

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜLKEMİZDE YETİŞEN *VACCINIUM MYRTILLUS* L. (YABAN MERSİNİ)  
BİTKİSİNİN YAPRAK VE MEYVELERİNİN GIDA VE KOZMETİK  
ENDÜSTRİSİ TARAFINDAN DEĞERLENDİRİLME ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kevser SALİHLER**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL**

**OCAK 2019**

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜLKEMİZDE YETİŞEN *VACCINIUM MYRTILLUS* L. (YABAN MERSİNİ)  
BİTKİSİNİN YAPRAK VE MEYVELERİNİN GIDA VE KOZMETİK  
ENDÜSTRİSİ TARAFINDAN DEĞERLENDİRİLME ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kevser SALİHLER  
160505004**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL**

**OCAK 2019**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 160505004 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Kevser SALİHLER, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ÜLKEMİZDE YETİŞEN *VACCINIUM MYRTILLUS* L. (YABAN MERSİNİ) BİTKİSİNİN YAPRAK VE MEYVELERİNİN GIDA VE KOZMETİK ENDÜSTRİSİ TARAFINDAN DEĞERLENDİRİLME ÇALIŞMALARI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :**      **Prof. Dr. Murat KARTAL** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :**      **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Doç. Dr. Çağlayan GÜRER** .....  
İstanbul Üniversitesi

**Teslim Tarihi**      :    **28 Mart 2019**  
**Savunma Tarihi**    :    **29 Ocak 2019**



*Biricik Aileme,*

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez danışmanlığım süresince bilgisini ve engin deneyimlerini her zaman cömertçe paylaşan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Murat KARTAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans Programına dahil olmam hususunda yol göstericiliği ve devamında tavsiyeleri sayesinde kendimi geliştirmeme vesile olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan, zamanını ve ilgisini benden esirgemeyen Nihal ZORLU ve İlker DEMİRBOLAT başta olmak üzere Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM) çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Tezimde çalıştığım *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin toplanması sırasında yardımlarıyla bana yol gösteren T.C. Orman Genel Müdürlüğü'ne bağlı Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü çalışanlarından özellikle Süha Bey'e saygı ve emeğinden ötürü teşekkür ederim.

Hayatımın birbirinden farklı pek çok anında kıymetli anılarımızı paylaştığımız, birlikte değişik tecrübeler edindiğimiz, bu tecrübeler ışığında geleceğe dair yeni hedeflerle hep birlikte yol aldığımız birbirinden eşsiz arkadaşlarım ve desteklerini her zaman hissettiğim manevi büyüklerim ve hocama hürmet ve şükranlarımı sunarım.

Tez sürem boyunca hayatımın her anında olduğu gibi beni teşvik edip maddi ve manevi destekleri ile hep yanımda olan annem ve babam Hafize ve Seyfeddin SALİHLER başta olmak üzere, kardeşlerim Selim, Emel, Emin ve Yusuf SALİHLER'e çok teşekkür ederim.

Ocak 2018

Kevser Salihler  
(Kimyager)

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Kevser Salihler

İmza

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
KISALTMALAR .....	viii
SEMBOLLER .....	ix
TABLO LİSTESİ .....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY .....	xiv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
2.1. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. ....	2
2.1.1. Tarihçesi .....	7
2.1.2. Taksonomik Sınıflandırması .....	7
2.1.3. Besin Değerleri.....	8
2.1.4. Sağlık Açısından Etkileri .....	8
2.1.5. Türkiye’de ve Dünya’da Üretim Kapasitesi.....	9
2.1.6. Sanayide Kullanımı .....	10
2.1.7. Kayıtlı Olduğu Farmakopeler.....	11
2.2. Fenolik Bileşikler .....	11
2.2.1. Total Fenolik Madde Miktar Tayini .....	12
2.3. Flavonoidler.....	13
2.3.1. Total Flavonoid Miktar Tayini .....	15
2.4. Antosiyaninler .....	16
2.4.1. Genel Bilgiler .....	16
2.4.2. Kimyasal Yapısı .....	17
2.4.3. Stabiliteye Etki Eden Faktörler .....	20
2.4.4. Boyar Madde Olarak Kullanımları.....	23
2.4.5. Total Antosiyanin Miktar Tayini.....	25
2.5. Tanenler.....	26
2.6. Literatür Araştırması .....	26
2.6.1. Fitokimyasal Araştırmalar .....	26
2.6.2. Aktivite Araştırmaları .....	35
2.6.2.1. Antioksidan Aktivite .....	35
2.6.2.2. Diğer Aktiviteler .....	37
2.6.3. Klinik Araştırmalar .....	37
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>40</b>
3.1. Gereç .....	40
3.1.1. Bitkisel Materyal .....	40
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar .....	42

3.1.3. Kullanılan Cihazlar .....	42
3.2. Yöntem .....	43
3.2.1. Ekstre ve Çözeltilerin Hazırlanması.....	43
3.2.1.1. İdeal Ekstraksiyon Çözücüsünün Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	43
3.2.1.2. İdeal Ekstraksiyon Ortamının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	44
3.2.1.3. İdeal Ekstraksiyon Süresinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	44
3.2.1.4. Total Antosiyanin Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	45
3.2.1.5. Total Fenolik Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	48
3.2.1.6. Total Flavonoid Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	50
3.2.1.7. Total Tanen Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	52
3.2.1.8. Antioksidan Kapasite Tayini İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler .....	52
3.2.1.9. Katı Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstreler.....	54
3.2.1.10. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemi (TLC) İçin Hazırlanan Ekstre.....	54
3.2.2. UV-VIS Spektrofotometrik Analiz Yöntemi .....	54
3.2.3. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemi (TLC) .....	55
3.2.4. Total Antosiyanin Madde Miktar Tayini Yöntemi .....	55
3.2.4.1. pH Diferansiyel Yöntemi .....	55
3.2.5. Total Fenolik Madde Miktar Tayini Yöntemi.....	56
3.2.5.1. Folin-Ciocalteau Yöntemi.....	56
3.2.6. Total Flavonoid Madde Miktar Tayini Yöntemi.....	56
3.2.6.1. Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi.....	56
3.2.7. Total Tanen Madde Miktar Tayini Yöntemi .....	57
3.2.7.1. Avrupa Farmakopesi Yöntemi .....	57
3.2.8. Katı Madde Miktar Tayini Yöntemi.....	58
3.2.9. Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemi.....	58
3.2.9.1. DPPH Yöntemi .....	58
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>60</b>
4.1. İdeal Ekstraksiyon Çözücüsü .....	60
4.2. İdeal Ekstraksiyon Ortamı.....	60
4.3. İdeal Ekstraksiyon Süresi .....	61
4.4. Total Antosiyanin Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları .....	61
4.5. Total Fenolik Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları.....	67
4.6. Total Flavonoid Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları.....	69
4.7. Total Tanen Madde Miktar Tayini Analizlerinin Bulguları .....	71
4.8. Antioksidan Aktivite Tayininin Bulguları.....	72
<b>SONUÇ VE TARTIŞMA.....</b>	<b>74</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>81</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>96</b>



## KISALTMALAR

<b>FDA</b>	: United State Food and Drug Administration (Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç Dairesi)
<b>UV-VIS</b>	: Ultraviyole Görünür Bölge
<b>IU</b>	: Uluslararası Birim
<b>DPPH</b>	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>BHA</b>	: Bütillenmiş hidroksi anisol
<b>BHT</b>	: Bütillenmiş hidroksi tolüen
<b>FCR</b>	: Folin-Ciocalteu reaktifi
<b>CCl<sub>4</sub></b>	: Karbon tetraklorür
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Su
<b>EtOH</b>	: Etanol
<b>Gly</b>	: Gliserin
<b>pH</b>	: Hidrojen gücü

## **SEMBOLLER**

<b>Pg</b>	: Pelargonidin
<b>Cy</b>	: Siyanidin
<b>Dp</b>	: Delfinidin
<b>Pn</b>	: Peonidin
<b>Pt</b>	: Petunidin
<b>Mv</b>	: Malvidin
<b>g</b>	: gram
<b>mg</b>	: miligram
<b>mL</b>	: mililitre
<b>cm</b>	: santimetre
<b>mm</b>	: milimetre

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1</b> : Başlıca antosiyaninler. ....	18
<b>Tablo 3.1</b> : Kullanılan çözücü sistemleri. ....	44
<b>Tablo 3.2</b> : Kullanılan ekstraksiyon ortamları. ....	44
<b>Tablo 3.3</b> : Kullanılan ekstraksiyon süreleri. ....	45
<b>Tablo 3.4</b> : pH diferansiyel yöntemi formülünün birimleri. ....	56
<b>Tablo 3.5</b> : Total tanen madde miktarı tayini denkleminde kullanılan birimler. ....	58
<b>Tablo 3.6</b> : DPPH Yönteminin formülünde kullanılan birimler. ....	59
<b>Tablo 4.1</b> : Farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbands ölçümü. ....	60
<b>Tablo 4.2</b> : Farklı ortamlarda hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbands ölçümü. ....	61
<b>Tablo 4.3</b> : Farklı ekstraksiyon süreleri kullanılarak hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbands ölçümü. ....	61
<b>Tablo 4.4</b> : Ekstrede katı madde miktarı (a/a). ....	62
<b>Tablo 4.5</b> : UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbands değerleri. ....	63
<b>Tablo 4.6</b> : UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbands değerlerinin ortalaması. ....	64
<b>Tablo 4.7</b> : Kuru meyvede belirlenen antosiyanin miktarı. ....	66
<b>Tablo 4.8</b> : Kuru meyvede belirlenen ortalama antosiyanin miktarları. ....	67
<b>Tablo 4.9</b> : Vaccinium myrtillus L. kuru meyvesinin farklı çözücü sistemlerinde elde edilen fenolik madde yüzdesi. ....	68
<b>Tablo 4.10</b> : Vaccinium myrtillus L. kuru meyvesinden farklı çözücü sistemlerde elde edilen flavonoid yüzdesi. ....	70
<b>Tablo 4.11</b> : Tanen miktarı. ....	71
<b>Tablo 4.12</b> : DPPH % İnhibisyon. ....	72

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1	: Yabani Vaccinium türlerinin çiçek meyve ve yaprak görünüşleri.....	2
Şekil 2.2	: Vaccinium angustifolium. ....	3
Şekil 2.3	: Vaccinium corymbosum L. ....	3
Şekil 2.4	: Vaccinium vitis idea L.....	3
Şekil 2.5	: Vaccinium uliginosum.....	4
Şekil 2.6	: Vaccinium arctostaphylos L. ....	4
Şekil 2.7	: Vaccinium myrtillus L.....	4
Şekil 2.8	: Vaccinium myrtillus L.....	5
Şekil 2.9	: Vaccinium myrtillus L.....	5
Şekil 2.10	: Türkiye’de Vaccinium myrtillus L. bitkisinin bulunduğu yerler .....	6
Şekil 2.11	: Vaccinium cinsi üzümü meyvelerin Avrupada yıllara göre değişen ihracat oranları (1000 ton) .....	10
Şekil 2.12	: Doğal Fenolik Bileşikler ve Örnekleri .....	12
Şekil 2.13	: Gallik asit molekül yapısı. ....	13
Şekil 2.14	: Flavonoidlerin C6-C3-C6 iskelet yapısı.....	13
Şekil 2.15	: Flavonoidlerin molekül yapıları .....	14
Şekil 2.16	: Kersetin molekül yapısı. ....	16
Şekil 2.17	: Antosiyaninlerin temel yapıları .....	17
Şekil 2.18	: Antosiyanidin. ....	18
Şekil 2.19	: Antosiyanidin ve Antosiyanin. ....	18
Şekil 2.20	: Antosiyanin.....	18
Şekil 2.21	: Pelargonidin-3-Glikozit. ....	19
Şekil 2.22	: Siyanidin-3-Glikozit. ....	19
Şekil 2.23	: Delifinidin-3-Glikozit.....	19
Şekil 2.24	: Peonidin-3-Glikozit. ....	19
Şekil 2.25	: Petunidin-3-Glikozit. ....	20
Şekil 2.26	: Malvidin-3-Glikozit.....	20
Şekil 2.27	: Bazı antosiyaninlerin sahip olduğu renkler. ....	21
Şekil 2.28	: Farklı pH değerlerinde antosiyaninlerde gerçekleşen renk değişimi .....	21
Şekil 2.29	: Antosiyanin formları .....	25
Şekil 2.30	: Siyanidin-3-glikozit molekül formülü. ....	26
Şekil 2.31	: Vaccinium myrtillus L. meyvesinin antosiyaninlerinin HPLC-DAD. profilleri. ....	29
Şekil 2.32	: Vaccinium myrtillus L. Antosiyaninleri.....	29
Şekil 2.33	: Vaccinium myrtillus L. meyvesinin gelişim aşamaları. ....	30
Şekil 2.34	: Vaccinium myrtillus L. gelişimi sırasında ölçülen antosiyanin(▲) ve proantosiyanin (Δ) değerleri. ....	30
Şekil 2.35	: İlgili kaynaktan elde edilen bulgular. ....	33
Şekil 2.36	: İlgili kaynaktan elde edilen bulgular. ....	33
Şekil 2.37	: İlgili kaynaktan elde edilen bulgular. ....	34

<b>Şekil 2.38</b> : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular. ....	34
<b>Şekil 2.39</b> : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular. ....	35
<b>Şekil 3.1</b> : Vaccinium myrtillus L. bitkisinin toplandığı yerin dünya genelinde görüntüsü. ....	40
<b>Şekil 3.2</b> : Vaccinium myrtillus L. bitkisinin toplandığı yerin Türkiye genelinde görüntüsü. ....	41
<b>Şekil 3.3</b> : Vaccinium myrtillus L. bitkisinin toplandığı yerin Karadeniz Bölgesi genelinde görüntüsü. ....	41
<b>Şekil 3.4</b> : Vaccinium myrtillus L. bitkisinin toplandığı yerin anlık koordinatları. ....	42
<b>Şekil 3.5</b> : Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan H <sub>2</sub> O ekstreleri. ....	46
<b>Şekil 3.6</b> : Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan EtOH ekstreleri. ....	46
<b>Şekil 3.7</b> : Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan H <sub>2</sub> O+EtOH (1:1) ekstreleri. ....	47
<b>Şekil 3.8</b> : Total antosiyanin miktarı belirleyebilmek için hazırlanan H <sub>2</sub> O+Gly (1:1) ekstreleri. ....	48
<b>Şekil 3.9</b> : Total fenolik miktarını belirleyebilmek için hazırlanan ekstreler. ....	50
<b>Şekil 3.10</b> : Total fenolik miktarını belirleyebilmek için hazırlanan ekstreler. ....	51
<b>Şekil 4.1</b> : Katı madde miktarı grafiği (a/a). ....	62
<b>Şekil 4.2</b> : UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerlerinin grafiği ....	64
<b>Şekil 4.3</b> : UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerlerinin ortalamasının grafiği. ....	65
<b>Şekil 4.4</b> : Antosiyanin miktarı grafiği. ....	66
<b>Şekil 4.5</b> : Ortalama antosiyanin miktarlarının grafiği. ....	67
<b>Şekil 4.6</b> : Gallik asit kalibrasyon eğrisi. ....	68
<b>Şekil 4.7</b> : Fenolik madde miktarı grafiği. ....	69
<b>Şekil 4.8</b> : Kersetin kalibrasyon eğrisi. ....	69
<b>Şekil 4.9</b> : Flavonoid miktarı grafiği. ....	70
<b>Şekil 4.10</b> : Total fenolik ve flavonoid analizi sırasında çekilen fotoğraflar. ....	71
<b>Şekil 4.11</b> : Total fenolik ve flavonoid analizi yapıldıktan sonra plate görüntüsü. ...	71
<b>Şekil 4.12</b> : Tanen miktarı grafiği. ....	72
<b>Şekil 4.13</b> : DPPH % İnhibisyon Grafiği. ....	73
<b>Şekil 5.1</b> : Total Antosiyanin, Total Fenolik Bileşik ve Total Flavonoid Miktarı Analizleri İçin İdeal Ekstraksiyon Yöntemi. ....	75

# ÜLKEMİZDE YETİŞEN *VACCINIUM MYRTILLUS* L. (YABAN MERSİNİ) BİTKİSİNİN YAPRAK VE MEYVELERİNİN GIDA VE KOZMETİK ENDÜSTRİSİ TARAFINDAN DEĞERLENDİRİLME ÇALIŞMALARI

## ÖZET

Bu çalışmada antioksidan, antikanserojen, antiülser aktiviteleri yönünden zengin değerlere sahip üzüksü meyvelerden biri olan *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin yaprak ve meyve kısımları değerlendirildi. Çalışma kapsamında elde edilen verilerle *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin tıbbi özelliğinin aydınlatılmasına katkı sağlanması amaçlandı.

*Vaccinium myrtillus* L. meyvelerinde antosiyanin miktarı pH diferansiyel metodu ile tespit edildi. Kuru meyvede antosiyanin miktarı % 0,155 ile % 0,896 arasında değiştiği bulundu. Total fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu metodu kullanıldı. *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin içerdiği fenolik madde miktarı % 0,48 ile %1,01 arasında belirlendi. Total flavonoid miktarının belirlenmesinde ise alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi tercih edildi. *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin % 0,25 ile % 0,41 arasında flavonoid içerdiği tespit edildi. Tanen miktarı belirlemek için Avrupa Farmakopesi metodu kullanıldı. Yapraklarda % 4,19; meyvede % 0,68 oranında tanen tespit edildi. Bulguların Avrupa Farmakopesi'ndeki değerlerle uyumlu olduğu görüldü. Antioksidan kapasite ise DPPH yöntemi ile belirlendi.

Elde edilen bulgular doğrultusunda Türkiye'de özellikle Karadeniz Bölgesi'nde yabani olarak yetişen, son yıllarda alternatif tarım ürünleri arasında yetiştiriciliğine oldukça önem verilen tıbbi bitkilerden sayılan *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin, üretim kapasitelerinin artırılması yönünde tavsiyeler verildi.

**STUDIES ON THE EVALUATION OF LEAVES AND FRUITS OF  
VACCINIUM MYRTILLUS L. (YABANMERSINI) PLANT GROWING IN  
OUR COUNTRY BY THE FOOD AND COSMETIC INDUSTRY**

**SUMMARY**

In this study, the leaves and fruits of *Vaccinium myrtillus* L. plant, which is one of the berry fruits that are rich in antioxidant, anticarcinogen and antiulcer activity were evaluated. The aim of this study was to contribute to the elucidation of the medicinal properties of the *Vaccinium myrtillus* L. plant.

Anthocyanin content was determined by pH differential method in the fruits of *Vaccinium myrtillus* L.. The amount of anthocyanin in dry fruits varied between 0.155% and 0.896%. Folin-Ciocalteu method was used to determine total phenolic content. *Vaccinium myrtillus* L. dry fruit contained in the amount of phenolic matter was between 0.48% and 1.01%. In order to determine the total amount of flavonoid, aluminum chloride colorimetric method was preferred. *Vaccinium myrtillus* L. dry fruit was found to contain flavonoid between 0.25% and 0.41%. European Pharmacopoeia method was used to determine the amount of tannin. 4.19% on leaves; 0.68% tannin was found in the fruit. The findings were consistent with the values in the European Pharmacopoeia. Antioxidant capacity was determined by DPPH method.

According to the findings, grown especially wild in the Black Sea region of Turkey, in recent years, counted from the considerable importance given to medicinal plants to the cultivation of alternative agricultural products *Vaccinium myrtillus* L. plant were given advice towards increasing of production capacity.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda yapılan araştırmalarda yüksek antioksidan içeriğe sahip olan gıdalara, gnlk beslenmemiz içinde yer verilmesi oldukça önemli bir konudur. Yüksek antioksidan içeriğe sahip olan gıdalar, vücutta oluşan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek serbest radikallerden kaynaklanan hastalıkların önlenmesinde yardımcı olmaktadır. Yüksek antioksidan içeriğe sahip olan meyvelerden biri de *Vaccinium myrtillus* L. meyvesidir. *Vaccinium myrtillus* L. antioksidan özelliği sayesinde vücutta oluşan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek evre kirlilikleri ya da sağlıksız beslenme gibi çeşitli olumsuz kaynakların sebep olduğu serbest radikallerin zararlarına karşı önleyici bir etkiye sahiptir [1].

*Vaccinium myrtillus* L. fenolik maddeler bakımından zengin içeriğe sahip olup, antioksidan aktivitesinin yanında, antikarsinojen, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktivitelere de sahip olması sebebiyle beslenmemiz açısından önemli bir kaynaktır [2, 3]. Yaban mersininin sahip olduğu bu önemli özellikler bileşimi üzerine yapılan çalışmaları daha da önemli kılmaktadır.

Çalışmanın amacı, Türkiye’de özellikle Karadeniz Bölgesi’nde yabani olarak yetişen ve son yıllarda alternatif tarım ürünleri arasında yetiştiriciliğine oldukça önem verilerek teşvik edilen tıbbi bitkilerden sayılan *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin tıbbi özelliğinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktır. Son zamanlarda yaban mersininin gıda ve kozmetik sanayinde kullanılabilme olanaklarının araştırılması üzerine dünya çapında yapılan çalışmaların hız kazandığı görülmektedir. Bu araştırma ile konu hakkındaki bilgilere katkıda bulunabilmek hedeflenmiştir. Hedeflenen amaç doğrultusunda gerekli literatür çalışmaları yapılmış, *Vaccinium myrtillus* L. meyvelerinde antosiyanin miktarı, total fenolik madde miktarı ve total flavonoid madde miktarı tespit edilmiştir. Ayrıca DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivite tayini de yapılmıştır. *Vaccinium myrtillus* L. yapraklarında ve meyvelerinde ise tanen miktarı belirlenmiştir.

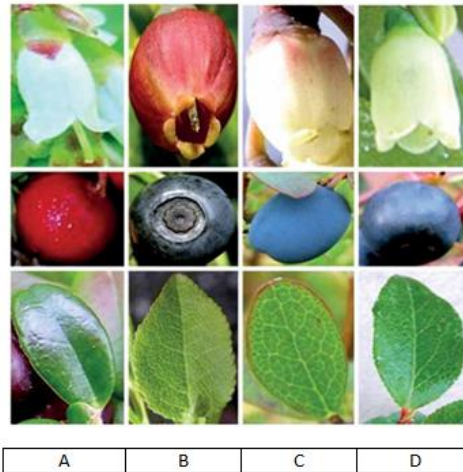


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 *Vaccinium myrtillus* L.

Dünya üzerinde organik madde bakımından zengin olan mikro iklim alanlarda yetişen *Vaccinium myrtillus* L., *Ericaceae* yani fundagiller familyasındaki *Vaccinium* cinsi içinde yer almaktadır. Ülkemizde yaban mersini olarak bilinmektedir. Yaban mersini son zamanlarda dünya tarımında öne çıkan üzümzü bir meyvedir [1, 4].

Türkiye’de kültürü yapılan yaban mersini türleri (*Vaccinium* spp.) kuzey ve güney orijinli yüksek boylu çalı formundaki *Vaccinium corymbosum* L. (highbush blueberry), alçak boylu çalı formundaki yaban mersini *Vaccinium angustifolium* (lowbush blueberry), tavşangözü yaban mersini olarak bilinen *Vaccinium ashei* (rabbiteye blueberry)’dir. Türkiye’de yabani olarak yetişen *Vaccinium* türleri ise dört tanedir: *Vaccinium vitis-idea* (ligonberry), *Vaccinium uliginosum* (bog blueberry), *Vaccinium arctostaphylos* L. (caucasian whortleberry) ve *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry) [4-8].



**Şekil 2.1** : Yabani *Vaccinium* türlerinin çiçek meyve ve yaprak görüntüleri (A: *Vaccinium vitis idea* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak, B: *Vaccinium myrtillus* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak, C: *Vaccinium uliginosum* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak, D: *Vaccinium arctostaplylos* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak ) [9].



Şekil 2.2 : *Vaccinium angustifolium*.



Şekil 2.3 : *Vaccinium corymbosum* L.



Şekil 2.4 : *Vaccinium vitis-idaea* L.



Şekil 2.5 : *Vaccinium uliginosum*.



Şekil 2.6 : *Vaccinium arctostaphylos* L.



Şekil 2.7 : *Vaccinium myrtillus* L.



**Şekil 2.8 :** *Vaccinium myrtillus* L.

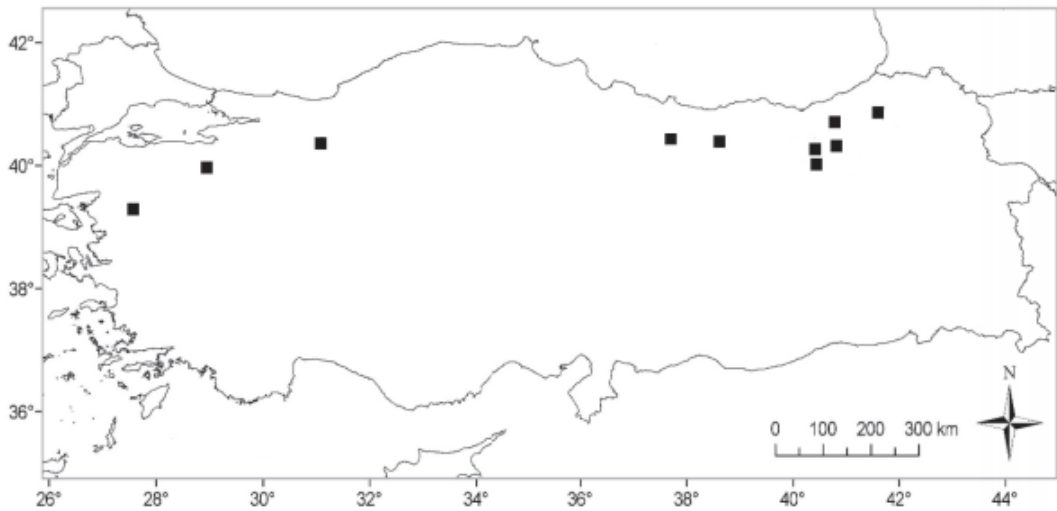


**Şekil 2.9 :** *Vaccinium myrtillus* L.

Botanik olarak incelendiğinde *Ericaceace* familyasında yer alan *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin yaprakları mevsimine göre dökülen ince ve kağıdımsı bir yapıdadır. Gövdesi 30 cm 'e kadar uzayabilen, 3 köşeli, seyrek tüylü veya tüsüzdür. Yaprakları kısa saplı, aya kısımları yumurtamsı elips şeklinde 0,9-3,0 x 0,7-1,8 cm boyutlarındadır. Yaprak kenarları testere dişlidir. Çiçekler salkım şeklinde olup sürgün üzerindeki ilk 1-4 yaprağın koltuk altından çıkar. Meyve sapları ortalama 7 mm boyutunda ve tüsüzdür. Çiçekler 4 ya da 5 parçalıdır. Çanak yaprakların lob kısımları 0,5-1,0 mm ve bitişik şekillidir. Taç yaprakların rengi soluk yeşil-kırmızı, testi şeklinde, 4,0-5,5 x 5,0 mm 'dir. Stamen sayısı 10; filament 1,2-1,6 mm; tüpler 0,8-1,0 mm; anter 2,0-2,5 mm 'dir. Stigma 5,5 mm ve ovaryum 5 gözlüdür. Meyveleri koyu mor, mavimsi bir siyah veya buğulu mavi rengindedir. 6,0-10 mm

boyutunda tatlı ve yenilebilirdir. Çiçeklenme zamanı Mayıs ve Temmuz ayları arasındadır. Bu türün ülkemizde doğal yayılış gösteren iki varyetesi bulunmaktadır. İlki *Vaccinium myrtillus* L. var. *myrtillus* 'tur. Yaprakları küçük, en çok 30 x 18 mm, tüsüz; meyveleri daha büyük, 9 mm çapında ve siyah, mavi buğulu renktedir. İkincisi *Vaccinium myrtillus* L. var. *artvinense* 'dir. Yaprakları daha büyük, 35 x 20 mm, yaprak alt yüzü ve yaprak kenarlarındaki dişleri bezeli tüylü; meyveleri daha küçük, 4 mm çapında ve koyu mor renklidir [10, 11]. Çalışmamızda kullanılan *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin varyetesi: *Vaccinium myrtillus* L. var. *myrtillus* 'tur.

Yaban mersininin asidik özellikli topraklarda ve organik maddece zengin kızılâğaç, defne, çam, ladin ve göknar türlerinin karışık olarak yetiştiği bölgelerde yaygın olduğu bildirilmektedir [12]. Yaban mersininin anavatanı kuzey yarım kürenin serin ve dağlık bölgeleri olmakla birlikte Kuzey Avrupa, Amerika'daki Rocky Dağları ve Türkiye'de Marmara Bölgesi'nde ve Karadeniz Bölgesi illerinden Artvin, Rize, Trabzon ve Giresun'un nemli, rakımca yüksek olan fundalık ve ormanlık bölgelerinde yabani olarak yetişmektedir. Ardahan'da mosi, Rize'de likapa, Trabzon'da ligarba, Rize Pazar ilçesinde kaskanaka, Rize Ardeşen ilçesinde çera, Artvin'de morsvi, mahabak, mesi; Giresun'da çalı çiçeği, Ordu'da cırtlık çileği, Yozgat'ta köpek üzümü, diğer bölgelerde ise ayı üzümü, çay üzümü veya çoban üzümü gibi çok farklı isimlerle bilinmektedir. Türkiye'de *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin doğal olarak yetiştiği yerler Şekil 2.10 'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.10 :** Türkiye'de *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin bulunduğu yerler [13].

### 2.1.1 Tarihçesi

İnsülin keşfedilmeden önce 1922 yılında Kanadalı araştırmacılar diyabetes mellitusun tedavisi için uygulanan diyet programlarına ilave olarak yaban mersininin kullanılmasını önermişlerdir. 1098 ile 1179 yılları arasında yaban mersinine ait kayıtlara ulaşılmıştır. Meyvelerinin kullanımının yapraklarının kullanımından daha fazla olduğu bilinmektedir. Hieronymus Bock 1498 ile 1554 yılları arasında yaban mersininden hazırlanan preperatları öksürüğe karşı etkili olduğunu düşünerek hastalarına tavsiye etmiştir. Andrea Mottioli ve Adam Lonitzer 16.yy'da yaban mersini meyve suyunun diüretik etkisini keşfetmişlerdir. 1735 yılında yazılan Zedler'in ansiklopedisinde gastrointestinal hastalıklara karşı kullanılan meyvelerden oluşan listede yaban mersininin de kaydı bulunmaktadır. 1951 yılında Kröger tarafından parazitlerin ve bakteri enfeksiyonlarının sebep olduğu bazı gastrointestinal hastalıkların tedavisi amacıyla yaban mersininin kullanımı tercih edilmiştir. 1903 yılında Bernstein yaban mersininin ilk kez ticari olarak sıvı ekstraktını hazırlamıştır. 19. yüzyıl sonlarına doğru Avusturya Alplerinde geleneksel halk tedavisinde, yaban mersini yaprak ekstraktının antidiyabetik amaçlı kullanımı ders kitaplarında yer almıştır. 20. yüzyılın başlarından beri yaban mersini, en çok kullanılan hipoglisemik tıbbi bitkilerden biridir [14].

### 2.1.2 Taksonomik Sınıflandırması

*Vaccinium myrtillus* L.'nin taksonomik sınıflandırması aşağıda verildiği gibidir.

Alem: Plantae

Altalem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Altsınıf: Dilleniidae

Takım: Ericales

Familya: Ericaceae

Genus: *Vaccinium*

Species: *Vaccinium myrtillus* L. [12].

### **2.1.3 Besin Değerleri**

Yaban mersininin insan sağlığı ve beslenmesi üzerine faydalarıyla ilgili dünya çapında bilimsel kaynaklarda çok sayıda araştırma makalesi yayınlanmıştır [15, 16]. Yapılan araştırmalarda bir bardak yaban mersini meyvesinin 145 gram olduğu; 21 gram karbonhidrat, 1gram protein, 0,5 gram yağ, 19 miligram C-vitamini, 145 IU A-vitamini içerdiği ve toplamda 85 kalorilik enerjiye sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, 100 gram yaban mersini meyvesinin % 83'ünün su, % 0,7'sinin protein, % 0,5'inin yağ, % 15'inin karbonhidrat, % 1,5'unun lif olduğu ve toplamda 62 kalori sağladığı da saptanmıştır [17].

### **2.1.4 Sağlık Açısından Etkileri**

Yaban mersini bitkisinin aktiviteleri birçok çalışmada tespit edilmiştir. Potansiyel antioksidan aktivitesine, antikanser, antimikrobiyal ve antienflamatuvar aktivitelerine rastlanmış, klinik çalışmalarla hastalıkların tedavisinde kullanılması denenmiştir. Elde edilen bulgular yaban mersininin göz hastalıklarında, nörolojik bozukluklarda ve diyabetteki rolünü destekler niteliktedir. Birçok araştırmacı, yaban mersini suyunu doğrudan kullanmak yerine ekstrakte edilmiş antosiyaninleri kullanmışlar ve yaban mersininin etkinliğinde antosiyaninlerin önemli bir rolü olduğunu ortaya koymuşlardır [14, 18-20].

Yaban mersini resveratrol içermektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre hafıza kayıplarını ve yaşlanmayı engellediği ortaya konulmuş, bu yönüyle antiageing özellik gösterdiği saptanmıştır [21].

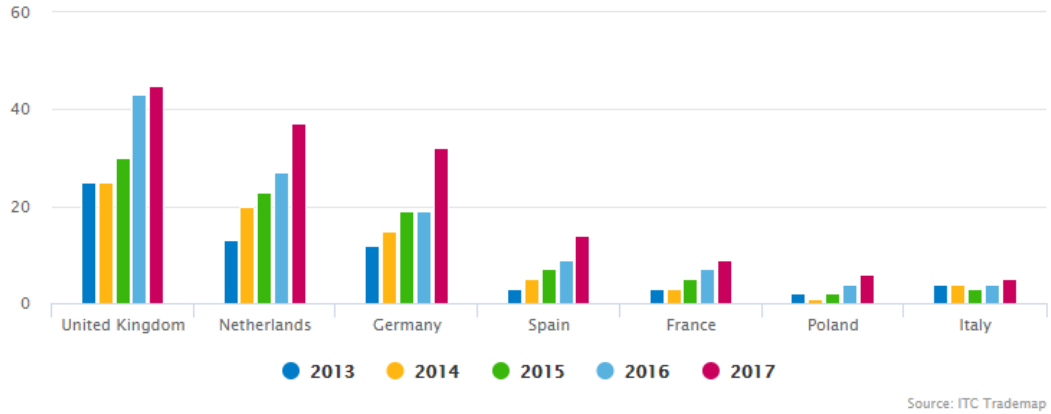
Yaban mersininin kanserin ilerleyişini önlediğine dair pek çok kanıt vardır. Bu olası mekanizmalardan ilki kanser hücrelerinin apoptozisini indükleyip büyümelerini engelledikleri yönündedir. Antosiyanince zengin yaban mersini özütleri satın alınmış, kolon kanserine karşı potansiyel antikanser etkileri araştırılmıştır. Ekstraktların HT-29 kanser hücrelerinin büyümesini önleyip antitümorejenik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır [22]. Bu bitkideki antosiyaninlerin içerdiği çeşitli aglikon yapıları ve şeker kısımları farklı biyolojik etkilere sahiptir. Delfinidin, peonidin 3-glukozid ve siyanidin 3-glukozid antosiyaninleri HCT1 16 kolon ve HS578T meme hücre hatlarında apoptozisi indükleyip, G2/M hücre döngüsünü durdurmuş insan tümör hücrelerinin büyümesini baskı altına almıştır. Yaban mersininin tümör hücrelerindeki proapoptotik ve antiproliferatif etkileri üzerine çok

az sayıda çalışma mevcuttur. Bir yaban mersini türünün CaCo-2 ve Hep-G2 ölümcül kanser hücrelerinde laktat dehidrogenaz aktivitesini (LDH) ve alt-G1 hücrelerinin toplanmasını arttırmak için hücre proliferasyonunu azalttığı tespit edilmiştir [23, 24]. Yaban mersininin SKH-1 tüysüz farelerin derisinde UV-B ışınları ile indüklenmiş apoptoziste, apoptozise bağlı oksidatif strese ve DNA hasarında azalma olduğu gözlenmiştir [25]. Lösemi hücrelerine karşı büyüme inhibitörü etkisiyle antosiyaninlerin flavanoller ve flavononlar gibi fenolik bileşen içeren fitokimyasallardan daha fazla etkili olduğu öne sürülmektedir. Antosiyanin içeren farklı ekstraktlar arasında yaban mersini ekstraktının in-vitro olarak HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde ve HL-60 insan lösemi hücrelerinin gelişiminin önlenmesinde daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak da gelişen kanser hücrelerine karşı antosiyaninlerin doğal ve güçlü bir inhibitör olarak tavsiye edilmektedir [26, 27].

### **2.1.5 Türkiye’de ve Dünya’da Üretim Kapasitesi**

Çok yıllık bitki türlerinden biri olan yaban mersini yetiştiriciliği sorumluluk isteyen ve uzun dönemli yatırım gerektiren bir tarım koludur. Türkiye’de Karadeniz Bölgesi yaban mersini yetiştiriciliği için nemli ve yağmurlu bir iklime sahip olması ve bunun yanında asitli ve organik maddece zengin meyilli toprak yapısının oluşu ile oldukça idealdir. Doğal olarak yetişen yaban mersini türünün en yoğun rastlandığı yerler Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yer alan Ardahan, Rize, Trabzon illeridir. Bunun dışında yaban mersini türlerinin Giresun, Ordu, Samsun, Sinop, Kastamonu, Zonguldak, İstanbul ve Bursa Uludağ ve İznik’te doğal olarak yetişmekte ve yöre halkının meyveleri taze veya reçel yapılarak tüketildiği görülmektedir. Kültürü yapılan Vaccinium türü üzüksü meyvelere bakacak olursak dünya üzerindeki üretim miktarı oldukça sınırlı olduğu söylenebilir. Elde edilen istatistiksel verilere göre 2005 yılında dünya Vaccinium türleri üzüksü meyvelerin üretimi 241000 ton iken bunun 123000 tonluk bir kısmı ile Amerika ilk sırada yer bulmaktadır. Kanada 81900 ton üretim ile ikinci sırada, Polonya 15000 tonluk üretimi ile üçüncü sıradadır. Şekil 2.11’de Avrupa’da yıllara göre değişen ihracat oranları gösterilmektedir. Veriler doğrultusunda henüz dünya istatistiklerine girememiş olduğu görülen ülkemiz Türkiye’de Vaccinium türü üzüksü meyvelerin ekili alanları ancak 50 hektarı aşabilmişken üretim ise henüz 25–30 ton arasındadır [17, 28, 29].





**Şekil 2.11 :** Vaccinium cinsii üzüksü meyvelerin Avrupada yıllara göre değişen ihracat oranları (1000 ton) [30].

### 2.1.6 Sanayide Kullanımı

Üzüksü meyveler gıda sanayinde en çok taze meyve olarak kullanılmaktadır. Yaban mersini de bunlardan birisidir ancak üretimi ülkemizde pek yaygın olmadığından kullanımı da sınırlıdır. Gıda teknolojilerindeki kullanımı daha çok gelişmiş ülkelerde meyve suyu, meyve şurubu, reçel ve marmelat olarak; süt ürünleri endüstrilerinde, dondurma ve dondurulmuş yoğurt üretiminde; şekerlemelerde, unlu mamüllerde ve bisküvi sanayinde kullanılmaktadır. Daha çok taze, püre edilmiş, reçel, şurup veya meyve suyu olarak düzenli bir şekilde talep edilmektedir. Şekerleme ve pasta üretiminde öncü olan firmalar çok miktarlarda üzüksü meyve tüketmektedir. Yaban mersini meyvesine mevsimi geldiği vakitlerde taze haliyle yerel pazarlarda rastlanmaktadır. Mevcut pazar koşullarında 12 ile 15 gün arasında taze kalabilmektedir. Süt ve süt ürünleri teknolojisinde, kuru meyve teknolojisinde, meyveli ekmek, çörek, kek, puding ve pastalarda, baharat sanayisinde, meyve salatalarında, reçel, marmelat ve konserve sanayisinde de kullanılır. Meyveleri veya yaprakları kurutularak çay şeklinde de değerlendirilebilir. Diyet mönülerinde de yer alan yaban mersinini şarap olarak da kullananlar mevcuttur. Bütün bunlara ek olarak bitkisi çok sağlam yapılı olduğundan kulp yapımında kullanılmaktadır [17]

### **2.1.7 Kayıtlı Olduğu Farmakopeler**

Avrupa Farmakopesi

ESCOP Monografları

Komisyon E Monografları

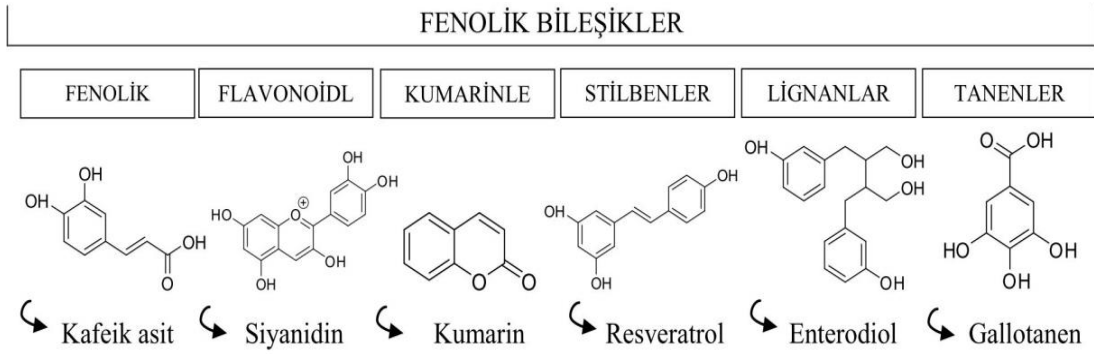
Fransız Farmakopesi

British Farmakopesi

### **2.2 Fenolik Bileşikler**

Fenolik bileşikler gıdalarda ve tıbbi aromatik bitkilerde sıklıkla rastlanan sekonder metabolitlerdendir. Özellikle meyve ve sebzelerin rengi, lezzeti ve dayanıklılığı üzerinde etkilidir. Bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine ağızda buruk bir tat bırakarak, rengine ise kırmızı mor tonlarını vererek etki eden, genellikle çok az miktarlarda bulunmakla birlikte önemi oldukça büyük olan bir madde grubudur. Bu bileşikler bitkinin adaptasyonunda önemli bir rol oynamaktadır; kuraklık, UV radyasyonu, patojenler ve hastalıklar gibi farklı stres koşulları altında bitkiyi koruma görevini üstlenirler [31]. Fenolik bileşiklerin içeriği; bitki çeşidi, tarımsal yönetim, iklim faktörleri, olgunlaşma aşaması, hasat zamanı, saklama koşulları ve hasat sonrası yönetimi gibi birçok faktöre göre farklılık gösterir [32]. Son yıllarda, fenolik maddelerin antioksidan kaynaklı tıbbi özellikleri nedeniyle gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılabilme olanaklarının araştırılması üzerine yapılan çalışmaların hız kazandığı görülmektedir [33].

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubuyla bir veya daha fazla aromatik halka içeren bileşiklerdir [34]. Bitkilerdeki doğal fenolik bileşikler genellikle: fenolik asitler, flavonoidler, tanninler, kumarinler, stilbenler ve lignanlar şeklinde gruplandırılır. Şekil 2.12' de doğal fenolik bileşiklerin alt başlıkları, örnekleriyle birlikte verilmiştir. Flavonoidler besinlerde en yaygın olarak bulunanlarıdır [34, 35].

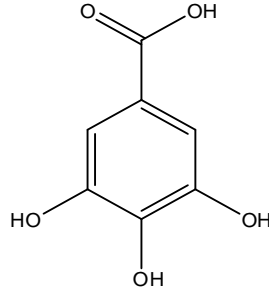


**Şekil 2.12:** Doğal Fenolik Bileşikler ve Örnekleri.

Fenolik bileşikler, biyokimyasal aktiviteleri bakımından geniş bir etki alanına sahiptir. Temel biyokimyasal aktivitelerinden biri birincil antioksidanlar olarak sınıflandırılmalarıdır. Lipit oksidasyonunun başlangıç aşamasını engelleyen veya geciktiren, yayılma aşamasını ise kesintiye uğratan serbest radikal toplayıcılarıdır [35]. Antioksidan aktivitesinin yanında; antimutajenik, antikarsinojenik, antimikrobiyal aktiviteleri de saptanmıştır. İlaveten gen ifadesini değiştirme özelliği de mevcuttur [36]. Gen ifadesini değiştirme özelliği şu şekilde açıklanabilir: hastalıkların hemen hepsinin kökeninde genlerle ilgili bir problem yatmaktadır. Kalp hastalıkları gibi genel hastalıklar ve kanserlerin çoğu genlerin farklı etkenlerle mutasyona uğramasından kaynaklıdır. Fenolik bileşikler gibi bazı maddeler genler üzerinde bir seri pozitif etkiye sahiptir.

### 2.2.1 Total Fenolik Madde Miktar Tayini

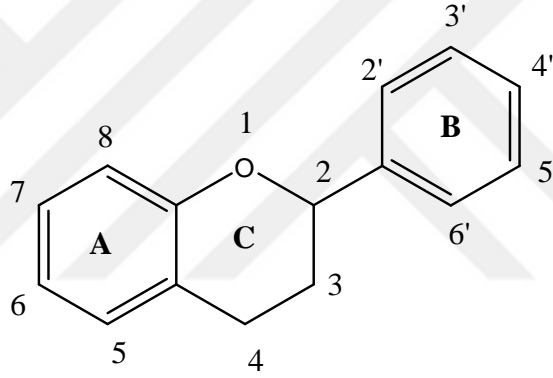
*Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde total fenolik madde miktar tayini yapabilmek için belirlenen yöntemler arasından Folin-Ciocalteu Yöntemi tercih edildi [37]. Folin-Ciocalteu Yöntemi, yöntem adı veren reaktif vasıtasıyla oluşan renk yoğunluğuna göre görünür bölgedeki absorbans ölçümüne dayanmaktadır. Tungsten ve molibden oksitlerin karışımı olan Fosfomolibdotungstat reaktifinin (PMoW11O40)-4 içerdiği Mo+6'nın ortamda bulunan indirgeyici ajanlar tarafından Mo+5'e indirgenmesi esasına dayanmaktadır [37, 38]. Bu yöntemde standart fenolik bileşik olarak gallik asit baz alınmaktadır. Gallik asit molekülünün yapısı Şekil 2.13'te gösterildiği gibidir.



**Şekil 2.13 :** Gallik asit molekül yapısı.

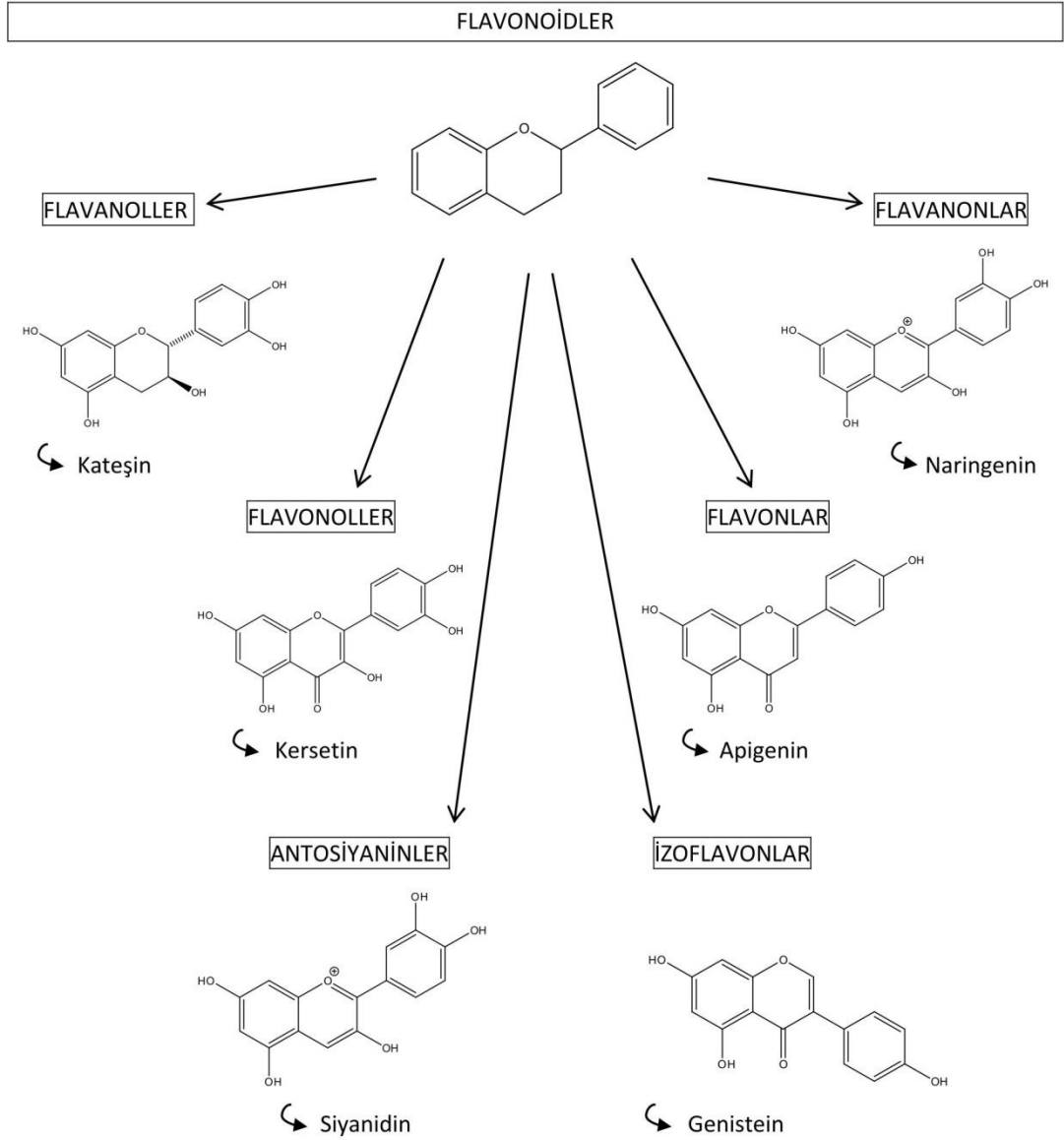
### 2.3 Flavonoidler

Flavonoidler meyve ve sebzelerde en yaygın olarak rastlanan fenolik bileşiklerdir. Temel flavonoid yapısı, A, B ve C olarak isimlendirilen üç halkada (C6-C3-C6) düzenlenmiş 15 karbon atomu içeren flavan çekirdeğidir [34].



**Şekil 2.14 :** Flavonoidlerin C6-C3-C6 iskelet yapısı [39].

Flavonoidler kendi içlerinde merkez halka olan C halkasının oksidasyon durumuna göre altı başlığa ayrılırlar. Bu başlıklar şunlardır: flavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler [34]. Şekil 2.15' te bazı flavonoidlerin molekül yapıları gösterilmiştir.



**Şekil 2.15 :** Flavonoidlerin molekül yapıları [35].

Bazı sıklıkla rastlanılan flavonoidlerden kersetin (flavonol), soğan, brokoli ve elmada; kateşin (flavanol), çay ve bazı meyvelerde; naringenin (flavanon), narenciye meyvelerinden greyfurtta; siyanidin glikozitleri (anthocyanin) ise daha çok mor üzüm ve yaban mersini meyvelerinde bulunmaktadır. Buna ek olarak daidzein, genistein ve glycitein (izoflavonlar) de soyada bulunmaktadır [40].

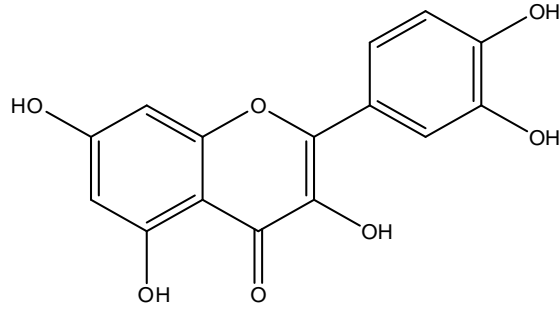
Flavonoidler bulunduğu ortamın asitlik derecesine göre renk değiştirmektedir. Ortam pH'ı 4'ün üzerine çıktığında ağır metal tuzları ile reaksiyona girerek mavi-griden mavi-siyaha dönen tonlarda renk değişimine ve metalik bir tada sebep olmaktadır [41, 42].

Bu bileşenlerin genel mekanizmaları incelenmiş ve yapı ve antioksidan aktivitesi arasındaki ilişki gözlemlenmiştir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi genellikle üç türlü olmaktadır. Bunlardan ilki, birincil antioksidan olarak; ikincisi, şelatlayıcı olarak; üçüncüsü, süperoksit anyon yakalayıcısı olarak serbest radikallerin etkisini gidermeleridir. B halkasındaki 3'-4'-5' pozisyonlarındaki hidroksil grupların varlığı tek hidroksil içeren gruplara kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır. Aynı zamanda C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlar antioksidan özellik üzerinde etki yapmaktadır [43].

Meyve ve sebzelerin antioksidan özellikleri sahip oldukları C, E vitaminleri ile  $\alpha$ -karotenlerin yanında flavon, izoflavon, antosiyanin, kateşin ve izokateşin gibi farklı flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Bazı çalışmalar flavonoidlerin mutajen ve kanserojen olduğunu iddia ediyor olsa da, elde edilen bulgular flavonoidlerin antimutajen ve antikanserojen olduğunu ispatlar niteliktedir [33, 44]. Flavonoidler antioksidan özellikleri sayesinde kanser, alzheimer, ateroskleroz gibi hastalıklarla yakından ilişkilidir. Aynı zamanda sağlığımızı koruma amacıyla geliştirilen çeşitli nutrasötik, farmasötik, medikal ve kozmetik uygulamalar için de vazgeçilmez bir bileşendir [45]. Flavonoidlerin yıllar önce araştırılmaya başlanmasına rağmen son yıllarda önem kazanmış olması, flavonoidlerin antioksidan özelliklerine ilaveten antiinflamatuvar, antiviral, antialerjik ve diğer özelliklerinin de bulunmasıyla ilişkilidir. Sayıları 4000' in üzerinde olduğu tahmin edilen flavonoidler çay, elma, soğan, baklagiller, domates ve kırmızı şarapta bol miktarda bulunmaktadır [46-48].

### **2.3.1 Total Flavonoid Miktar Tayini**

*Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde total flavonoid miktar tayini yapabilmek için belirlenen yöntemler arasından alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi tercih edilmiştir [49, 50]. Bu yöntemde referans madde olarak kersetin kabul edildi. Şekil 2.16'da kersetin molekülünün yapısı gösterilmektedir. Yöntem alüminyum klorür (AlCl<sub>3</sub>)'ün C-4 keto grupları ve flavonollerin C-3 veya C-5 hidroksil grubu ile kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanmaktadır.



**Şekil 2.16 :** Kersetin molekül yapısı.

## 2.4 Antosiyaninler

### 2.4.1 Genel Bilgiler

Bitkilerin sekonder metabolitlerinden biri olan antosiyaninler, en az 27 familyanın 73 cinsi içinde yaygın şekilde rastlanan bir sekonder metabolittir [51]. Yaban mersini, üzüm, elma, çilek, lahana, pancar, havuç ve soğan gibi birçok meyve ve sebzenin sahip olduğu kırmızı, turuncu, mor ve mavi renkli bileşenler olup düşük toksik etkili bileşikler olması sebebiyle gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanılması tercih edilen doğal renklendirici maddelerdir. Avrupa Birliği mevzuatına göre E163 kodu ile doğal renklendirici olarak listelendirilmiş, FDA tarafından doğal renklendirici olarak belgelendirilmiştir [34, 52, 53].

Antosiyaninlerin zehirsiz ve mutajen etki göstermeyen yapıları birçok çalışmada incelenmiş, çeşitli hastalıkların tedavisinde olumlu sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir [54-58]. Antosiyaninlerin antioksidant [59], antiülser [60], kalp ve damar hastalıklarından koruyucu [61], antikanser, antitümör, ve antimutajenik [62], antidiyabet [63], göz [64], yaş ile ilgili hastalıklar [65] ve antibakteriyel aktivite [66] gibi özellikleri yapılan birçok çalışmada kapsamlı olarak incelenmiştir [67].

Antosiyaninlerin bulunduğu başlıca yenilebilir bitkiler ve dâhil oldukları familyaları;

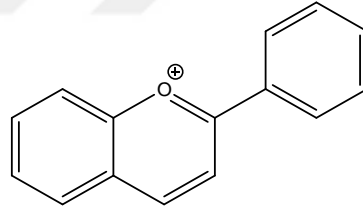
- *Vitaceae* familyası (üzüm)
- *Rosaceae* familyası (vişne, elma, şeftali, böğürtlen, çilek, ahududu )
- *Solanaceae* familyası (tamarillo, patlıcan)
- *Saxifragaceae* familyası (kırmızı ve siyah havuç)
- *Cruciferae* familyası (kırmızı lahana)
- *Ericaceae* familyası (mavi ve kırmızı yaban mersini) [68].

Antosiyaninler, bitkiler arasında suda çözünebilme özelliğine sahip olan en önemli gruplardan biri olarak görülmektedir. Bu özellikleri ile ekstraksiyonlarının hazırlanması aşamasında kolaylık sağlamaktadır [69]. Ayrıca antosiyaninlerin polar çözücüler ile çözünürlüğünün iyi sonuçlar doğuruyor olmasının bir sonucu olarak, asitlenmiş antosiyaninlerin bozunmasını engellemek adına genellikle az miktarda formik asit veya hidroklorik asit içeren etanol, metanol veya aseton gibi sulu organik çözücü karışımı ile ekstrakte edilmektedirler [70, 71].

#### 2.4.2 Kimyasal Yapısı

Antosiyaninlerin temel yapısı 15 C içermektedir. A ve B olarak isimlendirilen iki fenil halkası bulunmaktadır. Bu iki fenil halkası birbirine 3 karbon atomuna sahip bir köprü ile bağlıdır. Bu 3 karbon atomlu köprü üçüncü bir C halkasını oluşturmaktadır [72].

Antosiyaninlerin yapılarında heterosiklik bir halka olan pirilyum katyonu bulunmaktadır. Bu pirilyum katyonu, pozitif yüklü bir oksijene sahip olan bir oksonyum iyonudur. Bu yapı pozitif yüklü bir oksijen sayesinde bir elektron eksik ve bundan dolayı oldukça aktif haldedir.

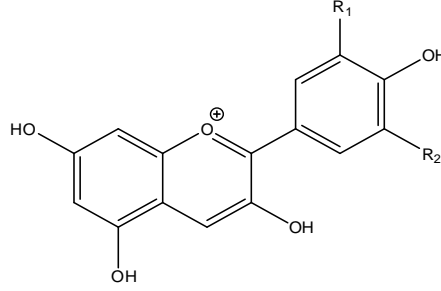


Şekil 2.17 : Antosiyaninlerin temel yapıları [53].

Antosiyaninler şeker gruplarının, şeker olmayan (aglikon) maddelerle birleşmesi ile oluşmaktadır. Antosiyaninlerin şeker olmayan kısmı antosiyanidinler olarak isimlendirilmektedir. Pelargonidin (Pg), Siyanidin (Cy), Delfinidin (Dp), Peonidin (Pn), Petunidin (Pt) ve Malvidindir (Mv) bilinen en yaygın antosiyanidin türleridir. Bu altı antosiyanidin, B halkasına bağlanan grupların sayılarına ve çeşitlerine (hidroksil, metoksil) göre değişiklik gösterir. Her bir antosiyanidin farklı şeker ya da asitlerle, farklı pozisyonlarda glikozit bağı ile bağlanmasıyla çok sayıda antosiyanin oluşabilmektedir. Bir şeker molekülü antosiyaninlere, 3, 5, 7, 3', 4' ve 5 numaralı karbondan bağlanabilir. Genellikle, 3 ve 5 numaralı konumdan bağlanmayı tercih ederler. Bunlar arasında da daha çok 3-OH (3-O-monoglikositler) pozisyonunu, daha az bir oranda da 3-OH ve 5-OH (3,5-O-diglikozid) pozisyonunu tercih ettiği görülür.



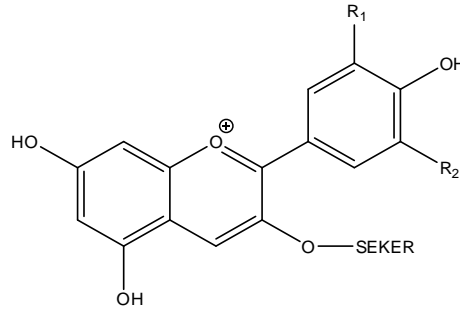
Aşağıda verilen şekillerde antosiyaninlerin molekül şekilleri görülmektedir. Antosiyaninlerde sıklıkla rastlanan şeker kısımları: D-glikoz, L-ramnoz, D-galaktoz, D-ksiloz ve D-arabinozdur. Doğada bugüne kadar bitkilerden izole edilerek kimyasal yapıları belirlenmiş en yaygın kullanılan 6 tane antosiyanidin ve yaklaşık 500 ün üzerinde antosiyanin bulunmaktadır [73-79].



**Şekil 2.18 :** Antosiyanidin.



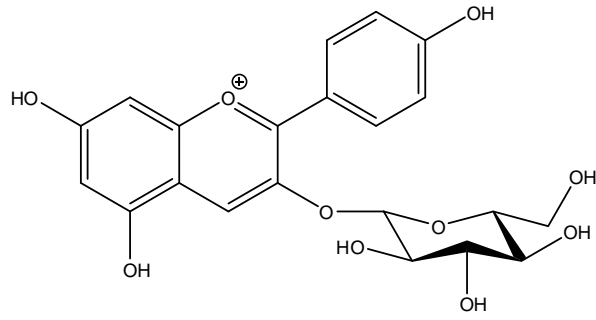
**Şekil 2.19:** Antosiyanidin ve Antosiyanin.



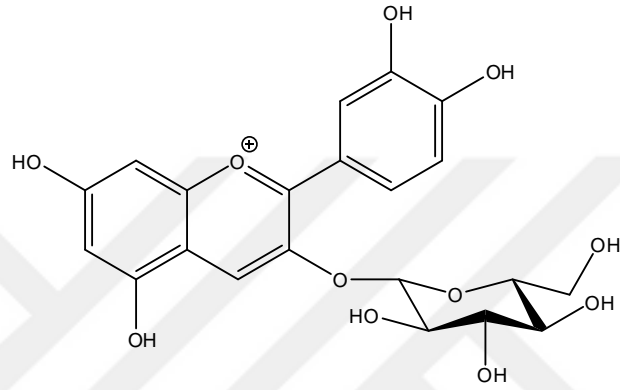
**Şekil 2.20 :** Antosiyanin.

**Tablo 2.1 :** Başlıca antosiyaninler.

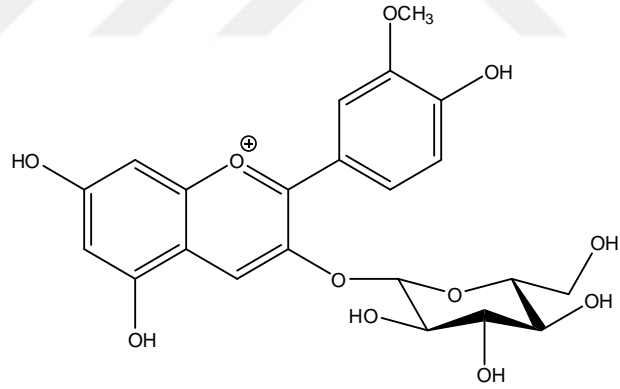
Antosiyanin	R1	R2
Pelargonidin-3-Glikozit	H	H
Siyanidin-3-Glikozit	OH	H
Delifinidin-3-Glikozit	OH	OH
Peonidin-3-Glikozit	OCH3	H
Petunidin-3-Glikozit	OCH3	OH
Malvidin-3-Glikozit	OCH3	OCH3



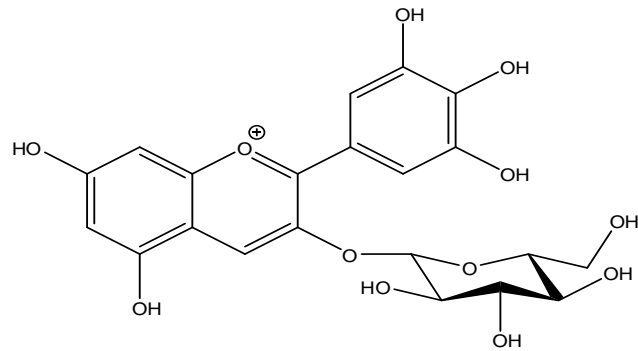
Şekil 2.21 : Pelargonidin-3-Glikozit.



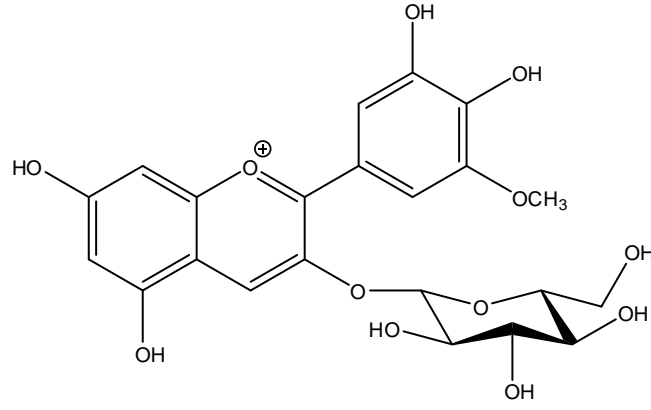
Şekil 2.22 : Siyanidin-3-Glikozit.



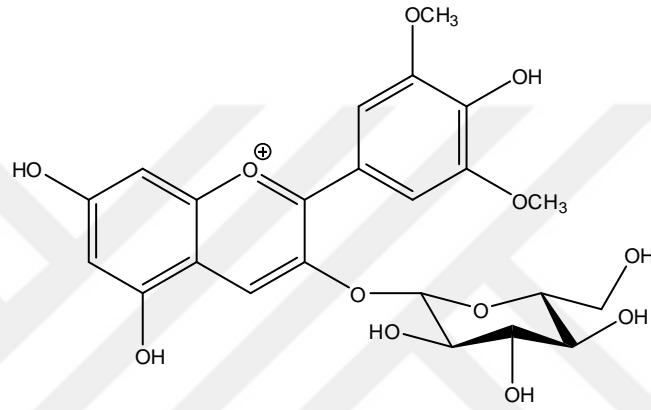
Şekil 2.23 : Delifinidin-3-Glikozit.



Şekil 2.24 : Peonidin-3-Glikozit.



Şekil 2.25 : Petunidin-3-Glikozit.

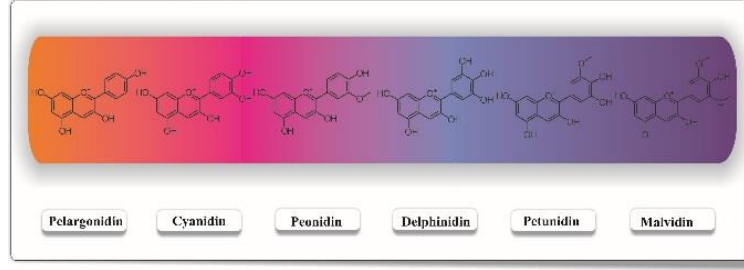


Şekil 2.26 : Malvidin-3-Glikozit.

### 2.4.3 Stabiliteye Etki Eden Faktörler

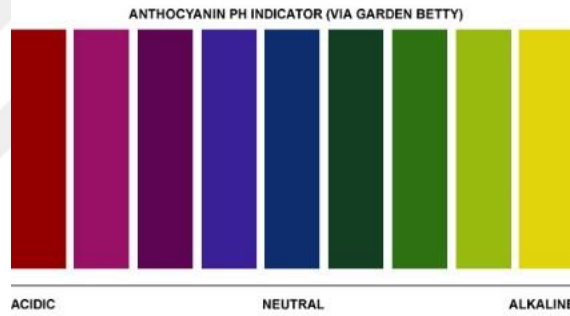
Antosiyaninler 400 ile 800 nm aralığındaki görünür bölge ışığını soğurma yeteneğine sahiptir. Bu sebeple pigment olma özelliği gösterirler. Pigment molekülleri yapıları gereği zayıf bağlı elektronlara sahip olurlar. Böyle moleküllerde elektronların yüksek enerji seviyesine ulaşabilmeleri için gereken enerji düşük olduğundan görünür bölgenin sahip olduğu ışık enerjisi yeterli olur. Bir pigmentin rengi ise görünür bölge ışıklarının özel bir dalgaboyu ile belirlenir. Belirli dalgaboyundaki ışık pigment molekülü sayesinde dağıtılır veya yansıtılır. Antosiyaninler en uzun dalgaboylu ışığı absorbe ederler ve turuncu, pembe, kırmızı, magenta, mor, mavi ve mavi-siyah çiçek renklerinin oluşumuna sebep olurlar. Bu renk çeşitliliğini sağlayabilmeleri ve stabilitelerini koruyabilmeleri genel olarak; pH, sıcaklık, ışık ve kimyasal yapı faktörlerine bağlıdır. Çiçekler oluşan bütün bu pigment türlerinin karışımlarını da biriktirebildiğinden sınırsız sayıda renk kombinasyonları meydana gelir. [53, 72, 80]. Antosiyaninler pigment olma özelliğiyle, taze yapraklarda ultraviyole ışınların sebep

olduğu negatif etkilere karşı koruyucu olup, patojenlere karşı gösterilen dirençte artış sağlamaktadır [81].



**Şekil 2.27 :** Bazı antosiyaninlerin sahip olduğu renkler.

Antosiyaninlerin renklerindeki çeşitlilik moleküllerinin yapılarına bağlı olduğu gibi, buldukları ortamın pH derecesine göre de değişiklik göstermektedir. Asidik sulu çözeltilerde kırmızı renk gösteren antosiyaninlerin pH değeri yukarı doğru çıktıkça renklerinde ciddi bir değişim gözlenmektedir. Antosiyaninler düşük pH da oldukça kararlıdır ve etkin bir kırmızı renk görülür [82].



**Şekil 2.28 :** Farklı pH değerlerinde antosiyaninlerde gerçekleşen renk değişimi.

Antosiyanin değerlerinin sıcaklık değişimiyle farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. 6 ° C, 25 ° C ve 40 ° C'de üzüm posası ekstraktında yapılan incelemede, sıcaklık artışıyla birlikte, çözeltinin pH' ı düşük olmasına rağmen, antosiyanin renklerinde kırmızıdan turuncuya doğru değişim saptanmıştır [83]. Diğer çalışmada ise, maksimum 35 ° C'de ısıtma işlemi uygulanmış üzüm ekstraktında antosiyanin içeriğinin, 25 ° C'deki kontrol meyvelerine göre yarısından daha azına düştüğü bildirilmiştir [84]. Nar ve vişne suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin parçalanması üzerinde sıcaklığın etkisini incelemişler, farklı miktarlarda örnekler farklı sıcaklıklarda depolanmışlardır. Sıcaklık arttıkça antosiyaninlerin degradasyon hızı artmış ve antosiyaninlerin parçalanması birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre gerçekleşmiştir. Nar suyundaki bozunma hızının vişne suyuna göre daha yüksek

olduğu da bulgulanmıştır [85]. Yapılan çalışmalardan çıkarılacak sonuç antosiyaninlerin yüksek sıcaklıklardaki ekstrelerinde daha az kararlı halde olduğudur.

Işığın antosiyaninler üzerindeki etkisi, antosiyanin içeren gıda maddelerinin saklanması açısından çok önemlidir. şarap antosiyaninlerinin ısıya ve ışığa maruz bırakıldıklarında antosiyanin içeriğinde meydana gelen değişimlerin incelendiği bir çalışmada açillenmiş diglikozitlerin, diğerlerine göre daha kararlı oldukları belirlenmiştir [86]. Antosiyaninler karanlık ortamda renklerini daha iyi korurken özellikle şeker varlığında ışığa bağlı olarak, ısıya maruz bırakıldığında ise oksijen varlığında konsantrasyonları azalmakta olup bozunma göstermektedir [87].

Antosiyaninlerin stabilitesi şeker eklenmesi ile farklı meyvelerde farklı sonuçlar vermektedir. Bu sonuçlar şeker ilavesinin kesin bir koruyuculuk sağlamadığını göstermekte, fakat bazı durumlarda stabiliteyi güçlendirici etkisine rastlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada sükroz konsantrasyonunun arttırılması ile ilek antosiyaninlerinin stabilitesinin arttığı; üzüm, mürver ve siyah frenk üzümü ekstraksiyonlarındaki antosiyaninlerin stabilitesinin ise sükroz eklenmiş sistemlerde kontrol numunesiyle kıyaslandığında azaldığı gözlenmiştir [88]. Ayrıca bazı araştırmalarda şeker ilavesinin antosiyanin stabilitesine etki etmediği bulunmuş; siyah kuş üzümünde yapılan çalışmada ise fruktoz ilavesinin stabiliteyi olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır [59, 89]. Yapılan farklı bir çalışmada aai üzümü ve kiraz örneklerine ayrı ayrı şeker ve tuz ilavesi yapıldığında stabilite olumsuz etkilenmiştir [88].

Antosiyanin şekerlerine bağlanan ail asit gruplarının antosiyanin stabilitesini arttan önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir [90]. Kara havuç ve lahanada bulunan açillenmiş antosiyaninlerin kimyasal yapısının hidrofilik bozunmalara karşı koruyucu özellikte olduğu belirtilmiştir [91]. Açillenmiş pigmentler, açillenmemiş formlarına kıyasla daha stabildir. Son zamanlarda, açillenmiş antosiyaninler gıda endüstrisinde, açillenmemiş antosiyaninlere karşı yüksek stabiliteleri nedeniyle kullanılan gıda renklendiricileridir. [51, 53]

Enzimler antosiyaninlerin parçalanması yoluyla renklerinin değişmesine sebep olmaktadır. Örneğin glikozidaz (antosiyanidaz) enzimi, antosiyaninlerdeki glikozidik bağları hidroliz ederek kararsız yapıdaki antosiyanidinlerin oluşmasına sebep olur ve bu sayede renk açılır [92].

Antosiyaninlerle kompleks oluşturup stabil veya farklı renkli bileşik oluşturan maddelere kopigment adı verilir. Kopigmentasyon reaksiyonları antosiyaninlerin stabilitesinde önemlidir. Antosiyaninlerin flavonoidler, alkaloidler, aminoasitler, benzoik asitler ve diğer antosiyan bileşikleri ile hidrojen bağları oluşturmasıyla oluşan komplekslerde renk daha güçlü hale gelmektedir [78]. Flavonoidler, alkaloidler, organik asitler vb. kopigment davranışı göstererek antosiyanin çözeltisine ilave edildiğinde bu çözeltinin rengini arttırarak stabilize ederler [93]. Bu stabilite kopigmentlerin renkli flavinyum katyonunu hidrotasyona karşı koruması nedeniyle oluşmaktadır [94]. Kopigmentasyon oluşumu, kopigmentasyona katılan antosiyaninin yapısı ve konsantrasyonuna, kopigmentin yapısı ve konsantrasyonuna, ortamın ve çözücünün pH'ına ve sıcaklığına bağlıdır [95]. Beş farklı antosiyanin için kopigment yapma özelliğini beş farklı fenolik asit kullanarak incelemişlerdir. Pigment-kopigment komplekslerinin stabilitesini 6 aylık depolama süresince incelemişler ve en fazla kopigmentasyon reaksiyonunun malvidin 3-glikosid çözeltisinde gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Tüm pigmentler için en güçlü kopigmentler ferulik ve rosmarinik asit ile sağlanmıştır. Rosmarinik asit ve malvidin 3-glikozit ile oluşan reaksiyon sonucunda renk yoğunluğu % 260 artış göstermiştir. Pelargonidin 3-glikozitin ise renk yoğunluğu depolama sırasında ortama ferulik ve kafeik asit eklenmesiyle artmıştır [96].

Ahududu suyu ve şarap üretim aşamalarının, antosiyanin pigment kompozisyonu, renk ve görünüş üzerine etkileri incelenmiştir. Antosiyanin pigmentlerinin fermantasyon sırasında önemli kayıplara uğradığı depolama sonunda başlangıçta antosiyanin % 50 azaldığı bulunmuştur [97].

#### **2.4.4 Boyar Madde Olarak Kullanımları**

Gıdaların renklendirilmesi binlerce yıl öncesine dayanan bir uygulamadır. Gıdaların renk ve aromalarını daha güçlü hale getirebilmek amacıyla üzümü meyveler, baharatlar ve çeşitli şifalı otların kullanımı muhtemelen 3000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır [98]. Mısırlıların M.Ö. 400 yıllarında şekerlemeleri boyamak ve şarabın rengini iyileştirmek amacıyla çeşitli bitki ekstraktları kullandıkları ortaya çıkarılmıştır. 1856 yılında ilk sentetik gıda boyası olan “muavine” üretilmiş, sonrasında gıda boyalarının çeşitliliği hızla artmıştır. 1800'lü yılların sonuna doğru gelişen gıda endüstrisi ile birlikte gıda boyalarındaki renk çeşitliliği de hızla

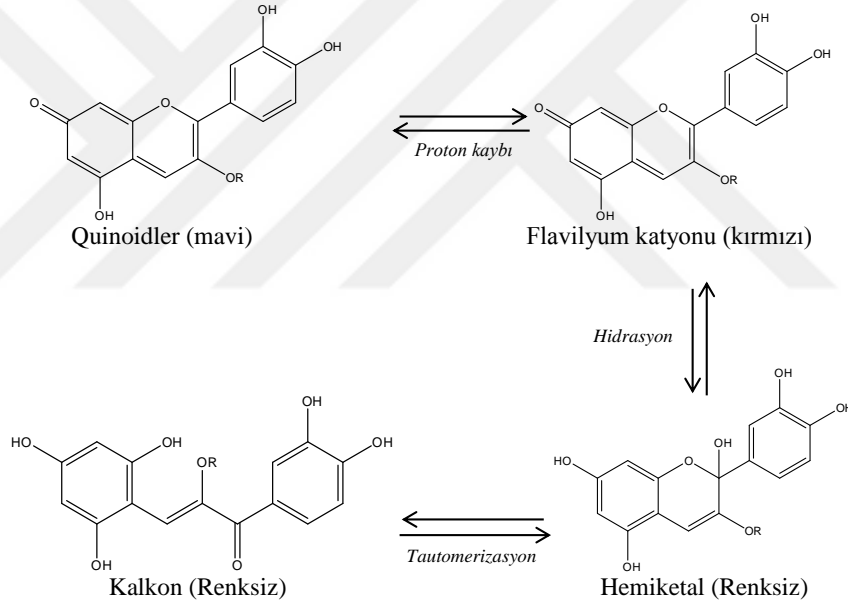
artmıştır. Zamanla renklendiricilerin süsleme amacıyla veya kalitesi düşük olan gıdaları maskeleyen amacıyla kullanımları da görülmüş, kontrolsüzce artan aşırı kullanım yasal bir düzenleme getirme zorunluluğunu doğurmuştur. Bu yasal düzenlemeler özellikle kullanılan toksik maddelerin sağlık üzerine olan olumsuz etkilerinin bir sonucu olarak getirilmiştir. Nihayet kullanımlarına izin verilen sentetik renklendiricilerin listesi oluşturulmuş ardından çoğu ülkede yürürlüğe konulmuştur. Fakat 20. yüzyılın sonlarına doğru tüketicilerde, gıdalara ilave edilen katkı maddeleri hakkında giderek artan farkındalık ve tüketilen gıdaların doğal olması gerektiği düşüncesi, teknolojik gelişmelerle birleşerek, doğal kaynaklı renk maddelerinin kullanımındaki artışı gözle görülebilir hale gelmiştir [99, 100].

Renk, gıdaların önemli bir özelliği olup kalite belirteçidir ve gıdaların kabul edilebilirliğinin de bir göstergesidir. Gıdaların renk özellikleri işlenmesi ve depolamasına bağlı olarak ışık, sıcaklık, oksijen, metal iyonlarındaki değişimlerden etkilenmektedir. Bu nedenle, gıdaların görünümünü iyileştirmek onları cazip hale getirmek ve depolama sırasında yaşanabilecek renk bozulmalarını engelleyebilmek adına gıdaların renklendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Gıdalara ilave edilen renklendiriciler doğal ve sentetik renklendiriciler olmak üzere sınıflandırılırlar. Sentetik pigmentlere kıyasla doğal pigmentler alerjik reaksiyonlara sebep olmamaları, mutajenik veya karsinojenik olmamaları sebebiyle tercih edilirler. Doğa, gıda renklendiricisi olarak kullanabileceğimiz antosiyaninler, karatenoidler, betalainler, karminik asit ve klorofiller gibi doğal bileşikler kendiliğinden üretmektedir [101].

Rengin, gıdaların kendine has aromalarının algılanmasında etkili olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur. Gıdalar kendi sahip olduğu aromalarına uygun olarak renklendirildiğinde, gıdanın sahip olduğu aroma daha doğru bir şekilde algılanabilmekte, uygun olmayan bir renk ile renklendirildiğinde ise aromanın doğru olarak algılanabilmesi daha az mümkün olabilmektedir. Renklerin aroma üzerine etkisini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada ahududu ve portakal aromalı içecekler kırmızı, sarı ve turuncu gibi renklere boyanmış ve rengin ahududu ve portakal aromasının algılanmasında etkili olduğu tespit edilmiştir. Gıdaların renklerinin onların koku, aroma ve tatlılık derecelerinin algılanmasında çok önemli bir paya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu sebeple gıda üreticileri gıdaları daha çekici hale getirmek, ürünün mevcut renk yoğunluğunu korumak veya artırmak, renk

bozukluklarını gidermek ve standart renklerde ürünler üretmek gibi çeşitli sebeplerle gıdalara renk maddeleri ilave etmektedirler [102].

Antosiyaninler ise meyve ve çiçeklere maviden kırmızıya kadar değişebilen geniş renk çeşitliliğiyle gıdaları doğal yollarla renklendirebilecek maddelerdendir [53, 103]. İlgi çekici renkleri sayesinde böcekleri kendilerine çekerek bitkinin polen ve çekirdeklerinin yayılmasına yardımcı olurlar. Antosiyaninler ortam pH'ına göre renk değiştirdiklerinden dolayı tıpkı indikatör gibi özellik gösterirler. Ortamın pH'ı 2'nin altına düştüğü zaman antosiyanin flavilyum katyonu halinde ortama hakim olur ve renk kırmızıya döner. pH 4-5 arasında ortama renksiz karbinol psödobaz formu hakim olur. pH 5'in üzerine çıktığında ise kurdinal anhidrobaz formu oluşur ve ortamın rengi maviye döner [62, 73, 104]. Oluşan formlar aşağıdaki Şekil 2.29' da gösterilmiştir.



Şekil 2.29 : Antosiyanin formları.

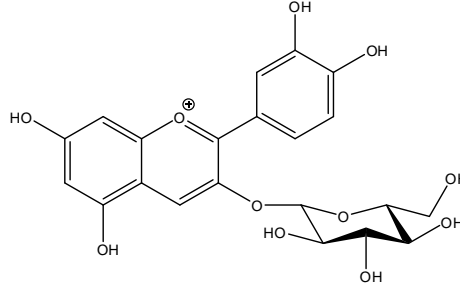
Açillenmiş pigmentler, açillenmemiş formlarından daha stabildir. Son zamanlarda, açillenmiş antosiyaninler gıda endüstrisinde, açillenmemiş antosiyaninlere karşı yüksek stabilite nedeniyle kullanılan gıda renklendiricileridir [51, 53].

#### 2.4.5 Total Antosiyanin Miktar Tayini

*Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde total antosiyanin miktar tayini yapıldı. pH Diferansiyel Yöntemi kullanıldı [105]. Siyanidin-3-glukozid referans alındı. Şekil 2.30'da molekül formülü görülmektedir. pH Diferansiyel Yönteminin ilkesi,



monomerik antosiyaninlerin pH 1.0 iken renkli formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Ortam pH 1.0 ve pH 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı olmalıdır. Numunelerin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda, saf su ile kıyaslanarak yapılmıştır.



**şekil 2.30 :** Siyanidin-3-glikozit moleköl formölü.

## 2.5 Tanenler

İnsanoğlunun bilinçli olarak yararlandığı ilk bileşiklerden birisi, eskiden tanen olarak adlandırılan bitkisel fenoliklerdir. Bunların ortak özelliği proteinlerle kompleks oluşturarak çökelti yapmalarıdır. Bu özelliğinden dolayı fenolik maddelerce zengin bitki ve ekstraktları deri sanayinde kullanılmaktadır. Ham derideki proteinlerle tanenlerin stabil ve mikrobiyal bozulmaya dayanıklı kompleksler oluşturması prensibiyle pek çok kullanım alanı olan bir materyal elde edilmektedir [33].

Berrak meyve suyu üretiminde uygulanan jelatin durultmasında yardımcı madde olarak kullanılan maddelerden birisi de tanendir. Tanenler ise hayvan ve böceklerin bitkiden beslenmesine engel olurken bitkiyi fungal ve bakteriyel saldırılara karşı korurlar [41].

## 2.6 Literatür Araştırması

### 2.6.1 Fitokimyasal Araştırmalar

Fenolik bileşikler, bitkileri enfeksiyonlar, fiziksel hasarlar, UV radyasyonu ve diğer faktörler gibi olumsuz faktörlere karşı korur [52, 106]. Örneğin gresh üzümünün derisi fenolik bileşiklerden biri olan resveratrol bakımından zengindir. Bu stilben, fitoaleksin olarak hizmet eder. Ana vazifesi, özellikle mantar enfeksiyonlarına karşı, özellikle *Botrytis cinerea* enfeksiyonuna karşı bitkileri korumaktır [107, 108].

Bazı fenolik maddelerin hücre zarı çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyona duyarlılığını azalttığını ve kansere karşı koruyucu etki gösterdiklerini bildirmiştir [109].

Fenolik maddelerin kalp sağlığı üzerine de olumlu etkilerinin olduğuna bir diğer örnekte, siyah çay, soğan ve elmadaki flavonoidlerin yüksek miktarlarda alınmasının yaşlılarda kalp hastalıklarına bağlı ölümleri azaltmada etkili olduğu bulunmuştur [110].

Flavonoidler xanthine oxidase (XO), cyclo-oxygenase (COX), lipoxygenase and phosphoinositide 3-kinase gibi enzimler için güçlü inhibitörlerdir [111-113].

Alkolsüz kırmızı şarap veya kırmızı şaraptan ekstrakte edilen bir fenolik bileşik karışımının, insanlarda plazmanın antioksidan durumunu iyileştirdiği gösterilmiştir [114].

Bir başka çalışma flavonoid içeren meyve ve sebzelerin ağırlıklı tüketimi ile yapılmış, plazmanın antioksidan kapasitesini önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış plazma R-tokoferol veya karotenoid konsantrasyonundaki artışla açıklanamamıştır [115].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, flavonoid içeren meyve ve sebze alımı ile kalp hastalığı mortalitesi arasında negatif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur [116].

Bu bileşiklerin kılcal damarlarda kanama ve çatlama engelleme etkileri olduğu ve flavonoidlerin diğer maddelerin oksidasyonunu yavaşlatıcı etki gösterdikleri de bildirilmektedir [41].

Yapılan bir çalışmada flavonoidler, kumarinler ve sinamik asitleri antioksidatif etki bakımından karşılaştırmışlar ve en güçlü etkiye flavonoidlerin (özellikle kuersetin) sahip olduğunu bunları sırasıyla kumarinler ve sinamik asitlerin takip ettiğini belirlemişlerdir [117].

Flavonoidler, *in vitro* çalışmalarda, memelilerin enzim sistemlerini bazen inhibe, bazen da stimüle ettiği, bu enzimlerin bazılarının hücre bölünmesinde, trombosit agregasyonunda, detoksifikasyonda, bağışıklık sistemi ve inflamatuvar cevapta önemli rollere sahip olduğu, bu nedenle, flavonoidlerin kanser gelişimi, hemostaz ve immün sisteme olan etkilerinin beklenen bir durum olduğu belirtilmiştir [118].

Finlandiya'dan toplanmış 19 üzüksü meyvede HPLC metodu kullanılarak flavonoid (kaempferol, quercetin, myricetin) ve fenolik asit (p-coumaric, cafeic, ferulic, p-hydroxybenzoic and ellagic acids) değerleri incelenmiş, yabani bilberry meyvesinde bu oranlar totali temel alındığında yüzde cinsinden şu şekilde derecelendirilmiştir. % 2.6 kaempferol, % 21.4 quercetin, % 6.2 myricetin, % 29.0 p-coumaric asit, % 9.2 cafeic asit, % 25.7 ferulic asit, % 0.7 p-hydroxybenzoic asit, % 5.2 ellagic asit. Quercetin, p-coumaric asit ve ferulic asit değerlerinin diğer flavonoid ve fenolik asitlere göre daha yüksek oranda bulunduğu sonucuna varılmıştır [119].

25 farklı üzüksü meyvede üzerinde yapılmış olan diğer çalışmada quercetin, myricetin, kaempferol flavonollerinin miktarları incelenmiştir. *Vaccinium myrtillus* L. türünde 29,30 mg/kg quercetin ve 14,21 mg/kg myricetin ile toplamda 43,51 mg/kg total flavonol miktarı tespit edilmiştir. Kaempferol ve vitamin C saptanamamıştır [120].

Antosiyaninler, pigment olarak renk oluşmasında oldukça etkilidirler. Bu bileşenler, taze yapraklarda ultraviyole ışınlarının sebep olduğu negatif etkilere karşı koruyucu olmakta, patojenlere karşı gösterilen direnci artırmaktadırlar. Ayrıca antosiyaninler antioksidan enzim inhibitörü olarak da rol almaktadırlar [81].

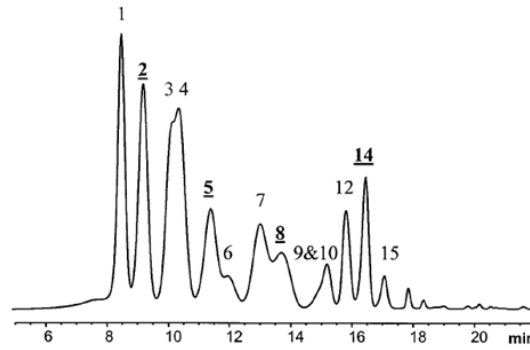
Antosiyaninlerin kavrama ve motor fonksiyonlarını düzenleyerek hafızayı geliştirdiği gözlenmiş, yaşa bağlı olarak görülen sinirsel rahatsızlıkların önlenmesinde önemli etkileri olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak vücudu oksidatif stresten koruyarak kalp ve damar hastalıklarına karşı engelleyici etki gösterdikleri de belirtilmektedir [121].

Üzümde izole edilen 3-5-diglikozit siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvidinin tampon çözeltilerde (pH 1.5 – 3.0 – 4.0 – 5.0 ve 7.0) 20°C'den 90° C'ye kadar değişen sıcaklıklarda bozunumunu incelemişler, en kararlı durumun pH 5.0'te olduğunu stabilitenin artan metoksil sayısı ile arttığını, hidroksil grubunun artışıyla ise azaldığını bildirmişlerdir. Malvidin-3-5-diglikozitin en dayanıklı antosiyanin olduğunu bunu takiben peonidin, petunidin, siyanidin ve delfinidin-3-5-diglikozitlerin geldiğini belirtmişlerdir [122].

Yapılan bir çalışmada 5 farklı ekstraksiyon yöntemini karşılaştırılmıştır. Kullanılan yöntemlerden ilki oda sıcaklığından suda ekstraksiyon, ikincisi oda sıcaklığında %19'luk (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde ekstraksiyon, üçüncüsü oda sıcaklığında %50 etanol çözeltisinde ekstraksiyon, dördüncüsü 50°C'de %50'lik asidik etanol

içerisinde 2 saat boyunca (etanol çözücüsü ile geri soğutucu ile ekstraksiyon), beşincisi ise oda sıcaklığında %30'luk etanol ve %19'luk (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sistemi ile sulu çift faz ekstraksiyonu şeklinde gerçekleştirilmiştir. Verimler sırası ile %7,56 ; %42,78 ; %51,86 ; %100 ve %92,34 olarak hesaplanmıştır [123].

*Vaccinium myrtillus* L. meyvesinin olgunlaşmış dönemlerinde yapılan bir incelemede ihtiva ettiği antosiyaninler belirlenmiştir [124]. Yaban mersinindeki antosiyaninlerin HPLC-DAD profilleri Şekil 2.31'de gösterilmiştir. Pik numaralarının karşılık geldiği antosiyaninler Şekil 2.32' de gösterilmiştir.



**Şekil 2.31 :** *Vaccinium myrtillus* L. meyvesinin antosiyaninlerinin HPLC-DAD profilleri.

ESI-MS Identification			Sugar	Anthocyanins <sup>c</sup>	<i>R<sub>t</sub></i> <sup>a</sup> min
Peaks <sup>a</sup>	MS <i>M</i> <sup>+</sup>	MS-MS <sup>b</sup> <i>M</i> <sup>+</sup> -sugar			
1	465	303	162	Delphinidin-3-galactoside	8.4
2	465	303	162	Delphinidin-3-glucoside	9.1
3	449	287	162	Cyanidin-3-galactoside	10.0
4	435	303	132	Delphinidin-3-arabinoside	10.3
5	449	287	162	Cyanidin-3-glucoside	11.3
6	479	317	162	Petunidin-3-galactoside	11.5
7	419	287	132	Cyanidin-3-arabinoside	12.9
8	479	317	162	Petunidin-3-glucoside	13.7
9	463	301	162	Peonidin-3-galactoside	14.8
10	449	317	132	Petunidin-3-arabinoside	15.1
(11)	463	301	162	Peonidin-3-glucoside	nd
12	493	331	162	Malvidin-3-galactoside	15.9
(13)	433	nd		Peonidin-3-arabinoside	nd
14	493	331	162	Malvidin-3-glucoside	16.1
15	463	331	132	Malvidin-3-arabinoside	16.4

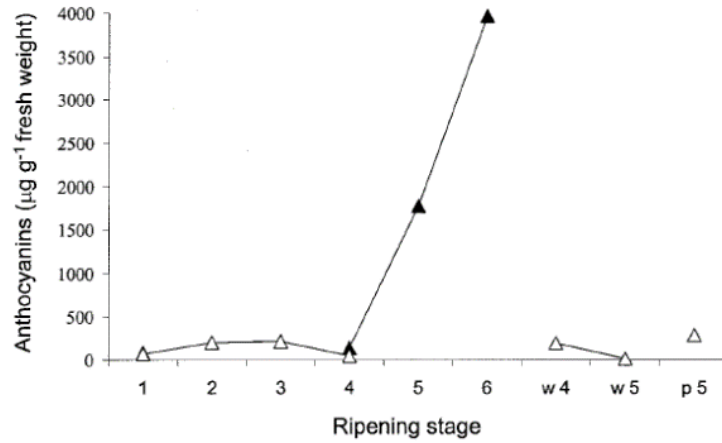
**Şekil 2.32 :** *Vaccinium myrtillus* L. Antosiyaninleri.

Yapılan çalışmaya göre antosiyaninler yaban mersini meyvesinin olgun dönemlerinde varlığını göstermektedir. Meyve gelişiminin ilk aşamalarında, ana flavonoidler olan prosiyanidinler ve kersetin gözlenmiştir. Fakat olgunlaşmanın

ilerlemesi sırasında seviyeler önemli ölçüde azalmıştır. Olgunlaşmanın sonraki aşamalarında, antosiyanin içeriği kuvvetli bir şekilde artmış ve yaban mersini meyvesinin sahip olduğu başlıca flavonoid olan antosiyaninler görülmüştür [124]. Şekil 2.33’de meyvenin gelişimi boyunca gösterdiği değişim gözlenmektedir. *Vaccinium myrtillus* L. gelişimi sırasında antosiyanin ve proantosiyanin değerleri ölçülmüş, rengin koyulaşmaya başlamasıyla antosiyanin miktarındaki belirgin artış gözlenmiştir. Şekil 2.34’ te *Vaccinium myrtillus* L. gelişimi sırasında ölçülen antosiyanin ve proantosiyanin değerleri gösterilmiştir.



Şekil 2.33 : *Vaccinium myrtillus* L. meyvesinin gelişim aşamaları.



Şekil 2.34 : *Vaccinium myrtillus* L. gelişimi sırasında ölçülen antosiyanin(▲) ve proantosiyanin(△) değerleri.

Yapılan başka bir çalışma olgunlaşmamış, yarı olgunlaşmış ve tam olgunlaşmış dönemlerde toplanıp incelenmiş yaban mersini örneklerinde olgunlaşma arttıkça şeker miktarının totalde yaklaşık iki katına ulaştığı sonucuna varılmıştır. Asit bileşimi ise farklılık göstermektedir. Malik asit değeri olgunlaşmayla yükselmiş, sitrik asit ve kuinik asit değerlerindeyse azalma gözlenmiştir [125].

Başka bir çalışmada ise Türkiye’den Artvin, Rize, Trabzon, Gümüşhane, Ordu, Bolu, Bursa, Balıkesir şehirlerinden toplanmış yaban mersini meyvelerinin antosiyanidin glikozitlerinin içerikleri belirlenmiş, daha önceden Finlandiya’dan toplanmış ve antosiyanidin glikozitlerinin içerikleri belirlenmiş olan yaban mersini meyveleriyle karşılaştırılmıştır. Türkiye ve Finlandiya arasındaki şeker kısımlarının oranlarındaki önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Ayırt edici kriterlerden biri olarak kullanılabilmesi yorumu çıkarılmıştır. Antosiyanidin glikozitlerinin profili bakımından *V. myrtillus* hammaddesinin ve özlerinin kimlik kontrolü ve kalite kontrolü için kullanılacak tutarlı bir veri elde edilmiştir [126].

Türkiye’de yapılan başka bir çalışmada Trabzon, Samsun, Uludağ (Kirazlıyayla, Sarıalan, Bakacak) bölgelerinden *Vaccinium myrtillus* L. ve Bursa Kutluca köyünden *Vaccinium corymbosum* L. örnekleri temin edilmiş, seçilen bazı fenolik asitler ve flavonoidler açısından karakterizasyonu yapılmıştır. Genel olarak, doğal olarak yetişen yaban mersini meyvelerinin fenolik asit ve flavonoid içeriklerinin kültüre alınan yüksek çalı formundaki yaban mersini türlerine göre daha zengin olduğu tespit edilmiştir [7].

*Vaccinium* cinsinden iki önemli tür olan *Vaccinium myrtillus* L. ve *Vaccinium corymbosum* L. kültürlerinin, meyve ve kabuklarının ayrı ayrı değerlendirildiği bu çalışmada, *Vaccinium myrtillus* L. örneklerinde baskın olan antosiyanin siyanidin iken, *Vaccinium corymbosum* L. kültürlerinde malvidin antosiyanini baskın olarak bulunmuştur. Total antosiyanin miktarı en çok blueberry kültürlerinin kabuklarında çıkmıştır. Meyve kısımları karşılaştırıldığında *Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde daha yüksek oranda antosiyanin tespit edilmiştir. Antioksidan aktiviteleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir [127].

Son yıllarda doğru beslenme ile sağlıklı kalabilme arasındaki ilişkinin çokça konuşuluyor olması, tüketicilerin bol miktarda meyve ve sebzelerin kullanıldığı zengin nutrasötik içerikli beslenme programları hakkında daha fazla bilgi alma isteklerini artırmıştır. Bu konuyla ilgili yapılan bilimsel çalışmalarda da artış olmuştur. Artan bu çalışmalardan bazıları çok çeşitli fenolik bileşikler içerdiği için zengin antioksidan özelliği gösteren üzüksü meyvelerini konu almaktadır. Yapılan çalışmalar üzüksü meyvelerinin sağlıklı diyetlerin bileşenlerinden biri olabileceğini göz önüne koymuştur [52].

Bir çalışmada 6 aileden (*Grossulariaceae*, *Ericaceae*, *Rosaceae*, *Empetraceae*, *Elaeagnaceae*, *Caprifoliaceae*) 18 farklı üzüksü meyvede, çözünebilir ve çözünmeyen fenolik bileşikler, diode array dedektörü ile combine edilmiş ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazıyla belirlenmiştir. Meyvelerdeki baskın konjuge hidroksisinnamik asitlerin, flavonol glikozitlerin ve antosiyaninlerin tanımlanması için analitik sonuçlar ve literatür verileri kullanılmıştır. Çalışma, aynı familyaya ait üzüksü meyveler arasında, konjuge fenolik bileşik formlarının dağılımında benzerlikler gösterdi fakat özellikle antosiyaninler incelendiğinde konjugatların ve aglikonların bileşimlerinin kromatografik profillerinde belirgin farklılıklara rastlandı. Yaban mersini meyvesine ait antosiyanin değerleri diğer meyvelere oranla daha yüksek olduğu gözlemlendi [128].

Başka bir çalışmada birbirinden farklı dört *Vaccinium* türünde [*Vaccinium corymbosum* L. (Highbush), *Vaccinium ashei* reade (Rabbiteye), *Vaccinium angustifolium* (Lowbush), and *Vaccinium myrtilus* L. (Bilberry)] total fenolik, total antosiyanin ve antioksidan kapasite incelemesi yapıldı. Hasat sırasında olgunlaşmaya bırakılmış meyvelerle erken dönemde toplanmış meyvelerde kıyaslandı. Olgun meyvelerin total fenolik, total antosiyanin ve antioksidan kapasitelerinde artış gözlemlendi. Üç farklı bölgeden toplanan *Vaccinium corymbosum* L (Highbush) meyvesinde yetiştirme yeri total fenolik, total antosiyanin ve antioksidan kapasitesi değerlerinde etkin bir rol oynamadı. Antioksidan kapasiteyle total fenolik arasında ( $r_{xy} = 0.92$ ) ve yine antioksidan kapasiteyle total antosiyanin değeri arasında ( $r_{xy} = 0.77$ ) lineer anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varıldı. Genel olarak *Vaccinium myrtilus* L. türünün, çalışılan taze meyve ve sebzeler içinde en zengin antioksidan özellikli maddelerden biri olduğu, aynı zamanda total fenolik ve total antosiyanin değerlerinin de diğer meyvelerden daha yüksek olduğu gözlemlendi [129]. Elde edilen bulgulardan oluşturulan tablo Şekil 2.35 'te gösterildi.

cultivar, state, and source	ORAC <sub>ROO</sub> <sup>a</sup> ( $\mu$ mol/g)	anthocyanin <sup>b</sup> (mg/100 g)	phenolics <sup>c</sup> (mg/100 g)	A/P <sup>d</sup> (mg/mg)	ascorbate (mg/100 g)
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Southern Highbush)					
Reveille (NC) <sup>e</sup>	17.8 $\pm$ 1.0 (144.8)	62.6 $\pm$ 3.8	233 $\pm$ 1.5	0.269	4.9 $\pm$ 0.1
Blue Ridge (NC) <sup>e</sup>	25.7 $\pm$ 2.3 (153.9)	110.8 $\pm$ 3.5	347 $\pm$ 10.9	0.319	9.5 $\pm$ 0.8
Cape Fear (NC) <sup>e</sup>	26.3 $\pm$ 3.4 (156.5)	157.3 $\pm$ 5.2	331 $\pm$ 10.3	0.476	NA
Pender (NC) <sup>e</sup>	30.5 $\pm$ 2.9 (180.5)	157.4 $\pm$ 3.7	349 $\pm$ 7.1	0.451	NA
Bladen (NC) <sup>e</sup>	42.3 $\pm$ 0.3 (231.1)	130.9 $\pm$ 5.5	473 $\pm$ 10.7	0.277	NA
mean $\pm$ SEM	28.5 $\pm$ 4.0 (173.4)	123.8 $\pm$ 17.6	347 $\pm$ 38.2	0.358 $\pm$ 0.04	7.2 $\pm$ 1.5
<i>Vaccinium angustifolium</i> (Lowbush)					
Cumberland (NS) <sup>f</sup>	27.8 $\pm$ 2.6 (167.4)	103.6 $\pm$ 0.9	295 $\pm$ 13.2	0.351	8.0 $\pm$ 0.2
Blomidin (NS) <sup>f</sup>	28.8 $\pm$ 2.1 (223.8)	91.1 $\pm$ 0.7	313 $\pm$ 6.4	0.291	3.6 $\pm$ 0.2
Lowbush (PEI) <sup>f</sup>	37.4 $\pm$ 0.9 (277.2)	179.6 $\pm$ 3.4	453 $\pm$ 18.5	0.396	1.7 $\pm$ 0.2
Fundy (NS) <sup>f</sup>	42.0 $\pm$ 2.0 (209.3)	191.5 $\pm$ 2.5	433 $\pm$ 45.5	0.442	4.3 $\pm$ 0.1
Lowbush (NS) <sup>f</sup>	45.9 $\pm$ 2.2 (271.2)	175.0 $\pm$ 1.6	495 $\pm$ 3.5	0.354	9.7 $\pm$ 0.1
mean $\pm$ SEM	36.4 $\pm$ 3.6 (229.8)	148.2 $\pm$ 21.0	398 $\pm$ 39.6	0.367 $\pm$ 0.03	5.5 $\pm$ 1.5
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.					
Bilberry (GER) <sup>f</sup>	44.6 $\pm$ 2.3 (282.3)	299.6 $\pm$ 12.9	525.0 $\pm$ 5.0	0.571	1.3 $\pm$ 0.1

**Şekil 2.35** : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular.

Kanser tedavisi ile ilgili yapılan bu çalışmada ise 10 adet yenilebilir üzüm sü meyvenin etanol ekstraktları arasında, yaban mersini ekstraktının, HL60 insan lösemi hücreleri ve HCT116 insan kolon karsinom hücrelerinin in vitro olarak büyümesini inhibe etmede en etkili meyve olduğu bulunmuştur. Test edilen özütlerden yaban mersini meyvesi, antosiyaninler de dahil olmak üzere en yüksek miktardaki fenolik bileşikler içerdiği yönüyle, en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir [27]. İlgili sonuçlar Şekil 2.36’te gösterilmiştir.

	total phenolics (mg/g)	anthocyanin (mg/g)	DPPH radical scavenging activity [ $\mu$ mol of Trolox/g or (mg of phenolics)]
lowbush blueberry	35.9 $\pm$ 0.4	12.1 $\pm$ 0.5	178.1 $\pm$ 5.4 (5.0 $\pm$ 0.5)
highbush blueberry	26.4 $\pm$ 0.4	6.3 $\pm$ 0.4	128.4 $\pm$ 8.2 (4.9 $\pm$ 1.5)
bilberry	55.1 $\pm$ 1.0	26.3 $\pm$ 1.5	287.9 $\pm$ 10.3 (5.2 $\pm$ 0.4)
cowberry	35.4 $\pm$ 0.1	6.1 $\pm$ 0.4	196.9 $\pm$ 6.4 (5.6 $\pm$ 1.1)
cranberry	20.1 $\pm$ 0.4	3.1 $\pm$ 0.2	92.9 $\pm$ 2.3 (4.6 $\pm$ 0.9)
black currant	40.9 $\pm$ 0.7	15.3 $\pm$ 0.7	200.3 $\pm$ 3.3 (4.9 $\pm$ 0.2)
red currant	13.0 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	71.3 $\pm$ 3.4 (5.5 $\pm$ 1.5)
raspberry	39.0 $\pm$ 0.6	4.4 $\pm$ 0.2	208.0 $\pm$ 8.5 (5.3 $\pm$ 2.2)
blackberry	42.5 $\pm$ 0.3	10.0 $\pm$ 0.6	238.5 $\pm$ 5.9 (5.6 $\pm$ 0.7)
strawberry	22.5 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2	121.6 $\pm$ 4.5 (5.4 $\pm$ 2.5)

**Şekil 2.36** : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular.

Antosiyaninler, flavan-3-oller, prosiyanidinler, flavonollar, ellagitanenler ve hidroksisinamatlar dahil olmak üzere polifenollerin zengin bir kaynağı olarak bilinen üzüm sü myvelerle ilgili yapılmış olan bir derlemede *Vaccinium myrtillus* L. Türünün zengin antosiyanin içeriği ve fenolik bileşik değeri açıkça görülmektedir [130]. İlgili sonuçlar Şekil 2.37 ve Şekil 2.38’ de gösterilmiştir.



Tür	Antosiyanin içeriği (mg/100 g taze meyvede)	Kaynaklar
Yaban Mersini ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	299.6 214.7	(Prior ve ark., 1998) (Borowska ve Szajdek, 2003)
Böğürtlen ( <i>Rubus fruticosus</i> )	134.6-152.2	(Pantelidis ve ark., 2007)
Siyah Frenk Üzümü ( <i>Ribes nigrum</i> )	128-411	(Moyer ve ark., 2002)
Mavi Yemiş ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	62.6-235.4 89-331 93-280	(Prior ve ark., 1998) (Ehlenfeldt ve ark., 2001) (Connor ve ark., 2002)
Aronya ( <i>Aronia melanocarpa</i> )	311.02 428 460.5	(Borowska ve Szajdek, 2003) (Zheng ve Wang, 2003) (Benvenuti ve ark., 2004)
Turna Yemişi ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )	19.8-65.6 32	(Wang ve Stretch, 2001) (Zheng ve Wang, 2003)
Ahududu ( <i>Rubus ideaus</i> )	38.7 65 19-51 35.1-49.1	(Deighton ve ark., 2001) (Wada ve Ou, 2002) (Anttonen ve Karjalainen, 2005) (Pantelidis ve ark. 2007)
Kırmızı Frenk üzümü ( <i>Ribes rubrum</i> )	7.5-7.8	(Pantelidis ve ark. 2007)
Çilek ( <i>Fragaria ananassa</i> )	39.08 20.07	(Erkan ve ark., 2008) (Zheng ve ark., 2007)

Şekil 2.37 : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular.

Tür	Fenolik bileşikler (mg/100 g taze meyvede)	Kaynaklar
Yaban Mersini ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	525	(Prior ve ark., 1998)
Böğürtlen ( <i>Rubus fruticosus</i> )	361 417-555	(Heinonen ve ark., 1998) (Sellappan ve ark., 2002)
Siyah Frenk Üzümü ( <i>Ribes nigrum</i> )	318.15 498-1342	(Borowska ve Szajdek, 2003) (Moyer ve ark., 2002)
Mavi Yemiş ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	181.1-473 261-585	(Prior ve ark., 1998) (Sellappan ve ark., 2002)
Ayonya ( <i>Aronia melanocarpa</i> )	662.5 690.2	(Borowska ve Szajdek, 2003) (Benvenuti ve ark., 2004)
Turna Yemişi ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )	120-176.5 315	(Wang ve Stretch, 2001) (Zheng ve Wang, 2003)
Ahududu ( <i>Rubus ideaus</i> )	113.73-177.6 192-359 517 330	(De Ancos ve ark., 2000) (Anttonen, Karjalainen, 2005) (Wada ve Ou, 2002) (Proteggente ve ark., 2002)
Çilek ( <i>Fragaria ananassa</i> )	317.2-443.4 102	(Skupień ve Oszmiański, 2004) (Zheng ve ark., 2007)

Şekil 2.38 : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular.

Yapılmış olan bir başka çalışmada da üzümü meyve türlerinin total fenolik, total flavonoid ve antosiyanin değerleri belirlenmiştir. Yaban mersini meyvesinin yüksek antosiyanin değeri dikkat çekmektedir [52]. İlgili sonuçlar Şekil 2.39’ de görülmektedir.

Berries/genus and species	Phenolics mg/g fresh weight	Flavonoids mg/g fresh weight	Anthocyanins mg/g fresh weight
Bilberry ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	525	44	300
Blackberry ( <i>Rubus fruticosus</i> )	486	276	82–326
Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	261–585	50	25–495
Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )	315	157	67–140
Lingonberry ( <i>Vitis vitis-idea</i> )	652	74	77
Raspberry ( <i>Rubus ideaous</i> )	121	6.0	99
Redcurrant ( <i>Ribes rugrum</i> )	1400	9.0	22
Strawberry ( <i>Fragaria x. ananassa</i> )	313	–	54

Şekil 2.39 : İlgili kaynaktan elde edilen bulgular.

## 2.6.2 Aktivite Araştırmaları

### 2.6.2.1 Antioksidan Aktivite

Günümüzde sanayinin gelişmesinin de katkısıyla oluşan dışsal etmenler ve yanlış yaşam biçimi gibi değişik nedenlerden dolayı kanser ve diyabet gibi hastalıklarda önemli oranda artışlar görülmektedir. Bu hastalıkların önlenmesinde antioksidanlar son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir.

Antioksidanların vücut savunma sistemini yok etmeye çalışan hastalıklar (otoimmün hastalıklar), nörolojik hastalıklar, yaşlılık, katarakt, kanser, kalp damar rahatsızlıkları ve diğer hastalıklara karşı iyileştirici, önleyici ve tedavi edici rolleri olduğu görülmektedir [130, 131]. Antioksidanlar etkilerini serbest radikallerin oluşumunu önleyerek veya oluşan serbest radikalleri temizleyerek gösterirler. Serbest radikaller normal metabolik süreç esnasında endojen olarak üretilmesinin yanında; güneş ışınları, çevre kirliliği, radyasyon, sigara gibi ekzojen etkenlerle de üretilebilmektedir [132]. 2010 yılında yapılan bir çalışmada araştırma grubu üyeleri; hem insan vücudundan hem de besinlerden alınarak üretilen antioksidanların, hastalıklara neden olduğu düşünülen serbest radikaller ve Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) oksidatif zararına karşı hayati bir rol oynadıklarını vurgulamışlardır. Ancak insan vücudunda üretilen antioksidanların koruma etkilerinin sınırlı olduğu saptanmış, ROS oluşumunun biyolojik sistemlerin antioksidan kapasitesini aşması durumunda

oksidatif stres oluşabildiği görülmüştür. Bu nedenle antioksidanların vücuda alınımının gıdalarla olması tercih edilmelidir. Beslenme yoluyla yeterli miktarda antioksidanların alınımı ROS' lara karşı yeterli olabilmekte ve böylece canlı sistemlerde normal fizyolojik fonksiyonlar yerine getirilmektedir. Özellikle meyvelerde bulunan C vitamini, E vitamini ve  $\beta$ -karoten gibi bileşenler içerdikleri yüksek miktardaki antioksidanlar ile özel bir ilgi odağıdır [130, 133]. Antioksidanlar esas olarak C vitamini, E vitamini ve  $\beta$ -karoten gibi bileşenlerin yanında antosiyaninler, fenolik asitler, flavanoller, flavonol ve tanin gibi polifenoller ile de temsil edilmektedir [134].

Yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.), böğürtlen (*Rubus fruticosus*), mavi yemiş (*Vaccinium corymbosum*), siyah frenk üzümü (*Ribes nigrum*), üzüm (*Vitis vinifera*), aronya (*Aronia melanocarpa*), turna yemişi (*Vaccinium macrocarpon*), ahududu (*Rubus idaeus*) ve çilek (*Fragaria ananassa*) gibi meyveler antioksidanca zengin doğal kaynaklardır. Bu meyvelerin sağlığa yararı antioksidan özelliklerinin fazla olmasının yanında, ana biyoaktif bileşenlerinin fenolikler olmasıyla bağdaştırılmaktadır. Gün geçtikçe artan popüleriteleriyle ismini doğal fonksiyonel gıdalar listesinde üst sıralara taşıyan üzümsü meyvelerle ilgili yapılan literatür çalışmalarının sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle, antioksidan aktivite ve bu aktiviteye sahip sekonder metabolitlerinin saflaştırılması, karakterizasyonu ve aktivitelerinin belirlenmesi alanında pek çok bilimsel kaynağa rastlanmaktadır [130].

Biyolojik sıvıların ve çeşitli ekstraların toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için son 15 yılda bir çok metot geliştirilmiştir. Bu metotların dayandığı prensip genel olarak elektron ve hidrojen atom transferine yöneliktir. Doğal ekstraların toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde ORAC, TEAC, DPPH, Folin metodu, NO radikali temizleme aktivitesi gibi yöntemler single oksijen transferinedayanır. FRAP, CUPRAC, LDL- oksidasyonunun inhibisyonunu, gibi yöntemler hidrojen atomu transferine dayanmaktadır. Kullanılan metotlarda ise çeşitli radikal ve metal iyonları pro-oksidan amaçla kullanılmaktadır. Doğal ekstraların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde en az üç farklı numune konsantrasyonunda çalışmalar yapılır ve bulunan sonuçlar standart bir antioksidan olan Trolox, BHT, kateşin veya gallik asit gibi eşdeğeri cinsinden hesaplanır [17].

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 517 nm'de kendine has absorpsiyon değerine sahip olan kararlı serbest bir radikaldir. DPPH antioksidan mekanizma tepkimesinde

görüldüğü gibi DPPH'nin 517 nm'deki soğurma pikinin şiddetinde gözlemlenen azalmayla orantılı olacak şekilde antioksidan aktiviteye sahip olduğu nitel ve nicel olarak belirlenir. Serbest radikal giderim aktivitesi bu şekilde bulunur.

### **2.6.2.2 Diğer Aktiviteler**

Kanserle ilgili yapılan bu çalışmada 10 adet yenilebilir meyvenin etanol ekstreleri arasında, yaban mersini ekstraktının, HL60 insan lösemi hücreleri ve HCT116 insan kolon karsinom hücrelerinin in vitro olarak büyümesini inhibe etmede en etkili meyve olduğu bulunmuştur. Test edilen özütlerden yaban mersini, antosiyaninler de dâhil olmak üzere en yüksek miktardaki fenolik bileşikleri içermesi yönüyle, en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Sonuçlar yaban mersini ekstresi ve aglycon olarak delphinidin veya malvidin taşıyan antosiyaninlerin, apoptosisin indüksiyonu yoluyla HL60 hücrelerinin büyümesini engellediğini, sadece saf delphinidin ve yaban mersini özünden izole edilen glikozitin HCT116 hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir [135].

*Helicobacter pylori* mide çeperinin direncini azaltarak midenin asitlerinden etkilenmesini sağlayan bir bakteridir. Ayrıca mide kanserine de yol açabilmektedir. Clarithromycin ise *Helicobacter pylori* kaynaklı mide rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan bir drogdur. Burada anlatılacak çalışmanın amacı, çeşitli üzüksü meyvelerde ekstrelerinin clarithromycin ile muamele edilmiş veya edilmemiş *Helicobacter pylori* bakterisi üzerine farklı konsantrasyonlardaki etkilerini değerlendirmektir. Meyve ekstresi olarak raspberry, strawberry, cranberry, elderberry, blueberry, yaban mersini, ve bu altı meyvenin bir karışımı olan OptiBerry kullanılmıştır. Kontrol grubu ile yapılan kıyaslamada tüm meyve ekstreleri önemli ölçüde *Helicobacter pylori*'yi inhibe ettiği gözlemlenip, *Helicobacter pylori*'nin clarithromycine duyarlılığını arttırdığı sonucuna varılmıştır. Yaban mersini meyvesi *Helicobacter pylori*'yi %50 (%0.25 konsantrasyonda) oranında inhibe etmeyi başarmıştır. Meyvelerin karışımlarından oluşan OptiBerry ise % 62 oranıyla tüm sonuçlar açısından maksimum etki göstermiştir [136].

### **2.6.3 Klinik Araştırmalar**

Karaciğerde hasar oluşturan maddelerden biri serbest radikalleri açığa çıkaran karbon tetraklorürdür. Serbest radikallerin neden olduğu hücrel hasar ve doku inflamasyonu, yapısında bulunan fenolik asitler ve flavonoidler ile yüksek

antioksidan ve antiinflamatuvar özellik gösterdiği incelenen yaban mersini ile tedavi edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada yabanmersini meyvesini çay ve şarap olarak iki farklı formda verildi. 7 gün süren çalışmanın 8. gününde alınan karaciğer dokusu ve kan örneklerinde biyokimyasal ve histopatolojik tetkikler yapıldı. Sonuç olarak çalışmada, yabanmersini çayının içerdiği fenoller, antosiyanidinler ve flavonoidler nedeniyle biyokimyasal parametrelerle CCl<sub>4</sub>'ün karaciğerde oluşturduğu toksik etkileri azalttığını göstermiştir. Bu sonuçlar, yabanmersini çayının daha yüksek dozda ve daha uzun süre verildiğinde, karaciğere koruyucu etkisinin daha da artabileceğini ve karaciğer rejenerasyon kapasitesini artırma yönünde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın daha yüksek oranda fenol içeren yabanmersini şarabının CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer hasarında anlamlı bir koruyucu etkisi olmadığı gösterilmiştir [137].

Bir başka çalışmada 27 adet rat kontrol, egzersiz, yaban mersini ve yaban mersini+egzersiz grubu olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaban mersini, egzersiz ve yaban mersini+egzersiz gruplarının serum GSH düzeyleri ve GPx aktivitelerinin anlamlı bir değişikliği belirlenmezken; serum MDA düzeylerinin önemli oranda düştüğü görüldü. Karaciğer dokusunda GPx aktivitesinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaban mersini grubu ve yaban mersini+egzersiz grubunda anlamlı olarak yükseldiği, karaciğer GSH seviyesinin ise yaban mersini+egzersiz grubunda anlamlı olarak arttığı, buna karşılık MDA konsantrasyonunun önemli düzeyde değişmediği görüldü. Bu çalışmanın sonucu yaban mersini ekstresi uygulamasının akut yorucu egzersiz yaptırılan ratlarda karaciğer GPx aktivitesi ve GSH düzeylerini etkileyerek artışa sebep olması nedeniyle, oluşacak oksidatif hasara karşı antioksidatif koruma sağlayabileceğini göstermektedir [138].

Çalışmada erkek ve dişi sıçanlarda Dietilnitrozamin (DEN)'e bağlı karaciğer hasarını ve oksidatif stresin rolünü karşılaştırıldı. Yaban mersini ve karnozinin karaciğer kanserindeki antioksidan etkinliği araştırıldı. Bu amaçla, Wistar erkek ve dişi sıçanlara yaban mersini püresi veya karnozin verildi. Bulgulara göre, DEN uygulamasıyla; ALT, AST, LDH ve GGT aktivitelerinde artış ve karaciğerde nekrotik değişimler görüldü. Karaciğerde MDA, DK ve GSH düzeyleri arttı, antioksidan enzim aktiviteleri azaldı. Bununla birlikte, yaban mersini ve karnozin

uygulamalarının oksidatif stresi azaltarak DEN'e bağlı hepatik karsinogenezin baskılanmasında yararlı olabileceği görüldü [139].

Yaban mersini ekstresinin streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda paraoksonaz (PON), pankreas enzim aktiviteleri ve lipoprotein seviyeleri üzerindeki etkisi araştırıldı. Çalışma sonunda tam kanda HbA1c serumda glukoz, lipoprotein, paraoksonaz (PON), amilaz ve lipaz enzim seviyeleri analiz edildi. *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) ekstresinin hiperglisemiyi düzelttiği ve diyabetik dislipidemiği hafiflettiği gösterildi. Lipaz ve amilaz aktivitesini düşürmesiyle ekzokrin pankreas fonksiyonları üzerinde inhibitör etki oluşturdu. Paraoksonaz enzim düzeyinde diyabetteki düşüş, Yaban mersini ekstresi verilmesiyle enzim aktivite düzeyinde istatistik anlamlılıkta artış saptandı [140].

Çocuklarda en sık görülen ve böbrek hasarına en çok neden olan iki temel ürodinamik bulgu olan aşırı aktif detrüsr ve hipokompliyan mesane gruplarından onar hasta seçilerek 20 hastalık araştırma grubu oluşturuldu. Amaç enfeksiyon hızına etki eden diğer mesane patolojilerine bağlı olan potansiyel değişiklikleri azaltmaktı. Bir yıllık izleme döneminde hastalar kendi içlerinde ardarda gelen kontrol grupları oluşturacak şekilde 6 aylık süre boyunca herhangi bir tedavi uygulamaksızın diğer 6 aylık sürede ise yaban mersini alarak takip edildiler. Sonuç olarak; kırmızı yaban mersini kullanımının, miyelomeningosele bağlı nörojen mesanesi olan çocuklarda sık tekrarlayan idrar yolları enfeksiyonunun önlenmesinde umut vadeden ve yan etkisi görülmeyen bir seçenek olduğu sonucuna varıldı [141].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Gereç

##### 3.1.1 Bitkisel Materyal

*Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin yaprak ve meyve kısımlarını toplayabilmek için 2017 yılının Ağustos ayında Karadeniz Bölgesi'ne gidildi. T.C Orman Genel Müdürlüğü Trabzon Orman Bölge Müdürlüğünden üç kişilik bir ekiple Rize İlinin İkizdere Yaylası'na çıkıldı. 2382 m rakımlı bir bölgede doğal olarak yetişmiş *Vaccinium myrtillus* L. yaprak ve meyvelerinden toplandı. Toplanma yerlerinin koordinatları girilerek elde edilmiş konumun görüntüsü Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3'te harita üzerinde görülmektedir. Ayrıca toplama sırasında alınmış koordinat bilgisi de Şekil 3.4 'te verilmiştir. Toplama işleminin ardından toplanan meyveler soğuk ortamda muhafaza edilerek İstanbul'a getirildi. Yaprak ve meyvenin kurutma işlemi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yapıldı. Kuru meyveler analiz süresi boyunca derin dondurucuda -18 °C de depolandı.



Şekil 3.1 : *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin toplandığı yerin dünya genelinde görüntüsü.



**Şekil 3.2 :** *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin toplandığı yerin Türkiye genelinde görüntüsü.



**Şekil 3.3 :** *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin toplandığı yerin Karadeniz Bölgesi genelinde görüntüsü.





**Şekil 3.4 :** *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin toplandığı yerin anlık koordinatları.

### 3.1.2 Kullanılan Kimyasallar

Analizlerin gerçekleştirilmesinde özellikle ekstraksiyon hazırlanması aşamasında çözücü madde olarak deiyonize su, etanol ( $C_2H_5OH$ , %96, CARLO ERBA REAGENT, CAS NO:64-17-5), gliserin ( $C_3H_8O_3$ , %99, düzey lab, CAS NO:56-81-5) kullanıldı. Miktar tayini çalışmalarında pH 1.0 (ChemBio Buffer Solution CB2209), sodium acetate ( $C_2H_3NaO_2$ , %99, MERCK, CAS NO:127-09-3), acetic acid ( $CH_3COOH$ , %100, MERCK, CAS NO:64-19-7), Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR)(MERCK-HC60433201), sodyum karbonat pure grade ( $Na_2CO_3$ , %99, TEKKİM, CAS NO:497-19-8), aluminium chloride ( $AlCl_3$ , %98, MERCK, Index No:013-003-00-7), amonyum asetat pure grade ( $CH_3COONH_4$ , %95, TEKKİM, CAS NO:631-61-8), pirogalol (GR for analysis, MERCK, CAS NO:87-66-1), deri tozu (SIGMA), jelatin, formic acid ( $CH_2O_2$ , %98-100, SIGMA-ALDRICH, CAS NO:64-18-6), 1-Butanol ( $CH_3(CH_2)_3OH$ , %99,5, MERCK, Index No:603-004-00-6), DPPH, BHT, BHA, gallic acid (Sigma-Aldrich, %99,8, CAS NO: 149-91-7), quercetin (Sigma-Aldrich, %95, CAS NO: 117-39-5) kimyasalları kullanıldı.

### 3.1.3 Kullanılan Cihazlar

Analizler sırasında UV-Vis spektrofotometre (UV-Vis Agilent Technologies Cary 60), Eliza cihazı (BioTek Epoch), katı madde tayin cihazı (OHAUS MB35), döner buharlaştırıcı (Soxhlet cihazı) (HEİDOLPH Rotary Evaporatör Panel Hei-VAP

Precision ML P/N:569-40000-00-1), manyetik karıştırıcı ısıtıcı (HOTPLATE and MAGNETIC STIRRER HS12-O6P), su banyosu (SAMHEUNG ENERGY SH-WB-22GDN), ultrasonik banyo (ULTRASONIC CLEANER SK3310HP), hassas terazi (SHIMADZU AUW220D), Vorteks (DRAGON MX-F) cihazları kullanıldı. İlave olarak çeşitli teknik cam ve plastik ekipmanlardan faydalandı.

### **3.2 Yöntem**

Bu çalışmada *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinde; toplam antosiyanin içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği belirleyebilmek için kullanılan ekstraların hazırlanmasında ideal olan ekstre koşullarının ne olduğu ön çalışmayla değerlendirilmiştir. Toplam antosiyanin içeriği pH diferansiyel metodu ile toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle, toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Total tanen içeriğinde, Avrupa Farmakopesindeki metot kullanılmıştır. Ekstre hazırlığı metotta belirtildiği gibi yapılmıştır. Toplam antioksidan aktivitesi ise DPPH metodu ile belirlenmiştir. İlave olarak total antosiyanin miktarı belirlemek için hazırlanan ekstralarda halojen nem tayin cihazında katı madde miktarı tespit edilmiştir.

#### **3.2.1 Ekstre ve Çözeltilerin Hazırlanması**

Bu çalışmada *Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde; toplam antosiyanin içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği belirleyebilmek için hazırlanacak ekstralar için ideal koşulların ne olduğu gerekli literatür çalışmaları tamamlandıktan sonra yapılan ön çalışmayla değerlendirilmiştir.

##### **3.2.1.1 İdeal Ekstraksiyon Çözücüsünün Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler**

*Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde; toplam antosiyanin içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid içeriği belirleyebilmek için hazırlanacak ekstraların ideal yöntemini belirlemek için ilk aşamada en etkili çözücünün belirlenmesi hedeflendi. Gerekli literatür taramaları yapıldı [142, 143]. Literatür taraması sonucunda uygun olduğu düşünülen 4 farklı çözücü sistemi hazırlandı. Hazırlanan çözücü sistemleri Tablo 3.1' de gösterildi.

**Tablo 3.1 :** Kullanılan çözücü sistemleri.

Çözücü 1: H <sub>2</sub> O
Çözücü 2: EtOH
Çözücü 3: H <sub>2</sub> O+EtOH (1:1)
Çözücü 4: H <sub>2</sub> O+Gly (1:1)

10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml ÇÖZÜCÜ ilave edildi. Hazırlanan 4 karışım, tahmini olarak belirlenmiş ekstraksiyon süresi (60 dk) ve koşulunda (manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak 40°C de ısıtılması) bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen süzüntülerde, UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo da gösterildi.

### 3.2.1.2 İdeal Ekstraksiyon Ortamının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler

Ekstraksiyon yöntemini belirlemek için ikinci olarak ekstraksiyon ortamının belirlenmesi hedeflendi. 3 farklı ortam hazırlandı. Tablo 3.2’de gösterildi.

**Tablo 3.2 :** Kullanılan ekstraksiyon ortamları.

Manyetik Karıştırıcı Yardımıyla Karıştırarak Bekletme (25 °C)
Manyetik Karıştırıcı Yardımıyla Karıştırarak Isıtma (40 °C)
Ultrasonik Banyoda Bekletme (25 °C)

10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH+H<sub>2</sub>O (1:1) ilave edildi. 3 ayrı ekstre hazırlandı. Tahmini olarak belirlenmiş ekstraksiyon süresi boyunca (60dk) sırasıyla manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırarak bekletme (25 °C), manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırarak ısıtma (40 °C) ve ultrasonik banyoda bekletme (25 °C) işlemleri uygulandı. Süre tamamlandıktan sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen süzüntülerde, UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo da gösterildi.

### 3.2.1.3 İdeal Ekstraksiyon Süresinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler

Ekstraksiyon yöntemini belirlemek için son olarak ideal ekstraksiyon süresinin belirlenmesi hedeflendi. Bu işlem için 5 farklı süre seçildi. Tablo 3.3’ te gösterildi.

**Tablo 3.3 :** Kullanılan ekstraksiyon süreleri.

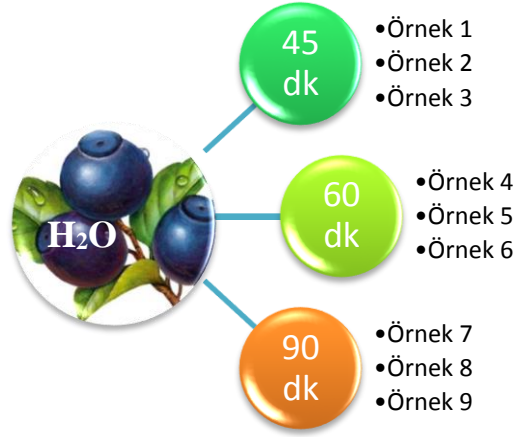
45 dk
60 dk
90 dk
120 dk
180 dk

10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH+H<sub>2</sub>O (1:1) ilave edildi. 5 ayrı ekstre hazırlandı. Sırasıyla 45, 60, 90, 120, 180 dk boyunca 40 °C’de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırarak ısıtıldı. Süre tamamlandıktan sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen süzüntülerde, UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo da gösterildi.

#### **3.2.1.4 Total Antosiyanin Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler**

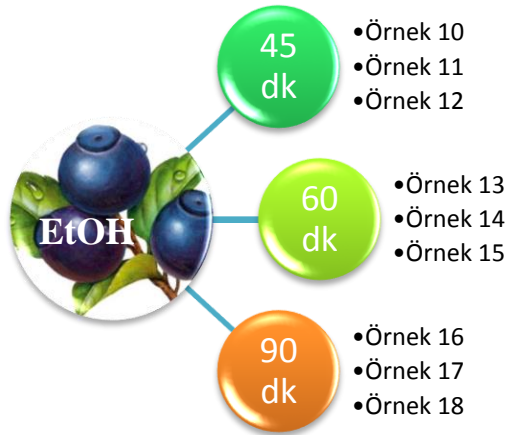
Total antosiyanin miktarı belirleyebilmek için hazırlanacak ana ekstrelerde ön çalışma sonrasında belirlenen ideal ekstraksiyon ortamı sabit tutuldu. 4 farklı çözücü sistemi ve 5 farklı ekstraksiyon süresi manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak 40 °C’ de ısıtma ortamında hazırlandı. Hazırlanan ekstrelerde total antosiyanin miktar analizi yapıldı.

- H<sub>2</sub>O (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O ilave edildi. 45 dk, 60 dk ve 90 dk olmak üzere 3 farklı bekleme süresi belirlendi. Validasyon amacıyla her biri için hazırlanan örnekler 3 tekrarlı yapıldı. Bu şekilde toplamda 9 tane ekstre hazırlandı. İlk 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 45 dk bekletildi. İkinci 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Son 3 ekstre ise 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 90 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstreler filtre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen 9 ekstrelerin her biri total antosiyanin miktarı tespitinde ana ekstre olarak kullanıldı.



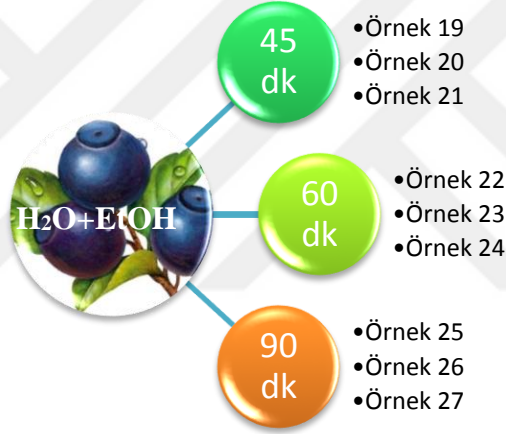
**Şekil 3.5 :** Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan H<sub>2</sub>O ekstreleri.

- EtOH (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH ilave edildi. 45 dk, 60 dk ve 90 dk olmak üzere 3 farklı bekleme süresi belirlendi. Validasyon amacıyla her biri için hazırlanan örnekler 3 tekrarlı yapıldı. Bu şekilde toplamda 9 tane ekstre hazırlandı. İlk 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 45 dk bekletildi. İkinci 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Son 3 ekstre ise 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 90 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstreler fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen 9 ekstrelerin her biri total antosiyanin miktarı tespitinde ana ekstre olarak kullanıldı.



**Şekil 3.6 :** Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan EtOH ekstreleri.

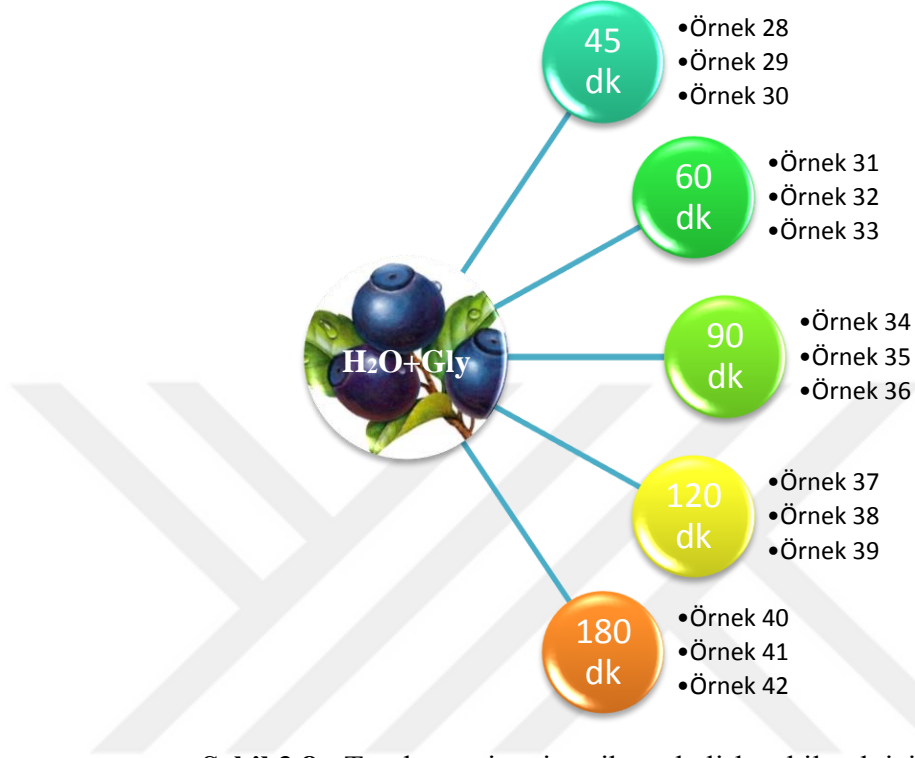
- H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O+ EtOH(1:1) ilave edildi. 45 dk, 60 dk ve 90 dk olmak üzere 3 farklı bekleme süresi belirlendi. Validasyon amacıyla her biri için hazırlanan örnekler 3 tekrarlı yapıldı. Bu şekilde toplamda 9 tane ekstre hazırlandı. İlk 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 45 dk bekletildi. İkinci 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Son 3 ekstre ise 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 90 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstralar fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen 9 ekstraların her biri total antosiyanin miktarı tespitinde ana ekstre olarak kullanıldı.



**Şekil 3.7 :** Total antosiyanin miktarını belirleyebilmek için hazırlanan H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) ekstraları.

- H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) ilave edildi. 45 dk, 60 dk, 90 dk, 120 dk ve 180 dk olmak üzere 5 farklı bekleme süresi belirlendi. Validasyon amacıyla her biri için hazırlanan örnekler 3 tekrarlı yapıldı. Bu şekilde toplamda 15 tane ekstre hazırlandı. İlk 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 45 dk bekletildi. İkinci 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Üçüncü 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 90 dk bekletildi. Dördüncü 3 ekstre 40 °C’ de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 120

dk bekletildi. Son 3 ekstre ise 40 °C' de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 180 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstralar fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. 120 dk bekletilen 3 ekstre total antosiyanin miktarı tespitinde ana ekstre olarak kullanıldı.



**Şekil 3.8 :** Total antosiyanin miktarı belirleyebilmek için hazırlanan H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) ekstraları.

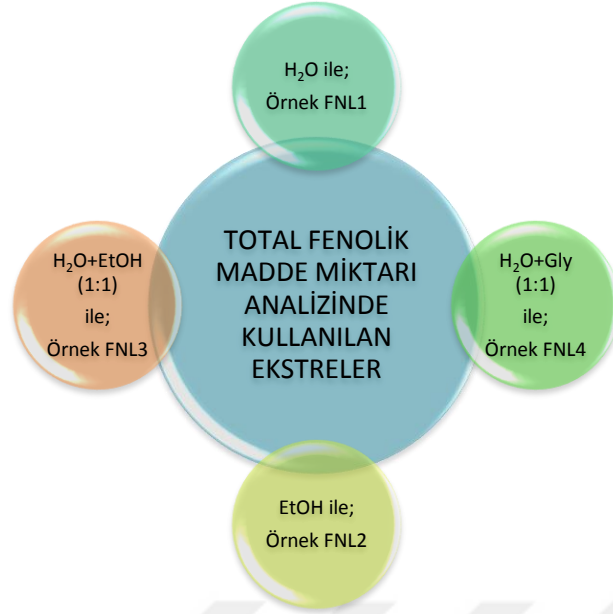
- pH 1.0 tampon çözeltisi: Hazır pH 1.0 tampon çözeltisi kullanıldı.
- pH 4.5 tampon çözeltisi: 0,2 M asetik asit ve sodyum asetat çözeltileri hazırlandı. 43 ml asetik asit çözeltisinden, 57 ml sodyum asetat çözeltisinden alındı. Karıştırıldı. Elde edilen karışımda ufak pH ayarlamaları yapılarak pH değeri netleştirildi.

### **3.2.1.5 Total Fenolik Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler**

Total fenolik miktarını bulabilmek için hazırlanan ana ekstralarda, ön çalışma sonucunda belirlenen ideal ekstraksiyon süresi ve ideal ekstraksiyon ortamı sabit tutuldu. 4 farklı çözücü sistemi kullanıldı. Ana ekstraların ve yöntemde kullanılan diğer kimyasalların hazırlıkları aşağıda açıklanan şekilde yapıldı.

- H<sub>2</sub>O (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total fenolik miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FNL1 olarak isimlendirildi.
- EtOH (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total fenolik miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FNL2 olarak isimlendirildi.
- H<sub>2</sub>O+ EtOH(1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O+ EtOH(1:1) ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total fenolik miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FNL3 olarak isimlendirildi.
- H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 120 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total fenolik miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FNL4 olarak isimlendirildi.
- % 7 lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi: 7 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılır. 100 ml 'ye saf su ile tamamlanır. Ultrasonik banyoda çözülene kadar bekletilir.
- Referans gallik asit çözeltisi: 1000 ppm gallik asit stok çözeltisi hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda seyreltmeler yapıldı. Kalibrasyon eğrisi belirlendi.





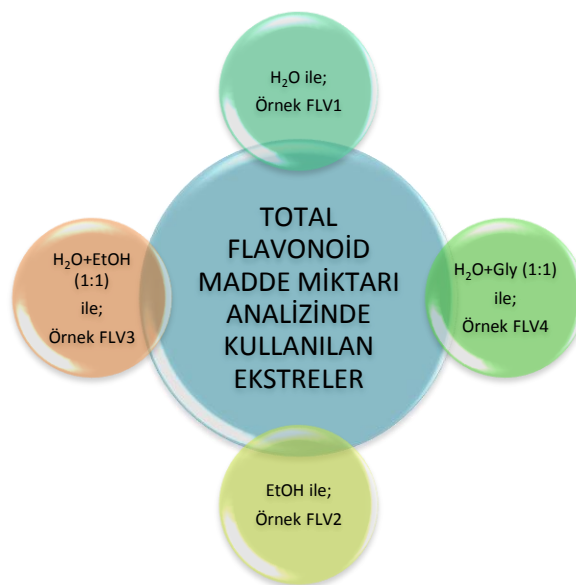
**Şekil 3.9 :** Total fenolik miktarını belirleyebilmek için hazırlanan ekstratlar.

### 3.2.1.6 Total Flavonoid Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler

Total flavonoid miktarını bulabilmek için hazırlanan ana ekstratlar, ön çalışma sonucunda belirlenen ideal ekstraksiyon süresi ve ideal ekstraksiyon ortamı sabit tutuldu. 4 farklı çözücü sistemi kullanıldı. Ana ekstratların ve yöntemde kullanılan diğer kimyasalların hazırlıkları aşağıda açıklanan şekilde yapıldı.

- H<sub>2</sub>O (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total flavonoid miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FLV1 olarak isimlendirildi.
- EtOH (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total flavonoid miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FLV2 olarak isimlendirildi.

- $H_2O + EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml  $H_2O + EtOH(1:1)$  ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total flavonoid miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FLV3 olarak isimlendirildi.
- $H_2O + Gly (1:1)$  kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml  $H_2O + Gly (1:1)$  ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 120 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Çalışma değerleri içerisinde kalacak şekilde gerekli seyreltme yapıldı. Elde edilen numune total flavonoid miktarı tespitinde kullanıldı. Örnek FLV4 olarak isimlendirildi.
- %10 luk  $AlCl_3$  çözeltisi: 10 gr alüminyum kloride tartıldı. Az miktarda ilavelerle 100 ml' ye saf suyla dikkatli bir şekilde tamamlandı.
- 1M  $CH_3COONH_4$  çözeltisi: 7,7 gr amonyum asetat tartıldı. 100 ml' ye suyla tamamlandı. Ultrasonik banyoda çözülene kadar bekletildi.
- Referans kersetin çözeltisi: 1000 ppm kersetin stok çözeltisi hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda seyreltmeler yapıldı. Kalibrasyon eğrisi belirlendi.



**Şekil 3.10 :** Total fenolik miktarını belirleyebilmek için hazırlanan ekstreler.

### 3.2.1.7 Total Tanen Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler

Total tanen miktarı analizlerinde ana ekstrenin hazırlığında Avrupa Farmakopesinde verilen metod uygulandı.

- Kurutulmuş toz haline getirilmiş *Vaccinium myrtillus* L. meyvesi ve yaprağından ayrı ayrı 2 gr tartıldı. 250 ml su ilave edildi. 70 °C su banyosunda 45 dakika bekletildi. Süzüldü. İlk 50 ml atıldı. Devamında gelen süzüntüden 100 ml ana süzüntü olarak kullanılmak üzere ayrıldı. Biri yaprak diğeri meyve kullanılarak hazırlanmış iki ana ekstre hazırlandı.
- Referans pirogallol çözeltisi: 50 mg pirogallol alındı. 100 ml' ye saf suyla tamamlandı. Işık almamasına dikkat edildi. Hazırlanan referans çözeltisinde gerekli seyreltme yapıldı.
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi: 29 gr sodyum karbonat tartıldı. 100 ml' ye saf suyla tamamlandı. Ultrasonik banyoda çözülene kadar bekletildi.

### 3.2.1.8 Antioksidan Kapasite Tayini İçin Hazırlanan Ekstre Ve Çözeltiler

Antioksidan kapasite belirlemek için yapılan analizlerde 3 farklı çözücü sistemi kullanıldı. İdeal ekstraksiyon süresi ve ideal ekstraksiyon ortamında ekstratlar hazırlandı. Süzüldükten sonra son aşamada ekstratlar Soxhlet cihazında kurutuldu. Kuru ekstratlar antioksidan kapasite tayininde ana ekstre olarak kullanıldı.

- H<sub>2</sub>O (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre filtre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen süzüntü antioksidan kapasite tespiti için gerekli olan kuru ekstre elde edebilmek amacıyla Soxhlet cihazında yaklaşık 45 dk süren bir işlem sonucunda solventinden arındırıldı. Elde edilen kuru ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
  - 1000 ppm (H<sub>2</sub>O Stok çözeltisi): H<sub>2</sub>O ana ekstresinden 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Stok çözeltiden belirlenen ppm değerlerini elde edebilmek için bazı seyreltmeler yapıldı.

- EtOH (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml EtOH ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen süzüntü antioksidan kapasite tespiti için gerekli olan kuru ekstreyi elde edebilmek amacıyla soxhlet cihazında yaklaşık 30 dk süren bir işlem sonucunda solventinden arındırıldı. Elde edilen kuru ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
  - 1000 ppm (EtOH Stok çözeltisi): EtOH ana ekstresinden 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Stok çözeltiden belirlenen ppm değerlerini elde edebilmek için bazı seyreltmeler yapıldı.
- H<sub>2</sub>O+ EtOH(1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 10 gr kurutulmuş toz haldeki *Vaccinium myrtillus* L. meyvesine 100 ml H<sub>2</sub>O+ EtOH(1:1) ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 60 dk bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen süzüntü antioksidan kapasite tespiti için gerekli olan kuru ekstreyi elde edebilmek amacıyla soxhlet cihazında yaklaşık 40 dk süren bir işlem sonucunda solventinden arındırıldı. Elde edilen kuru ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
  - 1000 ppm (H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) Stok çözeltisi): H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ana ekstresinden 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Stok çözeltiden belirlenen ppm değerlerini elde edebilmek için bazı seyreltmeler yapıldı.
- 0,1 mM DPPH Çözeltisi: 4 mg DPPH standart maddesi 100 ml EtOH ile çözüldü. 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Işık almamasına dikkat edildi.
- BHA Çözeltisi: 10 mg BHA standart maddesi 10 ml EtOH ile çözüldü. Standart çözelti olarak kullanıldı.
- BHT Çözeltisi: 10 mg BHT standart maddesi 10 ml EtOH ile çözüldü. Standart çözelti olarak kullanıldı.

- Kontrol Çözeltisi: EtOH kontrol çözeltisi olarak kullanıldı.

### **3.2.1.9 Katı Madde Miktarı Belirlemek İçin Hazırlanan Ekstreler**

Total antosiyanin madde miktarı tespiti yapılan bütün ekstreler katı madde miktarı tespitinde ana ekstre olarak kullanıldı.

### **3.2.1.10 İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemi (TLC) İçin Hazırlanan Ekstre**

Total antosiyanin miktarı belirlemek için hazırlanan ekstrelerden EtOH ile hazırlanmış ekstre kullanıldı.

### **3.2.2 UV-VIS Spektrofotometrik Analiz Yöntemi**

Vaccinium myrtillus L. yaprak ve meyvesinde yapılan total antosiyanin, total fenolik, total flavonoid ve total tanen madde miktarının belirlenmesinde ve antioksidan kapasite testinde spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Ölçümler UV-VIS spektrofotometresi ve Eliza cihazı ile yapıldı.

İdeal ekstraksiyon yöntemini belirlemek için yapılan ön çalışmada;

- Ekstraksiyon Çözücüsünün Belirlenmesi
- Ekstraksiyon Ortamının Belirlenmesi
- Ekstraksiyon Süresinin Belirlenmesi

analizlerinin her birinde hazırlanan ekstrelerin 510 nm' de UV-VIS spektrofotometresi ile absorbans ölçümü yapıldı.

- Total antosiyanin miktarı tespiti için;
  - Hazırlanan 42 ana ekstrenin her birinde standart seyreltme yapılarak 510 nm' de UV-VIS spektrofotometresi ile absorbans ölçümü yapıldı.
  - Antosiyanin miktarı belirlemek için ana ekstrelere pH 1.0 ve pH 4.5 ilave edilerek hazırlanmış 84 çözeltinin her birinde sırasıyla 510 ve 700 nm' de UV-VIS spektrofotometresi ile absorbans ölçümü yapıldı. 168 tane analiz sonucu elde edildi.
- Total fenolik madde miktarı tespiti için;
  - Hazırlanan 4 ana ekstrede metotta belirtilen ilavelerden sonra 725 nm de UV-VIS spektrofotometresi ile 6 tekrarlı absorbans ölçümü yapıldı.

- Total flavonoid madde miktarı tespiti için;
  - Hazırlanan 4 ana ekstrede metotta belirtilen ilavelerden sonra 425 nm de UV-VIS spektrofotometresi ile 6 tekrarlı absorbans ölçümü yapıldı.
- Total tanen madde miktarı tespiti için;
  - Hazırlanan numunelerde 760 nm'de Eliza cihazı ile absorbans ölçümü 3 tekrarlı yapıldı.
- Antioksidan aktivite için;
  - Hazırlanan 3 ekstreden farklı konsantrasyonlarda 12 numune hazırlandı. Standartlarla birlikte 20 numune üzerinde 517 nm'de Eliza cihazı ile absorbans ölçümü 3 tekrarlı yapıldı.

UV-VIS spektrofotometresi ve Eliza cihazı kullanılarak yapılan bütün analizler ilgili başlıklar altında detaylandırılarak anlatıldı.

### **3.2.3 İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemi (TLC)**

Ekstraksiyonun sonucunda elde edilmiş olan ekstrenin değerlendirilmesinde TLC yöntemi uygulanmıştır. Stasyonier faz olarak silika jel 60 F<sub>254</sub> kullanıldı. 20 x 20 cm ebadındaki alüminyum plakadan 5 x 8 cm ebadında plaka kullanılmak üzere ayrıldı. British Farmakopesi verileri gereğince en uygun mobil faz olarak butanol: formik asit: su (65:16:19) karışımı belirtilen oranlarda hazırlandı. Mobil faz toplamda 50 ml olacak şekilde hazırlanıp tanka konuldu. 12 x 13 x 5 cm ebadında cam tank kullanıldı. Tankın içinin mobil fazın buharıyla kaplanması için bir süre beklendi. Diğer tarafta ekimi yapılmak üzere hazırlanan ekstreden alınan 1 ml ana ekstre 10 ml'ye suyla seyreltildi ve ardından plaka üzerine 1cm mesafeden 5 µl'lik kapiler tüp ile ekilip tanka yerleştirildi. Yürütme işlemi 20 dk sürdü. Plaka tanktan çıkartıldı ve kurutuldu.

### **3.2.4 Total Antosiyanin Madde Miktar Tayini Yöntemi**

#### **3.2.4.1 pH Diferansiyel Yöntemi**

Hazırlanmış ana ekstreden 25 ml'lik 2 ayrı balon jojeye 1'er ml alındı. 25 ml'ye kadar birine pH 1.0 ve diğerine pH 4.5 tampon çözeltileri ilave edildi. Hazırlanan

numunelerin absorbans değerleri UV-VİS spektrofotometresinde 510 nm ve 700 nm’ de ölçüldü. Sonuçlar hem yüzde miktarı olarak ifade edildi.

Antosiyanin içeriği aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$A = [(A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5}]$$

$$\% \text{ Antosiyanin} = A * \frac{449,2 * V}{26900 * W}$$

**Tablo 3.4 :** pH diferansiyel yöntemi formülünün birimleri.

A	Absorbans	A
V	Seyreltme Faktörü	ml
W	Örnek Ağırlığı	mg
449,2	$m_a$ Siyanidin-3-glikozit	g/mol
26900	Ekstinksiyon Katsayısı	E

### 3.2.5 Total Fenolik Madde Miktar Tayini Yöntemi

#### 3.2.5.1 Folin-Ciocalteu Yöntemi

- **Kalibrasyon aralığı belirleme:** Standart fenolik bileşik olarak gallik asit baz alındı. 1000 ppm lik gallik asit stok çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Absorbans ölçümlerinden sonra kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standart grafik denklemi belirlendi.
- Uygulama öncesinde yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapıldı. 0,4 ml örnek, 5,2 ml saf su ile seyreltildi. Ardından 0,4 ml Folin Ciocalteu Reaktif (FCR) ilave edildi. 5 dakika beklenildi. Süre tamamlanınca 4 ml %7lik sodyum karbonat ( $Na_2CO_3$ ) ilave edildi. 90 dakika karanlık ortamda bekletildi. UV-VIS spektrofotometresinde 725nm ölçümleri alındı. Örneklerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplandı.

### 3.2.6 Total Flavonoid Madde Miktar Tayini Yöntemi

#### 3.2.6.1 Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi

- **Kalibrasyon aralığı belirleme:** Standart flavonoid bileşik olarak kersetin baz alındı. 1000 ppm lik kersetin stok çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda

çözeltiler hazırlandı. Absorbans ölçümlerinden sonra kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standart grafik denklemi belirlendi.

- Uygulama öncesinde yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapıldı. 1 mL örnek alındı, 6,7 mL saf su ile seyreltildi. Sırayla 0,3 ml % 10 luk alüminyum klorür ( $AlCl_3$ ) ve 2 ml 1M amonyum asetat ( $CH_3COONH_4$ ) ilave edildi. 10 dakika beklenildi. UV-VİS spektrofotometresinde 425 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Örneklerin absorbans değerlerine karşılık gelen kersetin miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplandı.

### 3.2.7 Total Tanen Madde Miktar Tayini Yöntemi

#### 3.2.7.1 Avrupa Farmakopesi Yöntemi

Ana ekstraler, ekstre hazırlanması bölümünde anlatıldığı gibi yapıldı. Meyve tozu ile ekstrakte edilen ekstrenin süzütüsünden bir miktar ayrıldı. M süzütüsü olarak adlandırıldı. Yaprak tozu ile ekstrakte edilen ekstrenin süzütüsünden de bir miktar ayrıldı. Y süzütüsü olarak adlandırıldı.

**Deri Tozu İle Muamele:** M ve Y süzütülerinin her birinden 10 ml alındı. 100 mg deri tozu ile karıştırıldı. 1 saat 45 °C de ultrasonik banyoda bekletildi. Ekstraksiyon süresi tamamlandıktan sonra filtre edilerek deri tozlarından ayrıldı. Süzütü bir kenara alındı. İşlem valide edebilmek amacıyla çift tekrarlar gerçekleştirildi. Meyve ekstralerinin deri tozu ile muamele edilmiş numunesi MDT olarak isimlendirildi. İşlem çift tekrarlar gerçekleştiği için numunelere sırasıyla MDT1 ve MDT2 isimleri verildi. Yaprak ekstralerinin deri tozu ile muamele edilmiş numunesi YDT olarak isimlendirildi. İşlem çift tekrarlar gerçekleştiği için numunelere sırasıyla YDT1 ve YDT2 isimleri verildi. Bu şekilde deri tozu ile muamele edilmiş numuneler hazırlanmış oldu.

M ve Y süzütüleri iki tekrarlı çalışıldığı için süzütü numunelerinden bir miktar ayrılarak M1, M2, Y1 ve Y2 olarak isimlendirildi. M1, M2, MDT1, MDT2, Y1, Y2, YDT1 ve YDT2 numunelerinin her birinden 5 ml alındı. 25 ml ye suyla seyreltildi. Seyreltilme işleminden sonra her birinden 2 ml alındı. Seyreltilmiş referans çözeltilisinden de 2 ml alındı. Hepsine 10 ml su ve 1 ml FCR ilave edildi. 25 ml ye sodyum karbonat solüsyonuyla tamamlandı. 30 dakika bekletildi. UV-VIS



spektrofotometresinde 760 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Valide edebilmek için analiz kısmı her bir numune için 3 tekrarla yapıldı. Aynı işlemler referans pirogallol çözeltisi için de gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar yüzde cinsinden belirlendi.

Tanen miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Tanen} = \frac{62,5 * (A1 - A2) * m2}{A3 * m1}$$

**Tablo 3.5 :** Total tanen madde miktarı tayini denkleminde kullanılan birimler.

A1	Ana ekstreden alınan numunenin absorbans değeri
A2	Deri tozu veya jelatin ile muamele edilmiş numunenin absorbans değeri
A3	Referans madde numunesinin absorbans değeri
m1	Toz örnek miktarı
m2	Referans maddenin molekül ağırlığı

### 3.2.8 Katı Madde Miktar Tayini Yöntemi

Bu çalışmada katı madde miktarını tayin edebilmek için halojen nem tayin cihazı kullanıldı. Yapısında bir ısıtıcı ile birlikte bir de terazi bulunduran nem tayin cihazı, tartımı yapılan ürünün ilk ve son tartım arasındaki ağırlık kaybını hesaplayarak kısa süre içerisinde nem ve kuru madde oranını yüzdesel olarak hesaplar ve sonuç verir.

- Örnek koyma haznesi içerisine ortalama 1 gr ana ekstre ilave edildi. Çalışma sıcaklığı 110 ° C olarak ayarlandı. Cihazın kapağı kapatıldı ve cihaz başlatıldı. Ortalama olarak 30 dakikalık bir sürede ekrandaki değerler sabitlenene kadar beklendi. Sabitlendiği zaman işlem sona erdi ve ekran üzerindeki yüzdesel olarak nem ve kuru madde değerleri kaydedildi.

### 3.2.9 Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemi

#### 3.2.9.1 DPPH Yöntemi

Stok çözeltilerinden farklı derişimlerde hazırlanan numunelerden 40 µL alındı. Üzerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Aynı işlem standart maddelere de uygulandı. Kontrol olarak 200 µL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Örneklerin absorbans değerleri kontrolle karşılaştırılarak değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\text{DPPH Aktivitesi ( \% İnhibisyon )} = \frac{(A_{kontrol} - A_{örnek})}{A_{kontrol}} * 100$$

**Tablo 3.6 :** DPPH Yönteminin formülünde kullanılan birimler

$A_{\text{kontrol}}$	Kontrolün absorbanası
$A_{\text{örnek}}$	Örneğin absorbanası



## 4. BULGULAR

### 4.1 İdeal Ekstraksiyon Çözücüsü

Total antosiyanin, fenolik, flavonoid madde miktarı tespiti için hazırlanacak ideal ekstraksiyon çözücüsünü belirlemek için H<sub>2</sub>O, EtOH, H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) ve H<sub>2</sub>O+Gly (1:1) çözücüleri kullanılarak hazırlanmış 4 ekstre gerekli oranda seyreltilerek UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans ölçümü yapıldı. 3 tekrarla yapılan ölçüm sonuçlarının ortalamaları Tablo 4.1' de gösterildi.

**Tablo 4.1 :** Farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbans ölçümü.

Çözücü	Ortalama Absorbans (510 nm)	SD	%RSD
Çözücü 1: H <sub>2</sub> O	0,1881	0,0007	0,36
Çözücü 2: EtOH	0,2484	0,0001	0,02
Çözücü 3: H <sub>2</sub> O+EtOH (1:1)	0,4322	0,0001	0,03
Çözücü 4: H <sub>2</sub> O+Gly (1:1)	0,2609	0,0012	0,44

### 4.2 İdeal Ekstraksiyon Ortamı

İdeal ekstraksiyon ortamının belirlenmesi için çözücü olarak bir önceki aşamada ideal çözücü olarak belirlenen H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) kullanıldı. Tahmini olarak belirlenmiş ekstraksiyon süresi boyunca (60dk) sırasıyla karıştırma, manyetik karıştırıcıda karıştırarak ısıtma ve ultrasonic banyoda bekletme işlemleri uygulandı. Elde edilen süzüntülerde, UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans ölçümü yapıldı. 3 tekrarla yapılan ölçüm sonuçları Tablo 4.2' de gösterildi.

**Tablo 4.2 :** Farklı ortamlarda hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbands ölçümü.

Ekstraksiyon Ortamı	Ortalama Absorbans (510 nm)	SD	%RSD
Manyetik Karıştırıcı Yardımıyla Karıştırarak Bekletme (25 °C)	3,3054	0,04619	1,40
Manyetik Karıştırıcı Yardımıyla Karıştırarak Isıtma (40 °C)	3,9625	0,21414	5,40
Ultrasonik Banyoda Bekletme (25 °C)	2,3463	0,00910	0,39

### 4.3 İdeal Ekstraksiyon Süresi

İdeal ekstraksiyon süresinin belirlenmesi için ideal çözücü olarak belirlenen H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) kullanıldı. Bir önceki adımda ideal ekstraksiyon ortamı olarak belirlenen manyetik karıştırıcıda karıştırarak ısıtma ortamında beklemek üzere 5 ekstre hazırlandı. Sırasıyla 45 dk, 60 dk, 90 dk, 120 dk, 180 dk boyunca bekletildi. Elde edilen süzüntülerde, UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbands ölçümü yapıldı. 3 tekrarla yapılan ölçüm sonuçları Tablo 4.3' te gösterildi.

**Tablo 4.3 :** Farklı ekstraksiyon süreleri kullanılarak hazırlanan ekstre süzüntülerinin 510 nm'deki absorbands ölçümü.

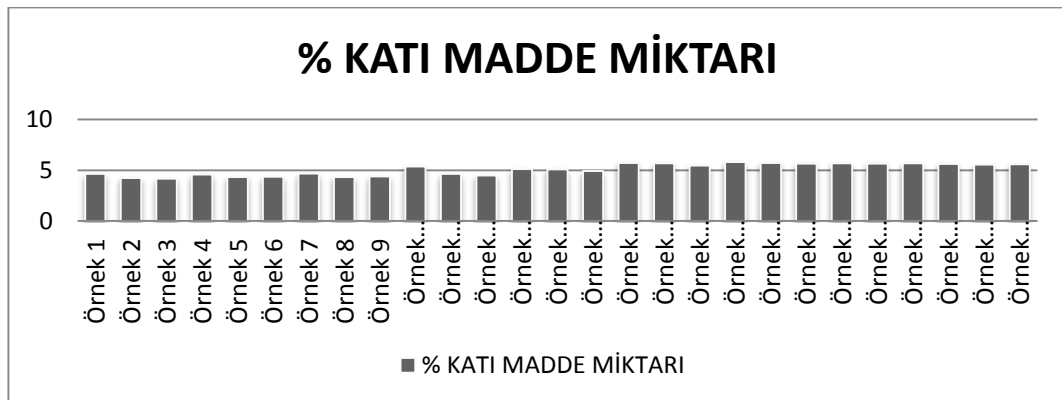
Ekstraksiyon Süresi	Ortalama Absorbans (510 nm)	SD	%RSD
45 dk	3,0856	0,0396	1,28
60 dk	3,2227	0,0682	2,12
90 dk	3,2447	0,0737	2,27
120 dk	3,2099	0,0377	1,17
180 dk	3,1934	0,0717	2,25

### 4.4 Total Antosiyanin Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları

Total antosiyanin madde miktarı tayini için hazırlanan ana ekstrelerde katı madde miktarını belirlemek için halojen nem tayin cihazında 110°C' de çözücünün uçurulması sağlandı. Elde edilen yüzde çözücü miktarı ve yüzde katı madde miktarı kaydedildi. Sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.1'de gösterildi.

**Tablo 4.4 :** Ekstrede katı madde miktarı (a/a).

ÖRNEK NUMARASI	% KATI MADDE MİKTARI
Örnek 1	4,63
Örnek 2	4,23
Örnek 3	4,17
Örnek 4	4,58
Örnek 5	4,33
Örnek 6	4,37
Örnek 7	4,68
Örnek 8	4,34
Örnek 9	4,40
Örnek 10	5,36
Örnek 11	4,65
Örnek 12	4,49
Örnek 13	5,13
Örnek 14	5,10
Örnek 15	4,93
Örnek 16	5,71
Örnek 17	5,70
Örnek 18	5,46
Örnek 19	5,80
Örnek 20	5,72
Örnek 21	5,65
Örnek 22	5,70
Örnek 23	5,64
Örnek 24	5,68
Örnek 25	5,62
Örnek 26	5,55
Örnek 27	5,58

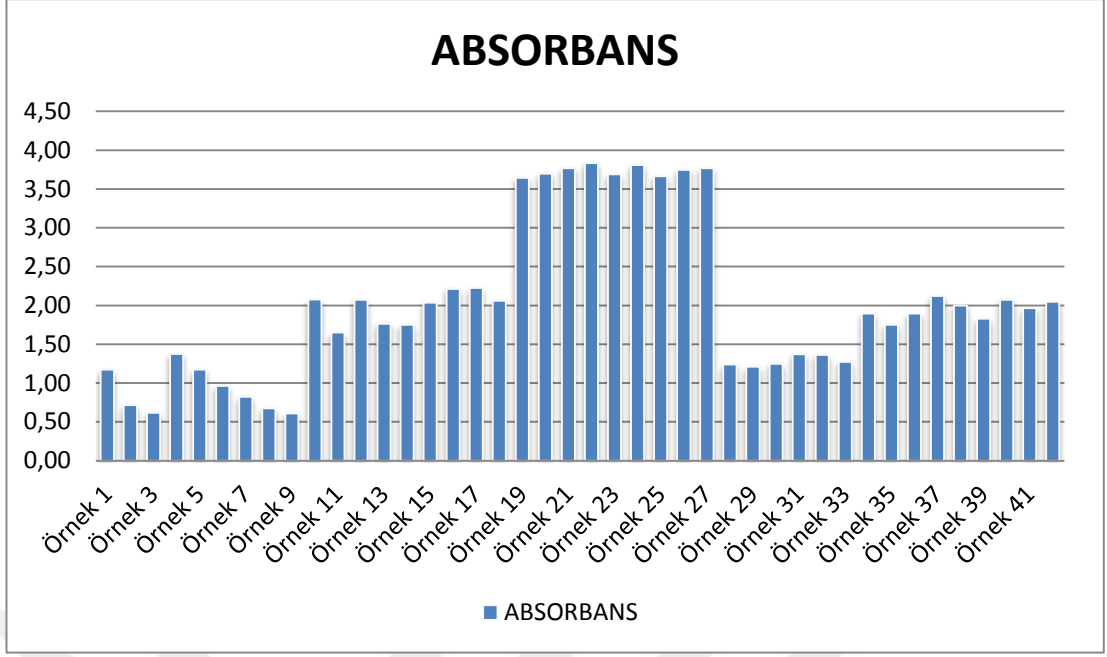


**Şekil 4.1 :** Katı madde miktarı grafiği (a/a).

Total antosiyanin madde miktarı tayini için hazırlanan ana ekstrelerde renk şiddetini belirlemek için UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de 3 veya 5 tekrarlı absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen ortalama absorbans değerleri kaydedildi. Sonuçlar Tablo 4.5 ve Şekil 4.2’de gösterildi. Ortalama değerleri ise Tablo 4.6 ve Şekil 4.3’te gösterildi.

**Tablo 4.5 : UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerleri.**

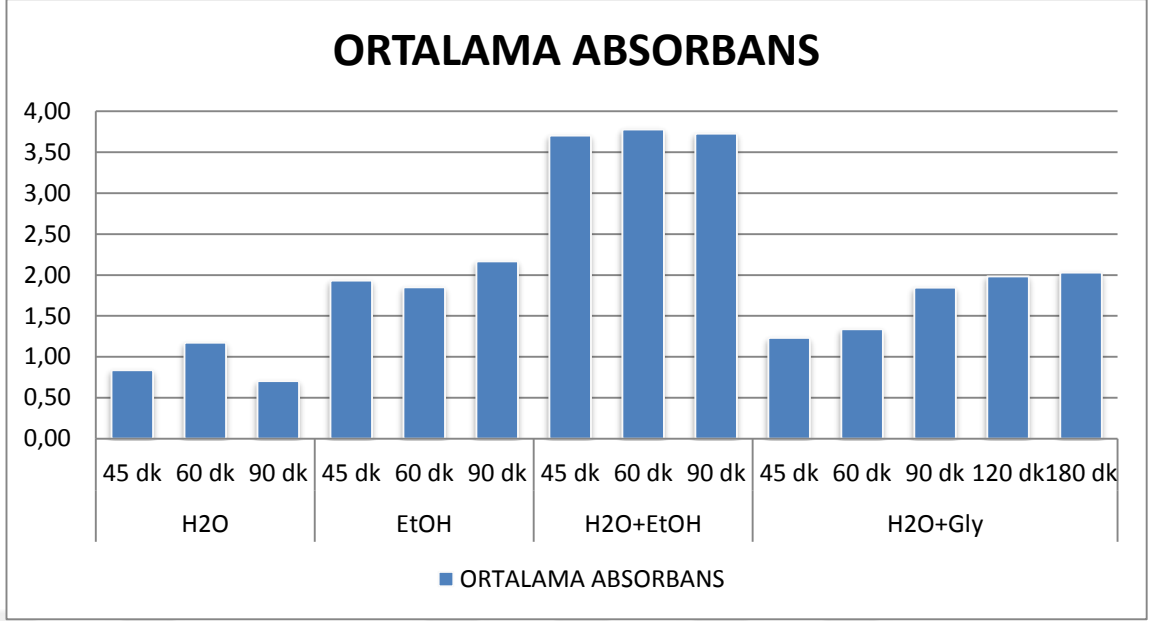
ÖRNEK NUMARASI	ABSORBANS	SD	% RSD
Örnek 1	1,17	0,0010	0,09
Örnek 2	0,72	0,0001	0,02
Örnek 3	0,62	0,0002	0,03
Örnek 4	1,38	0,0002	0,01
Örnek 5	1,17	0,0005	0,04
Örnek 6	0,97	0,0012	0,13
Örnek 7	0,82	0,0003	0,04
Örnek 8	0,67	0,0001	0,01
Örnek 9	0,61	0,0012	0,20
Örnek 10	2,08	0,0019	0,09
Örnek 11	1,65	0,0015	0,09
Örnek 12	2,07	0,0081	0,39
Örnek 13	1,76	0,0025	0,14
Örnek 14	1,75	0,0019	0,11
Örnek 15	2,04	0,0032	0,16
Örnek 16	2,21	0,0026	0,12
Örnek 17	2,22	0,0033	0,15
Örnek 18	2,06	0,0031	0,15
Örnek 19	3,64	0,1154	3,17
Örnek 20	3,70	0,1315	3,56
Örnek 21	3,77	0,1078	2,86
Örnek 22	3,83	0,0438	1,14
Örnek 23	3,69	0,0831	2,25
Örnek 24	3,81	0,0898	2,36
Örnek 25	3,67	0,1345	3,67
Örnek 26	3,75	0,1094	2,92
Örnek 27	3,77	0,2467	6,55
Örnek 28	1,24	0,0009	0,07
Örnek 29	1,21	0,0009	0,07
Örnek 30	1,25	0,0006	0,05
Örnek 31	1,37	0,0003	0,02
Örnek 32	1,36	0,0008	0,06
Örnek 33	1,27	0,0002	0,01
Örnek 34	1,90	0,0013	0,07
Örnek 35	1,75	0,0016	0,09
Örnek 36	1,90	0,0013	0,07
Örnek 37	2,12	0,0019	0,09
Örnek 38	2,00	0,0028	0,14
Örnek 39	1,83	0,0016	0,08
Örnek 40	2,07	0,0039	0,19
Örnek 41	1,97	0,0023	0,11
Örnek 42	2,05	0,0027	0,13



**Şekil 4.2 :** UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerlerinin grafiği.

**Tablo 4.6 :** UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerlerinin ortalaması.

ÖRNEK	ORTALAMA ABSORBANS	
	45 dk	0,84
H2O	60 dk	1,17
	90 dk	0,70
	45 dk	1,93
EtOH	60 dk	1,85
	90 dk	2,17
	45 dk	3,70
H2O+EtOH	60 dk	3,78
	90 dk	3,73
	45 dk	1,23
	60 dk	1,34
H2O+Gly	90 dk	1,85
	120 dk	1,98
	180 dk	2,03



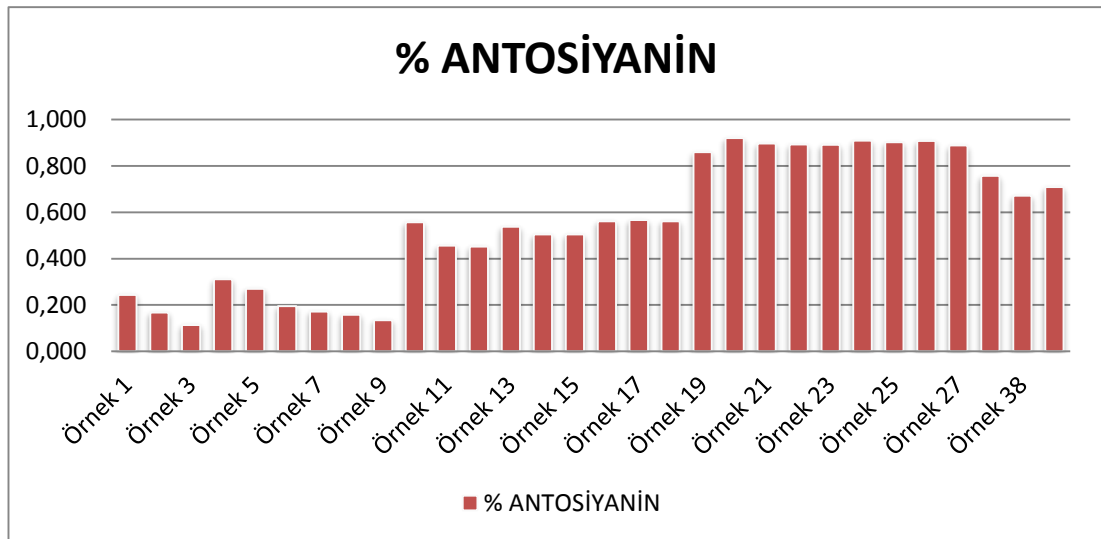
**Şekil 4.3 :** UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm de absorbans değerlerinin ortalamasının grafiği.

Total antosiyanin madde miktarı tayini için hazırlanan ana ekstreye pH 1.0 ile pH 4,5 ilave edilerek hazırlanmış numunelerde total antosiyanin madde miktarını belirlemek için UV-VIS spektrofotometresinde 510 nm ve 700 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri kaydedildi. Sonuçlar yüzde cinsinden hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.7 ve Şekil 4.4'te gösterildi. Ortalama değerler Tablo 4.8 ve Şekil 4.5'te gösterildi.



**Tablo 4.7 :** Kuru meyvede belirlenen antosiyanin miktarı.

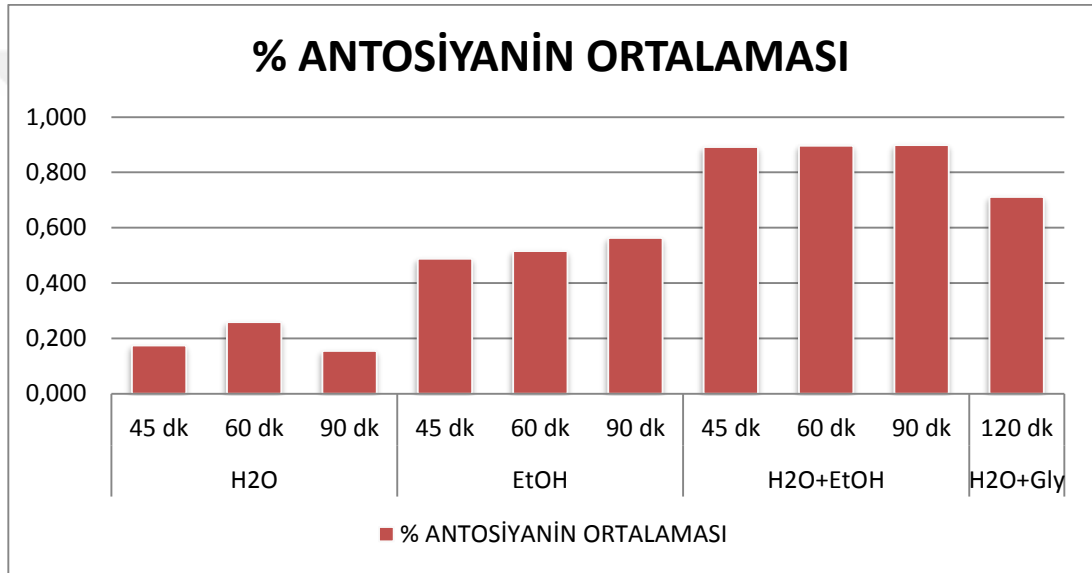
ÖRNEK NUMARASI	% ANTOSİYANİN
Örnek 1	0,243
Örnek 2	0,167
Örnek 3	0,114
Örnek 4	0,311
Örnek 5	0,270
Örnek 6	0,196
Örnek 7	0,172
Örnek 8	0,158
Örnek 9	0,134
Örnek 10	0,557
Örnek 11	0,456
Örnek 12	0,451
Örnek 13	0,538
Örnek 14	0,504
Örnek 15	0,505
Örnek 16	0,561
Örnek 17	0,567
Örnek 18	0,560
Örnek 19	0,859
Örnek 20	0,919
Örnek 21	0,897
Örnek 22	0,892
Örnek 23	0,891
Örnek 24	0,908
Örnek 25	0,902
Örnek 26	0,907
Örnek 27	0,889
Örnek 37	0,756
Örnek 38	0,671
Örnek 39	0,709



**Şekil 4.4 :** Antosiyanin miktarı grafiği.

**Tablo 4.8 :** Kuru meyvede belirlenen ortalama antosiyanin miktarları.

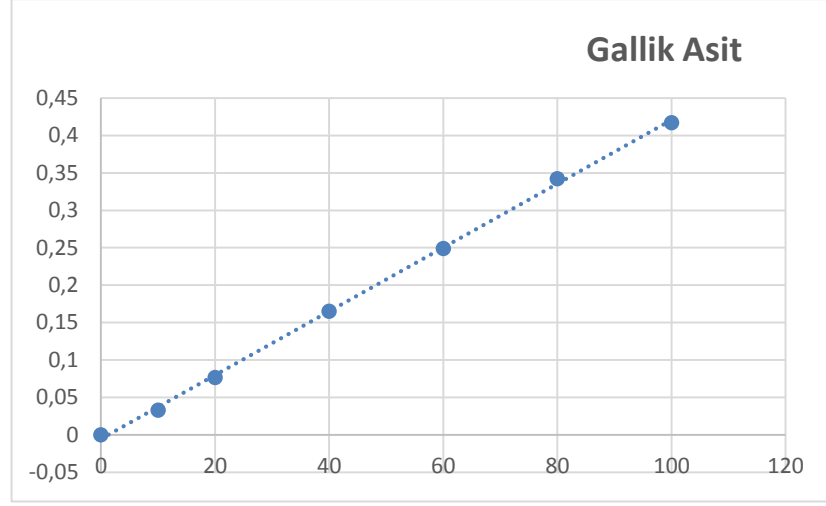
ÖRNEK		% ANTOSİYANİN ORTALAMASI
H2O	45 dk	0,174
	60 dk	0,259
	90 dk	0,155
EtOH	45 dk	0,488
	60 dk	0,516
	90 dk	0,563
H2O+EtOH	45 dk	0,892
	60 dk	0,897
	90 dk	0,899
H2O+Gly	120 dk	0,712



**Şekil 4.5 :** Ortalama antosiyanin miktarlarının grafiği.

#### 4.5 Total Fenolik Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları

Kalibrasyon aralığını belirlemek için standart fenolik bileşik olarak gallik asit baz alındı. 1000 ppm lik gallik asit stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 725 nm de yapılan 3 tekrarlı absorbans ölçümlerinden sonra ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Eğri Şekil 4.6'da gösterildi. Standart grafik denklemi belirlendi.



**Şekil 4.6 :** Gallik asit kalibrasyon eğrisi.

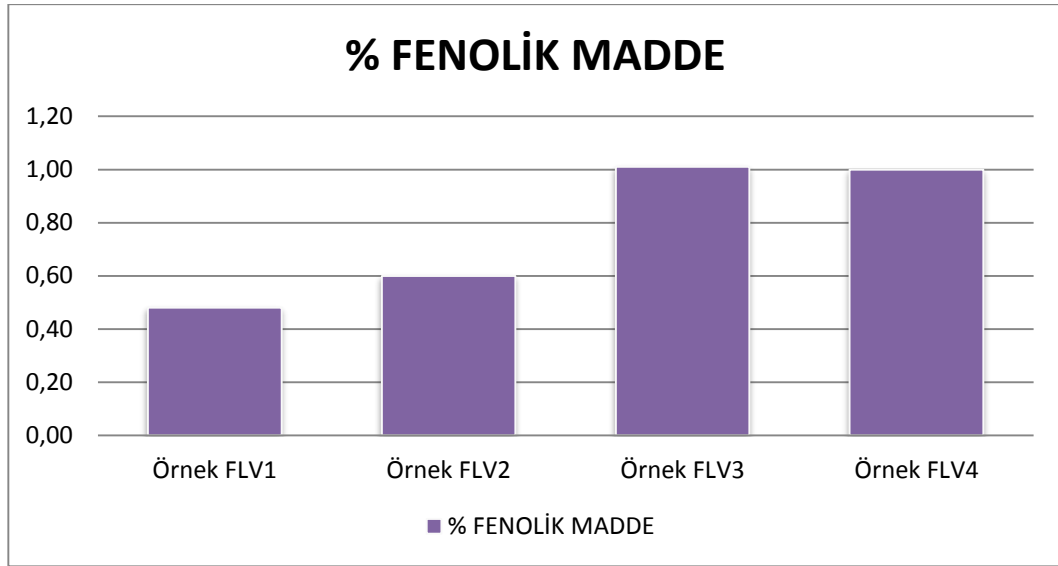
$$y = 0,0043x - 0,0054$$

$$R^2 = 0,9992$$

Total fenolik madde miktarı tayini için hazırlanan örnekler üzerine yöntem doğrultusunda gerekli ilaveler yapıldı. Plate üzerinde yatayda; A sırasında Örnek FNL1, B sırasında Örnek FNL2, C sırasında Örnek FNL3, D sırasında Örnek FNL4 numuneleri vardı. E sırası blank olarak belirlendi. Her örnek dikeyde; 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 numaralı bölmelere 6 tekrarlı olacak şekilde ekildi. Plate ekimleri tamamlandıktan sonra Eliza cihazında 725 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak her bir örneğin konsantrasyonu bulundu. Bulunan konsantrasyon değerlerinden yola çıkılarak yüzde fenolik madde miktarı belirlendi. Sonuçlar Tablo 4.9 ve Şekil 4.7’de verildi.

**Tablo 4.9 :** Vaccinium myrtillus L. kuru meyvesinin farklı çözücü sistemlerinde elde edilen fenolik madde yüzdesi.

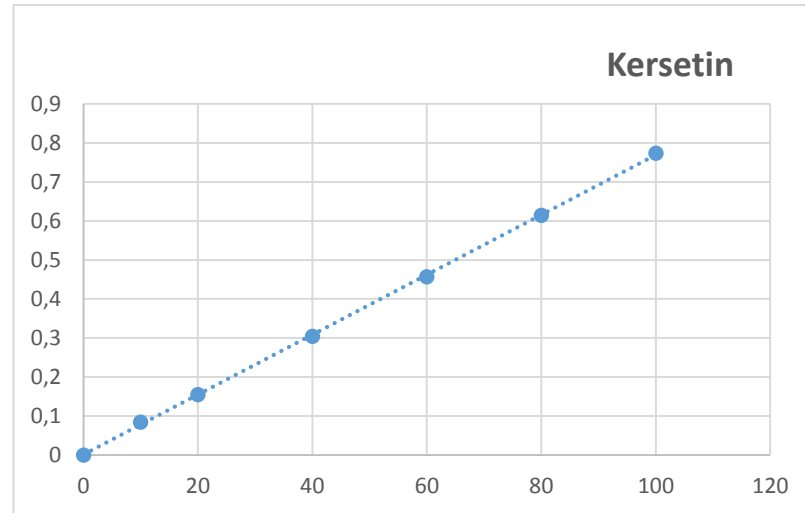
ÖRNEK	% FENOLİK MADDE
Örnek FLV1	0,48
Örnek FLV2	0,60
Örnek FLV3	1,01
Örnek FLV4	1,00



Şekil 4.7 : Fenolik madde miktarı grafiği.

#### 4.6 Total Flavonoid Madde Miktarı Tayini Analizlerinin Bulguları

Kalibrasyon aralığını belirlemek için standart olarak kersetin baz alındı. 1000 ppm lik kersetin stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 425 nm de yapılan 3 tekrarlı absorbans ölçümlerinden sonra ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Eğri Şekil 4.8’de gösterildi. Standart grafik denklemleri belirlendi.



Şekil 4.8 : Kersetin kalibrasyon eğrisi.

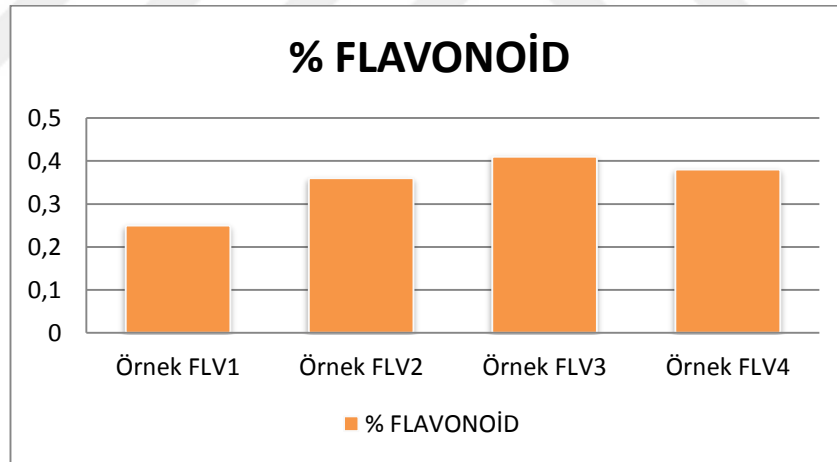
$$y = 0,0077x + 0,001$$

$$R^2 = 0,9998$$

Total flavonoid madde miktarı tayini için hazırlanan örnekler üzerine yöntem doğrultusunda gerekli ilaveler yapıldı. Plate üzerinde yatayda; A sırasında Örnek FLV1, B sırasında Örnek FLV2, C sırasında Örnek FLV3, D sırasında Örnek FLV4 numuneleri vardı. E sırası blank olarak belirlendi. Her örnek dikeyde; 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bölmelere 6 tekrarlı olacak şekilde ekildi. Plate ekimleri tamamlandıktan sonra Eliza cihazında 425 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak her bir örneğin konsantrasyonu bulundu. Bulunan konsantrasyon değerlerinden yola çıkılarak yüzde flavonoid madde miktarı belirlendi. Sonuçlar Tablo 4.10 ve Şekil 4.9’da verildi.

**Tablo 4.10 :** Vaccinium myrtilus L. kuru meyvesinden farklı çözen sistemlerde elde edilen flavonoid yüzdesi.

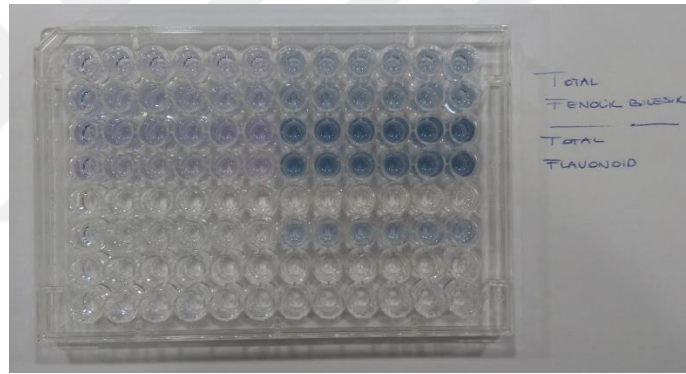
ÖRNEK	% FLAVONOİD
Örnek FLV1	0,25
Örnek FLV2	0,36
Örnek FLV3	0,41
Örnek FLV4	0,38



**Şekil 4.9 :** Flavonoid miktarı grafiği.



**Şekil 4.10 :** Total fenolik ve flavonoid analizi sırasında çekilen fotoğraflar.



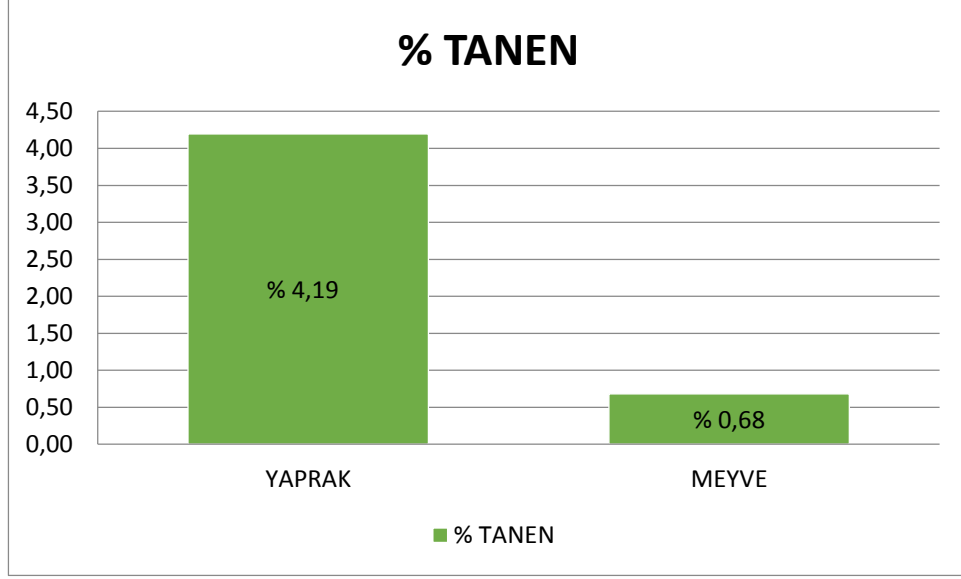
**Şekil 4.11 :** Total fenolik ve flavonoid analizi yapıldıktan sonra plate görüntüsü.

#### 4.7 Total Tanen Madde Miktar Tayini Analizlerinin Bulguları

Meyve ekstresinden elde edilen M ve MDT; yaprak ekstresinden elde edilen Y ve YDT numunelerine metotta yazılan ilaveler yapıldıktan sonra 760 nm de absorbans ölçümleri yapıldı. İşlem çift tekrarlar gerçekleştirildi. Ortalama absorbans değerleri alındı. *Vaccinium myrtillus* L. meyve ve yapraklarının içerisindeki yüzde total tanen miktarları tespit edildi. Tablo 4.11 ve Şekil 4.12’de gösterildi.

**Tablo 4.11 :** Tanen miktarı.

ÖRNEK	% TANEN
YAPRAK	4,19
MEYVE	0,68



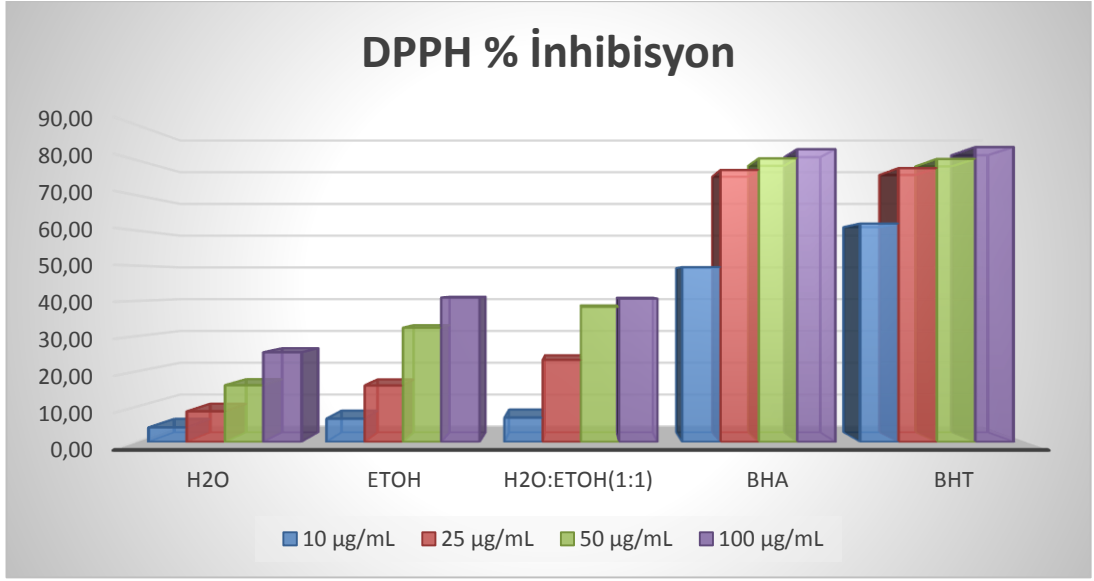
Şekil 4.12 : Tanen miktarı grafiği.

#### 4.8 Antioksidan Aktivite Tayininin Bulguları

Ana ekstreler, BHA ve BHT standart maddelerinin stok çözeltisi kullanılarak hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltilere metotta verilen ilaveler yapıldıktan sonra 517 nm de Eliza cihazında absorbans ölçümleri yapıldı. İşlem 3 tekrarlar gerçekleştirildi. Elde edilen ortalama absorbans değerleri kullanılarak serbest radikal giderim aktivitesi hesaplandı. Farklı konsantrasyonlar için hesaplanan sonuçlar DPPH % İnhibisyon cinsinden değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterildi.

Tablo 4.12 : DPPH % İnhibisyon.

ÖRNEK	10 µg/mL	±	25 µg/mL	±	50 µg/mL	±	100 µg/mL	±
H2O	4,15	0,90	8,70	1,18	16,11	1,38	25,45	1,81
EtOH	6,62	1,66	16,03	1,71	32,39	1,21	40,96	1,27
H2O:EtOH(1:1)	6,93	1,90	23,29	1,82	38,34	1,51	40,65	1,89
BHA	49,57	0,63	77,16	0,83	80,45	0,60	83,05	0,24
BHT	61,95	0,58	77,68	0,70	80,29	0,38	83,66	0,30



Şekil 4.13 : DPPH % İnhibisyon Grafiği.



## SONUÇ VE TARTIŞMA

*Vaccinium myrtillus* L. meyvelerinin total antosiyanin, total fenolik madde, total flavonoid miktar tayinleri için en etkili çözücü sistemini belirleyebilmek için 4 farklı çözücü sisteminde ekstreler hazırlandı. 510 nm’ de UV-VIS spektrofotometresinde yapılan absorbans ölçümünün sonuçlarına göre en yüksek absorbans değerine sahip olan numunede kullanılan H<sub>2</sub>O+EtOH (1:1) çözücüsünün total antosiyanin, total fenolik madde, total flavonoid miktarlarını en yüksek oranda ekstre eden çözücü olabileceği gösterildi.

Total antosiyanin, total fenolik madde, total flavonoid tayinleri için hazırlanan ekstrelerde ideal ekstraksiyon ortamının belirlenmesi için farklı ortamlarda hazırlanan ekstrelerin 510 nm’ de UV-VIS spektrofotometresinde absorbans ölçümü yapıldı. En yüksek absorbans değerine sahip olan numunede kullanılan 40°C’de manyetik karıştırıcıda karıştırarak ısıtma ortamının total antosiyanin, total fenolik madde, total flavonoid madde tayinlerinde en ideal ortam olabileceği bulundu.

İdeal ekstraksiyon süresinin belirlenmesi için farklı sürelerde bekletilerek hazırlanan ekstrelerin UV-VIS Spektrofotometresinde 510 nm’ de yapılan ölçüm sonuçlarına göre absorbans değerleri açısından büyük bir fark olmadığı gözlemlendi. Zaman ve enerji tasarrufu açısından daha faydalı olabileceği düşünüldüğü için 60 dk süreli ekstrelerin total antosiyanin, total fenolik madde, total flavonoid madde tayinlerinde ideal ekstraksiyon süresi olabileceğine karar verildi.

Elde edilen değerler sonrasında ideal ekstraksiyon yöntemi olarak belirlediğimiz yöntemle hazırladığımız ekstrelerde total antosiyanin, total fenolik bileşik ve total flavonoid miktarı analiz edildi. Bu analizler için belirlediğimiz ideal ekstraksiyon yöntemi Şekil 5.1 ‘de gösterildi. Total tanen miktarı için ana ekstre farklı bir metotla elde edildi.



**Şekil 5.1 :** Total Antosiyanin, Total Fenolik Bileşik ve Total Flavonoid Miktarı Analizleri İçin İdeal Ekstraksiyon Yöntemi.

Total antosiyanin madde miktarı tayini için hazırladığımız ekstrelerde halojen nem tayin cihazında katı madde miktarları tespit edildi. Elde edilen bulgular Tablo 4.4 ve Şekil 4.1’de gösterildi. H<sub>2</sub>O, EtOH ve H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüleriyle farklı ekstraksiyon sürelerinde hazırlanmış olan toplam 27 örnekte katı madde miktarının % 4,17 ile % 5,80 (a/a) arasında değiştiği gözlemlendi. H<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ekstrelerde ortalama katı madde miktarı % 4,41 (a/a); EtOH ile hazırlanmış ekstrelerde ortalama katı madde miktarı % 5,17 (a/a); H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ile hazırlanmış ekstrelerde ortalama katı madde miktarı % 5,66 (a/a) olarak tespit edildi. H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ile hazırladığımız ekstrelerde en yüksek katı madde miktarı görüldü.

Kurutulmuş *Vaccinium myrtillus* L. meyvelerinde total antosiyanin madde miktarını bulmak için tezim süresince kullandığım ekstraksiyon yöntemleri kullanıldı. Toz haline getirilmiş kuru meyveler 4 farklı çözücü sisteminde, belirlenen ekstraksiyon ortamında ve süresinde ekstrakte edildi. Elde edilen likit ekstreye yöntem doğrultusunda belirtilen miktarlarda pH 1.0 ve pH 4.5 ilavesi yapıldıktan sonra UV-VIS spektrofotometresinde absorban ölçümü yapıldı. Elde edilen sonuçlar kuru meyvede yüzde antosiyanin değeri olarak verildi. Sonuçlar Tablo 4.7 ve Şekil 4.4’te, ortalama değerleri ise Tablo 4.8 ve Şekil 4.5’te gösterildi. H<sub>2</sub>O ile 45 dk, 60dk ve 90 dk ekstrakte edilerek hazırlanan ekstrelerin antosiyanin değerlerinin ortalaması sırasıyla %0,174, %0,259, %0,155; EtOH ile 45 dk, 60dk ve 90 dk ekstrakte edilerek hazırlanan ekstrelerin antosiyanin değerlerinin ortalaması sırasıyla %0,488, %0,516, %0,563; H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ile 45 dk, 60dk ve 90 dk ekstrakte edilerek hazırlanan

ekstrelerin antosiyanin değerlerinin ortalaması sırasıyla %0,892, %0,897, %0,899; H<sub>2</sub>O+Gly(1:1) ile 120 dk ekstrakte edilerek hazırlanan ekstrenin antosiyanin değerlerinin ortalaması %0,712 olarak bulundu. H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ile hazırlanan ekstrelerde en yüksek antosiyanin miktarı bulundu. 45 dk, 60dk ve 90 dk boyunca H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) ile ekstrakte edilen *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyve tozlarında ise yüzde antosiyanin değerleri açısından belirgin bir fark gözlenmedi. Ardından 120 dk bekletilerek daha uzun ekstraksiyon süresine sahip olan H<sub>2</sub>O+Gly(1:1) ekstresinde en yüksek antosiyanin miktarı tespit edildi. Elde edilen bulguların Avrupa Farmakopesi'nde verilen minimum antosiyanin değerinin üzerinde olduğu görüldü [144]. Gliserin çözücüsü kullanılarak hazırlanan ekstrelerde antosiyanin miktarının belirlenmesi için uzun ekstraksiyon süreli ekstrelerin seçilmiş olması çözücünün yüksek viskoziteli olmasından kaynaklanmaktadır.

Slovenya yaban mersinleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda yedi farklı bölgeden toplanmış *Vaccinium myrtillus* L. taze meyvelerinde total antosiyanin miktarı ortalama %1,20 olarak bulundu [2]. Türkiye'de Doğu Karadeniz ve Marmara Bölgeleri'nden 2007-2008 yıllarında toplanan *Vaccinium myrtillus* L. olgun meyveleriyle pH diferansiyel metodu kullanılarak total antosiyanin miktarı üzerinde çalışıldı. Total antosiyanin miktarının taze meyvede %0,756 olduğu tespit edildi [13]. Diğer çalışmalarda ise yaban mersininin yine taze meyvelerindeki antosiyanin miktarının %0,297 ve %0,299 olduğu görüldü [145, 146]. Türkiye'nin farklı illerinden alınan örneklerle, Finlandiya'dan toplanarak analizleri yapılmış yaban mersini antosiyaninlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği diğer çalışmada, Türkiye'deki yaban mersini kuru meyvesinin antosiyanin miktarının %2,65, taze meyvesinin antosiyanin miktarının %0,475 olduğu bulundu [126]. Bulduğum analiz sonuçları ile bu konuda yapılmış olan araştırmaların uyum içerisinde ve beklenen değerler dahilinde olduğu görüldü.

Total fenolik madde miktarı tayini için öncelikli olarak kalibrasyon aralığı belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak 1000 ppm 'lik gallik asit stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm 'lik çözeltiler hazırlandıktan sonra her bir çözelti için 725 nm 'de absorbans ölçümleri yapıldı. Ortalama değerleri üzerinden oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 4.6'da gösterildi ve standart grafik denklemi belirlendi. Total fenolik madde miktarı tayini için hazırlanan örnekler üzerine yöntem doğrultusunda gerekli ilaveler yapıldıktan sonra 725 nm 'de

absorbans ölçümü yapıldı. Sonuçlar standart grafik denklemi kullanılarak *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin farklı çözücü sistemlerinde elde edilen fenolik madde yüzdesi cinsinden tespit edildi. Sonuçlar Tablo 4.9 ve Şekil 4.7’de gösterildi. *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin ekstresi H<sub>2</sub>O çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen fenolik madde miktarı %0,48; EtOH çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen fenolik madde miktarı %0,60; H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen fenolik madde miktarı %1,01; H<sub>2</sub>O+Gly(1:1) çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen fenolik madde miktarı %1,00 olduğu tespit edildi. Ekstre hazırlanırken H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüsünün tercih edilmesi fenolik maddenin daha yüksek değerde tespit edilmesini sağladı. Bu açıdan total antosiyanin miktarı ile benzer bir sonuç elde edilmiş oldu. H<sub>2</sub>O+Gly(1:1) çözücüsü kullanılarak elde edilen numunenin total fenolik madde miktarının, H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüsü kullanılarak elde edilen numunenin total fenolik madde miktarı ile benzer sonuçları verdiği belirlendi. Elde edilen bulgularla literatür taraması sonucunda görülen total fenolik madde miktarlarının birbiri ile uyumlu olduğu görüldü [13, 146, 147].

Total flavonoid miktarı tayini için kalibrasyon aralığı belirlendi. Standart flavonoid bileşik olarak 1000 ppm ‘lik kersetin stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm ‘lik çözeltiler hazırlandıktan sonra her bir çözelti için 425 nm ‘de absorbans ölçümleri yapıldı. Ortalama değerleri üzerinden oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 4.8’de gösterildi ve standart grafik denklemi belirlendi. Total flavonoid miktarı tayini için hazırlanan örnekler üzerine yöntem doğrultusunda gerekli ilaveler yapıldıktan sonra 425 nm ‘de absorbans ölçümü yapıldı. Sonuçlar standart grafik denklemi kullanılarak *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin farklı çözücü sistemlerinde elde edilen flavonoid yüzdesi cinsinden tespit edildi. Sonuçlar Tablo 4.10 ve Şekil 4.9 ‘da gösterildi. *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesinin ekstresi H<sub>2</sub>O çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen flavonoid yüzdesi 0,25; EtOH çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen flavonoid miktarı %0,36; H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen flavonoid miktarı %0,41; H<sub>2</sub>O+Gly(1:1) çözücüsü ile hazırlandığında elde edilen flavonoid miktarı %0,38 olduğu tespit edildi. Elde edilen sonuçlarda H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) çözücüsü kullanıldığında *Vaccinium myrtillus* L. kuru meyvesindeki total flavonoid miktarının daha yüksek olduğu belirlense de, kullandığımız farklı çözücü sistemlerinin total flavonoid miktarı belirlenmesinde ayırt edici bir etken olmadığı düşünüldü.

Total tanen miktar tayini *Vaccinium myrtillus* L. meyve ve yapraklarında yapıldı. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş *Vaccinium myrtillus* L. meyve ve yaprakları kullanıldı. Yöntemde belirtilen aşamalar gerçekleştirildi. Hazırlanan numunelerde UV-VIS spektrofotometresinde 760 nm de absorpsiyon ölçümü yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.11 ve Şekil 4.12’de gösterildi. *Vaccinium myrtillus* L. meyvesinde yapılan analizin sonucunda total tanen miktarı % 0,68; *Vaccinium myrtillus* L. yapraklarında yapılan analizin sonucunda total tanen miktarı % 4,19 olarak belirlendi. Yapraklarında tespit edilen tanen miktarının meyvelerine oranla 6 kat daha fazla miktarda olduğu görüldü. Yapraklardaki tanen miktarının Avrupa Farmakopesi’nde verilen değerlerle uyumlu olduğu ve beklenenden daha yüksek değerlerde tanen içerdiği bulundu [144].

Antioksidan aktivite tayini DPPH yöntemi ile yapıldı. Sonuçlar DPPH % inhibisyon cinsinden gösterildi. H<sub>2</sub>O kullanılarak hazırlanmış kuru ekstrelerden hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki numuneler incelendi. Sırasıyla 4,15±0,90; 8,70±1,18; 16,11±1,38; 25,45±1,81 olarak bulundu. EtOH kullanılarak hazırlanmış kuru ekstreden hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki numuneler incelendi. Sırasıyla 6,62±1,66; 16,03±1,71; 32,39±1,21; 40,96±1,27 olarak bulundu. H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) kullanılarak hazırlanmış kuru ekstreden hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki numuneler incelendi. Sırasıyla 6,93±1,90; 23,29±1,82; 38,34±1,51; 40,65±1,89 olarak bulundu. BHA standart maddesinden hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki standartlar incelendi. Sırasıyla 49,57±0,63; 77,16±0,83; 80,45±0,60; 83,05±0,24 olarak bulundu. BHT standart maddesinden hazırlanan 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarındaki standartlar incelendi. Sırasıyla 61,95±0,58; 77,68±0,70; 80,29±0,38; 83,66±0,30 olarak bulundu. 10 µg/mL konsantrasyonunda H<sub>2</sub>O kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 4,15±0,90; EtOH kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 6,62±1,66; H<sub>2</sub>O+EtOH(1:1) kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 6,93±1,90 olarak bulundu. BHA standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 49,57±0,63 ve BHT standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 61,95±0,58 olduğu tespit edildi. 25 µg/mL konsantrasyonunda H<sub>2</sub>O kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu 8,70±1,18; EtOH kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH %

inhibisyonu  $16,03 \pm 1,71$ ;  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $23,29 \pm 1,82$  olarak bulundu. BHA standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $77,16 \pm 0,83$  ve BHT standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $77,68 \pm 0,70$  olduğu tespit edildi.  $50 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda  $H_2O$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $16,11 \pm 1,38$ ; EtOH kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $32,39 \pm 1,21$ ;  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $38,34 \pm 1,51$  olarak bulundu. BHA standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $80,45 \pm 0,60$  ve BHT standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $80,29 \pm 0,38$  olduğu tespit edildi.  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda  $H_2O$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $25,45 \pm 1,81$ ; EtOH kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $40,96 \pm 1,27$ ;  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $40,65 \pm 1,89$  olarak bulundu. BHA standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $83,05 \pm 0,24$  ve BHT standart maddesi kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $83,66 \pm 0,30$  olduğu tespit edildi.  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda BHA ve BHT numunelerinin DPPH % inhibisyonu  $83,05 \pm 0,24$  ve  $83,66 \pm 0,30$  iken en yüksek değerlere sahip olan EtOH kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $40,96 \pm 1,27$ ;  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonu  $40,65 \pm 1,89$  olarak bulundu. Standart maddeler ile kıyaslandığında EtOH ve  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış numunenin DPPH % inhibisyonunda yarı yarıya etkili olduğu gözlemlendi. Total fenolik ve total antosiyanin değerlerinde olduğu gibi  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış ekstrelerden elde edilen antioksidan aktivite değerinin yüksek olduğu tespit edildi. Fenolik madde bakımından daha düşük verimin elde edildiği EtOH kullanılarak hazırlanmış ekstrelerden elde edilen antioksidan aktivite değerinin ise  $H_2O+EtOH(1:1)$  kullanılarak hazırlanmış ekstrelerden elde edilen antioksidan aktivite değeriyle eşdeğer olduğu tespit edildi.

Ülkemizde kültürü yapılan *Vaccinium cyrombosum* türünün total fenolik, flavonoid ve antosiyanin değerleri ile *Vaccinium myrtillus* L. türünün total fenolik, flavonoid ve antosiyanin değerleri kıyaslandığında, *Vaccinium myrtillus* L. türünün değerlerinin neredeyse iki kat daha fazla olduğu görüldü [145]. Başka bir çalışmada

ise *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin temin edildiği yükseklikler arttıka fenolik asit ve flavonoid değerlerinin arttığı görüldü [7].

Son dönemlerde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda sağlığımız için faydalı olduğu kesinleşmiş olan *Vaccinium* cinsi meyvelerin yetiştiriciliğinin arttırılması oldukça önemlidir. Hasatında elde edilen ürün miktarının daha çok olmasından ve alçak bölgelerde yetiştirilebilme imkanından ötürü kültürü yapılması tercih edilen *Vaccinium cyrombosum* türünün yetiştiriciliğinin son yıllarda hız kazandığı görülmektedir. *Vaccinium cyrombosum* türüne ek olarak yüksek antosiyanin kaynağı olduğu bilinen *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin 1200-2800 m rakımlı yüksek dağlık bölgelerde yetiştirilmesinin faydalı olacağı kanaatindeyiz. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın öncülüğünde dağ köylerinde orman altı bitkisi olarak *Vaccinium myrtillus* L. bitkisinin ekimi yapıldıktan sonra halkın tüketimine ve satışına müsaade edilmesiyle bu bitkinin kullanımının yaygınlaştırılması teşvik edilebilir. Bu sayede bu meyvenin tüketim miktarlarının arttırılıp besin zincirine yüksek kalitede son derece sağlıklı bir tıbbi aromatik bitkinin adaptasyonunun sağlanmış olması bu çalışma kapsamındaki en önemli tavsiyemizdir.

## KAYNAKLAR

- [1] **Göktaş, G.** (2013). *Yaban mersini (Vaccinium myrtillus/Vaccinium corymbosum) fenolik bileşiklerinin LC-MS/MS ile belirlenmesi.* (Yüksek lisans tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [2] **Može, S., Polak, T., Gasperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Poklar Ulrih, N., Abram, V.** (2011). Phenolics in Slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 6998-7004.
- [3] **Lätti, A.K., Riihinen, K. R., Kainulainen, P. S.** (2007). Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(1), 190-196.
- [4] **Türkben, C., Barut, E. and İncedayı, B.,** (2008). Investigations on population of blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Uludag (Mount Olympus) in Bursa, Turkey. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 41-44.
- [5] **Kundakçı, G.Y.** (2016). *Antosiyaninlerin yaban mersini meyvelerinden ekstraksiyonu ve spektrofotometrik yöntemler ile tayinleri.* (Yüksek lisans tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [6] **Burcu, E.** (2013). Çay tarımında yaşanan sorunların çözümünde alternatif ürün likapa. *Bildiriler Kitabı*, 231.
- [7] **Yıldız, S., Yavaş, H., Gürbüz, O., Değirmencioğlu, N.** (2015). Türkiye’de yetişen yaban mersini meyvesinin fenolik bileşiklerinin karakterizasyonu. *Journal of Food and Feed Science-Technology*, 15, 9-18.
- [8] **Celik, H., and Serce S.,** (2015). Wild *Vaccinium* Species in Turkey.
- [9] **Maviyemiş likapa eylem planı.** (2015-2019). Retrieved September 21, 2018, from <http://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar>



- [10] **Stevens, P.F.** (1978). *Vaccinium L., Flora of Turkey and The East Aegean Islands.*
- [11] **Akkemik, Ü.** (2018). *Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları.* Ankara : T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü.
- [12] **Kaya, M.M.** (2018). *Yaban mersini (Vaccinium myrtillus L.) ve ahududu (Rubus idaeus L.) bitkilerinden elde edilen sıvı ekstraktların insan lenfosit kültüründe Mitomisin C'ye karşı kromozomlar ve hücre bölünme mekanizması üzerine antimitojenik etkilerinin araştırılması.* T.C. Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [13] **Çolak, N., Torun, H., Gruz, J., Strnad, M., Subrtova, M., Inceer, H., Ayaz, F. A.** (2016). Comparison of phenolics and phenolic acid profiles in conjunction with oxygen radical absorbing capacity (ORAC) in berries of *Vaccinium arctostaphylos L.* and *V. myrtillus L.* *Polish journal of food and nutrition sciences*, 66(2), 85-92.
- [14] **Helmstädter, A. and Schuster, N.** (2010). *Vaccinium myrtillus* as an antidiabetic medicinal plant—research through the ages. *Institute for the History of Pharmacy*, 65(5), 315-321.
- [15] **Cabrita, L., Froystein, N.A. and Andersen, M.O.** (2000). Anthocyanin trisaccharides in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Food Chemistry*, 69(1), 33-36.
- [16] **Potter, R. M., Dougherty, M. P., Halteman, W. A., Camire, M. E.** (2007). Characteristics of wild blueberry–soy beverages. *LWT-Food Science and Technology*, 40(5), 807-814.
- [17] **Yıldız, A.** (2011). *Trabzon yöresine ait yaban mersini (Vaccinium myrtillus L.)'nin HPLC ile fenolik yapısının aydınlatılması ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi.* Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- [18] **Tracy, T. S.** (2007). Bilberry. In *Herbal Products* (pp. 259-268). Humana Press.
- [19] **Chu, W., Cheung, S. and Lau, R.** (2011). Bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*), *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects.*

- [20] **Yang, B. and Kortensniemi, M.** (2015). Clinical evidence on potential health benefits of berries, *Current Opinion in Food Science*, 2, 36-42.
- [21] **Balci, N.** (2015). *Yaban mersini meyvesinden (Vaccinium arctostaphylos L.) glutatyon s-transferaz enziminin saflaştirilmesi, karakterizasyonu ve kinetik özelliklerinin incelenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [22] **Zhao, C., Giusti, M. M., Malik, M., Moyer, M. P., Magnuson, B. A.** (2004). Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 52(20), 6122-6128.
- [23] **Nowak, A., Sójka, M., Klewicka, E., Lipińska, L., Klewicki, R., Kolodziejczyk, K.** (2017). Ellagitannins from *Rubus Idaeus L.* exert geno- and cytotoxic effects against human colon adenocarcinoma cell line caco-2. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(14), 2947-2955.
- [24] **Hennia, A., Miguel, M. and Nemmiche, S.J.M.** (2018). Antioxidant Activity of *Myrtus communis L.* and *Myrtus nivellei Batt. & Trab.* Extracts: A Brief Review. *Medicines*, 5(3), 89.
- [25] **Bunea, A., Rugină, D., Sconța, Z., Pop, R. M., Pinte, A., Socaciu, C., ... VanCamp, J.** (2013). Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells. *Phytochemistry*, 95, 436-444.
- [26] **Nagase, H., Sasaki, K., Kito, H., Haga, A., Sato, T.** (1998). Inhibitory effect of delphinidin from *Solanum melongena* on human fibrosarcoma HT-1080 invasiveness in vitro. *Planta medica*, 64(03), 216-219.
- [27] **Katsube, N., Iwashita, K., Tsushida, T., Yamaki, K., Kobori, M.** (2003). Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(1), 68-75.
- [28] **Gough, R.E.** (1993). *The highbush blueberry and its management*, CRC Press.
- [29] **Gough, R.E. and Poling, E.B.** (1997). *Small fruits in the home garden*, CRC Press.

- [30] **Exporting fresh blueberries to Europe. (2018).** Retrieved October 22, 2018, from <https://www.cbi.eu/market-information/fresh-fruit-vegetables/blueberries/>.
- [31] **Dietrich, P.** (2004). Bioactive compounds in fruit and juice. 50-55.
- [32] **Castrejón, A. D. R., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L. W., Huyskens-Keil, S.** (2008). Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry*, 109(3), 564-572.
- [33] **Baysal, T., and Yıldız, H.** (2003). Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7(14), 29-35.
- [34] **Dai, J., and Mumper, R. J.** (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- [35] **Shahidi, F., and Ambigaipalan, P.** (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- [36] **Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M.** (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the university of chemical technology and metallurgy*, 40(3), 255-260.
- [37] **Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 152-178.
- [38] **Huang, D., Ou, B., Prior, R. L.** (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [39] **Öztan, T.** (2006). *Mor Havuç, konsantresi, şalgam Suyu, nar Suyu Ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini Ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi.* (Yüksek lisans tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [40] **Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R.** (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.

- [41] **Schobinger, U.** (1988). Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. *Çeviren J. Acar, Eugen Ulmer GmbH and Co. Stuttgart. Germany.*
- [42] **Ekşi, A.** (1988). Meyve suyu durultma tekniği. Ankara.
- [43] **Madhavi, D.L., Deshpande, S., Salunkhe, D.K.** (1995). Food antioxidants: Technological, toxicological and health perspectives, CRC Press.
- [44] **Kahraman, A., Serteser, M. and Köken, T.** (2002). Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 01-08
- [45] **Panche, A., Diwan, A. and Chandra, S.J.** (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
- [46] **Bors, W., Heller, W., Michael, M.** (1998). Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in enzymology*, 343-355.
- [47] **Stavric, B.** (1994). Role of chemopreventers in human diet. *Clinical biochemistry*, 27(5), 319-332.
- [48] **Stavric, B.** (1994). Quercetin in our diet: from potent mutagen to probable anticarcinogen. *Clinical biochemistry*, 27(4), 245-248.
- [49] **Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C.** (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- [50] **Lin, J. and Tang, C.** (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, 101(1), 140-147.
- [51] **Bridle, P. and Timberlake, C. F.** (1997). Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food chemistry*, 58(1-2), 103-109.
- [52] **Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T.** (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—a review. *Plant foods for human nutrition*, 65(3), 299-308.

- [53] **Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., Lim, S. M.** (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research*, 61(1), 1361779.
- [54] **Hassimotto, N. M. A., Genovese, M. I., Lajolo, F.** (2008). Absorption and metabolism of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside extracted from wild mulberry (*Morus nigra* L.) in rats. *Nutrition research*, 28(3), 198-207.
- [55] **Jiao, Z., Liu, J., Wang, S.** (2005). Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1), 97-102.
- [56] **Shukitt-Hale, B., Galli, R. L., Meterko, V., Carey, A., Bielinski, D. F., McGhie, T., Joseph, J. A.** (2005). Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and oxidative stress. *Age*, 27(1), 49-57.
- [57] **Vemuri, M., Kelley, D.S., Erickson, K.L.** (2008). Health effects of foods rich in polyphenols, *Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention*. 393-412.
- [58] **Yao, Y. and Vieira, A.** (2007). Protective activities of Vaccinium antioxidants with potential relevance to mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 28(1), 93-100.
- [59] **Rizzolo, A., Nani, R. C., Viscardi, D., Bertolo, G., Torreggiani, D.** (2003). Modification of glass transition temperature through carbohydrates addition and anthocyanin and soluble phenol stability of frozen blueberry juices. *Journal of food engineering*, 56(2-3), 229-231.
- [60] **Bell, D.R. and Gochenaur, R.** (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*, 100(4), 1164-1170.
- [61] **Marko, D., Puppel, N., Tjaden, Z., Jakobs, S., Pahlke, G.** (2004). The substitution pattern of anthocyanidins affects different cellular signaling cascades regulating cell proliferation. *Molecular nutrition & food research*, 48(4), 318-325.

- [62] **Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Brouillard, R.** (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.
- [63] **Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K., & Nair, M. G.** (2005). Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1), 28-31.
- [64] **Canter, P.H. and Ernst, E.J.** (2004). Anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* (bilberry) for night vision—a systematic review of placebo-controlled trials. *Survey of ophthalmology*, 49(1), 38-50.
- [65] **Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., Joseph, J. A.** (2007). Nutritional intervention in brain aging. In *Inflammation in the pathogenesis of chronic diseases* (pp. 299-318). Springer, Dordrecht.
- [66] **Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H. L., Oksman-Caldentey, K. M.** (2005). Bioactive berry compounds—novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(1), 8-18.
- [67] **de Pascual-Teresa, S., Sanchez-Ballesta, M. T.** (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry reviews*, 7(2), 281-299.
- [68] **Giusti, M. M., Wrolstad, R. E.** (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV- visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, (1), F1-2.
- [69] **Clifford, M. N.** (2000). Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1063-1072.
- [70] **Byamukama, R., Kiremire, B. T., Andersen, O. M., Steigen, A.** (2005). Anthocyanins from fruits of *Rubus pinnatus* and *Rubus rigidus*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(6), 599-605.
- [71] **Phippen, W. B. and Simon, J. E.** (1998). Anthocyanins in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1734-1738.
- [72] **Yoshida, K., Mori, M., Kondo, T.** (2009). Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Natural product reports*, 26(7), 884-915.

- [73] **Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A.** (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.
- [74] **Naczk, M. and Shahidi, F.** (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- [75] **Wesche-Ebeling, P.** (2002). Stabilization mechanisms for anthocyanin: the case for copolymerization reactions. In *Engineering and Food for the 21st Century* (pp. 160-169). CRC Press.
- [76] **Andersen, O. M., and Markham, K. R.** (2005). *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC press.
- [77] **Fernandes, I., Faria, A., Calhau, C., de Freitas, V., Mateus, N.** (2014). Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of functional foods*, 7, 54-66.
- [78] **Francis, F. J. and Markakis, P. C.** (1989). Food colorants: anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28(4), 273-314.
- [79] **da Costa, C. T., Horton, D., Margolis, S. A.** (2000). Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography–mass spectrometry and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 881(1-2), 403-410.
- [80] **Prior, R. L. and Wu, X.** (2006). Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free radical research*, 40(10), 1014-1028.
- [81] **Naudi, A., Bidlack, W., Crecelius, A.** (2000). Flavonoids.
- [82] **Çahımlı, A.** (2003). Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Ankara*.
- [83] **West, M. E. and Mauer, L. J.** (2013). Color and chemical stability of a variety of anthocyanins and ascorbic acid in solution and powder forms. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(17), 4169-4179.

- [84] **Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Hashizume, K.** (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of experimental botany*, 58(8), 1935-1945.
- [85] **Asafi, N. and Cemeroglu, B.** (2000). Vişne ve nar suyu ve konsantratlarında antosiyaninlerin degradasyonu. *The journal of food*, 25(6).
- [86] **Markakis, P. and Jurd, L.** (1974). Anthocyanins and their stability in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 4(4), 437-456.
- [87] **Cavalcanti, R. N., Santos, D. T., Meireles, M. A. A.** (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food research international*, 44(2), 499-509.
- [88] **de Rosso, V. V. and Mercadante, A. Z.** (2007). Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3), 347-352.
- [89] **Rubinskiene, M., Viskelis, P., Jasutiene, I., Viskeliene, R., Bobinas, C.** (2005). Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food research international*, 38(8-9), 867-871.
- [90] **Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E.** (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical engineering journal*, 14(3), 217-225.
- [91] **Clydesdale, F. M., Main, J. H., Francis, F. J.** (1979). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins as colorants for beverages and gelatin desserts. *Journal of Food Protection*, 42(3), 204-207.
- [92] **Seeram, N. P., Bourquin, L. D., Nair, M. G.** (2001). Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4924-4929.
- [93] **Gradinaru, G., Biliaderis, C. G., Kallithraka, S., Kefalas, P., Garcia-Viguera, C.** (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, 83(3), 423-436.



- [94] **Bordignon-Luiz, M. T., Gauche, C., Gris, E. F., Falcao, L. D.** (2007). Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. *LWT-Food Science and Technology*, 40(4), 594-599.
- [95] **Mazza, G.** (2018). Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. CRC press.
- [96] **Eiro, M. J., and Heinonen, M.** (2002). Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(25), 7461-7466.
- [97] **Rommel, A., Heatherbell, D. A., Wrolstad, R. E.** (1990). Red raspberry juice and wine: effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 55(4), 1011-1017.
- [98] **Newsome, R.** (1986). Food colors, 40(7), 49-56.
- [99] **Downham, A., and Collins, P.** (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, 35(1), 5-22.
- [100] **McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., ... Sonuga-Barke, E.** (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The lancet*, 370(9598), 1560-1567.
- [101] **Chaitanya Lakshmi, G.** (2014). Food coloring: the natural way. *Res J Chem Sci*, 2231(8), 606.
- [102] **Stillman, J. A.** (1993). Color influences flavor identification in fruit- flavored beverages. *Journal of Food Science*, 58(4), 810-812.
- [103] **Longo, L. and Vasapollo, G.** (2006). Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*, 94(2), 226-231.
- [104] **Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. and Özkan, M.** (2004). Meyve ve sebzelerin bileşimi, 1-188.

- [105] **Cheng, G. W. and Breen, P. J.** (1991). Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(5), 865-869.
- [106] **Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. A. and Bertelli, D.** (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*, 69(3), 164-169.
- [107] **Lee, S. K., Zhang, W. and Sanderson, B. J.** (2008). Selective growth inhibition of human leukemia and human lymphoblastoid cells by resveratrol via cell cycle arrest and apoptosis induction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(16), 7572-7577.
- [108] **Leiro, J., Arranz, J. A., Parama, A., Alvarez, M. F., Sanmartin, M. L.** (2004). In vitro effects of the polyphenols resveratrol, mangiferin and (-)-epigallocatechin-3-gallate on the scuticociliate fish pathogen *Philasterides dicentrarchi*. *Diseases of aquatic organisms*, 59(2), 171-174.
- [109] **Luzia, M. R., Da Paixão, K. C., Marcílio, R., Trugo, L. C., Quinteiro, L. M., De Maria, C. A.** (1997). Effect of 5-caffeoylquinic acid on soybean oil oxidative stability. *International journal of food science & technology*, 32(1), 15-19.
- [110] **Langseth, L.** (1995). *Oxidants, antioxidants, and disease prevention* (pp. 1-26). Brussels: ILSI Europe.
- [111] **Hayashi, T., Sawa, K., Kawasaki, M., Arisawa, M., Shimizu, M., Morita, N.** (1988). Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *Journal of natural products*, 51(2), 345-348.
- [112] **Metodiewa, D., Kochman, A., and Karolczak, S.** (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N, N-Diethylaminoethyl ethers of flavone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life*, 41(5), 1067-1075.
- [113] **Walker, E. H., Pacold, M. E., Perisic, O., Stephens, L., Hawkins, P. T., Wymann, M. P., Williams, R. L.** (2000). Structural determinants of

phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Molecular cell*, 6(4), 909-919.

- [114] **Serafini, M., Maiani, G., Ferro-Luzzi, A.** (1998). Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *The Journal of Nutrition*, 128(6), 1003-1007.
- [115] **Cao, G., Booth, S. L., Sadowski, J. A., Prior, R. L.** (1998). Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *The American journal of clinical nutrition*, 68(5), 1081-1087.
- [116] **Hertog, M. G., Feskens, E. J., Kromhout, D., Hollman, P. C. H., Katan, M. B.** (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The lancet*, 342(8878), 1007-1011.
- [117] **Foti, M., Piattelli, M., Baratta, M. T., Ruberto, G.** (1996). Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure-activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 497-501.
- [118] **Cemeroğlu, A. P., and Cemeroğlu, B. S.** (1998). Sağlık açısından gıda fenolikleri. *Gıda Teknolojisi*, 3(9), 52-55.
- [119] **Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J., Törrönen, R.** (1999). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32(5), 345-353.
- [120] **Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., Törrönen, A. R.** (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2274-2279.
- [121] **Lila, M. A.** (2004). Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. *BioMed Research International*, 2004(5), 306-313.
- [122] **Hrazdina, G., Borzell, A. J., Robinson, W. B.** (1970). Studies on the Stability of the Anthocyanidin-3, 5-Digucosides. *American Journal of Enology and Viticulture*, 21(4), 201-204.

- [123] **Hua, Z., Yuesheng, D., Ge, X., Menglu, L., Liya, D., LiJia, A., Zhilong, X.** (2013). Extraction and purification of anthocyanins from the fruit residues of *Vaccinium uliginosum* Linn. *J Chromat Separation Techniq*, 4(2), 1-5.
- [124] **Jaakola, L., Määttä, K., Pirttilä, A. M., Törrönen, R., Kärenlampi, S., Hohtola, A.** (2002). Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiology*, 130(2), 729-739.
- [125] **Ayaz, F. A., Kadioglu, A., Bertoft, E., Acar, C., Turna, I.** (2001). Effect of fruit maturation on sugar and organic acid composition in two blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* and *V. myrtillus*) native to Turkey.
- [126] **Primetta, A. K., Jaakola, L., Ayaz, F. A., Inceer, H., Riihinen, K. R.** (2013). Anthocyanin fingerprinting for authenticity studies of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Food Control*, 30(2), 662-667.
- [127] **Burdulis, D., Sarkinas, A., Jasutiene, I., Stackevicene, E., Nikolajevs, L., Janulis, V.** (2009). Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta poloniae pharmaceutica*, 66(4), 399-408.
- [128] **Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P. H., González-Paramás, A. M., Törrönen, A. R.** (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4477-4486.
- [129] **Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., ... Mainland, C. M.** (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(7), 2686-2693.
- [130] **Çağlar, M.Y. and Demirci, L.** (2018). Üzümsü Meyvelerde Bulunan Fenolik Bileşikler ve Beslenme Önemleri. *European Journal of Science and Technology*, 7 (11), 18-26.

- [131] **Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. R.** (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.
- [132] **Büyükuslu, N. and Yiğitbaşı, T.** (2015). Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres.
- [133] **Thomas, R. H., Bernardis, M. A., Drake, E. E., Guglielmo, C. G.** (2010). Changes in the antioxidant activities of seven herb-and spice-based marinating sauces after cooking. *Journal of food composition and analysis*, 23(3), 244-252.
- [134] **Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M.** (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- [135] **Katsube, N., Iwashita, K., Tsushida, T., Yamaki, K., Kobori, M.** (2003). Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(1), 68-75.
- [136] **Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D., Stohs, S. J.** (2004). Inhibition of *Helicobacter pylori* in vitro by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Molecular and cellular biochemistry*, 265(1-2), 19-26.
- [137] **Güner, D.G.** (2010). *CCL<sub>4</sub> ile sıçanlarda oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesinde yabanmersininin koruyucu etkileri*. Ege Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
- [138] **Doğanay, S.** (2014). *Akut yorucu egzersiz yaptırılan ratlarda kan ve karaciğer oksidan/antioksidan sistemler üzerine bilberry'nin (yaban mersini) etkileri*. T.C. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- [139] **Bingül, İ.** (2011). *DeneySEL karaciğer kanserinde bazı antioksidan bileşiklerin etkisinin incelenmesi*. T.C. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [140] **Saeed, K.M.** (2016). *DeneySEL diyabet oluşturulan sıçanlarda *Vaccinium myrtillus L.* uygulamasının paraoksonaz, pankreas enzim aktiviteleri ve*

*lipoprotein düzeylerine etkisi*. T.C. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.

- [141] **Mutlu, D.H.** (2011). *Temiz aralıklı kateterizasyon yapılan nörojen mesaneli çocuklarda kırmızı yaban mersini kullanımının idrar yolu enfeksiyonu ve piyüri üzerine etkisi*. T.C. Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli.
- [142] **Faria, A., Oliveira, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos-Buelga, C., de Freitas, V., Mateus, N.** (2005). Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6896-6902.
- [143] **Bujor, O. C., Le Bourvellec, C., Volf, I., Popa, V. I., Dufour, C.** (2016). Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. *Food chemistry*, 213, 58-68.
- [144] **Ph. Eur. 8.0**, 1588 (01/2008).
- [145] **Braga, P. C., Antonacci, R., Wang, Y. Y., Lattuada, N., Dal Sasso, M., Marabini, L., ... Lo Scalzo, R.** (2013). Comparative antioxidant activity of cultivated and wild *Vaccinium* species investigated by EPR, human neutrophil burst and COMET assay.
- [146] **Szajdek, A. and Borowska, E. J.** (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4), 147-156.
- [147] **Saral, Ö., Ölmez, Z., Şahin, H.** (2014). Comparison of antioxidant properties of wild blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L. and *Vaccinium myrtillus* L.) with cultivated blueberry varieties (*Vaccinium corymbosum* L.) in Artvin region of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(1), 40-44.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Kevser SALİHLER

**Doğum Tarihi ve Yeri** : 26.12.1991 FATİH

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

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2015, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Kimya Bölümü