

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TRABZON YÖRESİNE AİT YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)'NİN
HPLC İLE FENOLİK YAPISININ AYDINLATILMASI VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe YILDIZ

**HAZİRAN 2011
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TRABZON YÖRESİNE AİT YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)'NİN
HPLC İLE FENOLİK YAPISININ AYDINLATILMASI VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gıda Mühendisi Ayşe YILDIZ

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11.05.2011
Tezin Savunma Tarihi : 06.06.2011**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Trabzon 2011

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

BİYOLOJİ Anabilim Dalında

Ayşe YILDIZ tarafından hazırlanan

**TRABZON YÖRESİNE AİT YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)'NİN
HPLC İLE FENOLİK YAPISININ AYDINLATILMASI VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 17 / 05 / 2011 gün ve 1405
sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 06 / 06 / 2011 tarihinde yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Üye : Doç. Dr. Sevgi KOLAYLI

Üye : Doç. Dr. Turan ÖZDEMİR

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Trabzon yöresine ait yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.)’nin HPLC ile fenolik yapısının aydınlatılması ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi” adlı bu çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Atalay SÖKMEN’e teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisansa başladığım ilk günden itibaren çalışmalarımda bana yol gösteren, maddi manevi desteğini benden esirgemeyen saygıdeğer hocam sayın Doç. Dr. Sevgi KOLAYLI’ya teşekkürü bir borç bilirim.

Gerek HPLC tekniklerinin öğretilmesinde ve gerekse de HPLC ve diğer analizlerimin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım; Arş. Gör. Hüseyin ŞAHİN, Arş. Gör. Nesibe ARSLAN BURNAZ, Öğr. Gör. Özlem TARHAN’a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda bana esnek çalışma saatlerini sağlayan, maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen ÇELİK KARDEŞLER ET TESİSİ işverenleri ve sayın muhasebe müdürümüz İlkay NUR KESKİN’e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca maddi ve manevi destekleri ile hep yanımda olan sevgili aileme ve nişanlıma teşekkür ederim.

Ayşe YILDIZ
Trabzon 2011

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ Trabzon Yöresine Ait Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus* L.)’nin HPLC ile Fenolik Yapısının Aydınlatılması ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof.Dr. Atalay SÖKMEN’in sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 14/06/2011

Ayşe YILDIZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş ve Amaç.....	1
1.2. V. myrtillus Hakkında Bilgi.....	1
1.3. V. myrtillus'nın Bitkisel Özellikleri ve Yetiştirme Şartları.....	2
1.4. V. myrtillus'nın Hasadı ve Depolanması.....	3
1.5. Dünya ve Türkiye'de V. myrtillus Üretiminin Durumu.....	4
1.6. V. myrtillus'un Besin Değeri ve Sağlık Açısından Önemi.....	4
1.7. V. myrtillus'un Gıda Sanayinde Kullanım Alanları.....	6
1.8. Literatür Özeti.....	6
1.9. Serbest Radikaller.....	7
1.10. Antioksidan Maddeler.....	8
1.11. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	10
1.12. HPLC Cihazı.....	11
1.12.1. Hareketli Faz.....	12
1.12.2. Durgun Faz.....	12
1.13. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	13
1.14. Çalışmada Kullanılan Antioksidan Yöntemler ve Prensipleri.....	13
1.14.1. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	13
1.14.2. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini.....	13
1.14.3. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini.....	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	15

2.2.	Kullanılan Alet ve Cihazlar	16
2.3.	Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	16
2.4.	<i>V. myrtillus</i> Meyvesi Numunesinin Alınması ve Saklanması	17
2.5.	Analizler İçin Numune Çözeltilerinin Hazırlanması	17
2.6.	HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi	18
2.6.1.	Fenolik Bileşen Analizi İçin Numune Hazırlama.....	18
2.6.2.	Fenolik Bileşen Analizinde Kullanılan HPLC Cihazı ve Tayini	18
2.7.	Antioksidan ve Antosiyanin Tayinleri	19
2.7.1.	Toplam Polifenol Tayini	19
2.7.2.	FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini	20
2.7.3.	DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi	21
2.7.4.	Toplam Antosiyanin Tayini	22
3.	BULGULAR.....	24
3.1.	HPLC ile Fenolik Bileşen Analiz bulguları	24
3.1.1.	Analiz Edilen Fenolik Bileşenler	24
3.1.1.1.	Protokatekuik Asit	24
3.1.1.2.	Protokatekuik Aldehit	25
3.1.1.3.	Klorojenik Asit	26
3.1.1.4.	Sirinjik Asit.....	27
3.1.1.5.	Sinapik Asit	28
3.1.1.6.	Benzoik Asit	29
3.1.1.7.	Vanilik Asit.....	30
3.1.2.	Belirlenemeyen Bileşenler.....	31
3.2.	Antioksidan Aktivite ve Antosiyanin Bulguları	33
3.2.1.	Toplam Polifenol Miktarları	33
3.2.2.	Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kuvveti (FRAP).....	33
3.2.3.	DPPH Aktivitesi Sonucu	33
3.2.4.	Toplam Antosiyanin Verisi.....	36
4.	TARTIŞMA	37
5.	KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans

ÖZET

TRABZON YÖRESİNE AİT YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)'NİN HPLC İLE FENOLİK YAPISININ AYDINLATILMASI VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe YILDIZ

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Atalay SÖKMEN
2010, 44 Sayfa

Yapılan çalışmada Trabzon'un Sürmene ilçesinden 2010 yılı Ağustos ayında toplanan *Vaccinium myrtillus* L.'nin biyolojik aktif bileşenlerinin yapısının aydınlatılması ve antioksidan özelliklerinin tespit edilmesi amaçlandı. 15 adet fenolik bileşeni ters faz – yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile analiz edildi ve 7 adet fenolik bileşik varlığı tespit edildi. Bu bileşenlerin miktarları sırasıyla; Sirinjik asit 7,53 mg/100 g kuru ağırlık (KA), klorojenik asit 4,73 mg/100 g KA, benzoik asit 3, 2 mg/100 g KA, protokatekuik aldehit asit 1,64 mg/100 g KA, sinapik asit 1,7 mg/100 g KA, protokatekuik asit 0, 89 mg/g KA ve vanillik asit 6.7×10^{-4} mg/100 g KA olarak tespit edildi. Ayrıca dört farklı polaritede hazırlanan yaban mersini ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde, toplam antosyanin, demir (III) indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali temizleme aktivitesi testleri kullanılarak tayin edildi. Toplam fenolik madde miktarları gallik asit standardına göre tayin edildi. FRAP değerleri Trolox eşdeğeri antioksidan güç (TEAP), ve DPPH radikali temizleme tayini sonuçları IC₅₀ olarak ifade edildi. Çalışılan tüm ekstraktların antioksidan aktiviteye sahip oldukları, en yüksek antioksidan aktivitenin sırasıyla metanolik > etanolik>sulu>etilasetat olduğu ve ona bağlı olarak fenolik madde miktarının değişim gösterdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *V. myrtillus*, Antioksidan, Fenolik Madde, Antosyanin, HPLC

Master Thesis

SUMMARY

CLARIFYING THE PHENOLIC STRUCTURE OF BLUEBERRY (*Vaccinium myrtillus* L.) IN TRABZON REGION USING HPLC AND DETERMINING THE ANTIOXIDANT PROPERTIES

Ayşe YILDIZ

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Atalay SÖKMEN
2011, 44 Pages

In this study, it is aimed to assess antioxidant properties of blueberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and to clarify the structure of biological active components of blueberries being collected Sürmene - Trabzon, in August of 2010. Fifteen phenolic compounds were analyzed by using reverse phase- high pressure liquid chromatography (RP-HPLC). Consequently 7 components were found. These components and quantities were; syringic acid 7,53 mg/ 100 g Dry Weight (DW) , chlorogenic acid 4,73 mg/ 100 g DW, benzoic acid 3,2mg/ 100g DW, protocatechuic aldehyde acid 1,64 mg/100g DW, cinapic acid 1,7 mg/100g DW, protocatechuic acid 0,89 mg/100g DW and vanillic acid 6.7×10^{-4} mg/100 g DW. Besides, antioxidant activities of blueberry extracts being prepared in four different, solvents each of which has own specific polarity were determined by using the tests together with total phenolic, total anthocyanin, ferro (III) reduction antioxidant power (FRAP) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical cleaning activity . Total phenol content was determined according to standard of gallic acid. FRAP values trolox equivalent antioxidant power (TEAP), and DPPH radical cleaning determination results were expressed as IC_{50} , all the extracts possessed antioxidant activity. However in an order of methanolic > ethanolic > water > ethyl acetate. A positive correlation was established between the amount of phenolics and the solvent type studied.

Key Words: *V.myrtillus*, antioxidants, phenolic, anthocyanin, HPLC

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>V. myrtillus</i> örneği	2
Şekil 2. Bazı önemli fenolik asit bileşikleri	9
Şekil 3. Flavonollerin genel yapıları	9
Şekil 4. HPLC cihazının bölümleri	11
Şekil 5. Fe (III)-tripiridiltriazin kompleksinin yapısı	14
Şekil 6. DPPH radikali	14
Şekil 7. Toplam polifenol tayini için kullanılan kalibrasyon grafiği	20
Şekil 8. FRAP tayini için kullanılan kalibrasyon grafiği	21
Şekil 9. Antosiyaninlerin pH 1 ve 4.5’de (UV-Vis) spektrumları	22
Şekil 10. Protokatekuik asit standardı (260 nm).	24
Şekil 11. Analiz sonucu belirlenen protokatekuik asit.....	24
Şekil 12. Protokatekuik aldehit standardı	25
Şekil 13. Analiz sonucu belirlenen protokatekuik aldehit	25
Şekil 14. Klorojenik asit standardı	26
Şekil 15. Analiz sonucu belirlenen chlorojenik asit.....	26
Şekil 16. Sirinjik asit standardı	27
Şekil 17. Analiz sonucu belirlenen sirinjik asit	27
Şekil 18. Sinapik asit standardı	28
Şekil 19. Analiz sonucu belirlenen sinapik asit	28
Şekil 20. Benzoik asit standardı	29
Şekil 21. Analiz sonucu belirlenen benzoik asit	29
Şekil 22. Vanilik asit standardı	30
Şekil 23. Analiz sonucu belirlenen vanilik asit.....	30
Şekil 24. Troloks standart grafiği.....	34
Şekil 25. <i>V. myrtillus</i> metanol ekstrakt grafiği	34
Şekil 26. <i>V. myrtillus</i> etanol ekstrakt grafiği.....	34
Şekil 27. <i>V. myrtillus</i> etil asetat ekstrakt grafiği	35
Şekil 28. <i>V. myrtillus</i> sulu ekstrakt grafiği.....	35

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firmalar	15
Tablo 2. Çalışmada kullanılan alet ekipmanlar ve satın alındıkları firmalar	16
Tablo 3. Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....	17
Tablo 4. Fenolik bileşik standartlarının çalışıldığı max dalga boyları.....	19
Tablo 5. Toplam fenolik madde tayini için deney şartları	20
Tablo 6. FRAP yöntemi için deney şartları	21
Tablo 7. DPPH yöntemi için deney şartları	22
Tablo 8. Belirlenen bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları, alan ve konsantrasyonları	31
Tablo 9. Belirlenemeyen piklerin dalga boyları ve alanları	32
Tablo 10. Özütlere ve polifenol içerikleri.....	33
Tablo 11. V. myrtilus özütlüğünün FRAP cinsinden antioksidan sonuçları	33
Tablo 12. Özütlere ve IC50 değerleri	35
Tablo 13. Özütlüğünün antosiyanin verileri	36

KISALTMALAR DİZİNİ

DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power (Demir İndirgeme antioksidan Güç)
GA	: Gallic Acid (Gallik Asit)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IC ₅₀	: İnhibisyon Konsantrasyon
KA	: Kuru Ağırlık
UV-VİS	: Ultraviole Visible
RP – HPLC	: Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
S.S	: Standart Sapma
TEAP	: Trolox Equivalent Antioxidant Power (Troloks Eşdeğeri Antioksidant Güç)
TFM	: Toplam Fenolik Madde
TPTZ	: Three Pridil Three Azin

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Amaç

Günümüz şartlarında beslenme kültürü doğal ve organik gıdalara doğru yönelmektedir. Hibrit tohumlu, katkılı ve GDO 'lu gıdalar her ne kadar talep görmese ve istenmese de pazarlarda ve market raflarında varlığını sürdürmektedir. Yapılan birçok araştırmada hastalıkların beslenme kültürleriyle direkt bağlantılı olduğu sonuçlarına varılmıştır. Ülkelerin hastalık çeşitleri toplumun beslenme alışkanlıklarıyla bağlantılı bir seyir izlemektedir. Ülkemizdeki hastalıkların başlıca sebepleri arasında oksidatif stres ve serbest radikaller yer almaktadır. Teknoloji, serbest radikalleri yok etmede kullanılan doğal ve sentetik bileşikler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Serbest radikalleri temizlemede kullanılan başlıca bileşikler arasında; koyu renkli meyveler yer almaktadır. *V. myrtillus*, son zamanlarda popüleritesini attıran, ülkemiz şartlarında özellikle Doğu Karadeniz'de yetiştirilen antioksidan kapasitesi yüksek olan üzüksü bir meyvedir. *V. myrtillus*; ürün çeşitliliğini katkı sağlamak amacıyla iyi bir gelir kaynağı, tarıma dayalı sanayi için iyi bir hammadde, insan sağlığı içinde son derece yararlı bir meyvedir.

Çalışmanın amacı, Türkiye'de özellikle Karadeniz Bölgesinde yabani olarak yetişen ve son yıllarda alternatif tarım ürünleri arasında yetiştiriciliğine oldukça önem verilen ve teşvik edilen tıbbi bitkilerden sayılan *V. myrtillus* meyvesinin fenolik asit bileşenlerinin HPLC ile aydınlatılması ve antioksidan kapasitesinin standart antioksidanlar ile karşılaştırılması ve tıbbi özelliğinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktır.

1.2. *V. myrtillus* Hakkında Bilgi

V. myrtillus, Karadeniz Bölgesi'nin doğu kesimi başta olmak üzere yöresel olarak çok farklı isimlerle anılan üzüksü bir meyvedir. Son yıllarda Karadeniz Bölgesi'ndeki doğal asitli topraklar da mükemmel performans gösteren ve kaliteli ürün veren *V. myrtillus* çeşitleri kullanılarak üretim alanları hızla artmaktadır. *V. myrtillus* asitli ve organik maddece zengin topraklara sahip ılıman iklim kuşağında yetişebilen üzüksü meyvedir. Türkiye'de 40-42 °C Kuzey enlemleri arasında kalan büyük kısmını Karadeniz Bölgesi'nin

kapladığı alandaki nispeten yüksek rakımlı, asitli ve organik maddece zengin topraklarda kolayca yetişebilmektedir. Mavi renkli olması ve İngilizce’de “blueberry” olarak isimlendirilmesinden dolayı maviyemiş adıyla dilimize geçmiş olan bu meyve, literatürde yabanmersini olarak bilinmektedir. Ancak yabanmersini, yabancı meyve, mersin meyvesi gibi çağrışımlar yapmakta, Karadeniz Bölgesinde yabancı populasyonları olan bu üzümü meyvenin tanınmasına yeterli gelmemektedir. Bu yüzden *V. myrtillus* Rize’de likapa, yer likapası, dal likapası, çela, ançela, kaskanaka, Artvin’de mahabak, merhauk, motsvi, morsvi; Trabzon’da lifos, ligarba, lifor; Giresun ve Ordu çevresinde çalı çileği veya dağ çileği; Ardahan’da göğen, hatta ayı üzümü ve çoban üzümü olarak tanınan bu meyveye “maviyemiş” adı verilmiştir (Eck, vd. 1990; Çelik, 2003; 2004, 2005, 2006 ve 2007).



Şekil 1. *V. myrtillus* (*Vaccinium myrtillus* L.)

1.3. *V. myrtillus*’un Bitkisel Özellikleri ve Yetiştirme Şartları

V. myrtillus tam güneş alan, nemli ve asitli topraklı yerlerde mükemmel bir gelişme gösterir. Kısmen gölge yerlerde de yetişebilir. Gölge miktarının artması ile çiçek sayısı azalır ve meyve miktarı düşer. *V. myrtillus*’un yetiştiriciliği yapılacak yer en azından yarım gün güneş almalıdır. *V. myrtillus* için en uygun yerler, çam-kızılağaç-beyaz sedir karışımının olduğu, doğal olarak *V. myrtillus* yetişen defne veya turnayemişi bulunan alanlardır. *V. myrtillus* asitli, drenajı iyi ve organik maddesi yüksek olan toprakları sever. Kök yapısında fazla miktarda kılcal kök olduğundan köklerin bulunduğu ortamın havalanması son derece önemlidir. *V. myrtillus* bahçeleri için genelde meyilli alanlar tercih edilmelidir. Taban araziler hem daha soğuk hem de drenaj problemi olduğundan *V. myrtillus* yetiştiriciliği için uygun değildir. *V. myrtillus* yetiştirilecek olan toprağın pH’sı 4,2-5.0 veya 4.5-5.2 arasında

olmalıdır. *V. myrtillus* kökleri 5.5 pH seviyesine kadar toleranslıdır ancak pH değerinin 5.5'in üzerine çıktığı topraklarda *V. myrtillus* yetiştirilemez. *V. myrtillus* fidanları erken ilkbaharda dikilir. Fidanlar hastaliksız ve özellikle de virüsten arınmış olmalıdır. *V. myrtillus* dikilecek bahçede parselasyon yapılarak her parsele bir çeşit dikilmeli ve çeşitler arasında tozlaşma ve dölleme uyumu aranmalıdır (Gough, 1994 ve 1996; Pritts ve Hancock, 1992; Himelrick, 1999 ve 2002; Çelik, 2005).

V. myrtillus'da hasat için gerekli olan uygun bir büyüme ortamının sağlanması, meyve iriliği ve kalitesinin korunması, hastalık ve zararlılara karşı yapılacak olan uygulamaların kolay olması ve bitkinin güçlü ve verimli bir şekilde gelişmesini sürdürebilmesi için budama yapılmalıdır. *V. myrtillus* yetiştiriciliğinde başarılı olmak için ayrıca gübreleme, yabancı ot kontrolü, hastalık ve zararlılara karşı ilaçlama gibi teknik ve kültürel uygulamalara da yeterince önem verilmelidir (Strick ve ark, 1993; Gough, 1994 ve 1996; Hilmerick, 1999; Çelik, 2005b).

1.4. *V. myrtillus*'un Hasadı ve Depolanması

V. myrtillus lar diğer birçok üzümü meyveye göre daha sert olup tekniğine uygun ve dikkatli bir şekilde hasat edildikleri takdirde raf ömürleri 2-4 hafta arasında değişebilmektedir. *V. myrtillus* hasadı 5-10 günde bir kez olmak üzere 1-1,5 ay sürmektedir. Taze tüketime sunulacak *V. myrtillus* meyveleri el ile toplanırken sanayide işlenecek olanlar makine ile hasat edilir. Meyveler farklı zamanlarda olgunlaştıkları için olgunlaşma periyodu boyunca haftada en az bir kez toplanmalıdır. Taze olarak tüketilecek *V. myrtillus* meyveleri, mavi renkli, dolgun, sert, hasarsız ve temiz olmalıdır. *V. myrtillus* lar yağmurlu havalarda hasat edilmez ve hasat sonrası mutlaka ön soğutma yapılarak meyvelerin bahçe sıcaklığının düşürülmesi gerekir. Taze meyveler -0.6 ile 1.0 °C ve % 90-95 nispi nemde depolanabilir. Meyvelerin nakliyesi soğutuculu kamyonlarla olmalıdır. *V. myrtillus* meyveleri ayrıca -18°C veya -23°C'de bireysel olarak dondurularak aynı sıcaklıklarda depolanabilirler (Scott ve ark., 1978; Shomaker, 1978; Pritts ve Hancock, 1992; Clayton-Grene, 1993; Strick, 2005; Çelik, 2005b).

1.5. Dünya ve Türkiye’de *V. myrtilus* Üretim Durumu

V. myrtilus, sağlık açısından oldukça yararlı bir meyve olduğu kadar birim alandan diğer tüm meyve türlerine göre çok daha yüksek gelir getiren bir üzüksü meyvedir. Diğer meyve türleri gibi çok yıllık bir bitki olan *V. myrtilus* yetiştiriciliği uzun dönem yatırım gerektiren ve sorumluluk isteyen bir tarım koludur. Dünya üzerinde sınırlı miktarda üretimi yapılmaktadır. İstatistiki verilere göre 2005 yılında 241000 ton olan dünya *V. myrtilus* üretiminde 123000 ton ile Amerika ilk sırada yer almaktadır. Kanada 81900 ton üretim ile ikinci, Polonya ise 15000 tonluk üretim ile üçüncü sırada gelmektedir. Henüz dünya istatistiklerine giremeyen Türkiye’nin *V. myrtilus* ekili alanları ancak 50 hektarı aşarken üretim henüz 25-30 ton arasındadır. Türkiye’de nemli ve yağmurlu iklimi ile asitli ve organik maddece zengin meyilli toprakları ile Karadeniz Bölgesi *V. myrtilus* yetiştiriciliği için idealdir. Yabancı *V. myrtilus* türlerinin Ardahan, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu, Samsun, Sinop, Kastamonu, Zonguldak, İstanbul ve Bursa ili Uludağ ve İznik’te lokal olarak yetişmekte ve yöre halkı tarafından meyveleri taze veya reçel yapılarak tüketilmektedir. Ancak yabancı *V. myrtilus*’ların en yoğun yayılım gösterdiği iller daha çok Doğu Karadeniz’de yer almaktadır (Gough, 1994 ve 1996; Pritts ve Hancock, 1992; Himelrick, 1999 ve 2002; Çelik, 2005).

1.6. *V. myrtilus*’un Besin Değeri ve Sağlık Açısından Önemi

V. myrtilus’un insan sağlığı ve beslenmesi üzerine yararları ile ilgili dünya çapında bilimsel dergilerde yüzlerce araştırma makalesi yayınlanmıştır (Cabrita et al., 2000; Pottera et al., 2006). Yapılan araştırmalarda bir bardak *V. myrtilus* meyvesinin 145 gram geldiği ve 21 gram karbonhidrat, 1 gram protein, 0,5 gram yağ, 19 miligram C-vitamini, 145 IU A-vitamini ve 85 kalori içerdiği belirtilmektedir. Ayrıca, 100 gram yenilebilir *V. myrtilus*’un % 83’ünün su, % 0,7’sinin protein, % 0,5’inin yağ, % 15’inin karbonhidrat, % 1.5’unun lif olduğu ve 62 kalori sağladığı saptanmıştır (Anonim, A; Anonim, B).

V. myrtilus, antioksidan madde içeriği en yüksek bahçe bitkilerinden biridir. *V. myrtilus* sağlık ve gıdasal olarak çok farklı amaçlar için kullanılabilir. İdrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik gibi işlev görmektedir. Kansere karşı vücudu koruyan enzimleri çalıştırdığı, damarlarda yağ birikimini engelleme özelliğinde olduğu, yağlı bileşiklerin vücuttan atılmasını sağladığı belirtilmektedir. Taze olarak yenildiğinde kanı

temizlediği ve buna rağmen kalori ve sodyum içeriğinin oldukça düşük olduğu belirtilmektedir. Kan şekerini ve kolesterolü düşürdüğu, bağırsak metabolizmasını düzenlediği, damar sertliği oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. Kansere karşı savaşan elajik asit miktarı en fazla olan meyvelerden biridir (elik, 2005).

V. myrtillus özellikle doğal olarak yetişenler kanser riskini azaltan antioksidanlar içermektedir. Özellikle 2000’li yıllarda yapılan araştırmalar antioksidan içeriği yüksek olan meyvelerin insan beslenmesi üzerine kullanımları konusunda yoğunlaşmıştır. Bu bağlamda, *V.myrtillus* antioksidan içeriği en yüksek olan meyvelerden biridir. Özellikle beyin fonksiyonlarını üzerine önemli derecede olumsuz etkiye sahip olan Alzheimer Hastalığının oluşumunun önlenmesi üzerine önemli derecede etkili olduğu belirtilmektedir (elik, 2006).

V. myrtillus taze olarak tüketilebildiği gibi tek başına veya diğer meyve suları ile karıştırılarak meyve suyuna da işlenmektedir. Yaprak ve kuru meyvelerinden yapılan çay ishal giderici ve kadınlara özel günlerin etkisini azaltıcı etkiye sahiptir. Antioksidan ve anti-aging özelliği olan *V. myrtillus* ’lar kansere karşı koruma sağlayan enzimleri harekete geçirirken hızlı tümör gelişimlerini de azaltmaktadır. Kılcal damarların tıkanmasına neden olan düşük yoğunluktaki yağlı bileşiklerin vücuttan atılması üzerine de etkisi olduğu araştırmalarla saptanmıştır. Yapraklarında bulunan birçok madde kadın hastalıklarında kullanılan ilaçların içerisinde bulunmaktadır. Taze olarak tüketildiğinde kanı temizler. İnsanda iç verimliliğini arttırır. Kalori değerı ve sodyum içeriği son derece düşüktür. Bağırsak metabolizmasını düzenleyen lifli ve fazla miktarda pektin içerdiği için kan kolesterolünü düşürür. İdrar sistemindeki enfeksiyonların giderilmesinde, kan şekerinin düzenlenmesinde, kalp krizi riskinin azaltılmasında, HIV virüsünün tekrarlanmasının azaltılmasında ve ishalin giderilmesinde etkin rolü vardır. Vücutta biyoaktif olarak kullanılan polifenollerden antosiyaninler, flavanoller ve tanenlerce zengindir. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre *V. myrtillus* ’un hafıza kayıplarını önlediği ve yaşlanmayı engellediği yani antiageing özellik gösterdiği saptanmıştır. *V. myrtillus* suyu hastalıkların vücuttan atılmasına yardımcı olur. Meyvelerinde ölçülebilir düzeyde elajik asit içerir bu asit kansere karşı savaşma yeteneği olan bir asittir. *V. myrtillus* meyvesinden en yüksek derecede yararlanmak için meyveyi kısa sürede ve taze olarak tüketmek gerekmektedir (Scherer ve Krewer, 2003; Strik ve Banados, 2004; Trehane, 2004; Strik 2005; elik, 2005; Childers ve Lyrene, 2006).

1.7. *V. myrtillus*'un Gıda Sanayinde Kullanım Alanları

Üzümsü meyveler gıda sanayinde özellikle en çok sofralık olarak, taze meyve şeklinde kullanılmaktadır. *V. myrtillus* de bunlarda birisi olmakla birlikte ancak üretimi ülkemizde pek yaygın olmadığından bilinmemektedir. Gıda teknolojisindeki kullanımı gelişmiş ülkelerde daha çok meyve suyu, meyve şurubu, reçel ve marmelat olarak ve ayrıca süt ürünleri endüstrilerinde, dondurma ve dondurulmuş yoğurt üretiminde, şekerleme mamuller ve pasta üretiminde, unlu mamuller ve bisküvi sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *V. myrtillus* ise daha çok gıda sektöründe taze, püre edilmiş, şurup veya meyve suyu olarak düzenli bir şekilde talep edilmektedir. Önde gelen şekerleme, pasta üreticileri günümüzde çok miktarlarda üzümsü meyve tüketmektedirler. Son yıllarda değişik, doğal bitki çaylarının tüketiciler tarafından aranır hale gelmesi, üzümsü meyvelerin bu amaçla da kullanımını ön plana çıkarmıştır (Anonim, 1988).

V. myrtillus çok farklı amaçlar için kullanılabilir. Meyvesi taze olarak yerel pazarlara sunulmakta ve bu koşullarda 12-15 gün dayanabilmektedir. Meyveleri, kökleri, çiçekleri ve yaprakları ilaç sanayisinde kullanılmaktadır. Süt ve süt ürünleri teknolojisinde (dondurma, *V. myrtillus*'lı süt-yoğurt), kuru meyve teknolojisinde, meyveli ekmek, çörek, kek, puding ve pastalarda, baharat sanayisinde, meyve salatalarında, reçel, marmelat ve konserve sanayisinde de kullanılan *V. myrtillus*'ler gerek meyvesi gerekse yaprakları kurutularak *V. myrtillus* çayı şeklinde de değerlendirilmesi mümkündür. Diyet mönülerinde de yer alan *V. myrtillus*, şarap olarak da değerlendirilmektedir. Ayrıca, bitkisi çok sağlam olduğu için kulp (sap) yapımında kullanılmaktadır (Turner ve Muir, 1985; Kalt ve Dufour, 1997; Çelik, 2005b; Hafner ve Remberg, 2006).

1.8. Literatür Özeti

V. myrtillus özellikle Avrupa ve Asya da yaygın olarak yetişen, daha çok bol güneş ve nemli, asitli topraklarda yetişen yabancı bir çalılık türüdür. Yaz aylarında olgunlaşan meyveleri koyu kırmızıdan maviye değişim göstermektedir ve yüksek miktarda pigment ve antosiyanin içerdiği bildirilmektedir. Dünyanın değişik bölgelerinde yetişen *V. myrtillus* ile yapılan çalışmaların çoğunluğu antosiyanin içeriklerinin aydınlatılmasına yönelik olup (Faria, et al. 2005; Lätti et al. 2011), Doğu Karadeniz Bölgesinde yetişen *V. myrtillus*'ların fenolik yapıları ve antioskidan özellikleri üzerine yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. *V.*

myrtillus'un koyu kırmızı ve mavi rengi içerdiği çeşitli pigmentlerden ileri gelmektedir. Antosyanin türü pigmentlerin miktarı ile meyvenin rengi arasında pozitif ilişki bulunmaktadır. Çalışmada *V.myrtillus*' un içerdiği monomerik antosyanin miktarı Guisti ve Wrolstad, (2001) tarafından ileri sürülen ve pH farklılıklarına dayanılarak ölçülen metoda göre belirlendi. Toplam monomerik antosyanin miktarları üç farklı polariteye (sulu, metanolik ve etanolik) ekstraktlarda en yüksek ekstraktın yine metanolik olduğu bulundu. Sulu özüt ile metanolik özüt arasında 100 kat fark varken, monomerik antosyanin miktarının her üç ekstrakta 35- 305 cyanidin 3-glucoside mg/100 g KA olduğu tespit edildi. Çalışmamıza benzer şekilde %50 lik metanolik ekstrakta Colombia mersininde toplam monomerik antosyanin miktarının 329 mg cyanidin 3-glucoside mg/100 g KA olarak bulunduğu rapor edilmektedir (Garzón et al. 2010).

Toplam monomerik antosyanin içeriği bir başka Colombia *V. myrtillus* türü (*Vaccinium meridionale* Swartz) 329 ± 28 mg cyanidin 3-glucoside/100 g FW olarak bulundu (Garzón et al. 2010).Yapılan bir başka çalışmada antosyanin miktarının 300 mg/100 olduğu (Prior et al. 1998), Kuzey Amerika bölgesinde bir başka *V. myrtillus*'nin (*V. floribundum*) ise 345mg/100g olduğu bildirilmektedir (Vascopo et al. 2009). *V. myrtillus*, ahududu, böğürtlen, vişne, kiraz, üzüm, patlıcan gibi koyu kırmızı ve mor renkli meyve ve sebzelerin antosyanince zengin canlılıklar olduğu ve bunların kalp damar rahatsızlıklarına ve kansere karşı koruyucu role sahip oldukları bildirilmektedir (Casto ve ark., 2002).

1.9. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküller olarak tanımlanırlar. Bugün radikallerin pek çok hücrede moleküler değişimlere ve gen mutasyonlarına yol açtığı iyi bilinmekte olup yaşlanma, hücresel hasar ve doku yıkımında rol oynadığı kabul edilmektedir. Oksidatif hasarı azaltıcı veya geçiktirici olarak bilinen antioksidanlar; endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki kısımda incelenmektedirler. Sentezlendiği organizmada etki gösteren antioksidanlara endojen antioksidanlar adı verilir ve bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarakda iki kısımda incelenirler. Enzimatik antioksidanlar, hücrenin çeşitli organellerinde etki gösteren süperoksitdismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz gibi enzimlerden oluşurlar. Çeşitli metal iyonlarını bağlama, serbest radikalleri yakalama ve hapsedme ve süpürme gibi etkilere sahip glutatyon,

bilirubin, ferritin, seruloplazmin, ürik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanlar da mevcuttur. Eksojen antioksidan ise daha çok bitkiler tarafından sentezlenen çeşitli vitamin ve fenolik maddeler olup dışarıdan organizmaya alınıp etkinlik göstermektedirler (Kolaylı, 2003).

Antioksidan savunma mekanizmaları oldukça çeşitli olup bunlardan bazılarını şöyle özetlemek mümkündür:

1. Radikal metabolit üretiminin önlenmesi,
2. Üretilmiş radikallerin temizlenmesi (detoksifikasyon)
3. Hücre deformasyonunun onarılması
4. Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması
5. Endojen antioksidan kapasitesinin artırılması.

Vücudtaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanım ile oksidan-antioksidan denge olarak tanımlayabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin özellikle oksidanlar lehine bozulması membran lipitleri, proteinler ve DNA gibi hücrenin önemli yaşamsal yapılarında bütünlüğün bozulmasına ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yol açar (Sarıkaya, 2008).

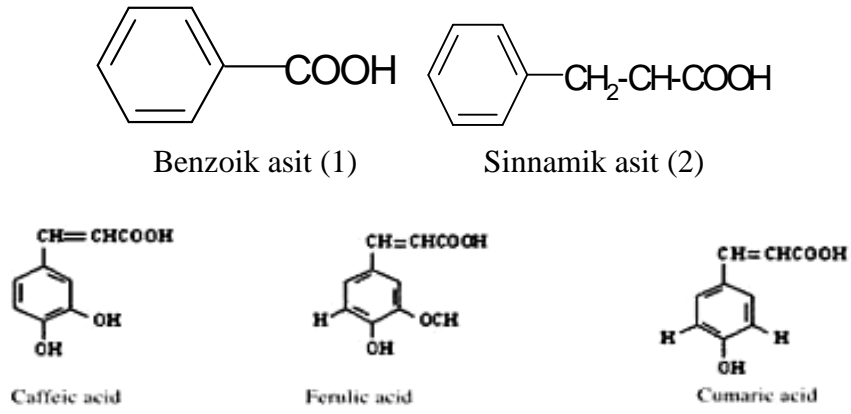
Oksidatif hasar ve serbest radikal mekanizmalı reaksiyonlar yaşlanma, kanser, ateroskleroz ve diyabete neden olmaktadır (Halliwell, 1992). Antioksidanlar, metabolizma esnasında oluşan oksidatif etkiye sahip serbest radikallerin her türlü olumsuz etkilerinden organizmayı koruyan maddelerdir. Doğal kaynaklı antioksidanların çoğu bitkisel kaynaklı olup daha çok bitkilerde vitaminler (A, C, E vit.) ve polifenoller veya flavonoidler halinde bulunurlar (Rice-Evans, 1997).

1.10. Antioksidan maddeler

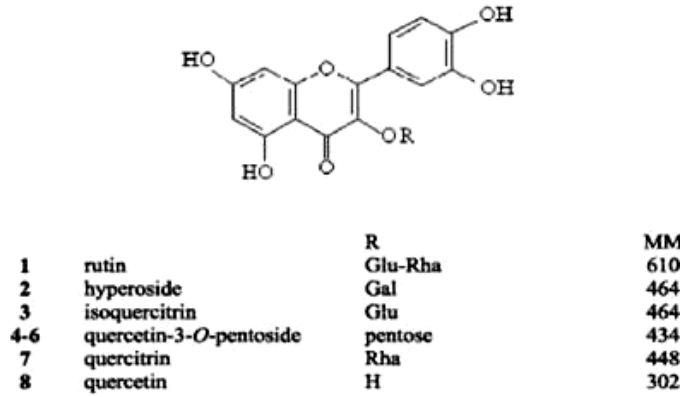
Fenolik bileşikler, bir grup bileşik sınıfı olup çeşitli meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tohumlar, çiçekler, kök ve gövde kısımları doğal olarak sentezlenen maddelerdir (Wollgast ve Anklam, 2000). Fenoller, oksijenli aromatik bileşiklerden olup, bir veya daha fazla hidroksil (OH) grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahip organik ve kristal yapıda ki maddelerdir. Suda orta derecede, hidrofilik organik çözücülerde (alkol, eter vb.) iyi çözünür. Polifenoller, flavonoidlerin çıkış maddesidir. Bitkilerde bulunan başlıca polifenolik bileşikler basit fenoller, flavonoidlerden türemiş olup benzokinonlar,

fenolik asitler, asetofenonlar, fenilasetil asitler, hidrosinamik asitler, fenilpropenler, kumarinler, naftakinonlar, kromonenler, ksantonlar stilbenler, antrakionlar, flavonoidler ve ligninlerdir. Fenolik bileşikler veya polifenoller bitkilerde en fazla bulunan yapılardan biri olup bitki âleminde 5000'den daha fazla fenolik yapının bulunduğu belirtilmektedir (Ulusoy, 2006; Bravo, 1998, <http://en.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>).

Fenolik bileşikler basit fenolik asitler den ve flavonollerden oluşmaktadır. Fenolik asitler başlıca iki fenolik bileşik olan benzoik asit (1) ve sinamik asit (2) ten türeyen bileşikler olarak karşımıza çıkarlar. Bitkilerde organik asit esterleri, veya glikozitleri halinde bulunan başlıca fenolik asitler; gallik asit, p-hidroksisinamik asit, trans-sinamik asit 3,4-dehidroksibenzoik asit, vanillik asit, syringic acid, p-kumarik asit, o- kumarik asit, kaffeik asit, ferulik asit, klorogenik asit, rosmarinik asit, absisik asit.



Şekil 2. Bazı önemli fenolik asit bileşikleri



Şekil 3. Flavonollerin genel yapıları

İster fenolik asitlerde ve istersede flavonoller veya flavonoidlerde olsun substituentlerin pozisyon ve hidroksilasyon dereceleri antioksidatif aktiviteyi belirlemede oldukça önem taşımaktadırlar (Awad ve Jager, 2003).

Yapılan epidemiyolojik ve bilimsel çalışmalarda, insan beslenmesinde meyve ve sebze tüketimi ile kanser arasında negatif bir ilişki olduğu çalışmalarla ortaya konmuştur. Özellikle Mediterranean (akdeniz tipi) beslenme olarak da adlandırılan bol meyve ve sebze tüketimine paralel olarak kanser den kalp hastalıklarına kadar pek çok hastalığın yaygınlığının azaldığı dikkati çekmektedir (Covas, 2007). Bunun önemli nedenlerinden biri meyve ve sebzelerin kalori değerlerinin karbonhidrat ve yağlara göre düşük olması ve içerdiği pek çok fitokimyasal bileşenin biyolojik olarak aktif moleküller olmasıdır. Meyve ve sebzelerde bulunan ve sekonder metabolit ürünleri olarak da adlandırılan bu biyo-aktif fitokimyasallardan en önemlileri fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, karotenoidler gibi pek çok doğal bileşiklerdir. Bitkiler sınırsız sayıda aromatik ve alifatik bileşik sentezleme yeteneğine sahip canlılardır. Tıbbi bitkiler de temel olarak bulunan; fenolik asitler, flavonoidler, taninler, kumarinler, ligninler, kinonlar, stilbenler, kurkuminoidler ve antosiyaninler bitkilerin her tülür zararlı etki ve oksidatif strese karşı korunmasından sorumludurlar. Bu bileşikler bitkiler tarafından sekonder metabolitler olarak üretilip bitkilerin çeşitli çevre şartlarına uymalarında ve korunmalarından sorumlu bileşiklerdir. Daha çok fenolik yapıya sahip bu bileşiklerin çoğunluğunun potansiyel olarak antioksidan, antikarsinogenik, antimutagenic, anti bakterial, antiviral ve antiinflatuar özelliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Alasalvar ve ark., 2003; Chung ve ark., 1998; Cassidy ve ark., 2000; Tapiero ve ark., 2002; Cai ve ark., 2006). Flavonoidler ve fenolik asitler major fenolik bileşikler olup onların sulu ve lipolitik ortamlardaki yapıları ile antioksidan ilişkileri üzerine oldukça çok çalışma yapılmış ve genel olarak antioksidan aktivite hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuyla substituent ve flavonoid moleküllerin glikolizasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Yapıdaki bazı hidroksil gruplarının varlığı antioksidan aktiviteyi artırmaktadır (Rice- Evans ve ark., 1996; Cao ve ark., 1997).

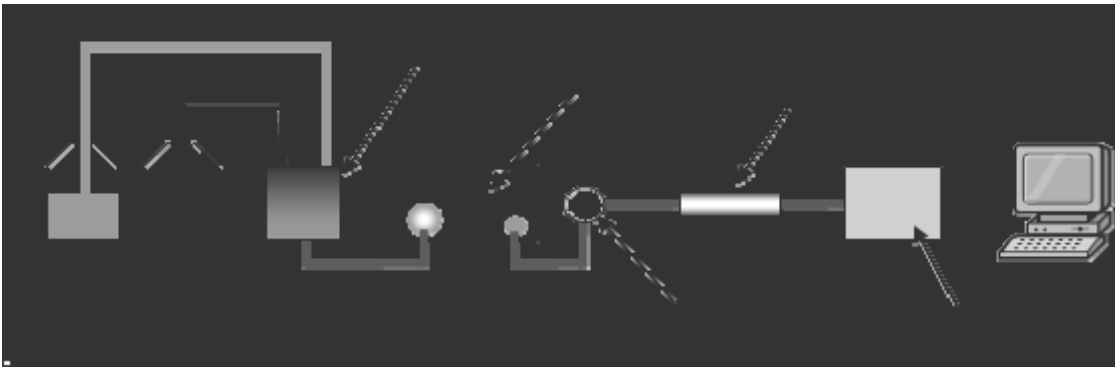
1.11. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kromatografi biri sabit diğeri hareketli olmak üzere iki farklı faz arasında karışımdaki maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak ayrılması tekniğidir.

En basit kromatografi kağıt ve ince tabaka kromatografisi olup günümüzde geliştirilmiş ve hızlı olarak da kabul edilen kromatografi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) sıvı fazda çözünebilir bir kimyasal maddenin kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrılabilirdiği oldukça duyarlı bir yöntemdir. Uygun çözücü kullanılarak çözülen örnek karışımı (analitler), yüksek basınç altında kromatografik kolondan geçirilir ve burada bileşenlerine ayrılır. Bileşenlerin birbirinden ayrılması ve bunun derecesi (resolution parameter), analitler ile sabit faz arasındaki etkileşime bağlıdır ve önemlidir. Sabit faz, kolon içerisindeki hareketsiz dolgu materyali olarak tanımlanır. Analitler ile sabit ve hareketli fazlar arasında istenilen etkileşim hareketli faz olarak kullanılan çözücülerin ve sabit fazın değiştirilmesi ile elde edilebilir (Tomruk, 2005, Sarıkaya, 2008).

1.12. HPLC Cihazı

HPLC cihazı Şekil 4’de de görüldüğü gibi pompa, enjektör, kolon, detektör ve bilgisayar birimlerinden oluşmaktadır. Kromatografik analiz süreci, çözücüde çözülmüş örneğin sisteme enjekte edilmesi ile başlar. Bu sistemin kalbi, ayırmanın gerçekleştiği kolondur. Hareketli faz ile birlikte kolona pompalanan örnek, kolon içinde bileşenlerine ayrılmaya başlar. Her bileşenin gönderdiği sinyaller detektör tarafından kaydedilir. Detektör tarafından kaydedilen ve bilgisayara aktarılan sinyallerin tamamı kromatogram olarak adlandırılır.



Şekil 4. HPLC cihazının bölümleri

1.12.1. Hareketli Faz

Çözünen olarak adlandırılan maddeleri kolonda sürekleleyen çözücü veya çözücü sistemidir. HPLC uygulamalarında hareketli faz (eluent) türü ve bileşimi kromatografik performansı etkileyen faktörlerden biridir. HPLC sistemlerinde birçok hareketli faz kullanılmasına rağmen, bunların bazı ortak özellikleri şunlardır:

- Yüksek derecede saflık
- Detektör ile uyumluluk
- Düşük viskozite
- Örneği çözebilme
- Kimyasal acıdan inert olması
- Uygun fiyat

Her bir HPLC türünde kullanılan hareketli fazlar birbirinden farklıdır. Normal-faz sıvı kromatografisinde apolar, ters-faz sıvı kromatografisinde su ve asetonitril karışımı gibi polar çözücüler hareketli faz olarak kullanılır. Büyüklükçe ayırma kromatografisinde (Size-exclusion Chromatography, SEC) ise kullanılan çözücü polimer örneğini çözebilmeli, ama dolgu materyali ile kimyasal etkileşime girmemelidir. Doğru mol kütlesi tayininde bu durum çok önemlidir (Tomruk, 2005, Sarıkaya, 2008).

1.12.2. Durgun Faz

HPLC uygulamalarındaki ayırma, yüzey etkileşimlerinden yararlanılarak yapılır ve adsorban çeşidine ve özelliklerine bağlıdır. Modern HPLC adsorbentleri geniş yüzey alanına sahip, küçük, rijit yapıdaki partiküllerdir. Temel adsorban özellikleri şunlardır 3–10 µm tanecik boyutu,

- Olabildiğince eş boyutlu, ortalamanın \pm % 10'una denk gelecek tanecik boyutu dağılımı
- 70–300 Å⁰ gözenek boyutu
- 50–250 m²/g yüzey alanı

Yüzeye tutturulan ligant türüne bağlı olarak, adsorban normal faz (-OH, -NH₂) veya ters faz (C₈, C₁₈, fenil) hatta anyon (NH₄⁺ ya da kation (-COO⁻) değiştirici yapıda olabilir (Tomruk, 2005).

1.13. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Oksidasyonu yavaşlatan veya durduran her türlü bileşik antioksidan olarak adlandırılır. Biyolojik sıvıların ve çeşitli ekstraların toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesine yönelik son 15 yılda pek çok metot geliştirilmiştir. Bu metodların dayandığı prensip genel olarak elektron ve hidrojen atom transferine dayanır. Bitkisel veya doğal ekstraların toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde ORAC, TEAC, β -karoten, DPPH, Folin metodu, NO radikali temizleme aktivite gibi yöntemler single oksijen transferine, FRAP, CUPRAC, LDL- oksidasyonunun inhibisyonunu, gibi yöntemler ise hidrojen atomu transferine dayanan metodlardır. Kullanılan metodlarda ise çeşitli radikal ve metal iyonları pro-oksidan olarak kullanılmaktadır (Böhm, 2010).

Doğal ekstraların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde en az üç farklı numune konsantrasyonunda çalışmalar yapılır ve bulunan sonuçlar standart bir antioksidan (Trolox, BHT, kateşin, gallik asit gibi) eşdeğeri cinsinden hesaplanır.

1.14. Çalışmada Kullanılan Antioksidan Yöntemler ve Prensipleri

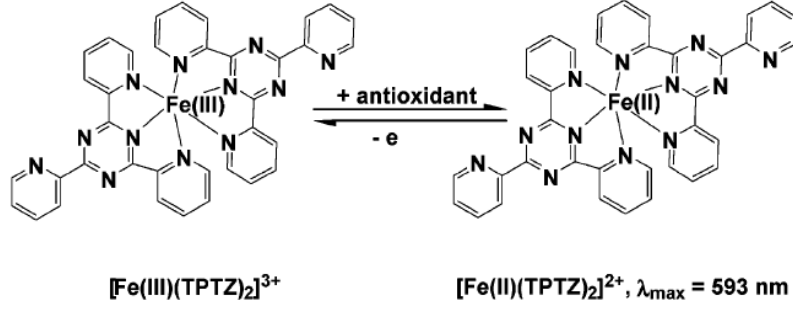
1.14.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Slinkard ve Singleton (1977) tarafından ileri sürülen metoda göre numunedeki toplam çözülebilir fenolik maddeler Folin-Ciocalteu (reaktifi ile renkli bir kompleks oluşturur ve kompleks 760 nm de maksimum absorbans verir. Gallik asit veya kateşin fenolik standardı kullanarak hazırlanan çalışma grafiğe göre tayin yapılır.

1.14.2. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini

Metot sulu çözeltide bulunan (Fe^{3+}) 'ün (Fe^{2+})'ye indirgenmesine dayanır. Çözeltiye antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu, Fe^{3+} -tripiridiltriazin kompleksinin (Şekil 5), renkli yapıdaki (Fe^{2+}) yapısına indirgenmesine dayanmaktadır. FRAP yöntemi nispeten basit bir yöntem olup, kolaylıkla standardize edilebilmektedir. FRAP yönteminin dezavantajı, özellikle bitkilerde bulunan ve önemli antioksidan aktivite gösteren glutatyonlar gibi bazı antioksidanlarla çok yavaş tepkimeye girmesidir. Ancak glutatyonlar,

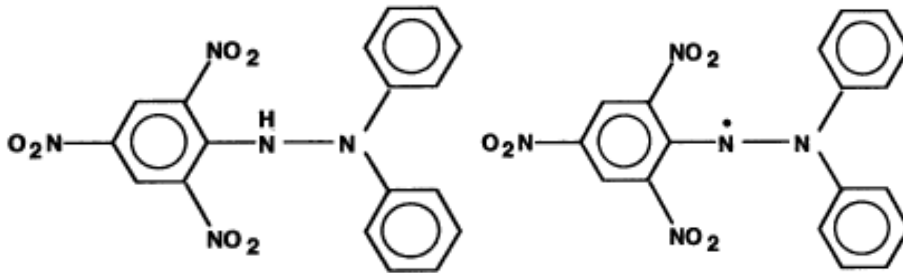
metot için uygun dalga boyu aralığında (593 nm) çok iyi absorbe edilemedikleri için bu dezavantaj ortadan kalkmakta ve meyve ve sebzelerde antioksidan aktivite tayininde FRAP metodu geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Guo vd. 2003).



Şekil 5. Fe (III)-tripiridiltriazin kompleksinin yapısı

1.14.3. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH• (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) sentetik olarak üretilen bir radikal olup 517nm de maksimum absorbans oluşturur. Antioksidan madde veya maddelerle muamele edildiğinde DPPH• 'tan kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorbansın düşüşüne sebep olmaktadır. Dolayısıyla DPPH derişimini yarıya düşüren numune içeriği µg/mL cinsinden IC₅₀ olarak tayin edilir. IC₅₀ değeri ne kadar düşükse antioksidan kapasite o kadar yüksektir.



Şekil 6. DPPH radikali

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firma ve özellikleri Tablo 1’de verilmektedir. Çalışmamda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup değişik firmalardan temin edilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındıkları firmalar

Madde Adı	Satın Alındığı Firma
Asetonitril	Sigma Aldrich, Germany
Metanol	Sigma Aldrich, Germany
Etanol	Sigma Aldrich, Germany
Asetik Asit	Sigma Aldrich, Germany
NaOH	Sigma Aldrich, Germany
HCl	Sigma Aldrich, Germany
Gallik asit	Sigma Aldrich, Germany
Protokatekuik asit	Sigma Aldrich, Germany
Kateşin	Sigma Aldrich, Germany
<i>p</i> -OH benzoik asit	Sigma Aldrich, Germany
Klorojenik asit	Sigma Aldrich, Germany
Vanilik asit	Sigma Aldrich, Germany
Kafeik asit	Sigma Aldrich, Germany
Siringik asit	Sigma Aldrich, Germany
Epikateşin	Sigma Aldrich, Germany
<i>p</i> -kumarik asit	Sigma Aldrich, Germany
Benzoik asit	Sigma Aldrich, Germany
<i>o</i> -kumarik asit	Sigma Aldrich, Germany
<i>cis,trans</i> -absisik asit	Sigma Aldrich, Germany
<i>trans</i> -sinnamic asit	Sigma Aldrich, Germany
Rutin	Sigma Aldrich, Germany
Ferulik asit	Sigma Aldrich, Germany
Kuersetin	Sigma Aldrich, Germany
Folin Reaktifi	Sigma Aldrich, Germany
Na ₂ CO ₃	Merck, Germany
TPTZ	Merck, Germany
FeCl ₃ .6H ₂ O	Merck, Germany
FeSO ₄ .7H ₂ O	Merck, Germany
CuCl ₂	Merck, Germany
Neocuproine	Merck, Germany
CH ₃ COONH ₄	Merck, Germany
DPPH	Merck, Germany

2.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal aletler, cihazlar ve satın alındıkları firma ve özellikleri Tablo 2' de verilmektedir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan alet ekipmanlar ve satın alındıkları firmalar

Adı	Satın Alındığı Firma
HPLC	Agilent 1100
DAD	Agilent 1200
Spektrofotometre	Shimadzu, Japan
Ultrasonik banyo	Elma, German
Döner buharlaştırıcı	IKA, China
Su banyosu	IKA, China
Rakamsal termometre	Fluke
Mikrofiltre (0,45µm)	Millex-HA
Etüv	Heraeus
Manyetik karıştırıcı	IKA, China
Yarı otomatik pipet	Scorex

2.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan çözeltiler taze hazırlanmış olup pek çoğu buzdolabında +4 ° C' de muhafaza edilmiştir. Kullanılan çözeltilerin konsantrasyonları, hazırlanış şekilleri, ne amaçla kullanıldıkları ve satın alındıkları firmalar Tablo 3' de verilmektedir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

Çözelti adı	Kullanım Amacı	Hazırlanışı
%80'lik Asetonitril	HPLC	800 mL Asetonitril ölçülü balonda destile su ile 1000 mL'ye tamamlandı.
% 2'lik Asetik asit	HPLC	20 mL Asetik Asit ölçülü balonda destile su ile 1000 mL'ye tamamlandı.
0,5 N Folin Reaktifi	Toplam Fenolik Madde Tayini	2 N stok Folin reaktifi (4:1) saf suyla seyreltilir.
%2 Na ₂ CO ₃	Toplam Fenolik Madde Tayini	2 g Na ₂ CO ₃ 100 mL saf suda çözülür.
Gallik Asit Standartları 1-0,5-0,25-0,125-0,0625 mg/mL	Toplam Fenolik Madde Tayini	3 mg gallik asit 3 mL metanolde çözülerek stok çözelti hazırlandı. Buradan metanolle gerekli seyreltmeler yapılarak 0,5-0,25-0,125-0,0625 mg/mL'lik çözeltiler hazırlandı.
300 mM pH 3.6 asetat tamponu	FRAP Deneyi	2,586 mL derişik (%99.5) asetik asit alınıp, hacim saf suyla 40,000 mL'ye tamamlanıp, 0.1 M NaOH (0,100 g/25 mL) ile pH=3,6'ya ayarlandı, hacim suyla 45 mL'ye tamamlanarak üzerine 105 mL etanol ilave edildi.
40 mM HCl	FRAP Testi	82 µL der. (%37) HCl / 25 mL saf suda
10 mM TPTZ'nin 40 mM HCl deki çözeltisi	FRAP Testi	0.0468 g TPTZ / 5.5 mL 40 mM HCl hazırlandı, sonra üzerine 10.5 mL etanol ilave edildi.
20 mM FeCl ₃ .6H ₂ O çözeltisi	FRAP Testi	0.0811 g FeCl ₃ .6H ₂ O / 5.5 mL saf suda çözülerek, üzerine 10.5 mL etanol ilave edildi.
FRAP çalışma reaktifi	FRAP Testi	300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl ₃ (10: 1: 1) karıştırıldı.
1000 µM FeSO ₄ .7H ₂ O	FRAP Testi	27,8 mg FeSO ₄ .7H ₂ O destile suyla 100 mL'ye tamamlanır. 500, 250 ve 100 µM'lık konsantrasyonlara destile su ile seyreltilerek kullanılır.
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali	DPPH Testi	4 mg ticari DPPH 100 mL metanolde çözülür.
0,02 mg/mL Troloks	DPPH Testi	0,1 mg Troloks 5 mL metanolde çözüldü.

2.4. *V. myrtillus* Meyvesi Numunesinin Alınması ve Saklanması

Çalışmada kullanılan *V. myrtillus* meyvesi örneği Trabzon'un Sürmene ilçesinden temin edilmiştir. *V. myrtillus* 'lar -18 ° C de 1 hafta kadar saklandı.

2.5. Analizler İçin Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

Donmuş *V. myrtillus* lardan 319,22 g tartılarak alındı ve oda sıcaklığında çözünmesi için bekletildi. Daha sonra *V. myrtillus* meyvelerinden 226,98 g tartılarak alınıp 40 °C'deki

etüvde 1 hafta kadar kurutuldu. Kurutulan meyveler ince bıçaklı blendırdan geçirilerek toz haline getirildi. Toz haline getirilen *V. myrtillus* 'un miktarı 34,7049 g'dır. Bu miktar beş eşit parçaya bölünerek sırasıyla metanol, etanol, su ve etil asetatda ekstrakte edilerek kalan çözelti 0-4 °C de muhafaza edildi. Ekstraksiyon işlemi 24 saat boyunca ısıtıcı karıştırıcılarda gerçekleştirildi. Ekstrakte edilen *V. myrtillus* 'ların miktarları sırasıyla; metanolde; 6,0099 g, etanolde; 6,0462 g, etil asetatda; 6,0110 g, suda; 6,0631 g'dır.

2.6. HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi

2.6.1. Fenolik Bileşen Analizi İçin Numune Hazırlama

Konsantrasyonu 20 mg /ml olacak şekilde *V. myrtillus* meyvesinin 10 ml ekstraksiyonu hazırlandı. Metanol kısmı evaporatörde uçuruldu. Kalıntı 10 ml 0,06 M HCl çözüldü. Böylece pH= 1,5'a ayarlandı. pH'ı ayarlanan bu çözeltiye 10 ml etil asetat ilave edilerek seçimli ekstraksiyon uygulandı. Organik faz bir balona toplandı. Bu işlem iki kez gerçekleştirildi. Toplanan organik faz evaporatörde uçuruldu. Kalıntı 10 ml metanolde çözülerek HPLC tayinine geçildi.

2.6.2. Fenolik Bileşen Analizinde Kullanılan HPLC Cihazı ve Tayini

Kromatografik analizler, asetik asit ile modifiye edilen asetonitril ve sulu fazlara uygulanan gradient programı ile C18 (Agilent) kolonu (150x4.6 mm İd, 5µ) kullanılarak 280nm'de HPLC-UV (Agilent 1100 series) ve HPLC-DAD (Agilent 1200 series) ile 7 dalga boyunda – 240, 254, 260, 274, 280, 308, 324 nm- gerçekleştirildi. 15 fenolik bileşik standart - gallik asit, protokatekuik asit, protokatekul aldehit, gentisik asit, p-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, caffeik asit, Sirinjik asit, vanilin, syringaldehit, p-cumarik asit, benzoik asit, ferulik asit, sinapik asit - öncülüğünde metanolik ekstraktlar kalitatif ve kantitatif olarak incelendi.

Çalışmada kullanılan fenolik bileşen standartları, dalga boyları ve alıkonma zamanları Tablo 4'de verilmektedir.

Tablo 4. Fenolik bileşik standartlarının çalışıldığı max dalga boyları

Fenolik Bileşen Standartları	Analiz Yapılan Max. Dalga Boyu (nm)	Alıkonma Zamamı (Rt)
Gallik asit	274	4,399
Protokatekuik asit	260	6,465
Protokatekuik aldehit asit	280	8,31
Gentisik asit	324	8,31
<i>p</i> -hidroksi benzoik asit	260	9,356
Klorojenik asit	324	11,332
Vanilik asit	260	11,792
Kaffeik asit	324	12,772
Sirinjik asit	274	14,217
Vanilin	280	17,524
Şiringaldehit	308	20,381
<i>p</i> -kumarik asit	308	21,068
Benzoik asit	240	22,075
Ferulik asit	324	23,113
Sinapik asit	324	24,017

2.7. Antioksidan ve Antosiyanin Tayinleri

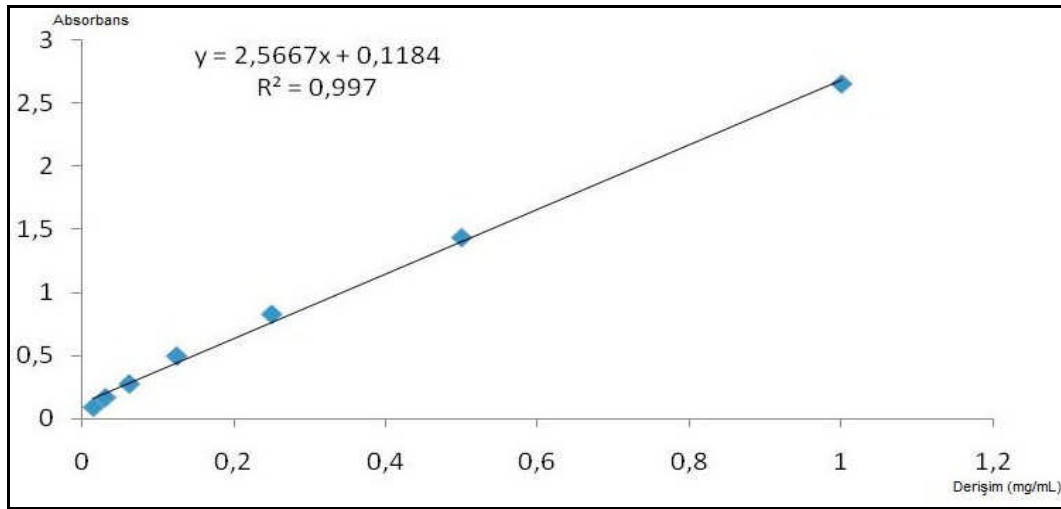
2.7.1. Toplam Polifenol Tayini

4 ayrı çözücüde çözünen *V. myrtillus*'lar, 10 kat seyreltilerek polifenol tayinine hazırlanır. Slinkard ve Singleton (1977) tarafından ileri sürülen metoda göre numunedeki toplam çözülebilir fenolik madde Folin-Ciocalteu reaktifi ile 760 nm de maksimum absorban veren renkli bir kompleks oluşturur. Gallik asit ile standart çalışma grafiği hazırlanarak tayin yapıldı.

Bulunan tüm değerler aritmetik ortalama \pm standart sapma ($X \pm SS$) şeklinde verildi.

Tablo 5. Toplam fenolik madde tayini için deney şartları

	Tanık Deney	Standart	Deney
Destile su	0,1 mL	-	-
Standart (değişik konsantrasyonlarda)	-	0,1 mL	-
Numune	-	-	0,1 mL
Destile su	5 mL	5 mL	5 mL
0,2 N Folin Reaktifi	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Tüpler vorteks ile karıştırılır ve 3 dakika sonra			
%2 Na ₂ CO ₃	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
760 nm'de tanık deneye karşı absorpsiyon okunur			



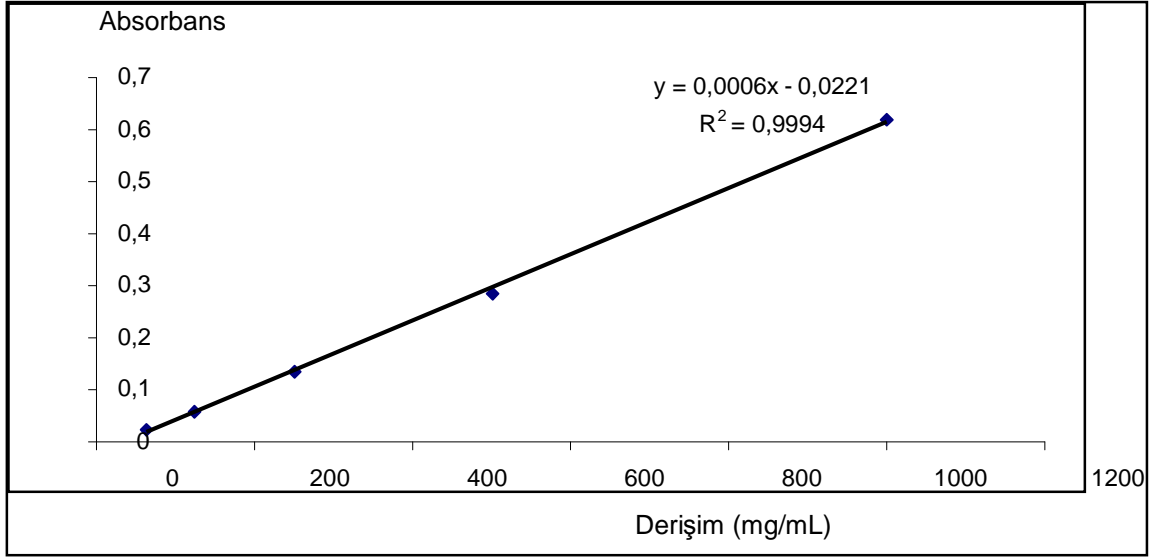
Şekil 7. Toplam polifenol tayini için kullanılan kalibrasyon grafiği

2.7.2. FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

FRAP metodu (Fe(III)-TPTZ-2,4,6-tris (2-pyridily)-S-triazin) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşması ve bu kompleksin 593 nm'de maksimum absorpsiyon vermesi esasına dayanır (Benzie and Strain, 1999). Bu amaçla 3 mL FRAP reaktifi [300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl₃ (10: 1: 1)] ile 100 µL numune karıştırıldı ve 4 dakika sonra 593 nm'de absorpsiyon okundu. Sonuçlar standart antioksidan FeSO₄ ile karşılaştırmalı olarak verildi. Çözücüden ve numunedeki gelen renklilik absorpsiyonunu belirleme ve bunları numune absorpsiyonundan çıkarma amacıyla tanık deneyler yapıldı.

Tablo 6. FRAP yöntemi için deney şartları

	Reaktif Tank Tüpü	Numune Renk Tank Tüpü _(Metanol)	Numune Renk Tank Tüpü _(su)	Standart	Numune
FRAP Reaktifi	3 mL	-	-	3 mL	3 mL
Numune	-	100 µL	100 µL	-	100 µL
FeSO ₄ ·7H ₂ O (Değişen kons)	-	-	-	100 µL	-
Destile Su	-	-	3 mL	-	-
Metanol	100 µl	3 mL	-	-	-



Şekil 8. FRAP tayini için kullanılan kalibrasyon grafiği

2.7.3. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup denemelerimizde satın alınan bu radikalin 100 µM'lık metanolik çözeltisi kullanıldı. Denemelerde Cuendet vd. (1997) metodu kullanıldı. Elde edilen ekstraktlar değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Eşit hacimde (750 µL) DPPH çözeltisi ve numune çözeltileri karıştırılıp oda sıcaklığında 50 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda DPPH'ın maksimum absorbans verdiği 517 nm'de absorbanslar okundu. Kör olarak DPPH çözeltisi ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek IC₅₀ değerleri mg/mL cinsinden hesaplandı.

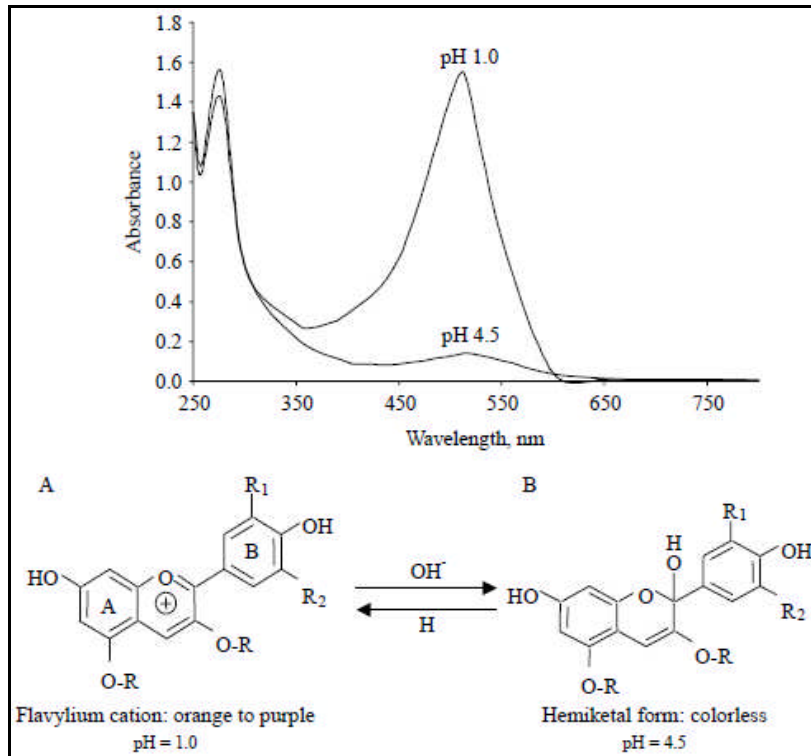
Tablo 7. DPPH yöntemi için deney şartları

	Numune Tanık Tüpü	Reaktif Tanık Tüpü	Numune Tüpü
V. myrtilus (Değişik konsantrasyon)	750 µL	-	750 µL
Metanol	750 µL	-	-
DPPH (150 µM)	-	750 µL	750 µL
Çözücü	-	750 µL	-

50 dk. sonra 517 nm de absorbans okunur.

2.7.4. Toplam Antosiyanin Tayini

Toplam antosiyaninlerin tayini pH-differansiyel metoduyla yapılmıştır (Wrolstad, 1976; Giusti ve Wrolstad, 2001; Fuleki ve Francis, 1968). Metodun ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH 1,0'de renkli oksonium formunun pH 4,5'da ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına bağlıdır (Şekil 9). Buna göre ortam pH'sı 1 ve 4,5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Yöntem son derece basit ve duyarlıdır.



Şekil 9. Antosiyaninlerin pH 1 ve 4.5'de (UV-Vis) spektrumları

Yöntem modifiye edilerek tayin yapılmıştır. 2,5 g. Özütlere alınır ve HCl ile asitlendirilmiş etil alkol ile ekstraksiyon yapılır. 25 ml'ye seyreltilir. Manyetik karıştırıcı ile 30 dakika karıştırılır. Karışım 10 dakika süre ile 3000 rpm'de santrifüj edilir. Berrak kısımdan 5'er ml iki ayrı erlene alınmıştır. I. Tüpe pH 1 deki KCL tampon çözeltisinden, diğerine ise pH 4,5'deki NaCH₃COO tampon çözeltisinden 20'şer ml eklenmiş yaklaşık 30 dakika beklenmiştir. Bu esnada seyreltilmiş berrak numunenin 250-700 nm arasında spektrumu saptanmış ve *V. myrtillus* 288 nm dalga boyu aralığında maksimum absorbans ($\lambda_{vis-max}$) gösterdiği belirlenmiştir. pH 1 ve pH 4,5'da, tampon çözeltilerindeki örnek çözeltilerin bu bekleme sonucunda 288 ve 700 nm dalga boylarında, suya karşı saptanan absorbans değerleri ölçülmüş ve aşağıdaki eşitliklerden faydalanmak suretiyle toplam monomerik antosiyanin içeriği hesaplanmıştır. Hesaplama antosiyanin miktarları ifade edilirken o gıdadaki başlıca antosiyanin hangisi ise onun cinsinden ifade edilmektedir. Literatürde *V. myrtillus* ile yapılmış antosiyanin çalışmalarına rastlanmadığı için ve elde edilen maksimum absorbans değeri Siyanidin-3-glukozitin verdiği maksimum absorbansa denk geldiği için sonuçlar Siyanidin-3-glukozit (Cyn-3-glu) cinsinden hesaplanarak ifade edilmiştir.

$$A: (A_{\lambda 288} - A_{\lambda 700})_{pH 1.0} - (A_{\lambda 288} - A_{\lambda 700})_{pH 4,5}$$

Monomerik Antosiyaninler, mg/L :

Burada;

A: Düzeltilmiş absorbans farkı

MW: Baz alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı (Siyanidin-3-glukozit için: 449,2)
(Giusti ve Wrolstad, 2001)

Sf: Seyreltme Faktörü

ϵ : Molar absorbtivite katsayısı (Siyanidin-3-glukozit için: 26.900) (Giusti ve Wrolstad, 2001)

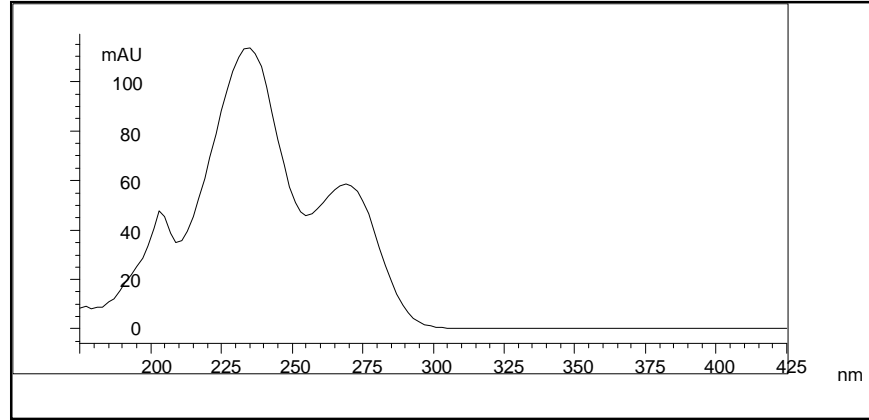
3. BULGULAR

3.1. HPLC ile Fenolik Bileşen Analiz bulguları

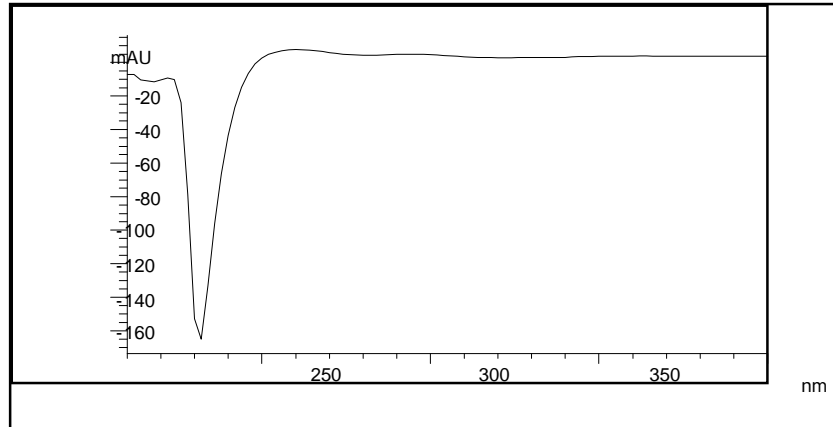
Çalışmada 15 adet fenolik bileşik standart kullanıldı ve *V. myrtillus* ekstraktlarında 7 adet fenolik bileşen kalitatif ve kantitatif olarak analiz edildi.

3.1.1. Analiz Edilen Fenolik Bileşenler

3.1.1.1. Protokatekuik Asit



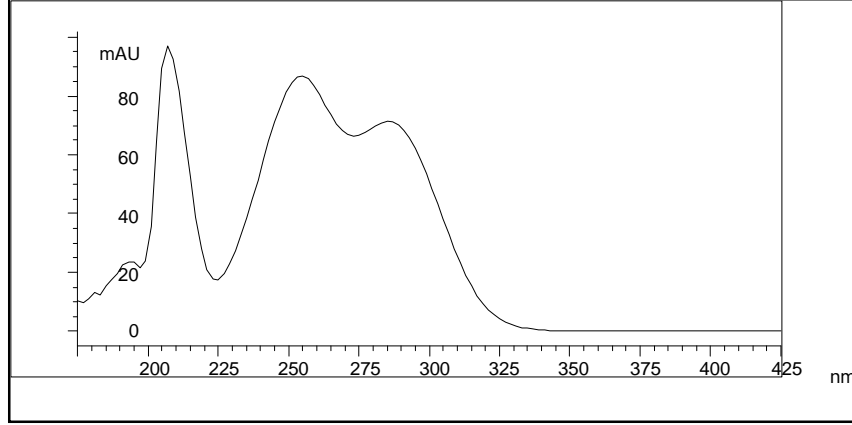
Şekil 10. Protokatekuik asit standardı (260 nm).



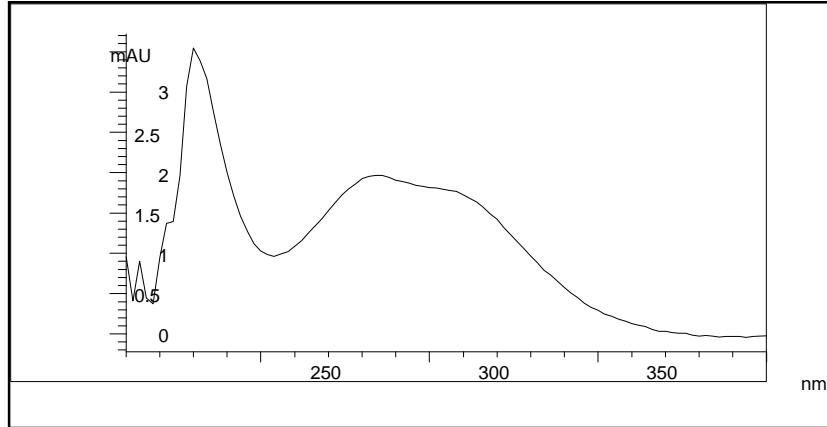
Şekil 11. Analiz sonucu belirlenen protokatekuik asit (260 nm).

Protokatekuik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 8,779 $\mu\text{g} / \text{g}$ dır.

3.1.1.2. Protokatekuik Aldehit Asit



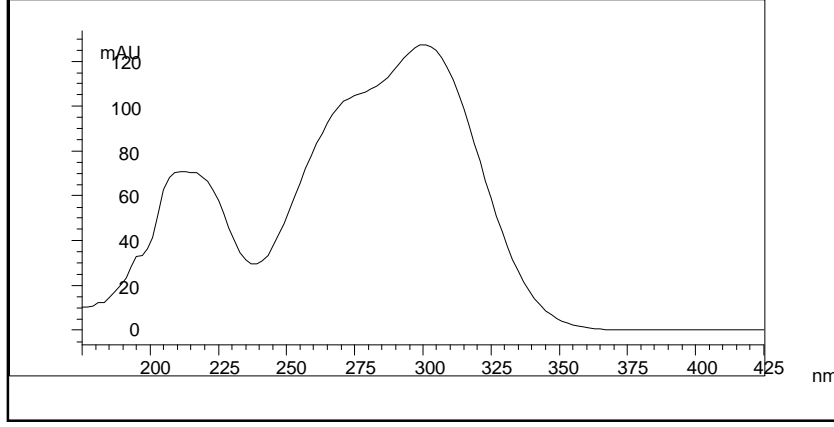
Şekil 12. Protokatekuik aldehit asit standardı (280 nm).



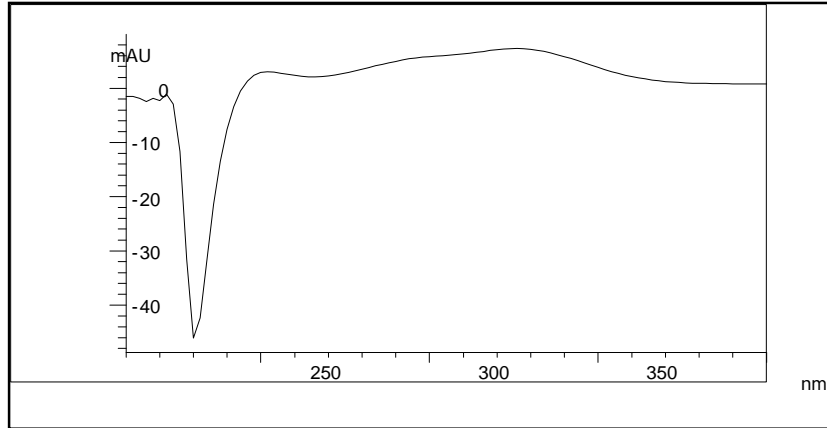
Şekil 13. Analiz sonucu belirlenen protokatekuik aldehit asit (280 nm).

Protokatekuik aldehit asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 16,40 $\mu\text{g} / \text{g}$ dır.

3.1.1.3. Klorojenik Asit



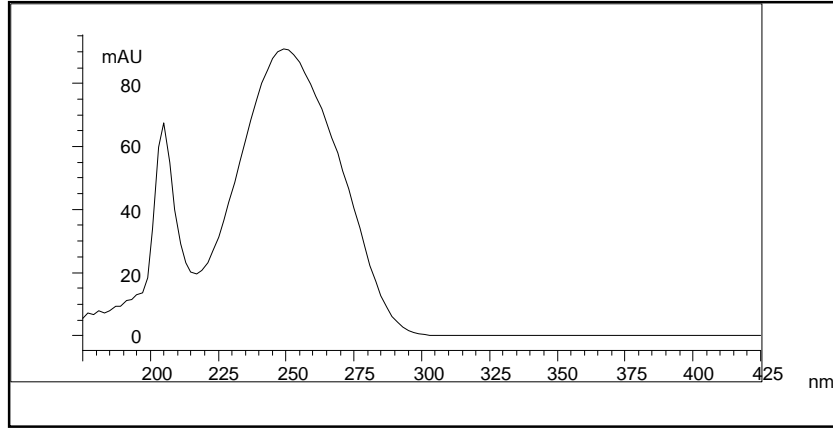
Şekil 14. Klorojenik asit standardı (324 nm).



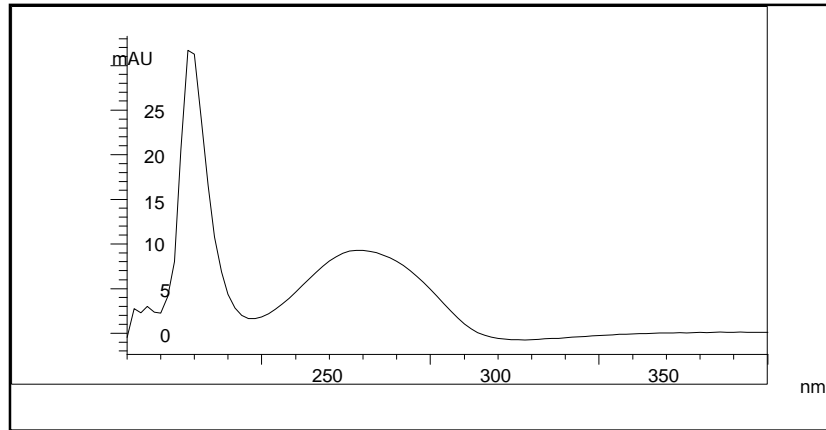
Şekil 15. Analiz sonucu belirlenen klorojenik asit (324 nm).

Klorojenik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre $47,3 \mu / g$ dır.

3.1.1.4. Sirinjik Asit



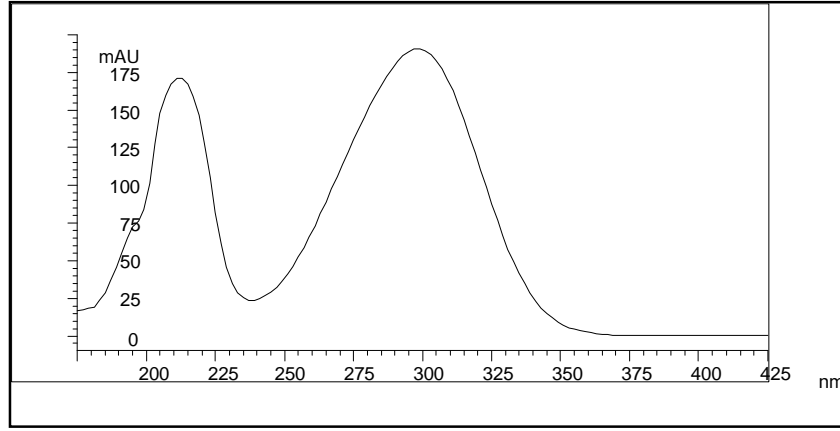
Şekil 16. Sirinjik asit standardı (274 nm).



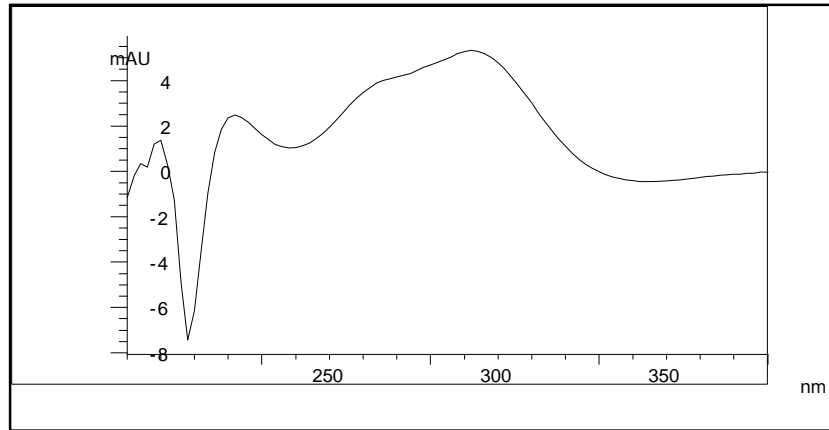
Şekil 17. Analiz sonucu belirlenen Sirinjik asit (274 nm).

Sirinjik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 75,26 $\mu\text{g/g}$ 'dır.

3.1.1.5. Sinapik Asit



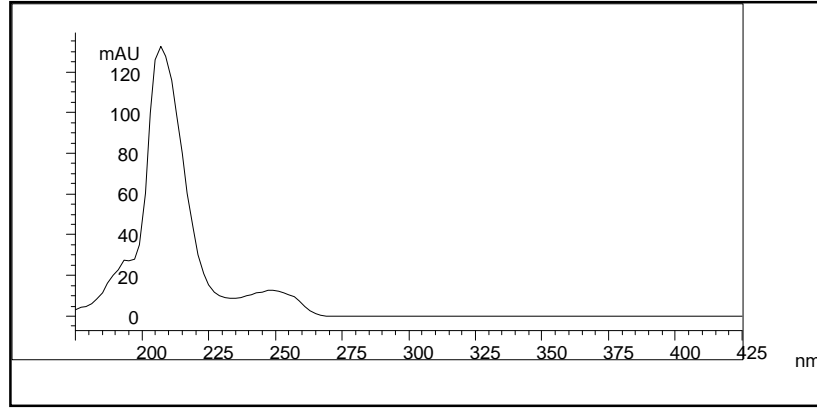
Şekil 18. Sinapik asit standardı (324 nm).



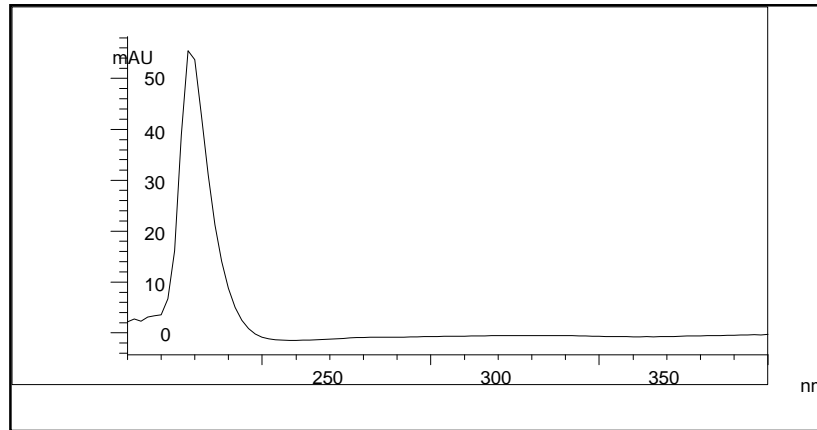
Şekil 19. Analiz sonucu belirlenen sinapik asit (324 nm).

Sinapik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 17 $\mu\text{g/g}$ 'dır.

3.1.1.6. Benzoik Asit



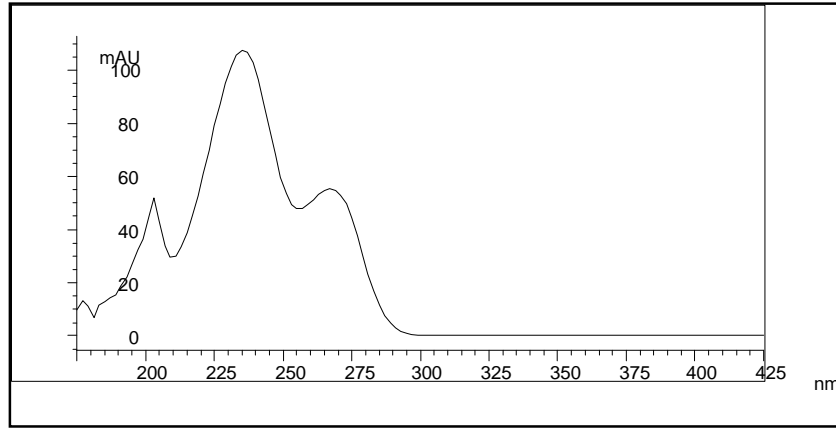
Şekil 20. Benzoik asit standardı (240 nm).



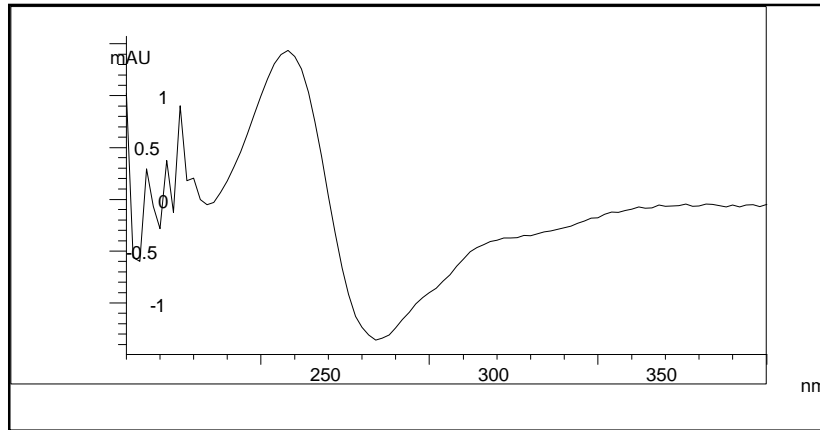
Şekil 21. Analiz sonucu belirlenen benzoik asit (240 nm).

Benzoik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 32 $\mu\text{g} / \text{g}$ dır.

3.1.1.7. Vanilik Asit



Şekil 22. Vanilik asit standardı (260 nm).



Şekil 23. Analiz sonucu belirlenen vanilik asit (260 nm).

Vanilik asit için çizilen kalibrasyon grafiği öncülüğünde kantitatif olarak madde miktarı sonucuna göre 0,0067 $\mu\text{g/g}$ 'dır.

Çalışma boyunca belirlenen bileşenler, dalga boyları, alıkonma zamanları, alanları ve konsantrasyonları Tablo 8'de verilmektedir.

Tablo 8. Belirlenen bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları, alan ve konsantrasyonları

BELİRLENEN BİLEŞENLER				
Bileşenin Adı	Rt (Alıkonma Zamanı dk)	Dalga Boyu (nm)	Alan (mAU)	Konsantrasyon (µg/g)
Protokatekuik asit	6,239	260	54,5853	8,779
Protokatekuik aldehit asit	8,196	280	28,5935	16,4
Klorojenik asit	10,603	324	130,832	47,3
Sirinjik asit	13,389	274	274,389	75,26
Sinapik asit	24,503	324	58,6328	17
Benzoik asit	22,021	240	128,43	32
Vanilik asit	11,225	260	38,9728	0,0067

3.1.2. Belirlenemeyen Bileşenler

HPLC DAD ile çalışılan *V. myrtillus* numunesinde standardın dışında farklı dalga boylarında ve yine farklı alanlarda belirlenemeyen (unknown) adıyla pikler gözlemlenmiştir. Bu piklerin alıkonma zamanları ve alanları dalga boyları öncülüğünde Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Belirlenemeyen piklerin dalga boyları ve alanları

Belirlenemeyen Bileşenler		
Alıkonma Zamanları (Rt)	Dalga Boyu (nm)	Alan (mAU)
18,164	240	182,49
5,423	254	5,007
5,648	254	7,2048
19,086	254	5,70
20,795	254	8,22
9,029	260	17,10
16,163	260	8,95
4,289	274	9,94
5,639	274	21,79
12,197	274	12,16
16,176	274	19,69
23,944	274	9,82
7,456	280	18,86
16,159	280	22,08
17,549	280	5,86
19,226	280	9,31
20,013	280	15,95
20,733	280	10,59
21,533	280	8,87
22,476	280	5,97
23,484	280	6,99
23,939	280	17,81
9,89	308	10,48
16,782	308	5,05
21,546	308	8,72
23,485	308	9,07
23,982	308	18,98
24,5	308	74,22
7,54	324	10,83
8,24	324	18,79
12,167	324	28,12
19,726	324	5,53
20,503	324	8,857
22,593	324	5,98
22,937	324	23,73
23,449	324	9,15
23,985	324	15,20

3.2. Antioksidan Aktivite ve Antosiyanin Bulguları

3.2.1. Toplam Polifenol Miktarları

Metanolik, etanolik, su ve etil asetat ekstraksiyonları sonucunda hesaplanan toplam polifenol içeriği mg gallik asit / g numune cinsinden Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Özütlere ve polifenol içerikleri

Özütlere	Toplam polifenol (mgGA/100 g KA) (X±SS)
Metanol	2029 ± 89
Etanol	1016 ± 47
Etil Asetat	134 ± 45
Su	306 ± 28

3.2.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kuvveti (FRAP)

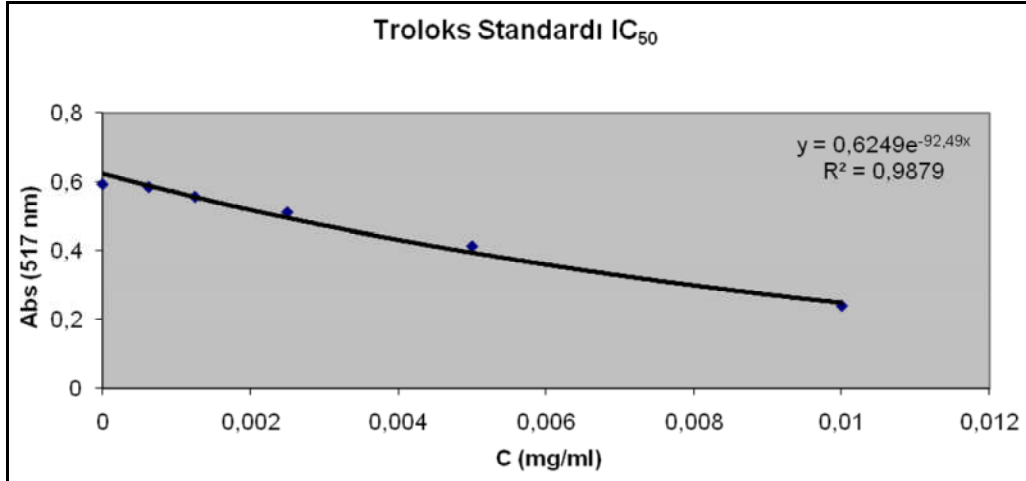
Metanolik, etanolik, su ve etil asetat ekstraksiyonları sonucunda hesaplanan FRAP içeriği Troloks eşdeğeri (TEAP değeri) cinsinden µmolTroloks /100 g KA olarak bulundu ve Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. *V. myrtillus* özütlereinin FRAP cinsinden antioksidan sonuçları

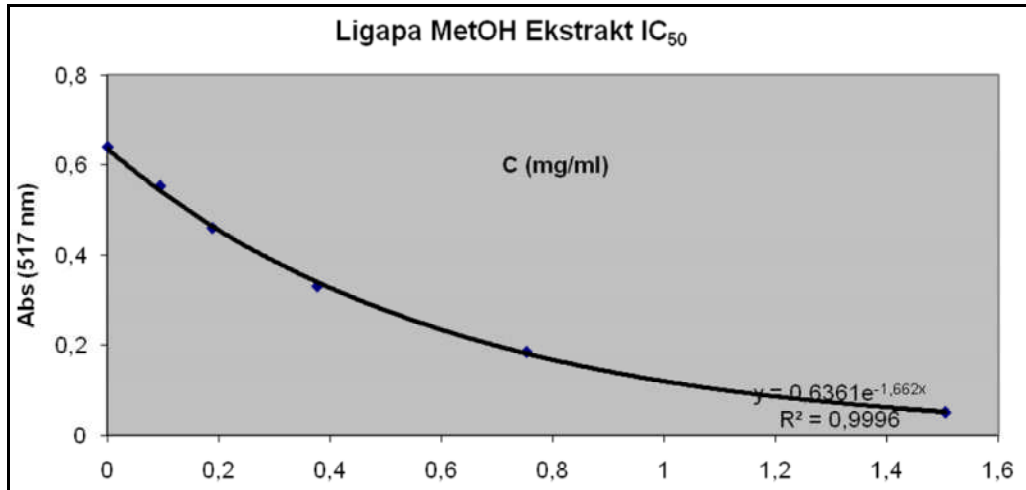
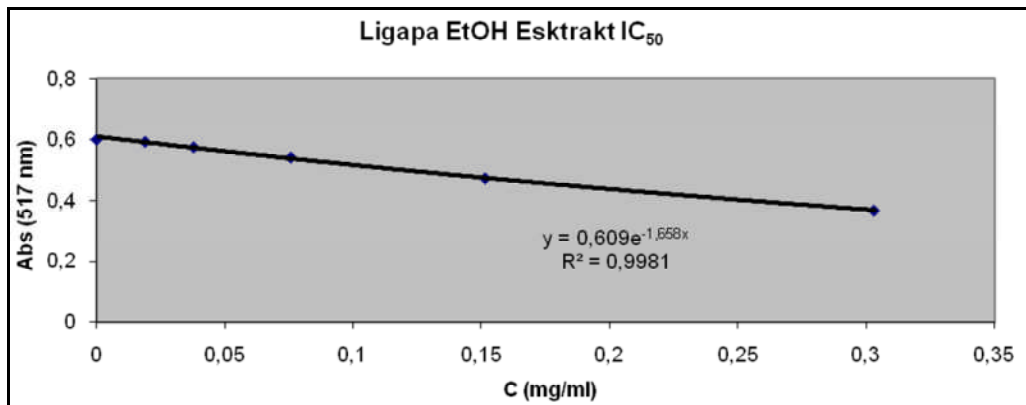
Özütlere	FRAP Tayini (mmolTroloks /100 g KA) (X±SS)
Metanol	6,42 ± 0,34
Etanol	3,639 ± 0,10
Etil Asetat	0.041 ± 0,08
Su	0,499 ± 0,17

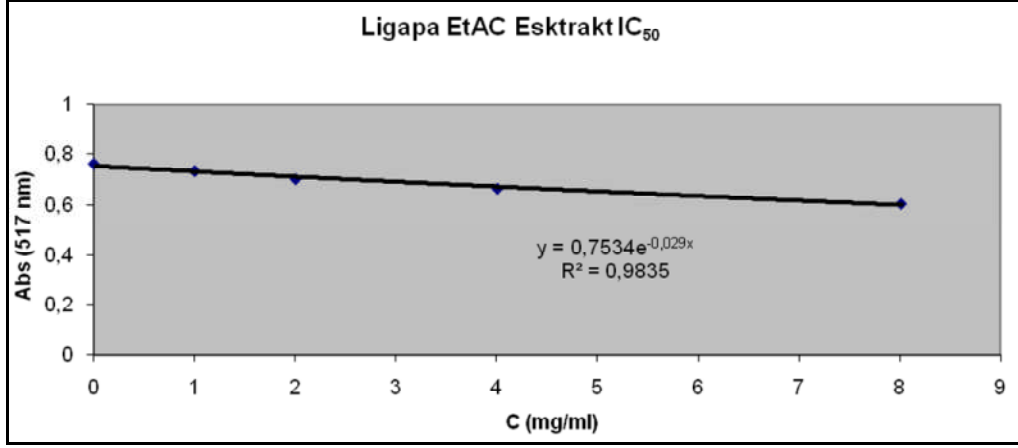
3.2.3. DPPH Aktivitesi Sonucu

Dört farklı polariteye sahip ekstraksiyon türü ve Troloks standardı için uygulanan DPPH radikal temizleme aktivitesi testinde absorbansa karşı çizilen konsantrasyon grafiği yardımıyla % 50 inhibisyon olarak bilinen IC₅₀ değeri mg / ml cinsinden hesaplandı.

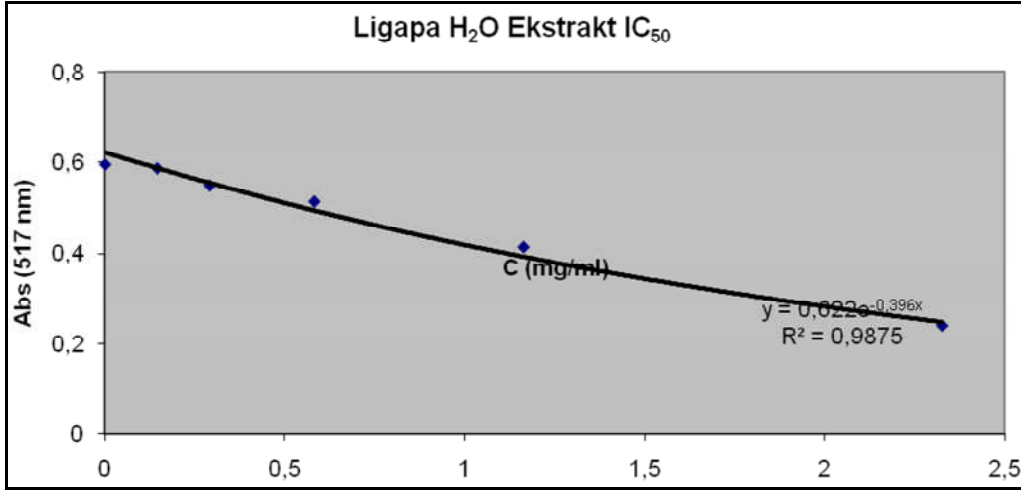


Şekil 24. Troloks standart grafiği

Şekil 25. *V. myrtillus* metanol ekstrakt grafiğiŞekil 26. *V. myrtillus* etanol ekstrakt grafiği



Şekil 27. *V. myrtillus* etil asetat ekstrakt grafiği



Şekil 28. *V. myrtillus* sulu ekstrakt grafiği

Dört farklı polariteye sahip ekstraktan elde edilen DPPH temizleme aktivitesi verileri Tablo 12' de verilmiştir.

Tablo 12. Özütlere ve IC₅₀ değerleri

Standart ve Özütlere	SC ₅₀ (mg / ml) (X±SS)
Troloks	0,0075 ± 0,0010
Metanolik	0,42 ± 0,02
Sulu	0,75 ± 0,02
Etanolik	0,42 ± 0,01
Etil Asetat	24,18 ± 2,10

3.2.4. Toplam Antosiyanin Verisi

Üç farklı polariteye sahip ekstrakt için toplam monomerik antosiyanin sonuçlarının hesaplanması aşağıda sıralı olarak verilmiş ve tablolaştırılmıştır. Etil asetat örneği ikili faz oluşturduğu için spektrofotometrik tayini yapılamadı.

Etanollü Tayin

$$\text{Monomerik Antosiyanin, mg/L} = \frac{0,12}{26900 \times 1} \times (10^3) \times (449,2) \times (100) = 200,39 \text{ mg/L}$$

(Siyanidin-3-glukozit Eşdeğeri)

Metanollü Tayin

$$\text{Monomerik Antosiyanin, mg/L} = \frac{0,183}{26900 \times 1} \times (10^3) \times (449,2) \times (100) = 305,59 \text{ mg/L}$$

(Siyanidin-3-glukozit Eşdeğeri)

Sulu Tayin

$$\text{Monomerik Antosiyanin, mg/L} = \frac{0,021}{26900 \times 1} \times (10^3) \times (449,2) \times (100) = 35,07 \text{ mg/L}$$

(Siyanidin-3-glukozit Eşdeğeri)

Tablo 13. Özütler antosiyanin verileri

Ekstraktlar	Antosiyanin Değeri (mg cyanidin 3-glucoside/100 g KA) (X±SS)
Etanol	200,39 ± 10,20
Metanol	305,59 ± 8,65
Su	35,0 ± 2,30

4. TARTIŞMA

Kurutulmuş yaban mersinlerinden elde edilen dört farklı polariteye sahip ekstraktın toplam antioksidan kapasitesi Troloks eşdeğeri cinsinden (Troloks eşdeğeri antioksidan güç) FRAP yöntemine göre hesaplandı. Fe+3 iyonlarının indirgenmesi esasına dayanan yöntemde metanolik *V. myrtillus* ekstraktın TEAP değeri $6,42 \pm 0,34$ iken sulu ekstraktın $0,499 \pm 0,17$ ve etil asetat ekstraktının ise $0.041 \pm 0,08$ mmol Troloks/100 g KA bulundu. Dolayısıyla en yüksek FRAP aktivitesinin metanolik ve etanolik ekstraktlarda görülüşü bulundu. Etil asetat lı ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarına paralel olarak toplam antioksidan kapasitenin de azaldığı görülmektedir. Bu bize antioksidan aktiviteden sorumlu ajanların fenolik maddeler olduğu fakat ekstrakt içerisinde bu yöntemi kullanarak hangi fenolik yapıların olduğunu göstermez. Folin-Ciocalteu yöntemi sadece ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarını gösteren bir testtir. Nitekim yapılan çalışmalar ile doğal ürünlerin fenolik madde miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri arasında $R^2 = 0,6$ ile $1,0$ arasında değişen korrrelasyonlarda doğru pozitif korelasyon olduğu bildirilmektedir (Al-Mamary vd., 2002; Küçük vd., 2007; Kolaylı vd., 2008). Ayrı ayrı fenolik maddelerin tayin etmek için saf fenolik madde standartları kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) tayin yapmak gerekir, ya da gaz kromatografisi –kütle spektroskopisi (GS-MS) kullanılarak özellikle bu polar bileşeklerin silil türevlerini elde etmek suretiyle tanımlanmaları mümkün olmaktadır.

Çalışmada *V. myrtillus*'un metanolik ekstraktlarında var olan fenolik bileşikleri belirlemek amacıyla 15 ayrı saf fenolik standart kullanılarak HPLC- DAD ile ayırma ve tanımlamalar yapıldı. Ters faz (RP)- HPLC ile C18 kolon kullanılarak ve dedeksiyon fotodiyot (DAD) dedektör kullanılarak değişik uv bölgelerinde fenolik bileşenler belirlendi. Bu amaçla protokatekuik asit, protokatekuik aldehit asit, gallik asit, klorogenik asit, Sirinjik asit, sinapik asit, benzoik asit, vanilik asit, gentisik asit, *p*-hidroksi benzoik asit, kafeik asit, syringaldehit, benzoik asit, sinaptik asit, ferulik asit ve *p*-kumarik asit standartları kullanılarak tayinler yapıldı. Bu amaçla önce her bir standart için ışığı absorbaladıkları maksimum dalga boyları ve alıkonma zamanları hesaplandı ve sonra tüm karışım halinde HPLC ye standart kromatogram elde edildi. Bu fenolik bileşelerin kromatografik ayrılmalarında literatürde en sık karşılaşılan kolon tipleri 150 mm veya 250 mm uzunluk, 4 mm veya 4,6 mm iç çap ve 5 µm partikül büyüklüğüne sahip ters faz C18

kolonlardır (Michalkiewicz vd., 2008; Saric vd., 2009; Truchado vd., 2009). Bu çalışmada literatüre benzer şekilde ters faz C18 (150 mm × 4,6 mm i.d., 5 µm) kolonu kullanıldı.

Çalışmada 15 adet fenolik bileşen standardı kullanıldı ve metanolik *V. myrtillus* numunesinde toplam 7 adet fenolik bileşen; protokatekuik asit, protokatekuik aldehit asit, klorojenik asit, Sirinjik asit, sinapik asit, benzoik asit ve vanilik asit değişen konsantrasyonlarda tesbit edildi. Çalışılan fenolik bileşenlerden Sirinjik asit, klorojenik asit ve benzoik asit temel fenolik bileşenleri oluştururken, protokatekuik aldehit asit, sinapik asit ve katekuik asit daha az oranda ve vanillik asit çok eser miktarda ekstrakta yer almaktadır. Metanolik ekstralarda gallik asit, gentsik asit, *p*-hidroksi benzoik asit, kafeik asit, syringaldehit, ferulik asit ve *p*-kumarik asit aside rastlanılmadı. Çalışmamıza benzer şekilde çeşitli kafeik ve *p*-kumarik asit çok eser miktarda bulunduğu rapor edilmektedir (Häkkinen, et al. 2000). Vasko et al. (2009) da yaptıkları çalışmada bir mersin türü olan (*Vaccinium floribundum* Kunth) un antosyanince zengin olduğu ve temel fenolik bileşeninin klorojenik asit olduğu bildirilmektedir.

Metanolik, etanolik, sulu ve etil asetat ekstraksiyonları ile hazırlanan *V. myrtillus* ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Folin- Ciocalteu yöntemine göre gallik asit standardı kullanılarak tayin edildi. 306- 2029 mg GA/g arasında değişen konsantrasyonlarda toplam fenolik madde miktarı bulundu. En yüksek TFM (2029 mg GAE/100g FW miktarına sahip ekstraktın metanolik ekstrak bulunurken etil asetat ekstraktının en düşük TFM miktarına (134 mg GAE/100 gFW) sahip olduğu belirlendi. Etanolik TFM miktarı ise 1016 mg gAE/100 g FW olarak bulundu. Fenolik asitler ve polifenoller bol miktarda hidroksil grubu içeren bileşikler olup polar yapıdadırlar ve bu nedenle de polar çözücülerde çözünürler. Metanol polaritesi sudan daha düşük olmasına rağmen organik moleküller için çok ideal bir çözücüdür. Polar molekülleri çözebildiği gibi nisbeten düşük polariteli molekülleri de sudan daha iyi çözmektedir. Ancak zehirli olduğundan dolayı gıdaların hazırlanmasında ve gıda endüstrisinde kullanılmamaktadır. Fakat yapılan bilimsel araştırmalarda antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en çok kullanılan ekstraksiyon çözücülerinden biridir. Faria et al. (2005) de yaptıkları çalışmada *V.myrtillus* un % 50 lik etanolik ekstrakta toplam fenolik madde miktarını Troloks cinsinden 257.9 mg/100 g olarak bildirilmektedir. Çeşitli doğal ürünler, örneğin, bitkiler, bal, polen gibi örnekler içerdikleri fenolik yapıya sahip sekonder metabolit ajanların konsantrasyonları çeşitli çevre şartlarından ve buna bağlı olarak metabolik ihtiyaçlarının değişik olmasından dolayı farklılıklar göstermektedirler. Örneğin, Avrupa ve kuzey Asya

bölgelerinde yetişen *V.myrtillus*'un toplam fenolik madde miktarlarının 300 – 698 mg/100 g KA (kuru ağırlık) arasında değişim gösterdiği rapor edilmektedir (Mazza & Miniati, 1993). Bir çalışmada *V. floribundum* türü mersinde toplam fenolik madde miktarının 758.6 mg GAE/100 g KA olarak, Ekvator bölgesinde yetişen aynı türde ise 882 mgGAE/100 g KA olarak bildirmektedirler (Vasco etal. 2009). Bu bildirilen miktarlar bizim metanolik fraksiyonda bulduğumuz toplam fenolik madde miktarından daha düşük konsantrasyondadır. Fakat literatürde bildirilen TFM miktarı değerleri etanolik fraksiyonda bulduğumuz 1016 mg GAE/100 g KA değeri ile benzerlik göstermektedir.

DPPH radikali temizleme testi, çeşitli doğal ürünlerin serbest radikal temizleme yeteneğinin ölçülmesinde oldukça yaygın olarak kullanılan bir metottur (Hatano vd., 1997; Ahn vd., 2007; Nagai vd., 2003). DPPH stabil ve ticari olarak satın alınan bir radikal olup bir elektron veya hidrojen aldığında 517 nm'de absorbans verir (Huang vd., 2005). DPPH radikalinin % 50'sinin oluşumunu engelleyen madde miktarı IC50 olarak tanımlanır ve düşük IC50 değeri yüksek radikal temizleme aktivitesini gösterir.

Çalışılan dört farklı polaritedeki *V. myrtillus* ekstraktlarının DPPH radikal temizleme aktiviteleri en yüksek metanolik ve etanolik fraksiyonda (IC50: 042 mg/ml), sulu fazda 0.75 mg/ml ve en düşük aktivite nisbeten en az polar faz olana etilasetatlı fazda (24,18 mg/ml) bulundu. Metanolik ve etanolik fazdaki yüksek fenolik bileşiklerden dolayı DPPH radikal temizleme aktivitesi daha yüksek bulundu.

Bu nedenle yapılan çalışmanın amacı bölgemizde yetiştirilen yabani olarak yetişen bir berry türü olan *V.myrtillus*' un fenolik yapısını aydınlatmak ve potansiyel antioksidan kapasitesini belirlemektir.

Bitkilerde çok farklı antioksidanlar mevcuttur ve her bir antioksidan bileşeni ayrıca ölçmek çok zordur. Bu nedenle her özütün antioksidan potansiyelini değerlendirmek için birkaç farklı test kullanmak daha bilgilendirici ve hatta gerekli olabilir (Tsai vd., 2002; Beretta vd., 2005; Huang vd., 2005; Zalibera vd., 2008). Bu çalışmada başlıca dört metot ile *V.myrtillus* un antioksidan kapasitesi belirlenmeye çalışıldı; toplam fenolik madde tayini, toplam antosiyanin tayini, demir (III) indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP) tayini ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali temizleme aktivitesi tayini.

Bitkisel özütlerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde pek çok yöntem kullanılmaktadır. Toplam fenolik madde miktarı (TFM), demir (III) indirgeme gücü (FRAP) yöntemleri toplam uluslararası literatürde kabul görmüş en geçerli testlerdendir. Bir redoks reaksiyonu olan ve kısaca demir indirgeme kuvveti (FRAP) olarak adlandırılan

test, biyolojik materyallerin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. İndirgeme kuvveti örnekte bulunan bütün bileşiklerin indirgeme potansiyellerinin toplamını oluşturur. Bulunan yüksek FRAP değeri yüksek Fe^{+3} indirgeme kuvvetini göstermektedir.

Sonuç olarak yabani bir tür olan *V. myrtillus* fenolik bileşikler ve özellikle antosiyaninlerce zengin bir doğal ürün olup, yapısında bulunan Sirinjik, klorojenik asit ve benzoik asitce zengin antioksidan yapılardan dolayı biyolojik değeri yüksek bir üründür. Karadeniz bölgesi *V. myrtillus* dikimi, üretimi için çok elverişli bir bölge olması nedeniyle bu değerli ürünün gıda sanayiinde daha yaygın biçimde kullanılması koruyucu tıp açısından yararlı olacaktır.

5. KAYNAKLAR

1. Çelik, H., Bazı Yüksek Çalı Yabanmersini Çeşitlerinin Rize'deki Performanslarının Saptanması Üzerine Araştırmalar, 1. Ulusal Kivi ve Üzüksü Meyveler Sempozyumu, Ekim 2003, Ordu, Bildiriler Kitabı: 57-59.
2. Çelik, H., Türkiye İçin Yeni Bir Meyve Likapa (Yaban Mersini), Hasad Aylık Gıda Tarım ve Hayvancılık Dergisi, 20,235 (2004) 42-51.
3. Çelik, H., Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği, Hasad Yayınları, Samsun, 2005.
4. Çelik, H., Karadeniz Meyvesi İçin Yeni Bir Meyve Türü Yaban Mersini (Likapa), 2. Ulusal Üzüksü Meyveler Sempozyumu, Eylül 2006, Tokat, Bildiriler Kitabı: 64-68.
5. Çelik, H., Rize İçin Mükemmel Bir Meyve Maviyemiş (Likapa), Çaykur Rizespor Dergisi, 2,17 (2007) 92-97.
6. Eck, P. ve Gough, R.E., Small Fruit Crop Management, Pentice Hall, New Jersey, 1990.
7. Gough, R.E., The Highbush Blueberry and Its Management, Food Product Pres, 1994.
8. Gough, R.E., Small Fruits In the Home Garden, North and South, 1996.
9. Pritts, M.P.ve Hancock, J.F., Highbush Blueberry Production Guide, Inhaca, 1992.
10. Himelrick, D.G., Blueberries and Brambles the Past 100 Years, American Fruit Grower, 119,11 (1999) 40-41.
11. Himelrick, D.G., Commercial Blueberry Production Guide for Alabama, Alabama Cooperative Ext. System, 904 (2002) 16.
12. Strik, B., Fisher, G., Hart, J., Ingham, R., Kaufman, D., Penhallegon, R., Pscheidt, J., William, R., Brun, C., Ahmedullah, M., Antonelli, A., Askham, L., Britow, P., Havens, D., Scheer, B., Shanks, C.,ve Barney, D., Highbush Blueberry Production Guide, Oregon State University, 1993.
13. Gough, R.E., The Highbrush Blueberry and Its Management, Haworth Pres, New York, 1994.
14. Gough R.E., Small Fruits In the Home Garden, The Haworth Pres Inc, 1996.
15. Himelrick, D.G., Blueberries and Brambles the Past 100 Years, American Fruit Grower, 119,11 (1999) 40-41.
16. Çelik, H., Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği, Hasad Yayınları, Samsun, 2005.

17. Çelik, H., Karadeniz Bölgesi İçin Yeni Bir Meyve Türü Yaban Mersini (Likapa), <http://www.uzumsu.com/incele.asp?blok=makaleler&kimlik=274>, 24 Şubat 2011.
18. Pritts, M.P.ve Hancock, J. F., Highbush Blueberry Production Guide,Northeast Regional Agricultural Service, Inhaca, 1992.
19. Strik, B., Blueberry An Expanding World Berry Crop, Chronica Horticulture, 45,1 (2005) 7-12.
20. Cabrita, L., Fruystein, N.A.ve Andersen, Q.M., Anthocyanin Trisaccharides in Blueberries of Vaccinium Padifolium, Food Chemistry, 69 (2000) 33-36.
21. Pottera, M.M., Doughbertyb, M.P., Haltemanc, W.A., ve Camireb, M.E, Pocharacteristics of Wild Blueberry-Soy Beverages, Lwtinpress, 2006.
22. Anonoumous, A., Likapa Türleri : <http://www.biriz.biz/rize/likapa/likapatur.htm> 20 Mart 2011.
23. Anonoumous, B., Postharvest Cooling and Handling of Blueberries : <http://www.bae.ncsu.edu/programs/extension/publicat/postharv/ag-413-7/index.html> 12 Ocak 2010.
24. Çelik, H., Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği : <http://www.biriz.biz/rize/likapa/index.html>, 11 Şubat 2011.
25. Çelik, H., Yaban Mersini (Likapa) [http://uzumsu.com/dosyalar/likapa-sistmtk-botanyk%C3%BCLt.pdf#search=%22;Yaban%20Mersini%3A%20%20\(Vaccinium%20ashei%20Reade\)%20%22](http://uzumsu.com/dosyalar/likapa-sistmtk-botanyk%C3%BCLt.pdf#search=%22;Yaban%20Mersini%3A%20%20(Vaccinium%20ashei%20Reade)%20%22). 14 Kasım 2010.
26. Schern, H.ve Krewer, G., Blueberry Production İn Georgia, Small Fruits Review, 2,4 (2003) 83-91.
27. Strik, B.C.ve Banados, P., Blueberry Production and Acreage Trends North and South America, 2. Devos Place Convention Center, December 2004.
28. Trehane, J., Blueberries, Cranberries and Other Vaccinums, Timber Pres, Portland, Cambridge, 2004.
29. Strik, B., Blueberry An Expanding World Berry Crop, Chronica Horticulture, 45,1 (2005) 7-12.
30. Childers, N.F., Lyrene, P.M., Blueberries For Growers, Gardeners and Promotors, Dr.Norman F. Childers Hort. Publ, Florida, 2006.
31. Anonoumous, C. Bilberry Microcirculation Enhancer <http://www.discount-vitamins-herbs.net/bilberry.htm>. 23 Mart 2010.

32. Turner, D.ve K. Muir, The Handbook of Soft Fruit Growing, Croom Helm, London, 1985.
33. Kalt, W.ve Dufour, D., Health Functionality of Blueberries, Hort Technology, 7,10 (1997) 216-221.
34. Haffner, K.ve Remberg, S.F., Antioksidant Rich Berries Plant Food for Better Health, ISHS Chronica Hort, 46,2 (2006) 19-20.
35. Faria, A., Oliveria, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos-Buelga, C., Freitas, V. ve Mateus, N., Antioxidant Properties of Prepared Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extracts. J. Agric. Food Chem, 53 (2005) 6896-6902.
36. Garzon, G.A., Narvaez, C.E., Riedl, K.M. ve Schwartz, S.J, Chemical Composition Anthocyanins Non-Anthocyanin Phenolics and Antioxidant Activity of Wild Bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) grom Colombia, Food Chemistry, 122 (2010) 980-986.
37. Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J. Ve O'Brien, C., Antioxidant Capacity as Influenced by Total Phenolic and Antochyanin Content, Maturity and Variety of *Vaccinium* Species, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (1998) 2686-2693.
38. Vasco, C., Riihinen, K., Ruales, J. ve Kamal-Eldin, A., Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortino (*Vaccinium floribundum* Kunth), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(2009) 8274-8281.
39. Castro, B., Kresty L.A., Kraly C.L., Pearl D.K. ve Knobloch T.J., Chemoprevention of Oral Cancer by Black Raspberries, Anticancer Res, 22 (2002) 4005-4015.
40. Kolaylı, S., Kucuk, M., Duran, C., Candan. F.ve Dinçer, B., Chemical and Antioksidant Properties of *Laurocerasus* *Officinalis* Roem, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(2003) 7489-7494.
41. Sarıkaya, A. O., Ulusoy, E., Öztürk, N., Tuncel M. ve Kolayli, S., Antioxidant Activity and Phenolic Acid Content and Chestnut Honey and Propolis, Journal of Food Biochemistry, 33(2009) 470-481.
42. Wollgast J. ve Anklam, E., Review on Polyphenols İn *Theobroma cacao* Changes İn Composition During the Manufacture of Chocalate and Methadology For İdentification and Quantification, Food Res. Int, 33(2000) 423-447.
43. Tomruk, E., Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İçin Hidrofilik Destek Materyal Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2005.

44. Hakkien, H.S. ve Törrenön, A.R., Content of Flavonols and Selected Phenolic Acids in Strawberries and Vaccinium Species Influence of Cultivar Cultivation Site and Technique, Food Research International 33 (2000) 517-524.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Trabzon'da doğdu. 2001 yılında Trabzon'da Tefvik Serdar Anadolu Lisesin'den mezun oldu. 2002 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne girdi. 2006 yılında bu bölümden "Gıda Mühendisi" ünvanıyla mezun oldu. 2008 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümün'de Yüksek Lisans Programına başladı. 2006 yılından itibaren özel sektörde "Sorumlu Yöneticilik" yapmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir.