapılan tedavilerde bu ilaçların vücudumuza yan etkileri olabilmektedir. Ayrıca bitkisel olmayan ilaçlar bir etkiye sahip iken, bitkisel olan ilaçlar ise birden fazla etkiye sahiptirler (Baytop, 1984).

## 1.6. Önceki Çalışmalar

Topak ve ark., (2008) yılında yaptıkları çalışmada Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde kültürü yapılan biberlerin (*C. annuum*) antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada etil alkollü tüm biber ekstraktlarının *Micrococcus luteus*'un gelişmesini engellediği bildirilmiştir. Yine etil alkollü ekstraktlarının *L. monocytogenes*'in gelişmesini durdururken; hekzanlı ve kloroformlu ekstraktlarının belirtilen bakterileri inhibe etmediği vurgulanmıştır.

Marin ve ark., (2004) tatlı biberler üzerine yaptıkları çalışmada fenolik, flavonoid ve antioksidan içeriğini belirlemişlerdir. Antioksidan içeriğinin olgunlaşmamış yeşil biberde en yüksek olduğunu ve C vitaminin ise en yüksek kırmızı olgun biberlerde olduğunu bildirmişleridir.

Dorantes ve ark., (2002) yaptıkları araştırmada, *Capsicum annuum* ekstraktlarının, bazı patojen bakterileri üzerindeki etkisinin araştırmak istemiş ve biber ekstraktlarının *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* ve *B. cereus*'un gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.

Vega Galvez ve ark., (2009) yılında *Capsicum annum L. hungarian* üzerinde yaptıkları çalışmada biber rengi , antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Yaptıkları analizler sonunda kırmızı renkli biberlerin yüksek fenolik içeriğe ve antioksidan kapasiteye sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Kim ve ark., (2011) yılında yaptıkları çalışmada Kore'de kültürü yapılan *Capsicum annum* türünün kırmızı ve yeşil renkli olan biberlerinin antioksidan aktivitesini ve fitokimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Çalışma sonunda kırmızı acı biberin yeşil acı biberden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve kırmızı acı biberin, yeşil acı biberden daha yüksek fitokimyasal bileşen içerdiğini tespit etmişlerdir.

Materska ve ark., (2003) yılında yaptıkları çalışmada kırmızı acı biber üzerinde toplam fenolik ve flavonoid bileşenlerin izolasyonunu yapmışlardır. Bu bileşenleri belirlemek için HPLC yöntemini kullanmışlardır. Analizler sonunda kırmızı acı biberde yüksek fenolik ve flavonoid bileşen olduğunu tespit etmişlerdir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. MATEYAL

#### 2.1.1.Bitkisel Materyal

Bu çalışmada materyal olarak Kilis ilinde bulunan aktarlardan yazın mahsulü yapılan acı biber (*Capsicum annum L.*) kurutmalıkları kullanılmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Biber kurusu

#### 2.1.2.Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmamızda kullanılan mikroorganizmalar Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünün kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

- *Escherichia coli* ATCC 8739
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P
- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

#### 2.1.3.Kullanılan Çözeltiler

- **DPPH çözeltisi:** 0.025 g/L konsantrasyonda DPPH çözeltisi metanol içinde hazırlanarak kullanılmıştır.
- **%7.5'lik NaHCO<sub>3</sub> çözeltisi:** 11.25 g NaHCO<sub>3</sub> 150 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

- **%10'luk Folin ayracı:** Hazır folin ayracından %10'luk konsantrasyonda saf su içerisinde hazırlanmıştır.
- **%5'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisi:** 5 g NaNO<sub>2</sub> 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **%10'luk AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O çözeltisi:** 10 g AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **1 M'lık NaOH çözeltisi:** 8 g NaOH 200 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **2 mM'lık FeCl<sub>2</sub> çözeltisi:** 0.004 g FeCl<sub>2</sub> 10 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **5 mM'lık Ferrozin çözeltisi:** 10 ml çözelti hazırlamak için 0.024 g ferrozin 10 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **0.2M'lık Fosfat Tamponu (pH 6.6):** Bu tampon KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (27.218 g/L) ve Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (28.392 g/L) çözeltilerinin pH 6.6 olacak şekilde karıştırılması ile hazırlanmıştır.
- **%1'lik K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> çözeltisi:** 1 g K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **%10'luk TCA çözeltisi:** 10 g TCA 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **%1'lik FeCl<sub>3</sub> çözeltisi:** 1 g FeCl<sub>3</sub> 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- **%0.9 Fizyolojik Tuzlu Su:** 0.9 g NaCl 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmış ve 121°C'de 15 dak. steril edilerek kullanılmıştır.

#### 2.1.4.Kullanılan Besiyerleri

##### 2.1.4.1. Mueller-Hinton Agar (MHA)

Metanol ve saf suda hazırlanmış biber ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi için kullanılmıştır.

Kazein asit hidrolizatı 17,5 g/L, Sığır eti ekstraktı 2,0 g/L, Nişasta 1,5 g/L, Agar Agar 13,0 g/L.

**Hazırlanışı:** Besiyeri 34,0 g/L konsantrasyonunda saf su içerisinde çözünerek 121°C'de 15 dak. otoklavda steril edilmiştir.

##### 2.1.4.2. Nutrient Broth



Antimikrobiyal analizlerinde standart suşların bir gecelik kültürlerinin geliştirilmesi için kullanılmıştır.

**İçeriği:** Et pepton 5,0 g/L, Et özü 8,0 g/L

**Hazırlanışı:** 8,0 g/L olacak şekilde saf suda çözünen hazır besiyerinden 5 mL burgulu kapaklı tüplere aktarılıp ve 121°C’de 15 dak. otaklavda steril edilerek kullanılmıştır.

## 2.2. METOT

### 2.2.1.Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Kilis ili aktarlarından alınan biber kurutmalıkları parçalanarak öğütücüde toz haline getirilmiştir (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Kurutmalıkların toz haline getirilmesi

Box Behnken deneysel tasarım modeli ile ekstraksiyonun optimizasyon çalışmaları sürdürülmüştür. Çözücü olarak metanolun kullanıldığı Box Behnken deneysel modelinde ekstraksiyon çalışmalarında kullanılan bağımsız değişkenler Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Deneysel çalışmada incelenen parametrelerin seviye değerleri

Seviye No	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Biber kuru konsantrasyonu (mg/20 mL)
-1	25	30	500.00
0	42.5	45	750.00
1	60	60	1000.00

Box-Behnken, 2 seviyeli 3 faktöriyelik tasarımda tüm değişkenlerin ( $X_1$ ,  $X_2$  ve  $X_3$ ) orta değerlerinin alındığı merkez noktada toplamda 15 adet deney noktası içermektedir. 3 adet bağımsız (Sıcaklık, Zaman ve Biber kuru konsantrasyonu) değişkenin belirlendiği modelde tüm analizler 3 tekrarlı yürütülmüştür (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2.** Üç bağımsız değişken için Box-Behnken deneme planı, 3 merkez noktalı (8, 10 ve 14) 15 deney

Deney No	$X_1$ (SICAKLIK)	$X_2$ (ZAMAN)	$X_3$ (KONSANTRASYON)
1	1	-1	0
2	-1	0	1
3	1	1	0
4	0	-1	1
5	-1	1	0
6	-1	0	-1
7	1	0	1
8	0	0	0
9	-1	-1	0
10	0	0	0
11	0	-1	-1
12	0	1	-1
13	1	0	-1
14	0	0	0
15	0	1	1

Optimizasyon modeline uygun prosedürü takiben biber kurutmalıkları filtre (0.45  $\mu$ m) edilerek ekstraksiyondan uzaklaştırılmıştır. Falkon tüplerine aktarılan biber ekstraktları

antioksidan ve antimikrobiyal aktivite analizlerinde kullanılabildiği kadar +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

## **2.2.2.Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi**

### **2.2.2.1.Disk Difüzyon Yöntemi**

Antimikrobiyal analizler Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak sürdürülmüştür. Mikroorganizmaların bir gecelik kültürlerinin yoğunluğu steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak 0.5 McFarland standart bulanıklığa ayarlanmıştır. Mueller Hinton Agar besiyeri yüzeyine steril eküvyon çubuğu ile inokülasyonu takiben 6 mm çaplı steril blank diskler steril penset yardımı ile agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Her bir biber ekstraktlarının 20 µl’si blank disklere emdirilmiştir. Test edilen her mikroorganizma türüne spesifik pozitif kontrol kullanılmıştır. *Escherichia coli* için Tetrasiklin (30 mcg/disk); *Staphylococcus aureus* için Metisilin (5 mcg/disk); *Candida albicans* için Amfoterisin B (20 mcg/disk); *Pseudomonas aeruginosa* için Polimiksin B (300 unite/disk) kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak steril blank disklere 20 µl metanol emdirilmiştir. Disklerin eşit aralıklarla yetiştirildiği plaklar bakteriyel suşlar için 37°C’de 12-24; mantar suşları için 28-30°C’de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresini takiben disklerin etrafında bakterilerin üremediği şeffaf zonların varlığı incelenmiştir. Tüm antimikrobiyal analizler üç tekrarlı yürütülmüştür.

## **2.2.3.Ekstraktların Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi**

### **2.2.3.1.DPPH Radikali Giderme Aktivitesi**

Blois’in (1958) bulduğu serbest radikal giderme metodu örneklerin bir elektron veya proton verebilme yeteneğine bağlı olarak DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltilisinin renginin açılması esasına dayanmaktadır.

Biber ekstraktlarının 100 µl’si metanol içinde çözülmüş DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltilisinin 3.9 mL’sine eklenmiştir. Reaksiyon gerçekleşmesi için karışım 120 dak. karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra reaksiyon karışımı 515 nm dalga boyunda okutulmuştur. Biber ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Standart olarak 200-

1000 µg/mL konsantrasyonda BHT (Butilhidroksitoluen) kullanılmıştır. Örnek yerine metanolün ilave edildiği tüplerin absorbansı kontrol olarak değerlendirilmiştir.

$$\text{DPPH inhibisyonu (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{Kontrol}} - \text{Abs}_{\text{Numune}}) / \text{Abs}_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

### **2.2.3.2. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitelerinin Tayini**

Biber ekstraktlarının  $\text{Fe}^{+2}$  iyonlarını şelatlama aktivitelerini belirlemek için Dinis ve ark., (1994) buldukları metot uygulanmıştır. Belirtilen yöntemle göre demir şelatlama gücü yüksek olan ferrozinle, ekstraktlarda bulunan metal bağlayıcı bileşiklerin yarışması esasına dayanmaktadır. Eğer ekstraktlar içinde bulunan bileşiklerin demir bağlama gücü yüksekse kırmızı renkli olan Ferrozin+ $\text{Fe}^{+2}$  kompleksinin oluşumu engellenecektir.

Biber ekstraktlarının 1 mL'sine 3,7 mL saf su ve 100 µL 2 mM  $\text{FeCl}_2$  çözeltisi eklenmiştir. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben karışıma 200 µL 5 mM ferrozin çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış (vortekslenmiş) ve 10 dak. sonra karışımların absorbans değerleri 562 nm'de ölçülmüştür. Standart olarak 50-250 µg/mL konsantrasyonda EDTA kullanılmıştır. Örnek yerine çözücü olarak kullanılan metanolden 1 mL konularak kontrol çalışılmıştır.

Ferrozin- $\text{Fe}^{+2}$  kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

% Şelatlama Aktivitesi:

$$(1 - (\text{562 nm'de Örnek Absorbansı} / \text{562 nm'de Kontrol Absorbansı})) \times 100$$

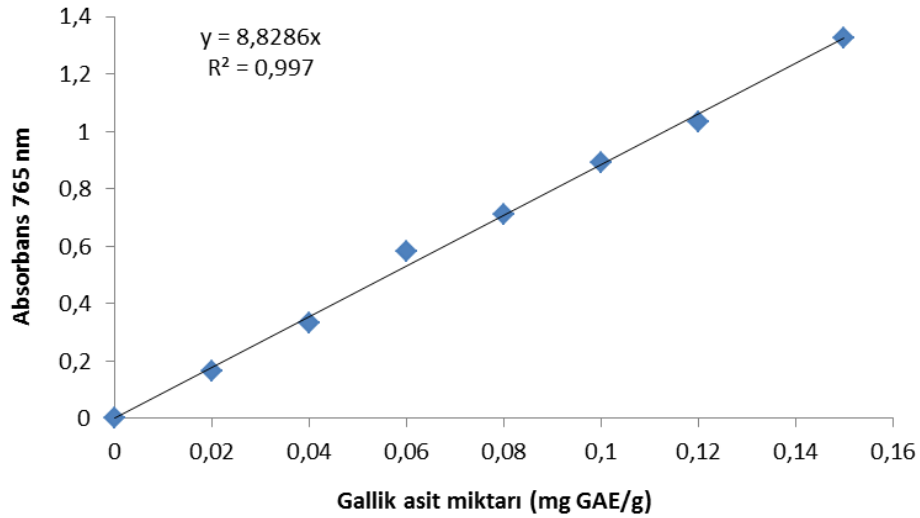
### **2.2.3.3. İndirgeme Kapasitesi Tayini**

Oyaizu'nun (1986) belirlediği metotla biber ekstraktlarımızın indirgeme kapasitesi belirlenmiştir. Bu metotta örneklerin içinde bulunan indirgen maddenin  $\text{Fe}^{+3}$  iyonunu  $\text{Fe}^{+2}$  iyonuna indirgenmesi test edilmektedir. Ortama  $\text{FeCl}_3$  eklenmesiyle Prusya mavisi rengini alan yeni karışımın absorbans değeri ölçülür. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesine işaret etmektedir. Biber ekstraktlarının 1 mL'sine, 2,5 mL fosfat tamponu (0,2 M pH 6,6) ve 2,5 mL %1'lik  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 50°C'de 20 dak inkübe edilmiştir. 2,5 mL %10'luk TCA eklenmiş ve 2500 rpm'de 10 dak santrifüj edildikten sonra 2,5 mL alınan örneklere eşit hacimde saf su ve 0,5 mL

%0,1'lik FeCl<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilmiştir. Ve reaksiyon karışımlarının absorbansı 700 nm'de okunmuştur. Standart olarak BHA (Bütilhidroksianisol) kullanılmıştır.

#### 2.2.3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Biber ekstraktlarındaki toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu kalorimetrik metodu ile belirlenmiştir. Biber ekstratlarının 500 µL'sine %7,5'lik NaHCO<sub>3</sub> çözeltisinden 2,5 mL eklenmiştir. Karışıma %10'luk Folin-Ciocalteu ayracından 2.5 mL ilave edilmiştir. 45°C'de 45 dak. su banyosunda inkübasyonu takiben tüplerdeki renk değişimi takip edilmiştir. Örneklerin absorbansı 765 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur (Biochrom, Libra S60, B, England). Sonuçlar mg GAE/g gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir (Stankovic, 2011). Farklı konsantrasyonda standart gallik asit kullanılarak çizdirilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen formüle göre ekstraktlardaki fenolik madde miktarı hesaplanmıştır (Şekil 2.3).

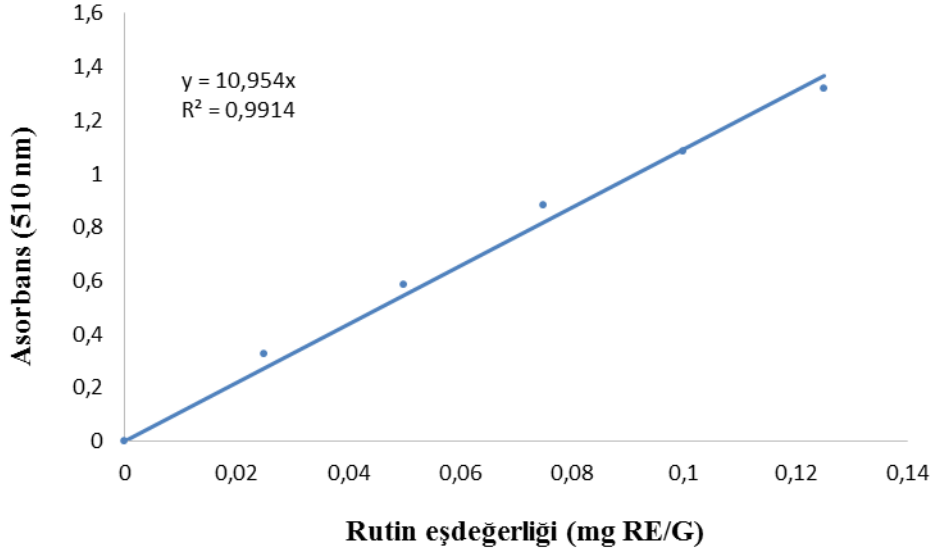


Şekil 2.3. Fenolik madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi

#### 2.2.3.5. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Ekstraktlar 1:5 oranda saf su ile seyreltilmiş ve %5'lik 300 µL NaNO<sub>2</sub> eklenerek oda sıcaklığında 5 dak. inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası reaksiyon karışımına 600 µL %10'luk AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O eklenmiş tekrar 5 dak. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 1 M'lık NaOH'dan 2 mL ilave edilmiş ve karışım saf su eklenerek son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır. 510 nm'de karışımın absorbansı okutulmuştur (Sharm ve Vig 2013).

Sonuçlar mg RE/g rutin eşdeğeri (RE) olarak ifade edilmiştir. Çizdirilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen formüle göre ekstraktlardaki flavonoid madde miktarı hesaplanmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Flavonoid madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi

### 2.3 İstatiksel Analizler

Tablo 2.2’de verilen deney planına göre üç bağımsız değişkenin incelendiği 2 dereceden yanıt yüzey modelinde polinomal denklem kullanılarak her bir faktör değerlendirilmiştir. Modele ilişkin eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^N \beta_i \times X_i + \sum_{i=1}^N \beta_{ii} \times X_i^2 + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \beta_{ij} \times X_{ij}$$

Buna göre Y sistemin cevabı, N değişken sayısı (N=3),  $X_i$  ve  $X_j$  bağımsız değişken,  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  ve  $\beta_{ij}$  sabit ve modelin regresyon katsayısını ifade etmektedir. Veri analizleri için “Design Expert statistical software” (Design Expert 8.0.7) kullanılmıştır. Modelin uyumluluğu **kuadratik model varyans analizi** (ANOVA) ile test edilmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1 Ekstraksiyon Verimi (%)

*Capsicum annum* L'nin biber meyveleri ve tohumları gibi bitkinin farklı kısımlarını materyal olarak kullanarak ekstraksiyon çalışmaları sürdürülmüştür (Perucka ve Materska, 2007; Sim ve Sil 2008; Castro-Concha ve ark., 2014). Bu çalışmalarda ekstraksiyon metotları ve kullanılan çözücülere bağlı olarak ekstraksiyon veriminin de değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Pek çok çalışmada çözücülerin polaritesinin ekstraksiyon verimi üzerinde etkili en önemli parametre olduğu belirtilmekte olup, fenolik bileşiklerin yüksek polaritedeki çözücülerde yüksek verimde çözünmesi sebebiyle modelimiz planlanırken polarite indeksi yüksek çözücü metanol (6.6) tercih edilmiştir. Box Behnken deneme planı ile elde edilen ekstraksiyon verimine yönelik deneysel değerler ve tahmin edilen değerler Tablo 3.1 'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Ekstraksiyon verimine yönelik deneysel ve tahmin edilen değerler

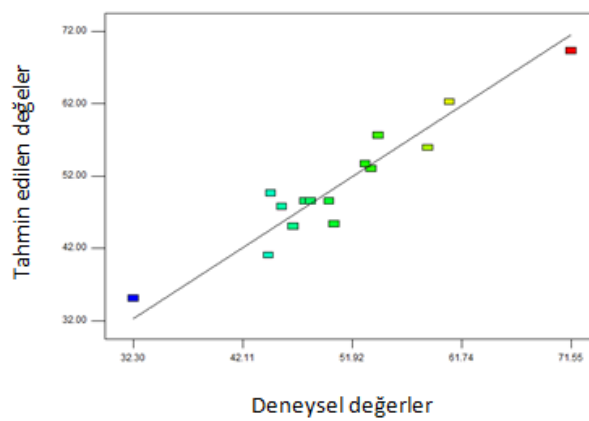
Deneme no	Sıcaklık (°C)	Zaman (dak)	Konsantrasyon (mg/20 mL)	% ekstraksiyon verimi	
	X1	X2	X3	Deneysel	Tahmin Edilen
1	60.00	30.00	750.00	53.64	53.04
2	25.00	45.00	1000.00	71.55	69.34
3	60.00	60.00	750.00	50.32	45.33
4	42.50	30.00	1000.00	58.71	55.93
5	25.00	60.00	750.00	53.11	53.71
6	25.00	45.00	500.00	44.43	41.05
7	60.00	45.00	1000.00	54.26	57.64
8	42.50	45.00	750.00	49.87	48.57
9	25.00	30.00	750.00	44.62	49.61
10	42.50	45.00	750.00	47.66	48.57
11	42.50	30.00	500.00	46.64	45.03
12	42.50	60.00	500.00	32.30	35.08
13	60.00	45.00	500.00	45.60	47.81
14	42.50	45.00	750.00	48.19	48.57
15	42.50	60.00	1000.00	60.67	62.28

Yanıt yüzey yöntemi sonucunda, % ekstraksiyon verimi ve üç bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan regresyon denklemi aşağıda gibi hesaplanmıştır.

$$Y=+48.57-1.24X_1-0.90X_2+9.53X_3-2.95X_1*X_2-4.62X_1*X_3+4.08X_2*X_3+3.12X_1^2-1.26X_2^2+2.27X_3^2$$

Regresyon eşitliği incelendiğinde,  $\beta_i$  (-1.24) katsayısının negatif değere sahip olması ekstraksiyon verimine ilişkin sıcaklık bağımsız değişkeninin 25°C'den 60°C'ye artışının % ekstraksiyon verimini azalttığı belirlenmektedir. Zamanın (dak) ekstraksiyon verimine etkisini ifade eden  $\beta_{ii}$  (-0.90) katsayısının negatif değerlerde olması, ekstraksiyonun süresinin 30'dan 60 dakikaya artışının sıcaklık değişkeni gibi ekstraksiyon veriminin azalttığını ifade etmektedir. % ekstraksiyon verimi üzerindeki en fazla etki eden faktörün biber kuru konsantrasyonu olduğu gözlenmektedir.  $\beta_{ij}$  (9.53) pozitif katsayısı 20 mL çözücüde çözünen biber kuru konsantrasyonu arttıkça % ekstraksiyon veriminin arttığına işaret etmektedir.

Regresyon sonucu elde edilen ikinci dereceden polinomial modelin uyumluluğu korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) ile test edilmiş olup, tahmin edilen ve deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 3.1'de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** % ekstraksiyon verimi için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği

Hesaplanan korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), 0.9033 olması söz konusu modelin, deneysel verileri ile tahmin edilen verilerinin tutarlı olduğunu göstermektedir. Tablo 3.2'de test edilen her bir bağımsız değişkenin % ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi ANOVA varyans analizi ile belirlenmiş olup, her bir katsayının önemini gösteren P ve F değerleri verilmiştir.

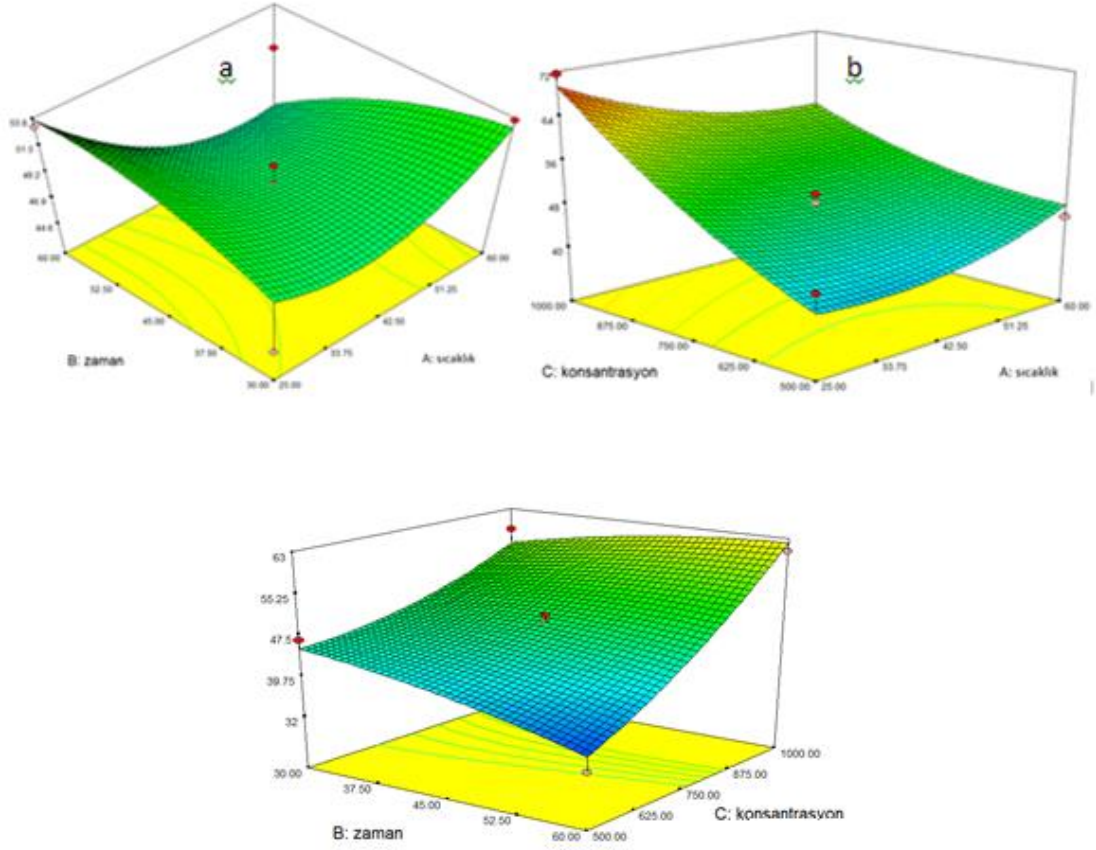


**Tablo 3.2.** % ekstraksiyon veriminin için varyans analizi

	<b>Serbestlik derecesi</b>	<b>Kareler toplamı</b>	<b>Kare ortalaması</b>	<b>F-değeri</b>	<b>P-değeri</b>
<b>Model</b>	9	992.73	110.30	5.19	<0.0423
<b>X<sub>1</sub></b>	1	12.22	12.22	0.57	0.4826
<b>X<sub>2</sub></b>	1	6.50	6.50	0.31	0.6040
<b>X<sub>3</sub></b>	1	726.19	726.19	34.15	<0.0021
<b>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub></b>	1	34.85	34.85	1.64	0.2566
<b>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub></b>	1	85.19	85.19	4.01	0.1017
<b>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub></b>	1	66.42	66.42	3.12	0.1374
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	1	35.83	35.83	1.69	0.2509
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	1	5.91	5.91	0.28	0.6207
<b>X<sub>3</sub><sup>2</sup></b>	1	19.09	19.09	0.90	0.3869
<b>Kalıntı</b>	5	106.32	21.26		
<b>Uyum eksikliği</b>	3	103.66	34.55	26.01	0.0372
<b>Net hata</b>	2	2.66	1.33		

P (prob>f) değeri 0.05'ten küçük olan etkiler önemli olarak değerlendirilmiştir. Modelin P değerinin 0.05'ten küçük olması (0.0423) önerilen modelin, bağımsız değişkenler ile ekstraksiyon verimi arasındaki ilişkinin incelenmesi için anlamlı olduğunu göstermektedir. % ekstraksiyon verimi üzerinde Tablo 3.2'deki P değerlerine bakıldığında, sadece X<sub>3</sub> faktörünün yani 20 mL' de çözünen biber kuru konsantrasyonun % ekstraksiyon verimi üzerinde etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir.

% ekstraksiyon verimi için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.2'de verilmiştir. Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL) sıcaklık ve zamanın % ekstraksiyonun verimine etkilerinin incelendiği model grafiği Şekil 3.2 a'da sıcaklık ve zaman arttıkça ekstraksiyon veriminin azaldığı gözlenmiştir. Sabit zaman aralığında (45 dak) ekstraksiyon verimine 20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonu ve sıcaklığın etkisine bakıldığında, çözünen biber konsantrasyonu arttıkça % verim artarken; sıcaklığın verim üzerinde negatif etkileşimi belirlenmiştir (Şekil 3.2 b). 42.5°C sabit sıcaklıkta ise ekstraksiyonun süresinin artışı ile % verim azalırken; 20 mL'de çözünen biber konsantrasyonun % verimi arttırdığı model denkleminiz ve yanıt yüzey grafiklerinde belirtilmiştir (Şekil 3.2 c).



**Şekil 3.2.** % ekstraksiyon verimi yüzey yanıt grafiği

- a)** Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)
- b)** Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)
- c)** Sabit sıcaklık (42.5, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

En yüksek % ekstraksiyon verimi 25°C, 42.5 dak. ve 1000 mg/20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonunda %71.55 olarak belirlenmiştir. En düşük % ekstraksiyon verimi ise, %32.03 olarak 42.5°C, 60 dak. ve 500 mg/20 mL biber konsantrasyonunda test edilen 12. denemede belirlenmiştir. Su banyosunda sürdürülen optimizasyon çalışmalarında polar çözücünün dakika ve sıcaklığa bağlı olarak biber meyvesindeki biyoaktif maddelerin çözünmesine karşın negatif bir etkileşim gösterdiği belirlenmiştir. Çözücünün polaritesine bağlı olarak artan biber kuru konsantrasyonu ile çözünen hidrofobik karakterdeki bileşiklerin artması sonucu % ekstraksiyon verimi artmıştır.

### 3.2 Total fenolik ve flavonoid madde içerikleri

En az bir aromatik halka ve buna bağlı hidroksil grubu içeren bitki metabolizmasında sentezlenen sekonder metabolitlerden fenolik bileşikler ve bunun alt grubu olan 4000'in üzerinde farklı yapıda flavonoidin bileşiklerin çeşidi ve biyokimyası antioksidan aktiviteye yön vermektedir. Kullanılan çözücünün polaritesine bağlı olarak hidrofobik karakterde ki fenolik bileşiklerin çözünmesine yönelik reaksiyon mekanizmaları değişmektedir. Bu farklılık bitki ekstraktlarındaki total fenolik ve flavonoid bileşiklerin sayısını ve çeşidini etkilemektedir. Bu sebeple ekstraksiyon optimizasyonu çalışmamızda *Capsicum annum* L. kurusunun metanolde çözünen total fenolik ve flavonoid miktarının artırılması için sıcaklık, konsantrasyon ve ekstraksiyon süresi parametreleri test edilmiştir. Box Behnken deneme planı ile elde edilen total fenolik ve flavonoid içeriğine yönelik deneysel değerler ve tahmin edilen değerler Tablo 3.3 'te verilmiştir.

**Tablo 3.3.** Total fenolik ve flavonoid içeriğine yönelik deneysel ve tahmin edilen değerler

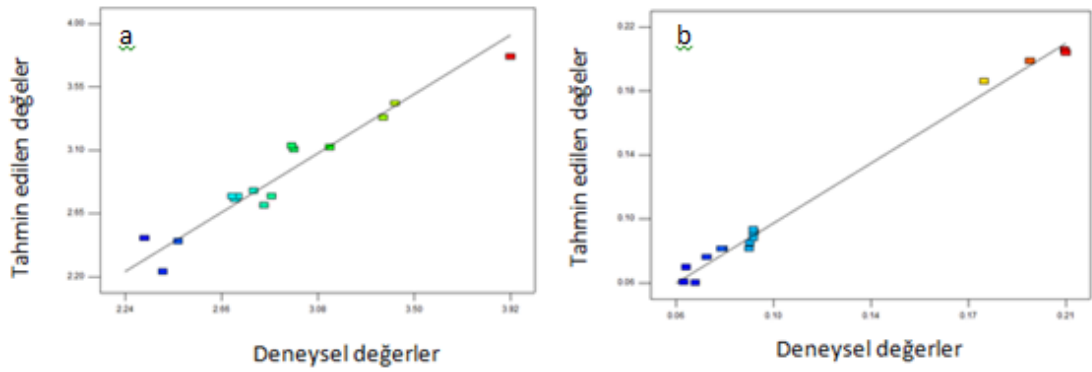
Deneme no	Sıcaklık (°C)	Zaman (dak)	Konsantrasyon (mg/20 mL)	Total fenolik içerik (mg GAE/g)		Total flavonoid içerik (mg RE/g)	
	X1	X2	X3	Deneysel	Tahmin Edilen	Deneysel	Tahmin edilen
1	60.00	30.00	750.00	2.84	2.71	0.090	0.093
2	25.00	45.00	1000.00	3.42	3.43	0.210	0.210
3	60.00	60.00	750.00	3.13	3.12	0.090	0.088
4	42.50	30.00	1000.00	3.36	3.33	0.200	0.200
5	25.00	60.00	750.00	2.97	3.11	0.089	0.085
6	25.00	45.00	500.00	2.40	2.24	0.064	0.070
7	60.00	45.00	1000.00	2.97	3.13	0.210	0.200
8	42.50	45.00	750.00	2.88	2.77	0.077	0.081
9	25.00	30.00	750.00	2.80	2.81	0.090	0.092
10	42.50	45.00	750.00	2.73	2.77	0.088	0.081
11	42.50	30.00	500.00	2.32	2.47	0.068	0.060
12	42.50	60.00	500.00	2.72	2.75	0.063	0.061
13	60.00	45.00	500.00	2.47	2.45	0.072	0.076
14	42.50	45.00	750.00	2.70	2.77	0.078	0.081
15	42.50	60.00	1000.00	3.92	3.77	0.180	0.190

Yanıt yüzey yöntemi sonucunda, total fenolik ve flavonoid içerik ve üç bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan regresyon denklemi aşağıda gibi hesaplanmıştır.

$$Y_{fenolik}=+2.77-0.022X_1+0.18X_2+0.47X_3+0.028X_1*X_2-0.13X_1*X_3+0.040X_2*X_3-0.051X_1^2+0.22X_2^2+0.093X_3^2$$

$$Y_{flavonoid}=+0.081+1.194*10^{-3}X_1-2.968*10^{-3}X_2+0.066X_3+3.725*10^{-4}X_1*X_2-1.933*10^{-3}X_1*X_3-3.282*10^{-3}X_2*X_3+0.010X_1^2-2.124*10^{-3}X_2^2+0.047X_3^2$$

Fenolik ve flavonoid içeriğe yönelik regresyon eşitlikleri incelendiğinde, total fenolik içerik için  $\beta_i$  (-0.022) katsayısının negatif değerde olması sıcaklık bağımsız değişkenin 25°C'den 60°C'ye artışının metanolde çözünen fenolik maddeyi azalttığı belirlenmektedir. Ancak fenolik maddelerin alt grubu olan flavonoid içerik için ise  $\beta_i$  (+1.194\*10<sup>-3</sup>) katsayısının pozitif değer göstermesi sıcaklık artışının flavonoid maddelerin çözünürlüğünü arttırdığı söylenebilmektedir. Zamanın (dak) ve 20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonu etkisini ifade eden  $\beta_{ii}$  (+0.18) ve  $\beta_{ij}$  (+0.47) katsayılarının pozitif değere sahip olması, ekstraksiyon süresinin 30'dan 60 dakikaya artışının ve konsantrasyon artışının sıcaklık değişkeninin aksine total fenolik içeriği arttırdığını ifade etmektedir. Metanol ekstraktındaki total fenolik içeriğini etkileyen en önemli bağımsız değişken % ekstraksiyon verimine benzer şekilde biber kuru konsantrasyonudur. Biber kuru konsantrasyonunun  $\beta_{ij}$  (+0.066) ise, metanol ekstraktındaki flavonoid içeriği etkileyen en önemli bağımsız değişken olduğu gözlenmektedir. Optimizasyon çalışmasında ekstraksiyon süresi ile total flavonoid içerik pozitif bir etkileşim göstermiş olup, konsantrasyon artması flavonoid içeriğinin artmasına sebep olmuştur.  $\beta_{ij}$  (+0.066) katsayısının pozitif olması, fenolik içeriğe benzer şekilde metanolde çözünen biber kuru konsantrasyonunun artması flavonoid içeriği arttırmıştır. R<sup>2</sup> değerleri fenolik için 0.9364; flavonoid için 0.9925 olup, polinomial modelin her iki fitokimyasal analiz için uyumluluğu belirlenmiştir. Bu analizler için deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki ilişki Şekil 3.3'te verilmiştir.



**Şekil 3.3.** Total fenolik (a) ve flavonoid içerik (b) için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği

Test edilen her bir bağımsız değişkenin total fenolik ve flavonoid içerik üzerindeki etkisi ANOVA varyans analizi ile belirlenmiş olup, her bir katsayımın önemini gösteren P ve F değerleri Tablo 3.4’te verilmiştir.

**Tablo 3.4.** Total fenolik ve flavonoid içerik için varyans analizi

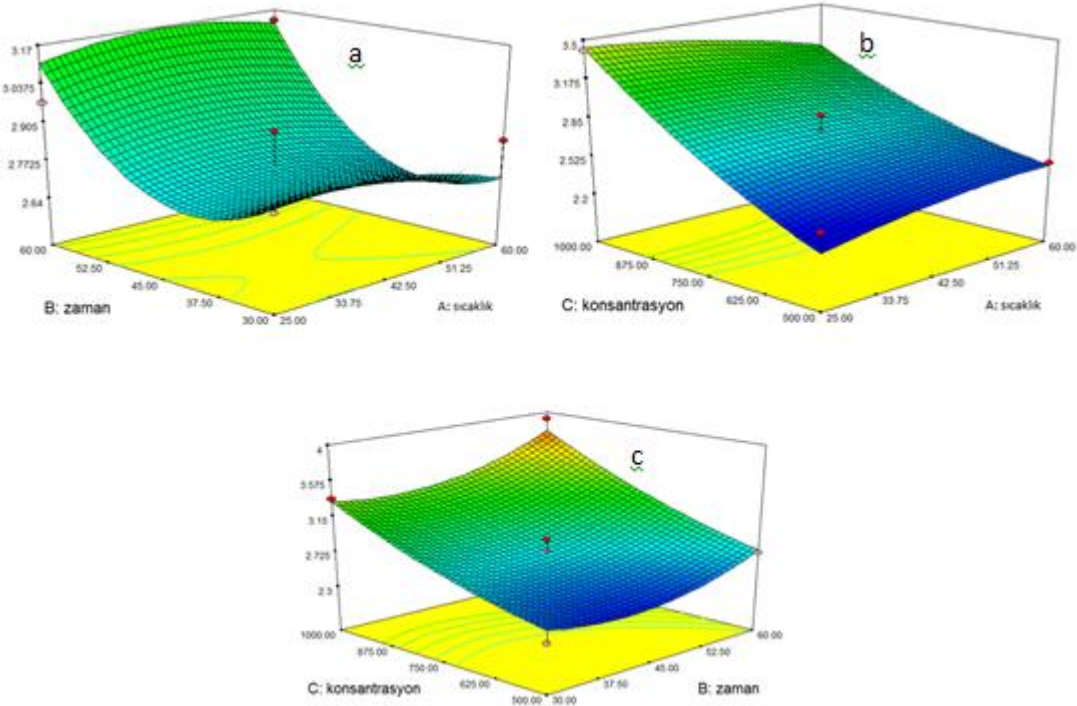
	Total fenolik içerik (mg GAE/g)		Total flavonoid içerik (mg RE/g)	
	F-değeri	P-değeri	F-değeri	P-değeri
<b>Model</b>	8.18	<0.0161	73.93	<0.0001
<b>X<sub>1</sub></b>	0.13	0.7364	0.17	0.6936
<b>X<sub>2</sub></b>	8.01	<0.0367	1.08	0.3469
<b>X<sub>3</sub></b>	56.20	<0.0007	532.56	<0.0001
<b>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub></b>	0.10	0.7632	8.480*10 <sup>-3</sup>	0.9302
<b>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub></b>	2.14	0.2037	0.23	0.6530
<b>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub></b>	0.20	0.6729	0.66	0.4540
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	0.31	0.6040	6.14	0.0559
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	5.56	0.0650	0.25	0.6353
<b>X<sub>3</sub><sup>2</sup></b>	1.02	0.3579	125.78	<0.0001
<b>Kalıntı</b>				
<b>Uyum</b>				
<b>eksikliği</b>	5.37	0.1611	2.30	0.3177
<b>Net hata</b>				

Fitokimyasal analizler için modelin P değerinin (prob>f) değerinin 0.05’ten küçük olması (fenolik 0.0161; flavonoid 0.0001) önerilen modelin, bağımsız değişkenler ile total fenolik ve flavonoid içerikler arasındaki ilişkinin incelenmesi için anlamlı olduğunu göstermektedir. Tablo 3.4’teki P değerlerine bakıldığında, total fenolik içerik için X<sub>2</sub> ve X<sub>3</sub> faktörünün yani ekstraksiyon süresi ve 20 mL’ de çözünen biber kuru konsantrasyonunun etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Total

flavonoid içerik için ise, sadece 20 mL' de çözünen biber kuru konsantrasyonunun etkisi anlamlı bulunmuştur.

Total fenolik içerik için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.4'te verilmiştir. Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL) sıcaklık ve zamanın total fenolik içeriğe etkilerinin incelendiği model grafiği Şekil 3.4 a'da total fenolik içerik sıcaklık artışı ile azaldığı, ekstraksiyon süresinin artmasına bağlı olarak ise arttığı gözlenmektedir. Sabit zaman aralığında (45 dak.) ise 20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonu arttıkça total fenolik içeriğin arttığı, sıcaklık arttıkça fenolik içeriğin azaldığı belirlenmiştir.(Şekil 3.4 b). Sabit sıcaklıkta (42.5°C) ise biber kuru konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin artışı total fenolik içeriği artırmıştır.(Şekil3.4

c)

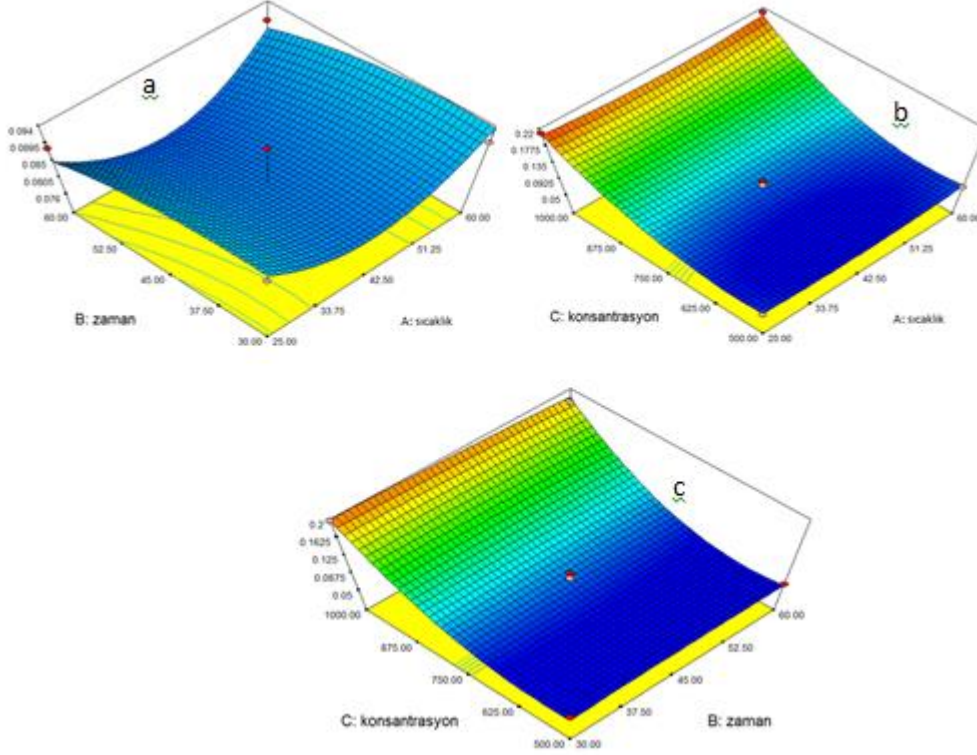


**Şekil 3.4.** Total fenolik içeriğin yüzey yanıt grafiği

- a) Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)
- b) Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)
- c) Sabit sıcaklık (42.5 °C, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

En yüksek total fenolik içerik 42.5°C, 60 dak. ve 1000 mg/20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonunda 3.91908 mgGAE/g olarak belirlenmiştir. En düşük içerik ise,

2.322 mgGAE/g olarak 42.5°C, 30 dak. ve 500 mg/20 mL biber konsantrasyonda test edilen 11. denemede belirlenmiştir. Total flavonoid içerik için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.5'te verilmiştir.



**Şekil 3.5.** Total flavonoid içeriğın yüzey yanıt grafiğı

- a) Sabit biber kurusu konsantrasyonunda (750 mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)
- b) Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)
- c) Sabit sıcaklık (42.5°C, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

Şekil 3.5 a'da sabit biber kurusu konsantrasyonunda (750 mg/20 mL) sıcaklık ve zamanın total flavonoid içeriğe etkilerinin incelendiğı model grafiğinde ekstraksiyon süresinin artmasına bağılı olarak ekstraktaki flavonoid içeriğın azaldığı gözlenmektedir. Ancak sıcaklığın sabit biber kurusu konsantrasyonu (750 mg/20 mL) ve ekstraksiyon süresinde (45 dak) ise sıcaklık arttıkça total flavonoid içeriğın arttığı belirlenmiştir (Şekil 3.5 a ve b) Sabit ekstraksiyon süresi ve sıcaklıkta ise 20 mg/mL'de çözünen biber kurusu konsantrasyonun artmasına bağılı olarak total flavonoid içerik artmıştır (Şekil 3.5 c). Yüzey yanıt grafiğine göre en yüksek total flavonoid içerik 0.210 mg/RE/g, 25°C'de, 45 dak. ekstraksiyon süresinde ve 1000 mg/20 mL çözünen biber kurusu konsantrasyonunda ve diğerk koşullar sabit tutularak sıcaklığın 60°C'ye çıkarıldığı

denemelerde kaydedilmiştir. Bu sonuçlar varyans analizinde sıcaklığın total flavonoid içerik üzerindeki etkisinin önemsiz olmasını açıklamaktadır.

Literatürde *Capsicum annuum* L.'nin total fenolik madde ekstraksiyonu ve antioksidan çalışmalarına ilişkin optimizasyon çalışması yer almamaktadır. Ancak diğer bitkiler kullanılarak elde edilen çalışma sonuçlarına göre, Singh ve ark. (2012), ekstraksiyon çalışmalarında yüksek sıcaklık gibi parametrelerin molekül hareketliliğini arttırarak, hücreden ekstraksiyon çözeltilisine doğru fenolik ve flavonoid difüzyonunu arttırdığı rapor edilmiştir. Kumar ve ark. (2008), 10°C'lik bir artışla 55-85°C aralığında ekstrakttaki flavonoid içeriğinin arttığını bildirmişlerdir He ve ark., (2005) ise sıcaklığın ekstraksiyon üzerinde iki yönlü bir etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Yüksek sıcaklığın çözücü akış hızını arttırabileceği ve böylece flavonoid içeriği artırırken, diğer taraftan ise sıvı yoğunluğunu düşürerek ekstraksiyon verimini azaltabileceğini ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızda ekstrakttaki fenolik madde içeriğinin ekstraksiyon süresi ve biber kuru konsantrasyonu ile arttığı gözlenmiş olup, Bachir ve ark. (2014), bunun nedenini maksimum ekstrakt elde edilene kadar kütle transferinin ekstraksiyon süresinin artışına bağlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Arruda ve ark. (2017), fenolik bileşiklerin ekstraksiyon süresinin polimerizasyon derecesi, çözünürlüğü ve matriks ve bu bileşikler arasındaki etkileşimden etkilenebildiğini belirtmişlerdir. Matriks ve çözücü arasındaki artan etkileşim zamanı katı matriksten çözücüye doğru aşamalı bir çözülmeye yol açabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte belli bir zaman aralığında, katı matriks ve çözücü arasındaki çözümlenin difüzyonu eşitlenir ve kütle transferi maksimum seviyeye ulaşır (Bachir ve ark. 2014).

Carciochi ve ark (2015), yüksek sıcaklığın difüzyon etkinliğini arttırarak fenolik bileşiklerin çözünürlüğü arttırdığını fakat belli bir sıcaklık üzerinde fenolik bileşiklerin bazı ailelerinin kimyasal ve enzimatik degradesyona bağlı olarak denatüre olabileceğini de rapor etmiştir. 40°C sıcaklıkta ve 20 dakikadan daha yüksek ekstraksiyon süresinde fenolik maddelerin azaldığını ifade etmişlerdir. Yağcıoğlu (2015), yüksek sıcaklığın çözücü özelliğini değiştirerek fenolik maddelerin daha iyi ekstrakte edilmesine sebep olduğunu ileri sürmüş ve yüksek sıcaklığın çözücü viskozitesini ve yüzey gerilimini



azalttığını da bildirmiştir. Yılmaz ve ark. (2015), yüksek sıcaklığın fenolik bileşikleri degrede edebileceğini ve ekstraksiyon verimini azaltabileceğini belirtmiştir.

### **3.3 Antioksidan Aktivite**

Aerobik organizmaların metabolik yolları tarafından devamlı olarak oluşturulan süperoksit anyon ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikal ( $HO^\cdot$ ), peroksil radikal ( $ROO^\cdot$ ), alkoksil radikal ( $RO^\cdot$ ) ve hidroklorikasit ( $OHCl^\cdot$ ) gibi rekatif oksijen türleri (ROS) DNA, protein ve lipit gibi makro moleküller ile etkileşime girerek oksidatif strese neden olmaktadır. Spesifik enzimler dışında bu etkileşimi bitkilerde ki fenolik ve flavonoid maddeler engelleyerek antioksidan aktivite göstermektedir. Bu nedenle bitki ekstraktlarındaki fenolik içerikler pek çok farklı antioksidan aktivite analizi ile test edilmelidir. Çalışmamızda *Capsicum annum* L. kurutmalıklarının metanol ekstraktının DPPH radikali giderme, indirgeme kapasitesi tayini ve metal iyonları şelatlama aktivitesi incelenmiştir.

#### **3.3.1 Antioksidan aktivite analiz sonuçları**

1958'de Blois tarafından geliştirilen bu metot, kararlı serbest radikal DPPH'nin nitrojen atomunun bir elektronun antioksidan bileşikten bir proton alarak indirgenmesi prensibine dayanmaktadır. 517 nm'de okunan absorbanın düşük olması yüksek serbest radikal giderme aktivitesine işaret etmektedir.

Antioksidan bir bileşiğin  $Fe^{+3}$  iyonlarının indirgemesi elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir. Ekstraktların yüksek absorban değerleri yüksek indirgeme kapasitesini ifade etmektedir.

Ekstraktların çözelti içindeki  $Fe^{+2}$  iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışma prensibine dayanan metal iyonu şelatlama aktivitesi test sisteminde absorban azalması ekstraktaki antioksidan maddenin ferrozin bağlanmadan önce metal iyonlarını şelatladığını göstermektedir.

Metanolde çözünen *Capsicum annum* L. kurusunun DPPH radikali süpürme aktivitesi, indirgeme kapasitesi ve  $Fe^{+2}$  iyonlarını şelatlama aktivitesinin artırılmasına yönelik

sıcaklık, konsantrasyon ve ekstraksiyon süresi parametreleri test edilmiştir. Bu aktiviteler için deneysel değerler ve tahmin edilen değerler Tablo 3.5 'te verilmiştir.

**Tablo 3.5.** Antioksidan aktivite analizleri için Box- Benhken deneme planı deneysel ve tahmin edilen değerler

Deneme no	DPPH süpürme aktivitesi (%)		İndirgeme kapasitesi		Metal iyonlarını şelatlama aktivitesi (%)	
	Deneysel	Tahmin Edilen	Deneysel	Tahmin Edilen	Deneysel	Tahmin Edilen
1	71.00	64.13	0.29	0.26	17.98	15.28
2	85.00	80.00	0.40	0.35	26.01	25.53
3	79.00	76.13	0.35	0.33	15.13	17.09
4	82.00	84.13	0.40	0.42	23.42	25.86
5	40.00	46.88	0.092	0.12	6.05	8.75
6	64.00	59.25	0.30	0.29	9.87	9.61
7	83.00	87.75	0.40	0.41	25.83	26.09
8	67.00	67.67	0.20	0.19	8.11	9.65
9	75.00	77.88	0.32	0.34	20.34	18.38
10	68.00	67.67	0.19	0.19	7.89	9.65
11	36.00	37.88	0.37	0.36	4.47	6.70
12	56.00	53.88	0.30	0.28	10.53	8.09
13	62.00	67.00	0.30	0.35	13.82	14.29
14	68.00	67.67	0.19	0.19	12.94	9.65
15	51.00	49.13	0.33	0.34	18.88	16.65

Antioksidan aktivite analizleri ve üç bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi ortaya koyan regresyon denklemleri aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$Y_{DPPH} = +67.67 + 3.87X_1 - 4.75X_2 + 10.38X_3 + 10.75X_1 * X_2 + 0.000X_1 * X_3 - 12.75X_2 * X_3 + 7.92X_1^2 - 9.33X_2^2 - 2.08X_3^2$$

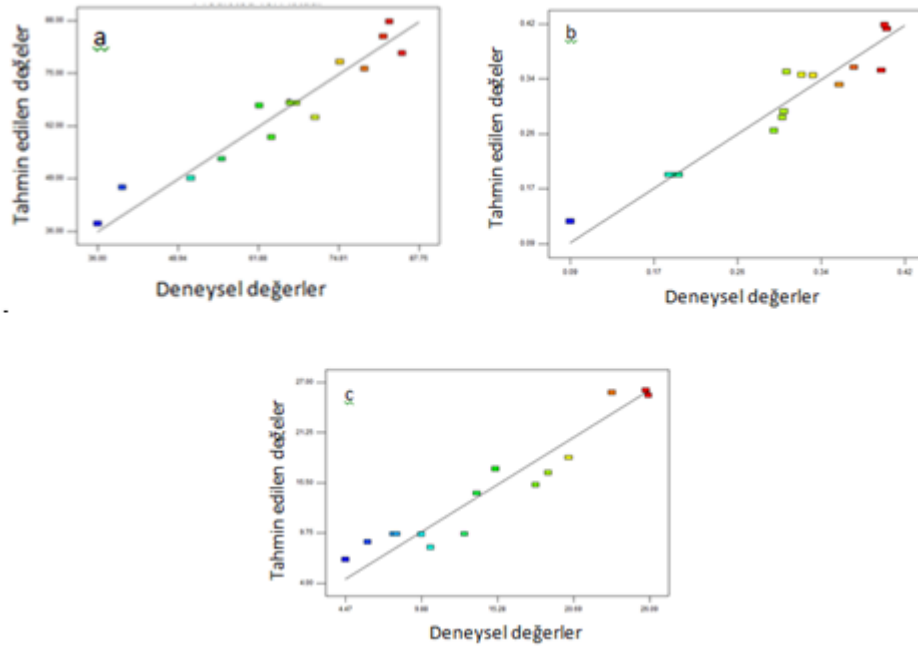
$$Y_{indirgeme\ kapasitesi} = +0.19 + 0.030X_1 - 0.038X_2 + 0.032X_3 + 0.072X_1 * X_2 + 7.000 * 10^{-4} X_1 * X_3 + 0.000X_2 * X_3 + 0.036X_1^2 + 0.035X_2^2 + 0.12X_3^2$$

$$Y_{metal\ iyonları\ şelatlama} = +9.65 + 1.06X_1 - 1.70X_2 + 6.93X_3 + 2.36X_1 * X_2 - 1.03X_1 * X_3 - 2.65X_2 * X_3 + 5.14X_1^2 + 0.59X_2^2 + 4.09X_3^2$$

Regresyon denklemlerine bakıldığında, test edilen antioksidan aktivite analizlerinde sıcaklık ( $\beta_i$ ) ve biber kuru konsantrasyon katsayılarının ( $\beta_{ij}$ ) pozitif değerlerde olması, sıcaklığın 25°C'den 60°C'ye ve 20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonunun 500 mg'dan 1000 mg'a artışının antioksidan aktiviteyi arttırdığı gözlenmektedir. Tüm

antioksidan aktivite analizleri için ekstraksiyon süresi ( $\beta_{ii}$ ) artışının negatif bir korelasyon gösterdiği ve ekstraksiyon süresi arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığı denklemlerde gösterilmiştir. Ekstraktların DPPH süpürme ( $\beta_{ij} +10.38$ ) ve metal iyonları şelatlama aktivitesi ( $\beta_{ij} +6.93$ ) üzerindeki en önemli bağımsız değişken biber kurusu konsantrasyonudur. Ancak indirgeme kapasitesi üzerinde en önemli bağımsız değişken, ekstraksiyon süresi ( $\beta_{ii} -0.038$ )'dir.

Regresyon sonucu elde edilen ikinci dereceden polinomial modelin uyumluluğu korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) ile test edilmiş olup, tahmin edilen ve deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 3.6'da verilmiştir. Regresyon analizi sonucunda DPPH aktivitesi için  $R^2$  0.9283; indirgeme kapasitesi tayini için  $R^2$  0.9235; metal iyonları şelatlama aktivitesi için ise  $R^2$  0.9238 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 3.6.** a) DPPH, b) indirgeme kapasitesi ve c) metal iyonları şelatlama aktiviteleri için deneysel ve tahmin edilen değerlerin uyumluluk grafiği

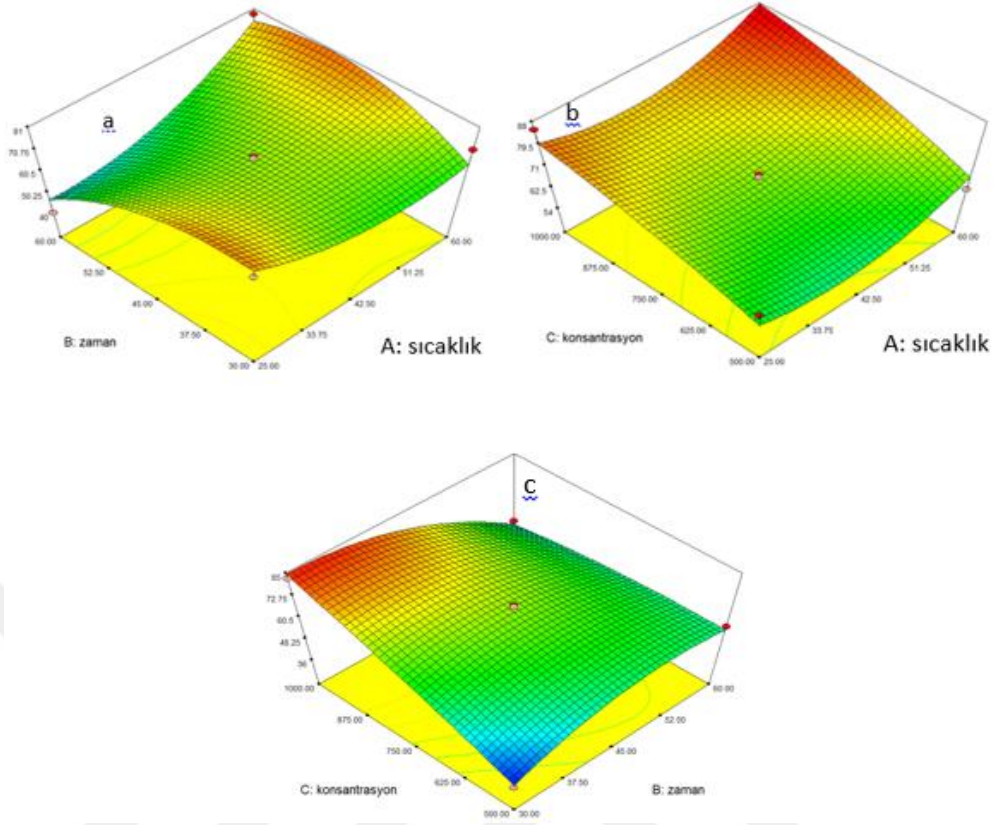
Test edilen her bir bağımsız değişkenin antioksidan aktivite analizleri üzerindeki etkisi ANOVA varyans analizi ile belirlenmiş olup, her bir katsayının önemini gösteren P ve F değerleri Tablo 3.6'da verilmiştir.

**Tablo 3.6.** Antioksidan aktivite analiz sonuçları varyans analizi

	DPPH radikali süpürme aktivitesi (%)		İndirgeme kapasitesi		Metal iyonları şelatlama aktivitesi (%)	
	F-değeri	P-değeri	F-değeri	P-değeri	F-değeri	P-değeri
<b>Model</b>	7.20	<0.0213	6.71	<0.0248	6.74	<0.0246
<b>X<sub>1</sub></b>	2.69	0.1616	4.20	0.0957	0.88	0.3908
<b>X<sub>2</sub></b>	4.05	0.1004	6.49	0.0514	2.27	0.1912
<b>X<sub>3</sub></b>	19.31	<0.0071	4.55	0.0861	37.61	<0.0017
<b>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub></b>	10.37	<0.0235	11.89	<0.0183	2.18	0.1999
<b>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub></b>	0.000	1.0000	1.113*10 <sup>-3</sup>	0.9747	0.42	0.5475
<b>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub></b>	14.59	0.0124	0.000	1.0000	2.75	0.1584
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	5.19	0.0717	2.67	0.1630	9.55	0.0271
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	7.21	0.0435	2.52	0.1734	0.12	0.7392
<b>X<sub>3</sub><sup>2</sup></b>	0.36	0.5749	30.61	0.0026	6.04	0.0574
<b>Kalıntı</b>						
<b>Uyum</b>	222.25	0.0045	128.38	0.0077	1.43	0.4368
<b>eksikliği</b>						
<b>Net hata</b>						

P (prob>f) değeri 0.05'ten küçük olan bağımsız değişkenin etkileri önemli olarak değerlendirilmiştir. DPPH radikali süpürme aktivitesi, indirgeme kapasitesi ve metal iyonları şelatlama aktivitesi analiz modelinin P değerlerinin 0.05'ten küçük olması (sırasıyla 0.0213; 0.0248 ve 0.0246) önerilen modelin, bağımsız değişkenler ile antioksidan aktivite analizleri arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu göstermektedir. (Tablo 3.6) varyans analiz tablosuna bakıldığında DPPH radikali giderme ve metal iyonlarını şelatlama aktivitesi üzerinde sadece 20 mL' de çözünen biber kuru konsantrasyonun etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. İndirgeme kapasitesi varyans analiz sonuçları önerilen model ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu ifade ederken, aktivite üzerinde sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve biber kuru konsantrasyon etkilerini anlamsız kılmaktadır. Her iki analiz için sıcaklık ve ekstraksiyon süresi etkileşimlerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisi anlamlı bulunmuştur.

% DPPH radikali giderme aktivitesi için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.7'de verilmiştir.

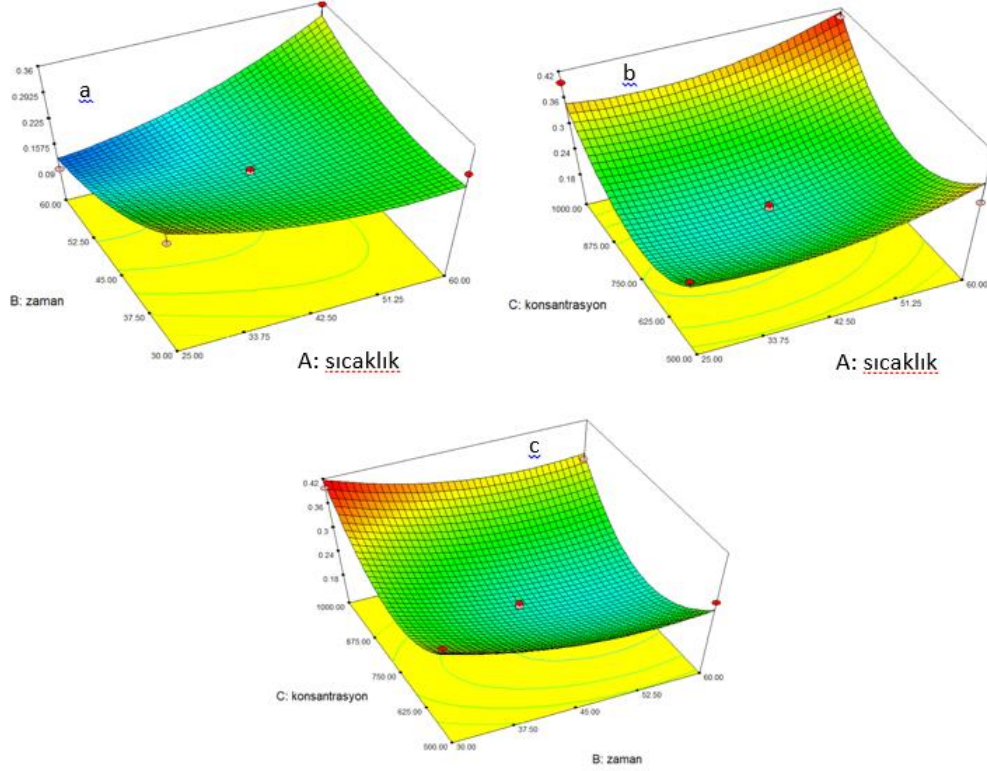


**Şekil 3.7.** DPPH radikali giderme aktivitesi analizinin yüzey yanıt grafiği

- a)** Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)  
**b)** Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)  
**c)** Sabit sıcaklık (42.5°C, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

Şekil 3.7 b ve c’de sabit sıcaklık (42.5°C) ve ekstraksiyon süresinde (45 dak) 20 mL’de çözünen biber kuru konsantrasyonu 500 mg’dan 1000 mg’a kadar arttıkça DPPH radikal giderme aktivitesinin arttığı gözlenmektedir. Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL) sıcaklık artışının DPPH giderme aktivitesini artırırken (Şekil 3.7 a); ekstraksiyon süresinin 30 dakikadan 60 dakikaya artması aktivitenin azalmasına (Şekil 3.7 c) sebep olmaktadır. DPPH radikali giderme aktivitesi %36-85 arasında kaydedilmiş olup en düşük aktivite 42.5°C sıcaklıkta 30 dak. ekstraksiyon süresi ve 500 mg/20 mL biber kuru konsantrasyonunda sürdürülen ekstraksiyon denemesinde belirlenmiştir. Sıcaklığın 25°C düşürüldüğü, ekstraksiyon süresinin 45 dakikaya ve biber konsantrasyonun ise 1000 mg’a arttırıldığı denemede

aktivite %85'dir. İndirgeme kapasitesi için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.8'de verilmiştir.

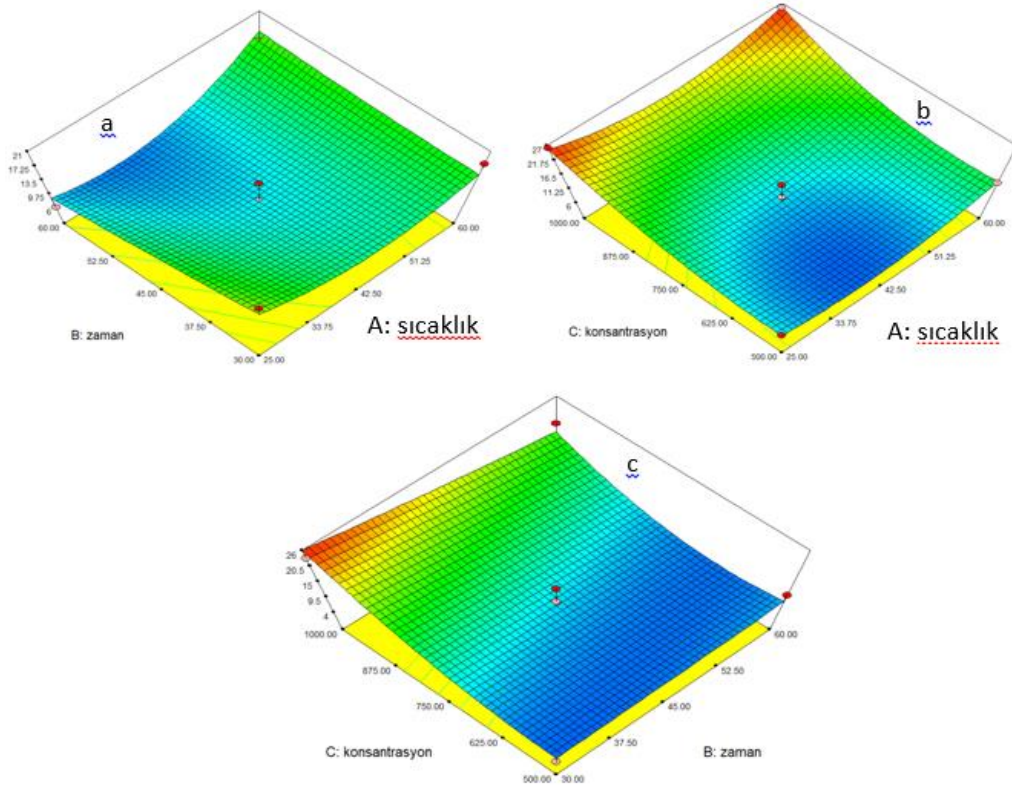


**Şekil 3.8.** İndirgeme kapasitesi analizinin yüzey yanıt grafiği

- Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)
- Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)
- Sabit sıcaklık (42.5°C, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarına benzer şekilde Şekil 3.8 a ve b'de biber kuru konsantrasyonunun ve sıcaklığın artışının ekstraktın indirgeme kapasitesini de arttırdığı gözlenmektedir. Ekstraksiyon süresindeki artış ise, indirgeme kapasitesinin azalmasına sebep olmaktadır. En yüksek indirgeme kapasitesi 0.40 absorbans değeri 3 farklı denemede kaydedilmiştir. 25°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL; 42.5°C, 30 dak. ekstraksiyon süresi ve 1000 mg/20 mL; 60°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL'de gözlenmiştir. Buna göre sabit biber konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinde sıcaklığın 25°C'den 60°C'ya artışı indirgeme kapasitesi üzerinde herhangi bir artışa sebep olmamıştır. Şekil 3.8 c'de gözlemlendiği gibi indirgeme kapasitesi yaklaşık 750'den 875 mg/20 mL biber kuru konsantrasyonuna kadar düşüş

göstermekte, daha sonra artış göstererek maksimuma ulaşmıştır. Metal iyonları şelatlama kapasitesi için çizdirilen üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.9'da verilmiştir.



**Şekil 3.9.** Metal iyonları şelatlama aktivitesi analizinin yüzey yanıt grafiği

- a) Sabit biber kuru konsantrasyonunda (750 mg/20 mL, C); sıcaklık (°C) ve zaman (dak)
- b) Sabit zaman aralığında (45 dak. B); konsantrasyon (mg/20 mL) ve sıcaklık (°C)
- c) Sabit sıcaklık (42.5°C, A); zaman (dak) ve konsantrasyonu (mg/20 mL)

Test edilen diğer antioksidan aktivite analizlerine benzer şekilde en yüksek şelatlama aktivitesi 25°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL biber kuru konsantrasyonunda sürdürülen deneme %26.01 olarak kaydedilmiştir. % şelatlama aktivitesi %4.47 ve 26.01 aralığında belirlenmiştir. Şekil 3.9' a'da sabit biber kuru konsantrasyonda (750 mg/20 mL), sıcaklığın 42.5°C'ye kadar artışının metal iyonlarının şelatlama aktivitesini azaltırken, sıcaklığın 60°C'ye artışı ile arttığı ve maksimum seviyeye ulaştığı gözlenmektedir.

Sonuçlarımıza göre yüksek sıcaklık substrattan fenolik bileşiklerin mobilizasyonunun belirli seviyede arttırırken flavonoid bileşiklerin dekompozisyonundan dolayı olası azalmalara sebep olmuştur. Yüksek sıcaklık, düşük sıcaklıkta zaten mobilize edilen antioksidanların eş zamanlı dekompozisyonunu teşvik ederek belli antioksidanları mobilize edebilir. Yüksek sıcaklıklardaki termal stabil antioksidanların ekstraksiyon oranı düşük çözülebilir antioksidanların dekompozisyon oranında daha yüksektir. Bu durum yüksek sıcaklıklarda hazırlanan ekstraktların nispeten yüksek antioksidan aktivite gösterdiklerini ifade etmektedir (Singh, 2012). Sonuçlarımıza göre DPPH radikali giderme aktivitesi ve indirgeme kapasitesi üzerinde sıcaklık ve ekstraksiyon süresi interaksiyonunun da önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Metal iyonlarını şelatlama aktivitesi ve total fenolik ve flavonoid içeriklerinde ise test edilen bağımsız değişkenler arasındaki interaksiyon önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

#### 3.4. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 standart suşları ile sürdürülen antimikrobiyal analiz sonuçları plaklardaki kısaltmaları ile Tablo 3.7’de verilmiştir. Tabloda verilen sonuçlara göre söz konusu ekstraksiyon metotlarından elde edilen biber kuru ekstraktlarının standart suşlar üzerinde antimikrobiyal aktivitesine rastlanmamıştır.

**Tablo 3.7.** Ekstraksiyon denemelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

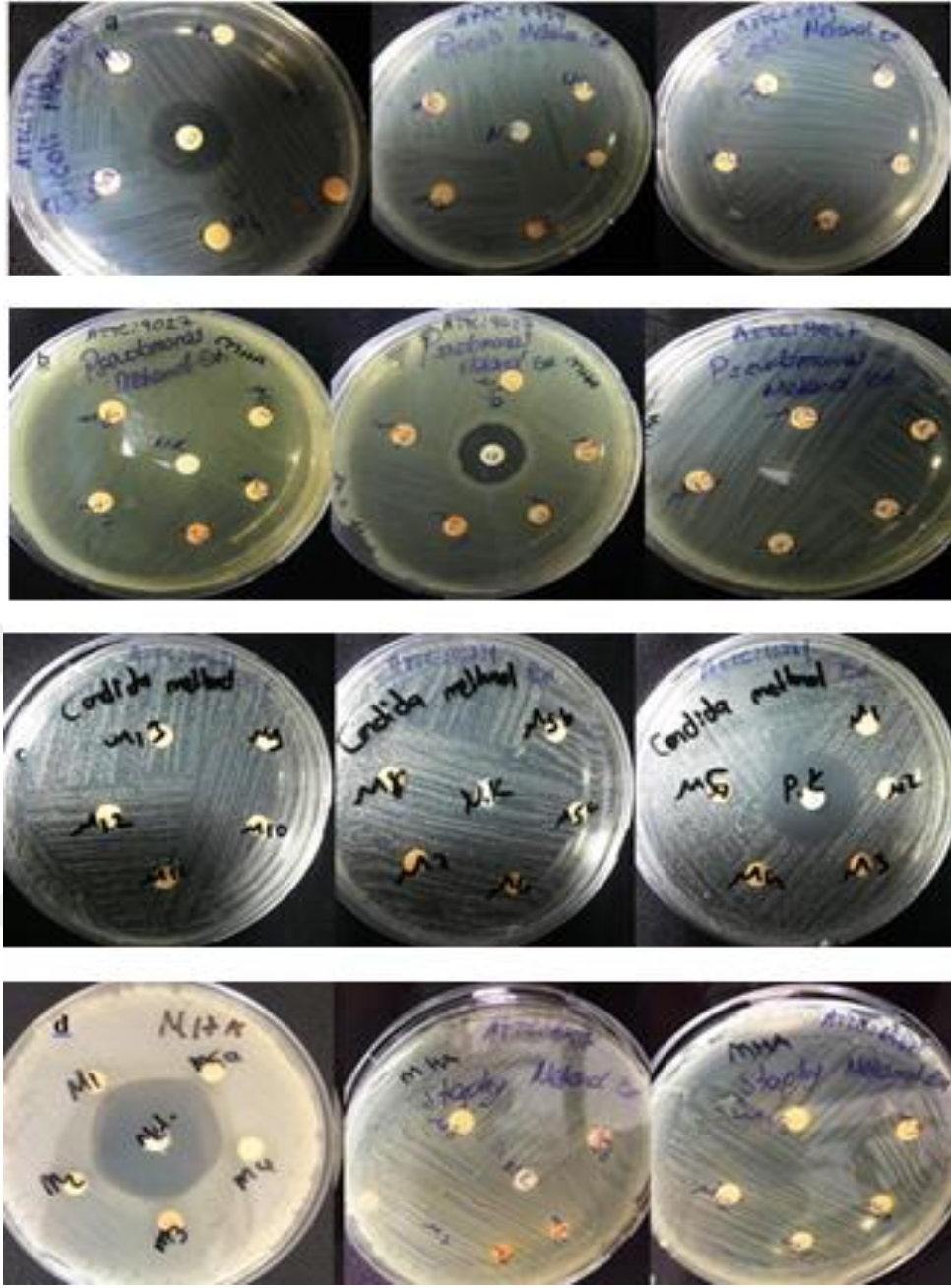
Denemeler	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027
42.5°C 30 dak. 1000 mg/20mL (m 1)	_*	_*	_*	_*
42.5°C 30 dak. 500 mg/20 mL (m 2)	_*	_*	_*	_*
60°C 30 dak. 750 mg/20 mL (m 3)	_*	_*	_*	_*
25°C 30dak. 750 mg/20 mL (m 4)	_*	_*	_*	_*
42.5°C 45 dak. 750 mg/20 mL (m 5a)	_*	_*	_*	_*
42.5°C 45 dak. 750 mg/20 mL (m 5b)	_*	_*	_*	_*
42.5°C 45 dak. 750 mg/20 mL (m 5c)	_*	_*	_*	_*



60° C 45dak. 1000 mg/20 mL (m 6)	_*	_*	_*	_*
60° C 45dak. 500 mg/20 mL (m 7)	_*	_*	_*	_*
25° C 45dak. 500 mg/20 mL (m 8)	_*	_*	_*	_*
25° C 45dak. 1000 mg/20 mL (m 9)	_*	_*	_*	_*
25° C 60 dak. 750 mg/20 mL (m 10)	_*	_*	_*	_*
42.5° C 60 dak. 1000 mg/20 mL (m 11)	_*	_*	_*	_*
42.5° C 60 dak. 500 mg/20 mL (m 12)	_*	_*	_*	_*
60° C 45dak. 1000 mg/20 mL (m 13)	_*	_*	_*	_*

\_\*: Petri plaklarında inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

Standart antibiyotiklerin mikroorganizmaların üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi *E. coli* ATCC 8739'a karşı tetrasiklin antibiyotiği 18 mm; *S. aureus* ATCC 6538P'ye karşı metisilin antibiyotiği 26 mm; *C. albicans* ATCC 10231'e karşı amfoterisin B antibiyotiği 22 mm; *P. aeruginosa* ATCC 9027'ye karşı ise polimiksin B antibiyotiği 17 mm inhibisyon zonu göstermiştir (Şekil 3.10). Negatif kontrol olarak kullanılan metanol suşlar üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.



**Şekil 3.10.** Antimikrobiyal aktivite sonuçları

- a. *E. coli* ATCC 8739 için antimikrobiyal aktivite sonuçları
- b. *P. aeruginosa* ATCC 9027 için antimikrobiyal aktivite sonuçları
- c. *C. albicans* ATCC 10231 için antimikrobiyal aktivite sonuçları
- d. *S. aureus* ATCC 6538P için antimikrobiyal aktivite sonuçları

Sharma ve Golhani (2017), *C. annum* meyvelerinin metanolik ve aseton ekstraktlarının *S.aureus* (23 mm) ve *B. subtilis* (19 mm)'a karşı en yüksek inhibisyon aktivitesinin gösterirken, sulu ekstraktın test bakterilerine karşı en düşük inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir. Parvez (2017), biber ekstraktında capsaisin *S. aureus*'un dirençlilik mekanizmasındaki NorA effluks pompasının bir inhibitörü olarak hareket ettiğini ve siprofloksasinin MIC değerinin yaklaşık 2-4 kat azaldığı bildirmiştir.

Bokaeian ve ark. (2014), *C. annum* meyvelerinin etanolik ekstraktlarının, GSBL üreticisi *E. coli*, *K. pneumonia* ve *P. aeruginosa*'ya karşı potansiyel antibakteriyel aktivite gösterdiğini olup 5 ve 10 mg/mL konsantrasyonda bu suşların biyofilm oluşumunu engellediğini belirlemiştir.

Ertürk ve ark. (2017), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*'a karşı *Capsicum annum* meyve ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesinin rapor etmişlerdir. Koffi-Nevry (2012), *Capsicum* metanolik ve sulu ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Vibrio cholerae*'ya karşı güçlü aktivite saptanmıştır. *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

Salman ve ark. (2018), *Capsicum annum* L. meyve, tohum ve yapraklarından elde edilen ekstraktlarının *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterileri üzerinde inhibitör aktivitesine rastlanmamıştır.

Sonuçlarımız literatür bilgileri karşılaştırıldığında, çalışmamıza benzer şekilde biber meyvesinden elde edilen ekstraktlarda antibakteriyel aktivite gözlenmediği gibi farklı olarak antimikrobiyal aktivite belirlenen kaynaklar da söz konusudur. Bitkilerdeki antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları, ekstraksiyon yöntemine, test edilen mikroorganizma türüne ve hücresel yapısına göre farklılık göstermektedir. Ekstraktlarımızda antibakteriyel aktivitenin gözlenmemesi, optimizasyon çalışmaları sırasında uygulanan bağımsız değişkenlerden sıcaklığın antibakteriyel etkili biyoaktif maddelerin çözünürlüğünü olumsuz etkilediği söylenebilmektedir.

#### 4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, *Capsicum annuum* L. kurusunun toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan aktivite analizleri için metanol ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey metoduna göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon çalışmalarının analiz sonuçlarına göre, % ekstraksiyon verimi üzerinde en etkili bağımsız değişkenin 20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir. Metanol ekstraksiyon verimleri %32.30 ile 71.55 aralığında bulunmuştur.

Metanol ekstraktındaki total fenolik ve flavonoid içeriklerini etkileyen en önemli bağımsız değişken % ekstraksiyon verimine benzer şekilde biber kuru konsantrasyonudur. Ekstraktlardaki total fenolik madde içeriği 2.47-3.92 mg GAE/g aralığında hesaplanmıştır. En yüksek total fenolik içerik 42.5°C, 60 dak. ve 1000 mg/20 mL'de çözünen biber kuru konsantrasyonunda 3.91908 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. En yüksek total flavonoid içerik 0.210 mg/RE/g, 25°C'de, 45 dak. ekstraksiyon süresinde ve 1000 mg/20 mL çözünen biber kuru konsantrasyonunda ve diğer koşullar sabit tutularak sıcaklığın 60°C'ye çıkarıldığı denemelerde kaydedilmiştir. Ekstraktlardaki DPPH radikali giderme ve şelatlama aktivitesi üzerindeki en önemli bağımsız değişken biber kuru konsantrasyonu, indirgeme kapasitesi üzerinde en önemli bağımsız değişken ise ekstraksiyon süresidir. DPPH radikali giderme aktivitesi %36-85 arasında kaydedilmiş olup en yüksek antioksidan aktivite sıcaklığın 25°C düşürüldüğü, ekstraksiyon süresinin 45 dakikaya ve biber konsantrasyonunun ise 1000 mg'a arttırıldığı denemede kaydedilmiştir.

En yüksek indirgeme kapasitesi 0.40 absorbans değeridir. 25°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL; 42.5°C, 30 dak. ekstraksiyon süresi ve 1000 mg/20 mL; 60°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL'de gözlenmiştir. % şelatlama aktivitesi %4.47 ve 26.01 aralığında olup en yüksek aktivitesi 25°C, 45 dak. ekstraksiyon süresi, 1000 mg/20 mL biber kuru konsantrasyonunda sürdürülen denemede kaydedilmiştir. Optimizasyon deneme planlarına göre elde edilen ekstraktların test bakterileri üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivitesine rastlanmamıştır.

Bu çalışma biber kurusunun doğal olarak antioksidan bileşikler açısından iyi bir kaynak olduğunu göstermektedir. Ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyon çalışmaları endüstriyel üretimin verimini arttırmakla birlikte özellikle zaman ve enerji tasarrufu sağlayacaktır.

## KAYNAKÇA

Alanyalı, F.S., Sarıözölü, N.Y., Güven, A., Kıvanç, M., Yılmaz, M., Demirel, R., Güven, K., ve Mutlu, M.B., 2009. Gıda Muhafaza, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, 118-227

Anon, 2007. Adana İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, 2007, Açık Tarlada Biber Yetiştiriciliği, Adana, 10s

Andrews, J., 1999. The Pepper Trail: History and Recipes from Around the World, University of North Texas Press, 261 pp.

Arıkan, B.C., 2004. Acı kırmızı biberin (*Capsicum annuum L.*) serum leptin ve serum nitrik oksit düzeylerine akut etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 36s.

Arruda, H.S., Pereira, G.A., Pastore G.M., 2017. Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolics from *Annona crassiflora* Mart. (Araticum) Fruits Using Response Surface Methodology Food Anal. Methods (2017) 10:100–110

Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., Gümüşçü, A. Tıbbi aromatik bitkiler üretiminde değişimler ve yeni arayışlar.2001

Aydın, S., 2004. Anadolu Diyagonalı: Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel bir farklılığa işaret edebilir mi? Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi, 17, ss117-137

Bachir, M., Meziant, L., Benchikh, Y., ve Louaileche, H., 2014. Deployment of response surface methodology to optimize recovery of dark fresh fig (*Ficus carica L.*, var. Azenjar) total phenolic compounds and antioxidant activity. Food Chemistry, 162: 277-282.

Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi, No: 40, İstanbul.

Baytop, T., 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Geçmiste ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, II. Baskı ISBN: 975-420-021- 1.İstanbul, 480s.

Bendich, A., 1997. Vitamin C safety in humans, Vitamin C in Health and Disease, Markel Dekker, New York, 367-379.

Bokaeian, M., Saeidi, S., Bazi, S., Ghamgosha, M., 2014. The effects of capsicum annuum L extract on the control of single and dual biofilms of common pathogenic strains causing urinary tract infection. Zahedan J Res Med Sci. 2014; 16(10): 65-68.

Bjorneboe, A., Bjorneboe, G.E., Drevon, C.A., 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E, The Journal of Nutrition, 120, 233-242.

- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26, 1199-1200.
- Brasiello, A., Adiletta, G., Russo, P., Crescitelli, S., Albanese, D., ve Di Matteo, M., 2013. ‘‘Mathematical Modelling of Eggplant Drying: Shrinkage Effect’’, *Journal of Food Engineering*, 114:99-105.
- Brigelius-Flohe, R., Traber, M.G., 1999. Vitamin E: function and metabolism, *FASEB Journal*, 13, 1145-1155.
- Cadenas, E., Packer, L., 2002. *Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- Can, A., Özçelik, B., ve Güneş, G., 2005. Meyve sebzelerin antioksidan kapasiteleri. GAP IV. Tarım Kongresi, Şanlıurfa.
- Carciochi, R.A, Manrique, G.D, Dimitrov, K., 2015. Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. *J Food Sci Technol*. 2015;52:4396–4404. doi: 10.1007/s13197-014-1514-4.
- Castro-Concha, L.A., Tuyub-Che, J., Moo-Mukul, A., Vazquez-Flota, F.A., and Miranda-Ham, M.L., 2014. Antioxidant capacity and total phenolic content in fruit tissues from accessions of *Capsicum chinense* Jacq. (Habanero Pepper) at different stages of ripening. *Sci. World J*. 2014. doi:10.1155/2014/809073
- Davey, M.W., Montagu M.V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, IJJ., Strain, JJ., Favell, D., Fletcher, J., 2000. *J. Sci. Food Agric.*, 80:825-860.
- Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., Kapoor, H.C., 2007. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *LWT* 40:121-129.
- Dewitt, D., and Gerlach, N., 1990. *The whole chile pepper book*
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M., 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315, 161–169.
- Dong, M.W., 2000. How hot is that pepper?. *Today’s chemist at work* 9:17-20.
- Dorantes, L., Fernandez, E., Sanchez, H.H., 2002. Antimicrobial activity of Capsicum extracts against some pathogenic bacteria. *Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Mexica. 2002*
- Durmaz, G., 2002. Kayısı meyvesinin ve kavrulmuş kayısı çekirdeğinin antioksidan özellikleri. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 95 s. Malatya

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler), Red Data Book Of TurkishPlants (Pteridophyta And Spermatophyta), 246s, Ankara.

Ertürk, A.G., Ertürk, Ö., Ayvaz, M.Ç., Ertürk, E.Y., 2017 Screening of Phytochemical, Antimicrobial and Antioxidant Activities in Extracts of Some Fruits and Vegetables Consumed in Turkey Celal Bayar University Journal of Science Volume 14, Issue 1, p 81-92

Estrada, B., Bernal M.A., Diaz, J., Pomar, F., Merino, F., 2002. Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annuum* L. in relation to fruiting. J Agr Food Chem 50:1188-1191.

Gönenç, A., Atak, Y., Orman, M.N., Sımsek, B., 2002. Lipid Peroxidation and Antioxidant Systems in Hemodialyzed Patients, Dialysis and Transplantation, 31, 88-96.

Güler, H.K., Dönmez, İ.E., Aksoy, S.A. 2015. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi ve Tekstil Sektöründe Kullanımı, SDÜ Fen Dergisi, 10(2).

Grubben G.J.H. 1977. Tropical vegetables and their genetic resources. In: Tindall HD and Williams JT. Rome: Intl Board for Plant Genetic Resources. 197 p.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M., Cross, C.M., 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? , J Lab.Clin Med, 119(6) 598:620

Halliwell, B., 1996. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo, Free Radical Research, 25, 439-454

Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barigmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F. vd., 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants., The Journal of Nutrition, 132(3), 461-471.

Hayman, M., Kam, P.C.A., 2008. Current Anaesthesia & Critical Care, 19, 338-343. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cacc.2008.07.003>

He, G.Q., Xiong, H.P., Chen, Q.H., Ruan, H., Wang, Z.Y., Traore, L., 2005 Optimization of conditions for supercritical fluid extraction of flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.). J Zhejiang Univ Sci 6B(10):999–1004

Horwitt, M. K., 1986, Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B-6, American Journal of Clinical Nutrition, 44, 973-985

IBPGR, 1983. Genetic resources of Capsicum, IBPGR Secretariat, Rome, 49.

İşlek, C., 2009. Serbest ve Tutuklanmış *Capsicum annuum* L. Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Kapsaisin Üretimi Üzerine Bazı Uyarıcıların Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Kawada, T., Hagihara, K., Iwai, K., 1986. Effects of kapsaisin on lipid metabolism in rats fed with high fat diet. J Nutr., 116, 1272-1278.

Keleş, D., 2007. Farklı Biber Genotiplerinin Karakterizasyonu ve Düşük Sıcaklığa Tolerans. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, M., Kwon, S., Goh, E.J., Heo, K., Kim, M.J., Lim, J.D., Lee, D., Yu, C.Y., 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of crude Sorghum extract, Food Chemistry, 115:1234-1239.

Kim, J.S., Ahn, J., Lee, S.J., Moon, B., Ha, T.Y., Kim, S., 2011. Phytochemicals and antioxidant activity of fruits and leaves of paprika (*Capsicum annuum* L. Special) cultivated in Korea, Journal of food science, 76(2), 193-198.

Koffi-Nevry, R., Kouassi, K.C, Nanga, Z.Y., et al., 2012. Antibacterial activity of two bell pepper extracts: *Capsicum annuum* L. and *Capsicum frutescens*. Int J Food Properties. 2012;15(5): 961-971.

Kumar, S.T., Baskar, R., Shanmugam, S., Rajsekaran, P., Sadasivam, S., Manikandan, V., 2008. Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana heyneana* Wall. using L16 Orthogonal design. Nat Sci 6(3):14–25

Krug, H., 1986. Gemüseproduktion. Ein Lehr-und Nachschlagewerk für Studium und Praxis. Verlag Paul Parey. Berlin und Hamburg, 446 s.

Lee, C.Y., Kim, M., Yoon, S.W., Lee, C.H., 2003. Short -term control of kapsaisin on blood and oxidative stres in vivo. Phytother Res., 17 (5), 454-458.

Lee, J.J, Crosby, K.M., Yoo, K.S., Lescobar, D.I., 2005. Sci. Hortic., 106:341-352.

Marin, A., Ferreres, F., Barberaan, F.A.T., Gil, M.I., 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.), Journal of agricultural and food chemistry, 52(12), 3861-3869.

Materska, M., Piacente, S., Stochmal, A., Pizza, C., Oleszek, W., Perucka, I., 2003. Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. Phytochemistry, 63(8), 893-898.

Materska, M., Perucka, I., 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). J Agr Food Chem 53:1750-1756.

Moure, A., Cruz J.M., Franco, D., Domínguez J.M., Sineiro, J., Domínguez, H., Nunez, J., Parajo J.C., 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 72:145-171



- McLeod, M.J., Guttman, S.I., Eshbaugh, W.H., and Rayle, R.E., 1983. An Electrophoretic Study of the Evolution in Capsicum (Solanaceae). *Evolution* 37:562-574.
- Nishino, H., Murakosh, M., Tokuda, H., Satomy, Y., 2009. *Arch. Biochem. Biophys.*, 483: 165-168.
- Orobiyi, A., Dansi, A., Assogba, P., Loko, L.Y., Dansi, M., Vodouhè, R., Sanni, A., 2013. Chili (*Capsicum annum* L.) in southern Benin: production constraints, varietal diversity, preference criteria and participatory evaluation.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on Product of Browning Reaction Prepared from Glucose amine, *Japan of Nutrition* 44: 307-315.
- Palevitch, D., Craker, L.E., 1996. Nutritional and Medical Importance of Red Pepper (*Capsicum* spp.) *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 1996; 3 (2), 55-83.
- Parvez, G.M.M., 2017. Current advances in pharmacological activity and toxic effects of various capsicum species. *Int J Pharm Sci Res* 8(5): 1900-12.doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(5).1900-12
- Perucka, I., Materska, M., 2007. Antioxidant vitamin contents of *Capsicum annum* fruit extracts as affected by processing and varietal factors. *Acta Sci.Pol. Technol. Aliment.* 6 (4), 67-73
- Pickersgill, B., 1984. Migrations of chili peppers, *Capsicum* spp., in the Americas, p. 105-123.
- Pickersgill, B.. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129- 133.
- Podsedeck, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT* 40:1-11
- Rahman, M.J., Inden, H., 2012. Effect of Nutrient Solution and Temperature on Capsaicin Content and Yield Contributing Characteristics in Six Sweet Pepper (*Capsicum annum* L.) Cultivars. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10: 524-529.
- Rice-Evans, C., and Burdon, R., 1993. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Progress in Lipid Research*, 32: 71-110.
- Salman, H.A., Senthilkumar, R., Vasundhara, M., 2018. Lack of Antibacterial Activity of *Capsicum annum* and *Simarouba glauca* against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*

- Sarkinen, T., Bohs, L., Olmstead, R.G., Knapp, S., 2013. A phylogenetic framework for evolutionary study of the nightshades (Solanaceae) a dated 1000 tip tree, BMC Evolutionary Biology, 13(1),
- Sim, K.H., Sil, H.Y., 2008. Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. Int. J. Food Sci. Technol. 43: 1813-1823.
- Singh, B., Sharma, H.K., Sarkar, B.C., 2012. Optimization of extraction of antioxidants from wheat bran (*Triticum* spp.) using response surface methodology Food Sci Technol (May–June 2012) 49(3):294–308
- Sharm, S., Vig, P.A., 2013. Evaluation of in Vitro Antioxidant Properties of Methanol and Aqueous Extracts of *Parkinsoniaaculeata* L. Leaves. The Scientific World Journal, 1-7
- Sharma, A., & Golhani, S., 2017. In vitro evaluation of anticoagulant and antibacterial activities of *Capsicum annum* PUSA JWALA International Journal of Food Science and Nutrition Volume 2; Issue 6; November 2017; Page No. 239-242
- Stankovic, M.S., 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts. Kragujevac J. Sci., 33: 63-72.
- Srinivasan, K., Sambaiah, K., 1991. The effect of spices on cholesterol 7 alpha-hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. Int J Vitam.Nutr.Res., 61 (4), 364-369.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel sebzeçilik, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 448 s., Tekirdağ.
- Topak H. Erbil N., ve Dıġrak M., 2008. Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi 20 (2), 257-264, 2008
- Tüzün, Y., ve Garip, F., 2005. E vitaminin dermatolojideki yeri. Dermatose 2005, 4: 96-98
- Thomas. B.V., Schreiber, A.A., Weisskopf, P.C., 1998. Simple Method for Quantitation of Capsaicinoids in Peppers Using Capillary Gas Chromatography. J Agric Food Chem. 1998; 46, 2655-2663.
- Van Gossum, A., Shariff, R., Lemoyne, M., Kurian, R., Jeejeebhoy, K., 1988, Increased lipid peroxidation after lipid infusion as measured by breath pentane output, American Journal of Clinical Nutrition, 48, 1394-1399.
- Vega Galvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Mondaca, L.R., Miranda, M., Lopez, J., Perez Won, M., 2009. Effect of air drying temperature on physico chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian), Food Chemistry, 117(4), 647-653.

Yağcıoğlu, P., 2015. Farklı Ekstraksiyon Metotları İle Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu (Yüksek Lisans Tezi,İstanbul Teknik Üniversitesi 2015) s.36.

Yahia, E.M., Contreras-Padilla M., Gonzalez-Aguilar, G., 2001. Ascorbic acid content in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruits during development: maturation and senescence. LWT-Food Sci Technol. 2001;34:452–457

Yılmaz, M.F., Karaaslan, M., Vardin, H., 2015. Optimization of extraction parameters on the isolation of phenolic compounds from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pomace J Food Sci Technol (May 2015) 52(5):2851–2859

Zewdie T., Tong N.K., Bosland P.W., 2004. Establishing core collection of Capsicum using a cluster analysis with enlightened selection of accessions. Genetik Resources Crop Evolution 51, 147-151

Woodall, A.A., Ames, B. N., 1997. Diet and oxidative damage to DNA: The importance of ascorbate as an antioxidant, Vitamin C in Health and Disease, Markel Dekker, New York, 193-203

Wheeler, G.L., Jones, M.A., Smirnoff, N., 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants, Nature, 393, 365-369. DOI:[10.1038/30728](https://doi.org/10.1038/30728)

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı:** Mehmet Fatih EREN

**Doğum Yeri :** Gaziantep

**Doğum Tarihi :** 04.03.1991

**E-posta:** mferen27@gmail.com

**Yabancı Dil:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Okul, başlama ve mezuniyet yılı, şehir):**

**Lisans:** Kilis 7 Aralık Üniversitesi Biyoloji Bölümü 2011-2015

**Yüksek Lisans:** Kilis 7 Aralık Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D