

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KIZILCIĞIN (*Cornus mas* L.) TOPLAM ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNE
VE TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARINA ABİYOTİK
ELİSİTÖRLERİN ETKİSİ**

Gözde BAYKAL

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2013

Her hakkı saklıdır

Rahmetli Ablam Sernur BAYKAL Anısına

TEZ ONAYI

Gözde BAYKAL tarafından hazırlanan “**KIZILCIĞIN (*Cornus mas L.*) TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE VE TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARINA ABİYOTİK ELİSİTÖRLERİN ETKİSİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Afife GÜVENÇ

Jüri Üyeleri

Başkan: Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR
Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Afife GÜVENÇ
Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye: Yrd. Doç. Dr. Yeşim SOYER
Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim DEMİR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KIZILCIĞIN (*Cornus mas* L.) TOPLAM ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNE VE TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARINA ABİYOTİK ELİSİTÖRLERİN ETKİSİ

Gözde BAYKAL

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Afife GÜVENÇ

İçerdikleri yüksek fenolik içeriğe bağlı olarak meyve ve sebze tüketimi ile kansere ve çeşitli hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı bilinmektedir. Fenolik bileşiklerin bu yararlı etkileri, serbest radikalleri yakalamalarından kaynaklanmaktadır. Son yıllarda beslenme ile alınan antioksidanlara ve fenolik maddelere karşı artan bir ilgi görülmektedir. Kızılçık da bu önemli besinlerden biridir. Bu çalışmada yüksek antioksidan aktivitesine ve fenolik içeriğe sahip kızılçık meyvesi ele alınmıştır.

Bu çalışmanın amacı, kızılçık meyvesinin toplam antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik madde miktarına abiyotik elisitörler [ses ötesi dalgalar (SÖD) ve ultraviyole ışın (UV)] ile uyarımın etkisinin incelenmesidir. İlk olarak fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri sırasıyla Folin-Ciocalteu ayırıcı ve DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir. Bu tayinlerden elde edilen sonuçlar kontrol olarak kullanılmıştır. SÖD uyarımı örneklerle, 10 dakika ve 1 saat süresince, çubuk (probe) bağlantılı ultrasonik homojenizer yardımıyla 0.5 s'lik periyotlarla (20 ve 30 kHz frekanslı) ve ultrasonik banyo (40 kHz frekanslı) aracılığıyla sürekli olarak uygulanmıştır. UV uyarımı ise 254 nm dalga boyunda 10 dakika ve 1 saat süreyle ve UV ışınının örneğe farklı mesafelerinde (20 ve 40 cm) yapılmıştır. SÖD, UV ve SÖD-UV (aynı anda ve ardışık yapılan) uygulamalarından sonra inkübasyon süresinin etkisinin incelenmesi amacıyla örnekler 10 dakika, 1 saat, 12 saat, 1 gün, 2 gün, 3 gün, 5 gün, 7 gün süreyle, oda sıcaklığında, azot atmosferinde karanlıkta bekletilmiştir. UV uyarımı sonucunda kızılçığın antioksidan aktivitesinde en yüksek artış, 40 cm mesafeden 10 dakika uyarım yapılarak 3 günlük inkübasyon süresi sonunda elde edilmiştir (%95 artış). SÖD uyarımı ile antioksidan aktivitesinde en yüksek artış ise 40 kHz frekanslı banyoda 10 dakika uyarım yapılarak 3 günlük inkübasyon süresinde elde edilmiştir (%188 artış). Her iki elisitörle en yüksek antioksidan aktivitesinin elde edildiği işletim koşulları aynı anda ve ardışık olarak uygulanmıştır. SÖD uyarımı 40 kHz frekanslı banyoda ve UV uyarımı 40 cm mesafeden 10 dakika süreyle aynı anda ve ardışık olarak gerçekleştirilmiş ve her iki durumda da 3 günlük inkübasyon süresi sonunda %388 artış elde edilmiştir. Kızılçığın fenolik madde miktarını arttırmak amacıyla UV uyarımı yapıldığında en iyi sonucu veren UV koşulu ise 40 cm mesafeden 10 dakika uyarım ile 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda elde edilmiştir (%34 artış). SÖD uyarımı sonunda ise fenolik madde miktarındaki en yüksek artış 40 kHz frekanslı banyoda 10 dakika uyarım yapılarak 1 günlük inkübasyon süresi sonunda elde edilmiştir (%64 artış). Benzer şekilde, en yüksek fenolik madde miktarının elde edildiği işletim koşulları, (10 dakika süreyle 40 kHz frekansta SÖD ve 40 cm'den UV uyarımı) 10 dakikalık inkübasyon süresi sonunda toplam fenolik madde miktarında aynı anda uygulandığında %104, ardışık olarak uygulandığında %63 artış gözlenmiştir. Sonuç olarak UV ve SÖD uyarımları ile kızılçığın antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarında önemli artışlar elde edilmiştir. UV ve SÖD kızılçık için uygun abiyotik elisitörlerdir. Bu iki elisitörün birlikte kullanılması ile kızılçığın besin değerinde önemli değişiklikler olacağı gözlenmiştir.

Nisan 2013, 111 sayfa

Anahtar Kelimeler: kızılçık, fenolik bileşikler, antioksidan, abiyotik elisitör, ses ötesi dalga, UV ışın

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS OF ABIOTIC ELICITORS ON TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOL CONTENT OF CORNELIAN CHERRY (*Cornus mas L.*)

Gözde BAYKAL

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Afife GÜVENÇ

Based on their high phenolic contents, it is known that consumption of fruits and vegetables prevents the risk of getting cancer and other various diseases. The beneficial effects of phenolic compounds come from stopping the free radical reactions. In recent years, getting antioxidant and phenolic compounds by nutrition has increasing attention. Cornelian cherry is the one of these important food. In this study Cornelian cherry having high antioxidant activity and phenolic content was discussed.

The purpose of this study was to evaluate the changes in antioxidant capacity and total phenol content of Cornelian cherry treated with abiotic elicitors [ultraviyole light (UV) and ultrasound (US)]. The total phenolic and antioxidant activity of Cornelian cherry fruits were determined according to Folin-Ciocalteu and DPPH method, respectively. Non-treated fruits were used as control. US treatment was applied with ultrasonic homogenizers having probe (two different frequency 20, 30 kHz). This treatments were done with pulse (0.5 s on 0.5 s off). US treatment was also applied with ultrasonic bath (40 kHz) in continuous mode. Time of ultrasonic stress was 10 min and 1 h. UV treatment included distances from UV light (254 nm) of 20 cm and 40 cm and exposure times 10 min and 1 h. US, UV and combined UV-US (together and simultaneously) treated Cornelian cherry incubated at room temperature in dark and nitrogen atmosphere for 10 min, 1 h, 12 h, 1 day, 2 day, 3 day, 5 day and 7 day. For antioxidant activity, the optimum UV process was distance from UV light of 40 cm and exposure time 10 min, when incubation time was 3 days. After illumination with UV, Cornelian cherry fruits' antioxidant activity increased by 95%. Ultrasonic bath (40 kHz) showed the best increase for Cornelian cherry's antioxidant activity when exposure time was 10 min and incubation time was 3 days (increased 188%). The best UV illumination and the best US treatment was combined and used together and simultaneously. Ultrasonic bath (40 kHz) and UV illumination (40 cm) exposed 10 min. These elicitors were treated together and simultaneously. After incubated 3 days, both combined processes gived the maximum result for antioxidant activity (increased 388%). Total phenol content UV treated Cornelian cherry increased. For total phenol content, the optimum UV parameters were distances from UV light of 40 cm, exposure time 10 min and incubation time 1 h. After this UV stress, Cornelian cherry fruits' total phenol content increased by 34%. Ultrasonic bath (40 kHz) showed the best increase for Cornelian cherry's total phenol content, when exposure time was 10 min and incubation time was 1 day (increased 64%). Similarly, these elicitors (UV: 40 cm, 10 min; US: 40 kHz, 10 min) treated together and simultaneously. After incubated 10 min, combined processes (together and simultaneously) showed the maximum result for total phenol content (increased 104%, 63% respectively). In conclusion, UV and US treatments increased antioxidant capacity and total phenol content of Cornelian cherry significantly. Using UV and US antioxidant capacities and total phenol content of Cornelian cherry together were further enhanced by combined US–UV compared to US or UV individually.

April 2013, 111 pages

Key Words: Cornelian cherry, phenolic compounds, antioxidant, abiotic elicitor, ultrasound, UV light

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden başlayarak tez çalışmamın sonuna kadar, özel hayatım dahil, her alanda desteğini hissettiğim; bilgisini ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik ve kişisel gelişimime yoğun katkıda bulunan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Afife GÜVENÇ (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü)'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve fikirleriyle her zaman desteklerini hissettiğim Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'ndeki değerli hocalarım Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU ve Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR'a, lisans eğitimimden bu yana güler yüzüyle bilimsel düşüncelerini benimle paylaşan hocam Araş. Gör. Rahime SONGÜR'e teşekkürlerimi sunarım.

Sevgi ve desteğiyle her zaman yanımda olan, en zor zamanlarımı bile en mutlu anlara çeviren sevgili yeğenlerim İrem Naz BAYKAL, Rabia Zeynep BAYKAL ve Hüseyin Can BAYKAL'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Abim Rasim BAYKAL ve yengem Semra BAYKAL'a da sevildiğimi hissettirdikleri için çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi tez çalışmam süresince de varlıklarıyla beni yalnız bırakmayan, maddi manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen biricik annem Fadime BAYKAL'a ve canım babam Hüseyin BAYKAL'a en içten duygularla teşekkür ederim.

Tanıdığım güne şükürler ettiğim, en doğru kararım olan, canımdan çok sevdiğim müstakbel eşim Sezer TURALI'ye her konuda destekleyicim olduğu için ve her zaman yanımda olacağı için çok özel teşekkürlerimi sunarım.

Gözde BAYKAL

Ankara, Nisan 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1 Kızılçık.....	4
2.1.1 Kızılçığın faydaları.....	6
2.2 Serbest Radikaller.....	7
2.2.1 Serbest radikal kaynakları.....	9
2.2.2 Serbest radikallerin zararları.....	10
2.2.3 Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar.....	12
2.3 Antioksidanlar.....	18
2.3.1 Antioksidan kaynakları.....	19
2.3.2 Antioksidan savunma sistemleri.....	21
2.3.3 Beslenmenin antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi.....	23
2.4 İkincil Metabolitler.....	24
2.4.1 İkincil metabolit yozu.....	26
2.5 Fenolik Maddeler.....	27
2.5.1 Fenolik asitler.....	30
2.5.2 Flavonoidler (Flavan türleri).....	31
2.5.2.1 Antosiyanidinler.....	31
2.6 Elisitörler.....	32
2.6.1 Biyotik elisitörler.....	32
2.6.2 Abiyotik elisitörler.....	32
2.6.2.1 Ses ötesi dalga.....	33
2.6.2.2 Ultraviyole ışın.....	34
2.7 Kaynak Araştırması.....	36
2.7.1 Kızılçık meyvesiyle yapılan çalışmalar.....	36
2.7.2 Meyvelere elisitör uygulaması.....	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	55
3.1 Materyal.....	55
3.2 Yöntem.....	56
3.2.1 Elisitör uygulanması.....	56
3.2.2 Ekstraksiyon çözeltilisinin seçimi.....	58
3.2.3 Analiz.....	59
3.2.3.1 DPPH• radikali süpürme (yakalama/tutma) metodu.....	59
3.2.3.2 Folin-Ciocalteu metodu.....	61
3.2.4 İstatistiksel değerlendirme.....	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	64
4.1 UV Uyarımı.....	64
4.2 SÖD Uyarımı.....	65
4.3 UV - SÖD Birlikte Uyarımı.....	65

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	67
5.1 İşlem Görmemiş Kızılçık.....	67
5.2 Kızılçığa UV Uyarımının Etkisi.....	68
5.2.1 20 cm'den UV uyarımı.....	68
5.2.2 40 cm'den UV uyarımı.....	70
5.3 Kızılçığa SÖD Uyarımının Etkisi.....	72
5.3.1 20 kHz frekansta SÖD uyarımı.....	73
5.3.2 30 kHz frekansta SÖD uyarımı.....	74
5.3.3 40 kHz frekansta SÖD uyarımı.....	76
5.4 Kızılçığa UV-SÖD Uyarımının Etkisi.....	78
5.4.1 Eş anlı UV-SÖD uyarımı.....	78
5.4.2 Ardışık UV-SÖD uyarımı.....	79
5.5 Genel Değerlendirme.....	81
6. ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	86
EKLER	91
EK 1 SÖD Uygulamalarının Enerji Yoğunlukları	92
EK 2 Meyve Ekstraksiyonu	93
EK 3 Kızılçık Ekstaksiyonu	94
EK 4 Gallik Asit Kalibrasyon Grafikleri	95
EK 5 A. DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	96
EK 5 B. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	97
EK 6 A. Kızılçığın Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	98
EK 6 B. Kızılçığın Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	99
EK 7 DPPH Yöntemi İçin Parametre Belirlenmesi ve DPPH Kalibrasyon Grafiği	100
EK 8 İstatistiksel Hesaplama İçin ‘t’ Değerleri ve Örnek Hesaplama	102
EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi)	103
EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı)	107
ÖZGEÇMİŞ	111

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Toplam antioksidan aktivitesi
DPPH•	1,1- difenil - 2 - pikrilhidrazil serbest radikali (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆)
E.Y.	Enerji yoğunluğu
FMM	Toplam fenolik madde miktarı
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GA	Gallik asit
GAE	Gallik asit eş değeri
İS	İnkübasyon süresi
MJ	Megajoule
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
ORAK	Oksijen radikali absorbans kapasitesi
SÖD	Ses ötesi dalga
TEAK	Troloks eş değer antioksidan kapasitesi
US	Uyarım süresi
UV	Ultraviyole
UV-B	315-280 nm arası orta UV bölgesi
UV-C	280-200 nm arası kısa UV bölgesi
20kHz-10min	20 kHz frekanslı ultrasonik homojenizere 10 dakika maruz kalma
20kHz-1h	20 kHz frekanslı ultrasonik homojenizere 1 saat maruz kalma
30kHz-10min	30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizere 10 dakika maruz kalma
30kHz-1h	30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizere 1 saat maruz kalma
s	Saniye
min	Dakika
h	Saat
d	Gün

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kızılcık bitkisinin çiçekleri ve meyvesi.....	5
Şekil 2.2 İkincil metabolitlerin biyosentetik yoluzinin şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.3 Fenolik bileşik grupları.....	28
Şekil 2.4 Bitkilerin şikimik asit metabolik yolu.....	30
Şekil 2.5 Elektromagnetik spektrum.....	34
Şekil 2.6 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün toplam fenolik madde miktarındaki değişim.....	40
Şekil 2.7 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün antosiyanin miktarındaki değişim.....	41
Şekil 2.8 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün flavonol bileşimindeki değişim.....	41
Şekil 2.9 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün fenolik madde bileşimindeki değişim.....	42
Şekil 2.10 Siyah üzümün 20 kHz frekansta, 1 saat süresince periyotlu (P01 ve P05) ve sürekli (S) SÖD uyarımı sonucunda artan trans-resveratrolün inkübasyon süresi ile (24, 48, 72 h) değişim.....	43
Şekil 2.11 Siyah üzümün 30 kHz frekansta, 1 saat süresince periyotlu (P01 ve P05) ve sürekli (S) SÖD uyarımı sonucunda artan trans-resveratrolün inkübasyon süresi ile (24, 48, 72 h) değişimi.....	43
Şekil 2.12 Çeşit 1'in 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince resveratrol derişimine etkileri.....	44
Şekil 2.13 Çeşit 2'nin 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince resveratrol derişimine etkileri.....	45
Şekil 2.14 Çeşit 3'ün 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince resveratrol derişimine etkileri.....	45
Şekil 2.15 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çilekteki toplam antosiyanin miktarına etkisi.....	46
Şekil 2.16 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	47
Şekil 2.17 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin ORAK değerine etkisi.....	47

Şekil 2.18 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin çürütmesine etkisi.....	48
Şekil 2.19 Farklı mesafelerden UV uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve UV uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piceid ve toplam stilbenlere etkisi.....	50
Şekil 2.20 Farklı güç yoğunluğunda SÖD uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve SÖD uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piseid ve toplam stilbenlere etkisi.....	51
Şekil 2.21 Yaban mersininin fenolik madde miktarının farklı UV-B dozlarında ve farklı inkübasyon süresi ile değişimi.....	54
Şekil 3.1 Olgunlaşmış kızılciğın görünüşü.....	55
Şekil 3.2 SÖD uyarımının yapıldığı deney sistemi.....	57
Şekil 3.3 UV uyarımının şematik gösterimi.....	57
Şekil 3.4 DPPH• radikalinin antioksidan madde ile etkileşmesi.....	59
Şekil 5.1 İşlem görmemiş kızılciğın inkübasyon süresine karşı fenolik madde miktarı.....	67
Şekil 5.2 İşlem görmemiş kızılciğın inkübasyon süresine karşı antioksidan aktivitesi.....	68
Şekil 5.3 20 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi.....	69
Şekil 5.4 20 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	70
Şekil 5.5 40 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi.....	71
Şekil 5.6 40 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	72
Şekil 5.7 10 min ve 1 h boyunca 20 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi.....	73
Şekil 5.8 10 min ve 1 h boyunca 20 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	74
Şekil 5.9 10 min ve 1 h boyunca 30 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi boyunca değişimi.....	75
Şekil 5.10 10 min ve 1 h boyunca 30 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	76

Şekil 5.11 10 min ve 1 h boyunca 40 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılclığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi.....	77
Şekil 5.12 10 min ve 1 h boyunca 40 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılclığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	78
Şekil 5.13 10 min boyunca UV (40 cm) ve 10 min boyunca SÖD (40 kHz) ile eşanlı ve ardışık olarak uyarılmış kızılclığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi.....	80
Şekil 5.14 10 min boyunca UV (40 cm) ve 10 min boyunca SÖD (40 kHz) ile eşanlı ve ardışık olarak uyarılmış kızılclığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi.....	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kızılıçğın sistematik adı.....	4
Çizelge 2.2 Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller.....	9
Çizelge 2.3 Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri.....	19
Çizelge 2.4 Farklı dozda UV uyarımının yaban mersinindeki toplam fenolik madde, antosiyanin miktarına ve antioksidan kapasitesine (ORAK ve DPPH) etkisi.....	49
Çizelge 2.5 4.30 kJ m ⁻² dozda UV uyarımından sonra yaban mersinindeki toplam fenolik madde, antosiyanin miktarına ve antioksidan kapasitesine (ORAK ve DPPH) 20 °C'ta inkübasyon süresinin etkisi.....	49
Çizelge 2.6 UV uygulanmış fıstığın toplam fenolik madde miktarı ve ORAK toplam antioksidan kapasitesi.....	52
Çizelge 2.7 SÖD uygulanmış fıstığın toplam fenolik madde miktarı ve ORAK toplam antioksidan kapasitesi.....	52

1. GİRİŞ

İnsan sağlığına iklim, evre Őartları, kalıtım ve beslenme gibi çeşitli faktörler etki etmektedir. Beslenme canlıların geliŐmeleri ve yaŐamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan gıdaların dış ortamdan alınıp, yapısal ve iŐlevsel olarak deđiŐtirilerek tüketildiği bir süreçtir. Vücudun büyümesi, gelişmesi, yenilenmesi, çalışması ve sağlıklı yaşam için yeterli ve dengeli beslenme Őarttır. Günümüzde hormonlu gıdalar, bilinçsiz tarım ve ilaçlama, gıdaların pişirilme ve saklanma sırasındaki besin kayıpları, stres, sigara ve alkol tüketimindeki artış ile yetersiz ve dengesiz beslenme oranı da artmaktadır. Yetersiz ve dengesiz beslenme durumunda, vücut için gerekli olan besin maddeleri gerektiği kadar alınmaması halinde hastalıklara karşı vücudun direnci azalmakta, hücre bütünlüğü bozulmakta ve bunun sonucunda ciddi hastalıklar grlmektedir.

Antioksidanlar hücre bütünlüğünü koruyabilmek amacıyla serbest radikallere karşı savaŐ verirler. Serbest radikallere karşı verilen savaŐtaki baŐarısızlık ve serbest radikallerin vücutta fazla miktarda birikmesi kanser, kardiyovasküler hastalıklar, bağışıklık sistemi problemleri, idrar yolu enfeksiyonları ve daha pek çok hastalığa sebep olmaktadır (Frei 1994).

En aktif antioksidanlar fenolik ve polifenolik bileşiklerdir. Doğal antioksidan madde özelliği gösteren fenolik maddeler serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak veya engelleyerek vücutta meydana gelebilecek olumsuzlukların oluşumuna engel olurlar. Gıdaların antioksidan özellikleri ve fenolik madde miktarı üzerine yapılan çalışmalar, meyve ve sebze tüketimi ile kanser, kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıkların görülme riskini azalttığını göstermektedir (Nizamlıoğlu 2010, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan> 2012a).

Doğal rnlerin tedavi amacıyla kullanılması oldukça eski bir tarihe dayanır. Yüzyıllardan beri bitkiler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bitkilerin doğal koruma bileşenleri, bitkiyi patojenlere, parazitlere, serbest radikallere karşı koruyan

ikincil metabolitlerdir. Bitkilerin kendilerini bu tür biyolojik saldırılardan korumak için antimikrobiyal bileşikler ürettiği uzun zamandır bilinmektedir (Kılmanoğlu 2010).

Bitkiler biyotik veya abiyotik bir stres faktörü ile karşılaştıklarında savunma ve dayanım mekanizmalarını arttırmak amacıyla ikincil metabolitleri sentezlerler. Bu bileşikler, yüksek antioksidan özellik gösteren polifenolik bileşiklerdir.

Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek (onlarla bağ kurarak) hücrelere zarar vermelerini önler. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir hayat yaşama şansını yükseltir (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan> 2012a).

Etkili bir antioksidan olan C vitamini dokuların gelişimi ve tamiri için oldukça önemlidir. Antioksidan özelliğe sahip C vitamini içeren besinler kolesterolü düşürür, yara ve yanıkların iyileşmesini hızlandırır. Bu özelliklerinden ötürü C vitaminine sahip besinlerle (örneğin kızılcık) ve bu besinlerdeki fenolik madde miktarını biyotik veya abiyotik bir elisitör ile arttırmak için yapılan çalışmalar sağlıklı yaşam için oldukça önemlidir.

Çok yıllık odunsu bir bitki olan kızılcığın tadı ekşidir ve kızılcık yüksek miktarda C vitamini içermektedir. İçerdiği antosiyanin pigmentlerinden dolayı bordo-kırmızı renge sahip olan meyve çok zengin askorbik asit, antosiyanin, fenolik bileşen ve antioksidan kaynağıdır (Demir 2003, Pantelidis 2007, Akman 2010)

Bu çalışmada abiyotik elisitör olarak SÖD ve UV ışın kullanarak kızılcığın fenolik madde miktarını ve antioksidan aktivitesini arttırmak amaçlanmıştır. Kızılcık meyvesinin çekirdeği çıkartılarak mutfak tipi öğütücü yardımı meyvenin posası hazırlanmıştır. Posanın toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi, Folin-Ciocalteu ayracı ve DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir. Bu tayinlerden elde edilen

sonuçlar kontrol olarak kullanılmıştır. SÖD uyarımı çubuk (probe) ile yapıldığı ultrasonik homojenizerler ve ultrasonik banyo aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. UV uyarımı ise 254 nm dalga boyunda UV ışınının farklı mesafelerinde yapılmıştır. SÖD, UV ve SÖD-UV (aynı anda ve ardışık) uygulamalarından sonra farklı inkübasyon sürelerinin etkisini görmek için oda sıcaklığında, azot atmosferinde karanlıkta bekletilmiştir. SÖD, UV ve SÖD-UV (aynı anda ve ardışık) uygulanmış kızcık meyvesinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Tekrarlanabilirliğin kontrol edilebilmesi için bütün deneyler üç tekrar olarak yapılmıştır. Yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar t-testi yardımıyla istatistiksel olarak hesaplanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kızılcık

Kuzey yarım kürede, ılıman bölgelerde yaprak döken yazlık ormanların hakim olduğu ve yosunların iyi bir örtü oluşturduğu nemli yerlerde görülen kıızılcık, odunsu bir bitkidir. En fazla 5-8 m boy yapar. Yapraklar koyu yeşil, her iki yüzü tüylü, damarları paraleldir. Sarı renkli küçük çiçekleri vardır. Meyveleri kırmızı renkli, eliptik şekillidir. Kıızılcık ağacı kuru, balçıklı topraklarda yetişir, çoğalmasında tohumlar yardımıyla gerçekleşir (Akman 2010, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kızılcık> 2012).

Çizelge 2.1 Kıızılcığın sistematik adı (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Kızılcık> 2012b)

APG III sistemi:	
Alem:	Plantae (Bitkiler)
Klad	Angiosperms (Kapalı tohumlular)
Klad	Eudicots (İki çenekliler)
Klad	Core eudicots
Klad	Asterids
Takım:	Cornales
Familya:	Cornaceae (Kızılcıkgiller)
Cins:	<i>Cornus</i>
Tür:	<i>C. mas</i>
İkili adı:	
<i>Cornus mas</i> L.	



Şekil 2.1 Kızılcık bitkisinin çiçekleri ve meyvesi

Kızılcık, sonbaharın habercisi olan bir meyvedir. Eylül ve ekim aylarında meyvelerini verir, havalar iyice soğduğunda ise yapraklarını dökerek tohuma çekilir. Karadeniz' de ve İstanbul'un Karadeniz'e yakın yamaçlarında kıızılcık bol miktarda yetişir (<http://www.nesilgidaimalat.com.tr/turkce/kizilcik.htm> 2013a).

Balıkesir, İstanbul, Kırklareli'de kıızılcık olarak anılan *Cornus mas*, bazı yörelerde farklı isimlerle anılmaktadır: Antalya'da delice kiraz ya da yabancı kiraz; Konya'da ergen; Amasya, Bartın, Karabük'te kiren (Tuzlacı 2006).

İçerdiği antosiyanin pigmentlerinden dolayı etkileyici kırmızı renge sahip olan kıızılcık, yararlı sağlık etkileri olan yüksek fenolik içeriğe sahip önemli bir meyvedir (Pantelidis 2007, Hassanpour 2011).

Kızılcık; taze tüketilmesinin yanı sıra reçel, komposto, marmelat, pestil ve tıbbi amaçlarla da kullanılmaktadır. Tadı ekşi olan kıızılcık yüksek miktarda C vitamini içermektedir. Kıızılcıktaki antioksidan özellik, C vitamininden kaynaklanmaktadır. Kıızılcık suyu; erik, armut ve elmadan elde edilen meyve suları ile karşılaştırıldığında yaklaşık 10 kat daha yüksek seviyede Ca içermektedir. Ayrıca kıızılcık suyunun K, Na, Fe, Zn ve Mn bakımında da zengin olduğu belirtilmiştir (Demir 2003, Cindrić 2012).

2.1.1 Kızılıcığın faydaları

Yararları saymakla bitmeyen meyvenin yaprağı, ağacının kökü, gövdesi, kabuğu tümüyle şifalıdır (<http://www.nesilgidaimalat.com.tr/turkce/kizilcik.htm> 2013a).

* Anti-aging etkisi: Kızılıcık en önde gelen yaşlanma karşıtı gıdalardan biridir.

* Flavonoidler (İzoflavonlar): Tüm narenciyelerde, üzüm çekirdeğinde, kırmızı şarapta, yeşil çayda, elmada, soya fasulyesinde ve soğanda bulunan en önemli madde flavonoiddir. Bunlar vücut direncini artırır, hastalıklardan korunmamızı ve onlarla baş etmemizi sağlarlar. Vücudumuzdaki iltihaplanmayı önleyen, alerjileri azaltan, kan damarlarını güçlendiren muhteşem antioksidanlardır. Ateşli hastalıklarda ve menopozdaki ateş basmalarında çok rahatlatırlar.

* Antioksidan etkisi: Kızılıcıkta bol miktarda flavanoid (izoflavon), karotinoid ve müthiş bir antioksidan olan melatonin bulunur.

* Karotinoidler: Kırmızı, turuncu, sarı meyvelerin ve koyu yeşil sebzelerin yararları ve canlı renkleri karotinoidlerden gelir. Bildiğimiz en ünlü karotinoid domatesteki likopendir. Günümüzde keşfedilmiş olan 600 çeşit karotinoid var. Bunların hepsi antioksidan etkileriyle tanınırlar. Bağışıklık sistemini güçlendirirler, hastalıklarla savaşırlar, retinayı koruyarak görüşümüzün berrak olmasını sağlarlar. Kalp hastalıklarını, prostat ve akciğer kanserlerini önlerler.

* Kızılıcık zengin bir melatonin kaynağıdır: Beynimizde bulunan epifiz bezi, hava karardıktan sonra melatonin adı verilen bir hormon salgılar. Yaşam ritmimizi ve uykumuzu bu hormona borçluyuz. Uyku beyni dinlendirir, güçlendirir, hücre yenilenmesini sağlar, bağışıklık sistemini, oksidasyonu onarır ve tüm yaşam kalitesini yükseltir. Öte yandan önemli hormonların salgılanmasına yardımcı olur. Birçok bilim adamı melatonin en önemli antioksidan olarak tanımlarlar. Melatonin takviyesi günümüzdeki temel anti-aging tedavilerinden birisi olmuştur. Bu hormonun doktor kontrolünde kullanımı, bağışıklık sistemini ve yaşam kalitesini etkili bir şekilde yükseltir. Melatonin ilaçlarının birçoğu kızılıcıktan yapılır. Uyku sorunları olan kişilere gece yatmadan önce bir bardak kızılıcık suyu içilmesi tavsiye edilir.

* İbni Sina'nın yara ve yanık ilacı: Kızılçık kanın pıhtılaşmasını artırır. Çiğden hazırlanmış kızılçık suyu veya kaynatılarak yapılan kızılçık şerbeti, kan pıhtılaşmasını düzenler. Özellikle şeker hastaları için yararlıdır. Ünlü hekim İbni Sina, yaraları yıkamak için kızılçık suyu; yara ve yanık merhemi yapmak için ağacın kökünü kullanırmış.

* İdrar yolu enfeksiyonları ve böbrek taşlarına karşı doğal destek: Özellikle bayanlar sık sık sistit ve idrar yolu enfeksiyonu geçirirler. Kızılçık bu sorunların tedavisine yardımcı olur. İdrar enfeksiyonlarının çoğuna *Escherichia coli* adı verilen bir bakteri neden olur. Kızılçıkta bulunan benzoik asit, bakterilerin çoğalmasını engeller ve vücudumuzdan atılmasını kolaylaştırır. Kızılçık suyu, şerbeti veya kompostosu idrarımızdaki asit miktarını artırır. Böylece böbrek taşlarının (özellikle kalsiyum taşları) tedavisinde kullanılır.

* Ateş düşürücü ve ishale karşı: Kızılçık kabuğu ateş düşürücü ve güçlü bir ishal kesicidir. 1 yemek kaşığı dolusu taze veya kuru kızılçık ile 1 fincan soğuk su 5 dakika kaynatılıp 15 dakika demledikten sonra süzgeçten geçirilirse ishale karşı ilaç olarak kullanılabilir. 60 g kızılçık ağacı kabuğu 1 litre su ile kaynatılarak, ateşli hastalıkların tedavisinde kullanılabilir. Önceleri bu karışım özellikle sıtmaya karşı kullanılırdı.

Kızılçığın pek çok ticari ürünü bulunmaktadır. Bunlara kızılçık tarhanası, kızılçık marmelatı, meyve suyu, kurutulmuş meyvesi örnek olarak gösterilebilir.

2.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran reaktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikallerin reaktivitesi karşı spin yönünün bir elektron kazanma isteğinden dolayı oluşur (Kayış 2010).

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur.

Çoğu elektronlar çift halde bulunurken, serbest radikal bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Ama sonuçta serbest radikal kendine bir çift elektron alarak elektron çifti haline geçer, diğer elektron serbest radikal olur.

Antioksidanlar ise serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturur. Bağlanan iki serbest radikali birleştirerek nötralize edebilme özelliğine sahip bir enzime (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz vb.) taşınana kadar radikalle stabil bir yapı oluşturur. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler (http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm 2013b).

Serbest radikaller başlıca 3 yolla oluşur (Kayış 2010):

1. Kovalent bağların homolitik bölünmesiyle: Kovalent bağlı molekülün bölünme sonrasında her bir parçasında ortak elektronlardan bir kalır.
2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesiyle: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden tek bir elektron kaybı sırasında dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalarak radikal formu oluşturur.
3. Normal bir moleküle elektron transferiyle: Radikal özelliği bulunmayan bir molekül, tek elektron transferi ile dış orbitalinde ortaklanmamış elektron içeren radikal formuna dönüşür.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşmaktadır ve reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Kayış 2010).

Çizelge 2.2 Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller (Kayış 2010)

Serbest radikaller	
Süperoksit, O_2^-	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, OH	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, RO_2	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, $O^$
Hidroperoksit, HO_2	Peroksinitrit, $ONOO^-$
Nitrik oksit, NO	Hidroperoksit, $L(R)OOH$

2.2.1 Serbest radikal kaynakları

- Hücredeki metabolizma reaksiyonları
- Radyasyon
- Alışkanlık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucular.
- Çevresel ajanlar: hava kirliliği, sigara dumanı, organik çözücüler vs.
- Stres çok önemli bir serbest radikal kaynağıdır. Çünkü stresle **katekolamin** adı verilen hormonların sentezi artar. Bu hormonlar ise serbest radikal üretirler. Bu olay stresin hastalıkların oluşmasındaki rolünün serbest radikaller aracılığı ile olabileceğini göstermesi bakımından önemlidir.
- İltihabi hastalıklarda vücudumuzda beyaz küre (lökosit) adı verilen hücreleri, mikropları öldürmek için serbest radikaller üretirler. Dolayısıyla bir insanda iltihabi hastalıklar çok sık olursa serbest radikal üretimi de fazla olur. O zaman üretilen serbest radikal miktarı vücudumuzun savunma gücünü aşar ve hastalıklara sebep olurlar (<http://www.yiyorumbuyuyorum.com/bir-bilenden-yazilari/serbest--radikaller/makale281.html> 2013c).

2.2.2 Serbest radikallerin zararları

Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini vücudu saran organizmaları yok ederek arttırır. Buna karşın fazla üretildiğinde vücuttaki bazı yerlerde hasara neden olarak hastalıklara yol açar. Serbest radikal reaksiyonlarının neden olduğu hastalıklarda aşağıda belirtilmiştir (<http://www.yiyorumbuyuyorum.com/bir-bilenden-yazilari/serbest--radikaller/makale281.html> 2013c):

Hücre yaşlanması ve hücre ölümü

Serbest radikallerin birinci hedefleri hücre zarlarındaki yağ asitleridir. Bunları parçalayarak hücre zarının tahrip olmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne sebep olurlar.

Kanser

Serbest radikaller vücudumuzun genetik bilgisini taşıyan DNA moleküllerine saldırarak yapılarını bozarlar. DNA'daki genetik bilgi bozulunca hücre kanser hücresi haline dönüşür. Böylece kanser meydana gelir.

Kalp Hastalıkları

Serbest radikaller kan dolaşımında bulunan yağların (LDL'nin) yapısını bozar. Böylece okside LDL adı verilen ve çok zararlı olan bir yağ damlacığı meydana gelir. Damar yatağında bulunan ve kandaki yabancı maddeleri temizlemekle görevli olan makrofaj isimli hücreler LDL de olduğu gibi, bu okside LDL damlacığını da kandan temizlemek için içlerine alırlar. Fakat araştırmalar göstermiştir ki, makrofajlar okside LDL'yi, normal LDL'den daha hızlı içlerine alırlar. Sonuçta bu hücrelerin içi yağ dolar ve şişerek köpük hücre adı verilen hücrelere dönüşürler. Bu hücrelerin şişmesi sonucu damar daralır ve kan dolaşımı yavaşlar. Böylece ateroskleroz (damar sertliği) adı verilen hastalık meydana gelir. Hatta araştırmalar göstermiştir ki, aynı kolesterol seviyesine sahip bazı kişilerde ölüm oranı diğerlerinden çok daha fazladır. Bunun da ox-LDL'den kaynaklandığı anlaşılmıştır. LDL'nin oksidasyonu hem kandaki antioksidanların miktarına, hem de LDL deki yağ asitlerinin yapısına bağlıdır. Oksidasyona en yatkın yağ asidi linoleik asittir.

Şeker Hastalığı

Yapılan çalışmalar, serbest radikallerin şeker hastalığı oluşumunda ve daha sonraki komplikasyonlarının gelişmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Deney hayvanlarında şeker hastalığı oluşturmada kullanılan çeşitli ilaçların serbest radikal oluşturarak, hastalığı oluşturdukları gösterilmiştir. Şeker hastalarının kanında serbest radikallerin, sağlıklı kişilerden daha fazla olduğu da bulunmuştur.

Yaşlanma

Canlıların yaşama süreleri birbirlerinden oldukça farklıdır. Memeliler arasında en uzun ömre insanlar sahiptir. Uzun süre yaşamayı tayin eden biyolojik faktörler hakkında çok çeşitli çalışmalar yapılmış ve teoriler ileri sürülmüştür. Ancak, tek başına kabul edilmiş ve ispatlanmış hiçbir teori yoktur. Aksine yaşlanmanın iç ve dış birçok faktörün ortak etkilerinin bir sonucu olduğu kanaatine varılmıştır. Önceleri yaşama sürelerinin genetik olarak tayin edildiği tahmin edilmiş, fakat hayvanlar ve hücre kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda bazı ipuçları elde edilmesine rağmen böyle bir genin varlığı ortaya konulamamıştır. Gerçekte, deney ortamında çoğaltılan hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda hücre çoğalmasının hücrelerin alındığı insanın yaşı ile ilgili olduğu görülmüştür. Yani, artan yaşla birlikte hücre sayısının ikiye katlanma kapasiteleri azalmaktadır. Daha sonraki çalışmalar, yaşlanmanın iki önemli biyolojik olayın uzun süreli toksik yan etkilerinin bir sonucu olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır. Bunlar gelişme ve farklılaşma olayları ve enerji üreten metabolik olaylardır. Dolayısıyla gelişme hızı yavaşlatıldığında, yaşlanmanın da yavaşlayacağına inanılmaktadır. Yine, yaşlanmanın metabolizma hızı ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Hızlı metabolizmada oksijen tüketimi ve bunun neticesinde serbest radikal üretimi artar. Bunlar da yaşlanmayı hızlandırır. Son yıllarda çalışmalar sonucu bu görüş büyük ilgi toplamıştır. 1956 yılında Harman isimli bilim adamı tarafından ortaya atılan bu teoriye göre “Yaşlanma, normal hayat süresince meydana gelen serbest radikallerin sebep olduğu sebep olduğu yıkımların bir sonucudur.” Buna göre, metabolizmaları hızlı, fazla oksijen tüketen ve bunun sonucu serbest radikal üretimi fazla olan canlılar daha kısa ömürlü olacaklardır. Şüphesiz burada antioksidan savunma sistemleri de önemlidir. Mesela, memeliler içinde en uzun ömre sahip olan insanlarda bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi en yüksek, en kısa ömürlü olan farelerde ise en düşüktür. Hatta

antioksidan savunma sisteminin zamanla yetersiz kalması sonucu insan ömrünün de bir yerde sonlandığı ileri sürülmüştür. Genetik çalışmalar sonucu daha uzun süre yaşamaları sağlanan bazı deney hayvanlarında en önemli değişikliğin antioksidan savunma sisteminde artış olduğu gözlenmiştir. Serbest radikal oluşumunu artıran radyasyon yaşlanmaya benzer bir tablo ortaya çıkarır ve yaşama süresini kısaltır. Buna göre, genç kalmak için antioksidanlardan düzenli bir şekilde alınması tavsiye edilmektedir. Ayrıca, buğday tohumu, kepek, ıspanak, maydanoz, kuşkonmaz, mantar, balık, karaciğer, yulaf ezmesi ve soğanın faydalı olduğuna inanılmaktadır.

Göz Hastalıkları

Göz, aşırı derecede serbest radikal etkisine maruz kalan bir organdır. Çünkü yaşlanma ile birlikte artan oranda ultraviyole ışığın tesirinde kalır. Göz, bu maddelerin etkisine yatkın olduğu gibi yeterli miktarda antioksidan savunma sistemlerine de sahiptir. Serbest radikallerin katarakt ve diğer bazı göz hastalıklarında önemli rol oynayabilecekleri bildirilmiştir.

Akciğerler

Serbest radikaller çeşitli akciğer hastalıklarında da önemli rol oynarlar. Akciğerler hem doğrudan oksijene maruz kalırlar, hem de çevredeki zararlı radikallerin etkisine maruz kalırlar. Özellikle astımda, solunum güçlüğü sendromunda etkilidirler. Dışarıdan akciğerlere giren serbest radikallerin etkisi sonucu akciğerlerde bronşların büzülmesine sebep olan bazı maddeler salgılanır. Ayrıca, serbest radikaller akciğerlere dışarıdan giren zararlı maddeleri ortadan kaldıran bazı maddelerin de fonksiyonlarını bozar.

Kas Hastalıkları

Serbest radikallerin kas hastalıklarında da önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır.

2.2.3 Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar

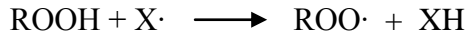
Serbest radikaller vücut dışından gelebileceği gibi insan metabolizmasının doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir. Serbest radikallerin endojen olarak üretimi farklı yollarla gerçekleşmektedir. Serbest radikallerin bu oluşum mekanizmaları aşağıda

verilmiştir (http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 2013e).

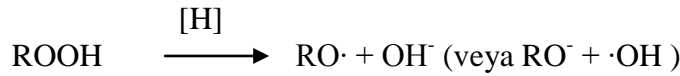
✓ Otoksidasyon

Otoksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonudur. Serbest radikallerin oksijenle reaksiyonu oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için birçok mekanizma tanımlanmıştır. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve fosfolipidler otoksidasyona eğilimlidir. Otoksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu düşünülmektedir. Hidroperoksitlerin bir zincir reaksiyonunu başlatabilmesi için üç temel mekanizma önerilmektedir.

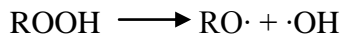
1. Hidroperoksit, zincir reaksiyonuna katılabilecek bir peroksi radikalini (ROO·) oluşturmak üzere bazı kaynaklardan gelen başlatıcı bir radikal (X·) ile reaksiyona girebilir.



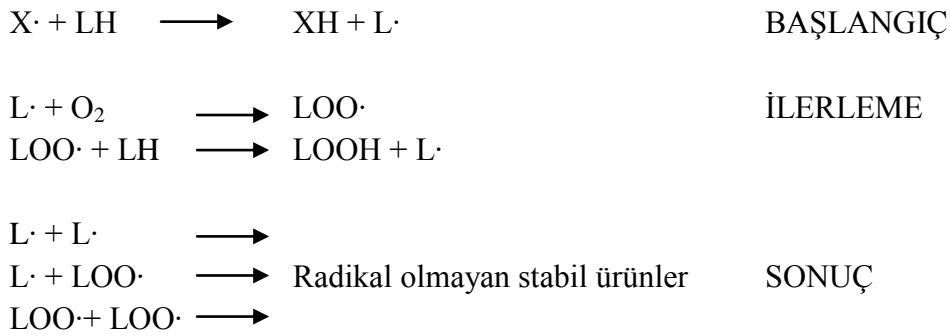
2. Hidroperoksit, bir metal iyonu veya farklı bir indirgenle alkoksi (RO·) radikalini (veya daha az bir ihtimalle hidroksi (·OH) radikalini) oluşturmak üzere indirgenebilir.



3. Diğer mekanizmalara göre daha az önemli olmakla birlikte, yüksek sıcaklıklardan daha ziyade oda sıcaklıklarında hidroperoksitteki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşebilmektedir.



Lipid oksidasyonu; aşağıda gösterildiği şekilde, başlangıç, ilerleme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır. Oksidasyonun başlangıç aşamasında, başlatıcı bir radikal (X·) ile yağ asidi (LH) substratının reaksiyonu sonucu H atomu transferi yoluyla bir lipid radikali (L·) oluşmaktadır. İlerleme aşamasında, oluşan L· radikaline oksijen eklenmesiyle peroksi radikali (LOO·) meydana gelmekte ve bu peroksi radikali diğer bir yağ asidi (LH) molekülünden ayrılan bir hidrojen atomu ile birleşerek tekrar hidroperoksitlere ve yeni lipid radikallerine dönüşmektedir. Sonuç aşamasında ise oluşan radikaller birbiriyle reaksiyona girerek radikal olmayan ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi stabil bozunma ürünlerine dönüşmektedir.



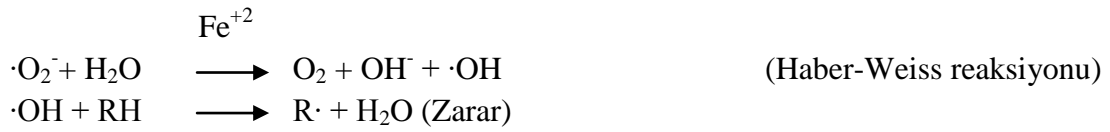
✓ Geçiş Metal İyonlarının Etkisi

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalizör olarak görev yapmaktadırlar. Fe; oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Cu katalizli reaksiyonlar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması; ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Gerçekte tüm canlı hücreler serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir. Birçok metal doğal olarak vücutta kelat oluşturmuş formda bulunur. Örneğin; Cu çeşitli enzimlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya miyoglobin ve hemoglobinin porfirin halkasında bu formda

bulunmaktadır. Kelat oluşumu antioksidan savunma sistemine önemli katkıda bulunmakla birlikte, vücutta travma, toksinler, hastalık gibi çeşitli nedenlerle oksidatif reaksiyonları katalizleyebilen serbest metal iyon formlarına dönüşümler gerçekleşebilmektedir.

Süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), Fe^{+2} katalizörlüğünde H_2O ile reaksiyona girdiği zaman zararlı hidroksi ($\cdot\text{OH}$) radikallerini oluşturan “Haber-Weiss reaksiyonu” meydana gelmektedir.



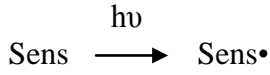
Fe iyonları, hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline dönüştüğü “Fenton-tip reaksiyonları” da katalizlemektedir. Hidroksi radikali ise oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (Miller 1996).



Özellikle yüksek oksijen kullanımı nedeniyle oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları içermekte ve oluşan Fenton-tip reaksiyonlar reaktif oksijen türleri üreterek nöronlara zarar vermektedir. Nispeten düşük antioksidan savunmasına sahip olan beyin dokusu aynı zamanda oksidatif zararlara karşı dokuyu zayıflatan çoklu doymamış yağ asitlerini de yüksek düzeyde içermektedir. Oksidatif strese maruz kalan beyin dokusunda oluşan hasarların beyin iskemisi, hafıza bulanıklığı, Alzheimer, Parkinson gibi birçok sinirsel bozuklukta önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır.

✓ Fotooksidasyon

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak rol oynayan peroksitlerin oluşumu için oldukça önemlidir. Işığın bir molekül tarafından direkt olarak absorpsiyonu, süperoksit anyonu üretebilen elektron transfer proseslerine neden olabilmektedir. Fotosensitize prosesler ise, direkt fotokimyasal reaksiyonlardan muhtemelen daha önemli olup bu tip indirekt oksidasyonlarda sensitizer (Sens) denilen bir molekül ışığı absorbe ederek diğer bazı türlerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonlarda genellikle sensitizerin kendisi tüketilmemekte, ışığı absorbe eden bu molekül aktif forma (Sens•) dönüşmektedir.

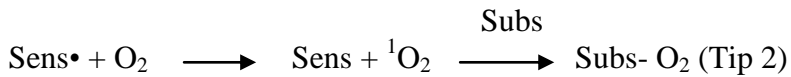


Klorofil-a, feofitin-a, hematoporfirin, hemoglobin, miyoglobin gibi bazı pigmentler ve sentetik bir boya olan eritrosin tekli oksijen üreten fotosensitizerler arasındadır. Fotooksidasyon reaksiyonları Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır.

Tip 1 reaksiyonda; aktif hale geçen sensitizer, substratla hidrojen atomu transferi ya da elektron vermek suretiyle reaksiyona girerek radikalleri üretmektedir. Bu radikaller de oksijenle reaksiyona girerek oksijene ürünleri meydana getirmektedir.



Tip 2 reaksiyonda ise, aktif sensitizer O_2 ile direkt reaksiyona girerek tekli oksijen üretmekte ve bu oksijen de oksijene ürünleri meydana getirmek üzere substratla reaksiyona girmektedir.



Riboflavin gibi flavinler Tip 1 reaksiyonlar için uygun bir sensitizer iken, klorofil gibi porfirinler de Tip 2 prosese uyan ve önemli oranda tekli oksijen üreten sensitizerler arasındadır. Fotoksidasyondan zarar gören başlıca biyolojik hedefler arasında; histidin, metiyonin, triptofan, tirozin ve sistein içeren proteinler ve guanidin içeren nükleik

asitler bulunmaktadır. Ayrıca, yağ asitleri ve kolesterol gibi doymamış bileşiklerin oksidasyonunun gerçekleştiği lipidler de zarar gören başlıca hedefler arasındadır.

✓ **Enzimatik Oksidasyonlar**

Reaktif oksijen türleri, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz ve miyeloperoksidaz gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak da üretilmektedir (www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d).

- **Ksantin oksidaz (XOD)**

Canlı sistemde reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biridir. XOD, pürin katabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine daha sonra da ürik aside okside ederken NAD⁺'ya elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzime dönüşür. XOD'ın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır. Ksantin oksidazın beyinde ödem, iskemi, damar geçirgenliğinde değişkenlik gibi oksidatif hasarlara neden olduğu ayrıca hepatit ve beyin tümörü vakalarında da XOD'ın serum düzeylerinin arttığı aktarılmaktadır.

- **NADPH oksidaz**

Serbest radikal oluşturan bir diğer enzim olan NADPH oksidaz nötrofillerin plazma zarında bulunmaktadır. Mitokondri tarafından alınan oksijenin yaklaşık %1-4'ü süperoksit anyonu üretimi için kullanılır ve üretilen süperoksit anyonunun yaklaşık %20'si hücrelere verilir. Makrofajlar ve monositleri içeren fagosit hücrelerde O₂ alımının artması ile aktiflik kazanan NADPH oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki miktarını artırmaktadır.

- Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO)

Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “Nötrofilik miyeloperoksidaz” enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α 1-antiproteinaz’ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır.

✓ **Halojenlenmiş Hidrokarbonlar**

Serbest radikal meydana getiren diğer olaylar ise; kontamine içme sularında bulunan toksik etkili halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen azot oksitleridir. Karbontetraklorür (CCl_4) ve bromotriklorometan ($CBrCl_3$) gibi hidrokarbonların biyolojik sistemlerdeki oksidatif hasarın başlamasında etkili oldukları bildirilmektedir. Triklorometil, triklorometil peroksil radikalleri gibi oldukça reaktif türler, sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin çeşitli aminoasit ve doymamış yağlarla hızlı reaksiyonu sonucu CCl_4 ’ün metabolizması sırasında üretilmekte ve bunun sonucunda protein denatürasyonları ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır ([www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d](http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16%2013d)).

2.3 Antioksidanlar

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere antioksidan denilmektedir. Antioksidanlar, vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi, gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddedir ([http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d](http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16%2013d), [http://www.sifalibitkiler.us/Bitki_sozlugu/antioksidanlar 2013f](http://www.sifalibitkiler.us/Bitki_sozlugu/antioksidanlar%2013f)).

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan SOD, glutatyon peroksidaz

(GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücrel bölgeden diğere geçişini de önleyebilmektedirler. İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir ([http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d](http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16%2013d))

Çizelge 2.3 Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri ([http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d](http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16%2013d))

Oksidan	Antioksidan savunma
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Egzersiz	Katalaz
Çevre kirleticiler	Glutasyon peroksidaz
Ateşli hastalıklar	Glutasyon
Radyasyon	Ubikinon
Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet	Selenyum
İskemi	Ürik asit
Karsinojenler	E vitamini
	C vitamini
	B-karoten ve diğere karotenoidler

2.3.1 Antioksidan kaynakları

Antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmı beslenme ile (özellikle bitkilerden) alınırken bir kısmını vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir. Vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar; katalaz, glutasyon peroksidaz ve SOD gibi enzimlerdir.

Doğal antioksidan bileşikler (Turhan 2006):

- **Askorbik Asit (C Vitamini):** C vitamini, önemli bir besin ögesi olması yanında, antioksidan özellikleri nedeniyle de önem taşımaktadır. Antioksidan özellikleri çok yönlü olup, lipid oksidasyonunu farklı mekanizmalarla önlemektedir. Bu mekanizmalar serbest radikal ve oksijen yok edici olarak indirgen etkileriyle bazı okside olabilir bileşikleri korumak, daha az reaktif olan semidehidroaskorbat ve dehidroaskorbik asit radikaline dönüşmek suretiyle oksijen ve karbon merkezli radikalleri indirgemek ve bazı antioksidanları rejenere etmek olmak üzere 3 grupta toplanabilir. Kuşburnu, maydanoz, yeşil sivri biber, karalahana, karnabahar, çilek, limon, portakal, greyfurt, kabak, yeşil yapraklı sebzeler (brokoli, ıspanak vb.) en önemli C vitamini kaynaklarıdır. C vitamini çok çabuk oksidize olduğu için pişirirken ve hazırlarken bulunan C vitamininin çoğu işe yaramaz hale gelir. Bu yüzden C vitamini içeren besinlerin hafif pişirilmesi, yenilebiliyorsa çiğ yenmesi ve hazırlarken de kesildikten kısa bir süre sonra tüketilmesi öneriliyor.
- **Alfa tokoferol (E Vitamini):** Özellikle buğday, mısır, darı, pirinç gibi tahıllarda çok bulunur. Bunun dışında ayçiçek yağı, mısırözü yağı, pamukyağı gibi yağlarda, ceviz, badem ve yerfıstığı gibi kuru yemişlerde ve yeşil sebzelerde bulunur. E vitamini aynı zamanda pişirmeye ve sığağa dayanıklıdır, böylece pişirilme esnasında tahrip olmazlar.
- **Karotenoidler:** Karotenoidler, birçok meyve ve sebzede bulunan sarı, turuncu ve kırmızı renk veren pigmentlerdir. Çoklu doymamış yapıları bu pigmentlere kolay okside olabilen ve stabil olmayan bir yapı kazandırmaktadır. Karotenoidler, hidrokarbonlar (α -, β -, γ -karoten ve likopen) ve ksantofiller (lutein ve kapsantin) olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Konjuge çift bağlarından dolayı hem serbest radikal toplayıcı ve hem de singlet oksijen bastırıcılar olarak fonksiyon gösterirler. Karotenoidlerdeki çift bağ sayısı arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır. Karotenoidler içerisinde en etkili antioksidan likopen olup, bunu sırasıyla β -kriptoksantin ve β -karoten izlemektedir. Ksantofiller ise, minimum antioksidan

aktiviteye sahiptirler. Kırmızı, sarı ve turuncu meyveler, kök bitkileri ve sebzeler en önemli karotenoid kaynaklarıdır.

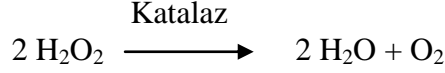
- **Flavonoid:** Birçok meyve ve sebze de yüksek oranlarda bulunan sarı-beyaz pigmentlerdir. Bitkilerin çoğunda bulunan bu antioksidan, yine antioksidan olan C ve E vitamininden çok daha fazla miktarlarda bulunduğu için özellikle meyve ve sebze ağırlıklı bir diyet ile vücuda fazla miktarlarda alınabilir. Elma, çilek, üzüm gibi meyveler, çikolata ve özellikle çay, belli oranlarda flavonoid ihtiva eder.
- **Koenzim q:** Özellikle kanser ve belli nörolojik hastalıklara pozitif etkileri olan koenzim q önemli bir antioksidandır. Vücut tarafından üretilir, diyet yoluyla da alınabilir. Her ne kadar ciğer, kalp ve böbrek gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek oranda bulunsa da, diyete takviye amaçlı alınan koenzim q hapları ile vücuda alınması daha etkilidir.
- **Likopen:** Beta-karoten ve lütein ile aynı ailenin üyesi olan likopen birçok meyveye kırmızı rengi veren maddedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı etkileri ile bağışıklık sistemine olan pozitif etkileri yüzünden uzun süredir gündemde olan bir maddedir. Antioksidan özelliği kanıtlanmıştır. Özellikle domateste çok büyük miktarlarda bulunmaktadır. Prostat ve kalın bağırsak kanserlerinin risklerini büyük oranda düşürdüğü laboratuvar çalışmalarıyla kanıtlanmıştır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan> 2012a).

2.3.2 Antioksidan savunma sistemleri

Serbest radikallerin reaksiyon mekanizmalarının bilinmesi, bu reaksiyonların kontrol altına alınabilmeleri açısından oldukça önem taşımaktadır. Zararlı reaktif türlerin etkileri vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri tarafından kontrol altında tutulmaktadır. Ayrıca, vücudun antioksidan savunma sistemleri aşağıda örneklendirilmiştir (http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d).

✓ Katalaz ve Peroksidaz

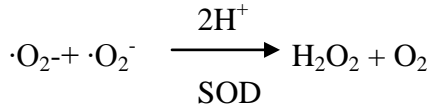
Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir. SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit (H_2O_2), “katalaz” enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir.



Hidrojen peroksit (H_2O_2), biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile spesifik olarak reaksiyona girmemekle birlikte, $\cdot OH$ radikali gibi daha reaktif oksidanların oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır. Peroksidazlar da katalaz enzimiyle aynı özelliklere sahiptir.

✓ Süperoksit dismutaz enzimi (SOD)

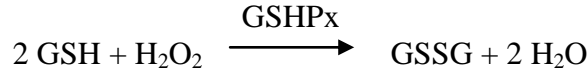
Bu enzim, süperoksit anyonunun ($\cdot O_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir.



Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir katalizdir. Süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$) da, H_2O_2 gibi bir oksidan olarak çoğu organik bileşikle direkt olarak reaktif değildir, ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Tütün bitkisinin yaşlı yapraklarında membran zararlanmasının bir işareti olarak SOD ve katalaz enzim aktiviteleri azalma göstermektedir. Bu iki enzimin aktivitesi ve yapraklardaki lipid peroksidasyonunun derecesi arasında çok açık bir korelasyon belirlenmiştir. Bu enzimlerin, yaprağı lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden korumada önemli rolleri olduğu ileri sürülmektedir.

✓ Glutatyon ve Glutatyon Peroksidaz (GSHPx)

Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilir bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Aktivitesi için Se mineraline ihtiyaç duyan GSHPx enzimi, glutatyon'un indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir.



Glutatyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidroksi ($\cdot\text{OH}$) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir.

2.3.3 Beslenmenin antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi

Vücudun antioksidan dengesi beslenmeden büyük ölçüde etkilenmektedir. Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları zarar görmekte ve yetersiz kalmaktadır. Reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına ve “oksidatif stres” koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; E vitamini, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterince alınmasına bağlıdır. Bu vitaminler birlikte etkin bir şekilde çalışarak hastalık ve hasarlara neden olan serbest radikallerin etkisini yok etmektedir.

E vitamini (tokoferoller), yağda çözünebilir başlıca antioksidanlardan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır. E vitamininin yüksek dozlarda diyeteye ilavesinin LDL düzeylerini önemli

ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir. Askorbik asit de vücudun ekstraselüler sıvılarında bulunan ve suda çözünebilen önemli bir antioksidandır. Vücutta sentezlenemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gerekmektedir. Askorbik asidin indirgen bir ajan olmasının yanı sıra E vitaminini rejenere etme özelliğine de sahiptir. Karotenoidler ise; antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler. Önemli diyet karotenoidlerinden β -karoten; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, likopen; domateste ve lutein; brokoli ve lifli yeşil sebzelerde bulunmaktadır.

Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal kelatör olmaları nedeniyle önemli antioksidanlar arasında sayılmaktadır. Selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi mineraller de koruyucu enzimlerin yapıları ve katalitik aktiviteleri için gereklidir (http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 2013d).

2.4 İkincil Metabolitler

İkincil metabolitler bitkiler tarafından üretilen ve günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan, bitkinin temel yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkisi olmayan, buna karşılık en az bitkinin yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkili birincil metabolitler (protein, yağ, karbonhidrat) kadar önemli olan kimyasal maddelerdir. Bu kimyasal maddelerin önceden hiçbir işe yaramadığı, bitkiler tarafından üretilen atık madde olduğu varsayılıyordu. Ancak daha sonraları bu maddelerin bitkide; savunma, korunma, ortama uyum, hayatta kalma ve nesillerini devam ettirmek için bitkiler tarafından geliştirilmiş oldukça karmaşık mekanizmaların ürünleri olduğu anlaşılmıştır (<http://www.genbilim.com/content/view/3904/34/> 2013g).

Bitkiler alemi oldukça çeşitli ikincil metabolit ürünlere sahiptir. Bu ürünler özellikle farmakolojik bileşiklerin sentezinde kullanılmalarından dolayı önemli ve değerlidir. Bu değerli maddelerin yapıları modern kimya ve özellikle bitki biyokimyasının gelişmesi

ve 20. yüzyılın ortalarında analitik yöntemlerin, özellikle kromatografik yöntemlerin hızla ilerlemeye başlamasıyla birlikte tanımlanmaya başlamıştır (İşlek 2009).

İkincil metabolitlerin bitkideki önemli görevleri şunlardır;

- ✓ Kuraklık, tuzluluk, UV ışınları vb. gibi değişik çevre faktörlerinin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma
- ✓ Herbivorlara (böcek, sürüngen vb.) karşı savunma
- ✓ Mikroorganizmalara (bakteri, mantar vb.) karşı savunma
- ✓ Bazı metabolik ve daha gelişmiş ekolojik işlevler. (Örneğin, tohum dağılımını sağlamak için hayvanları ve diğer taşıyıcıları cezbettirme gibi.)

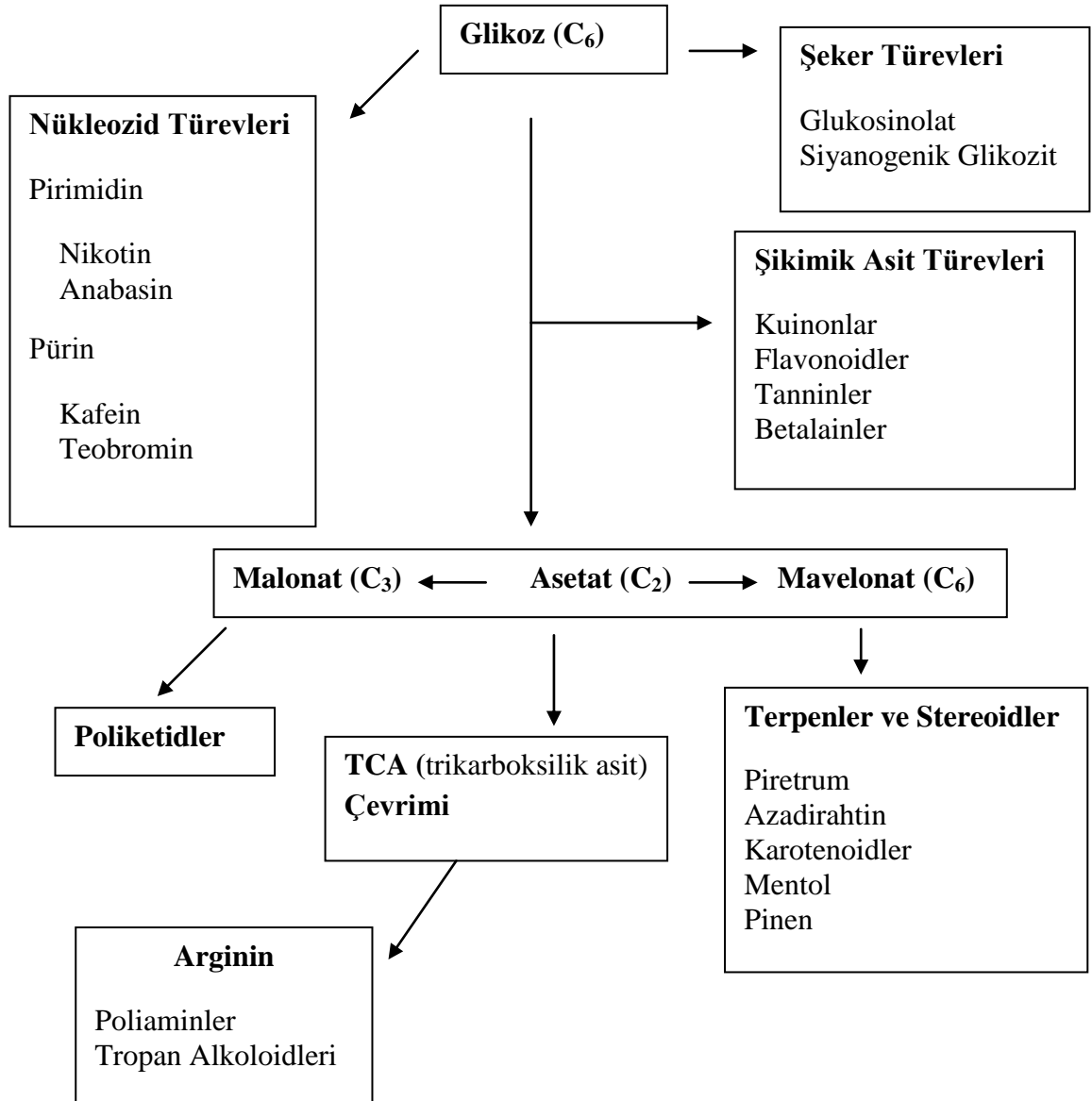
İkincil metabolitlerin günlük hayattaki önemine gelince bu kimyasallar başta ilaç sanayinin hammadde olup kozmetik, besin katkı maddesi, zirai ilaç sanayisinde ve birçok kimya sektöründe kullanılmaktadır (Payne 1991, <http://www.genbilim.com/content/view/3904/34/> 2013g).

İkincil metabolitler, düşük molekül ağırlıklı olmakla birlikte, bitkilerden üretildikleri miktarlar da oldukça düşük (kuru ağırlığın %1'inden daha az) olup, bitkinin fizyolojik durumu ve gelişme aşamasına bağlı olarak sentezlenmektedir. Karmaşık ve özel kimyasal yapılara sahip olan bu maddelerin üretilmeleri, biyotik (genellikle mantarlardan elde edilen) ve abiyotik (ağır metal tuzları, UV, SÖD) stres koşulları tarafından uyarılarak artırılabilmesi önemli bir konudur (Keskin 2007).

Bitkisel kökenli ikincil metabolitler; terpenler, azotlu bileşikler ve fenolik bileşikler olmak üzere üç ana gruba ayrılabilirler. Bu gruplar kimyasal olarak birbirlerinden farklıdır.

2.4.1 İkincil metabolit yolizi

Bitkilerde ikincil metabolit yolizi glikoz ile başlamakta ve çeşitli enzimler aracılığı ile farklı yolizleri üzerinden devam etmektedir. Abiyotik veya biyotik bir stres faktörü ile karşı karşıya kalan bitki, harekete geçen enzimlerin katölizörlüğünde savunma mekanizmasını güçlendirmek için ikincil metabolitleri sentezler. Şikimik asit yolizi sonucunda üretilen flavonoidler önemli fenolik maddelerdendir (şekil 2.2).



Şekil 2.2 İkincil metabolitlerin biyosentetik yolizinin şematik gösterimi (Payne 1991)

2.5 Fenolik Maddeler

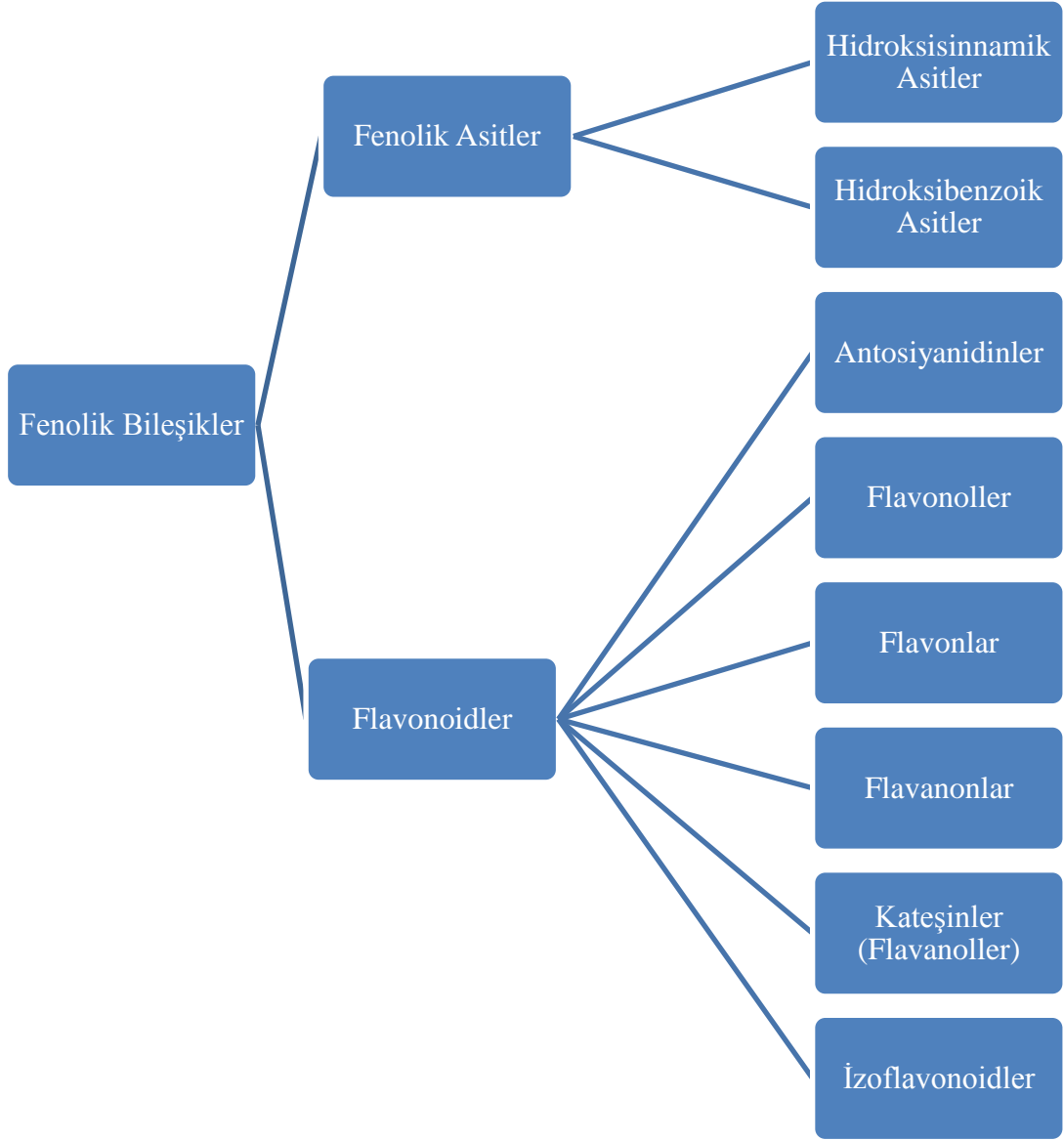
Bütün bitkiler metabolizmalarında, temel yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkisi olmayan, ikincil metabolit olarak çok sayıda fenolik madde oluşturmaktadır. Doğal antioksidan özellik gösteren fenolik maddeler meyve ve sebzelere buruk tat ve kendilerine özgü rengi verirler.

Fenolik maddeler, en az bitkinin yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkili birincil metabolitler kadar önemlidir. Bitkisel kökenli gıdalarda farklı nitelikte ve miktarda çeşitli fenolik maddeler bulunmaktadır. İnsan sağlığı üzerinde önemli etkileri olan, özellikle kanser riskini azaltan fenolik maddelerin incelenmesi oldukça önemlidir.

Fenolik bileşikler;

- Fenolik asitler
- Flavonoidler

olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir. Fenolik bileşiklerin grupları şekil 2.3'te ayrıntılı olarak verilmiştir (Nizamlıoğlu 2010, www.food.hacettepe.edu.tr/turkishouyeleri_gmu428bilesenler_2_fenolikler.pdf. 2013h).



Şekil 2.3 Fenolik bileşik grupları

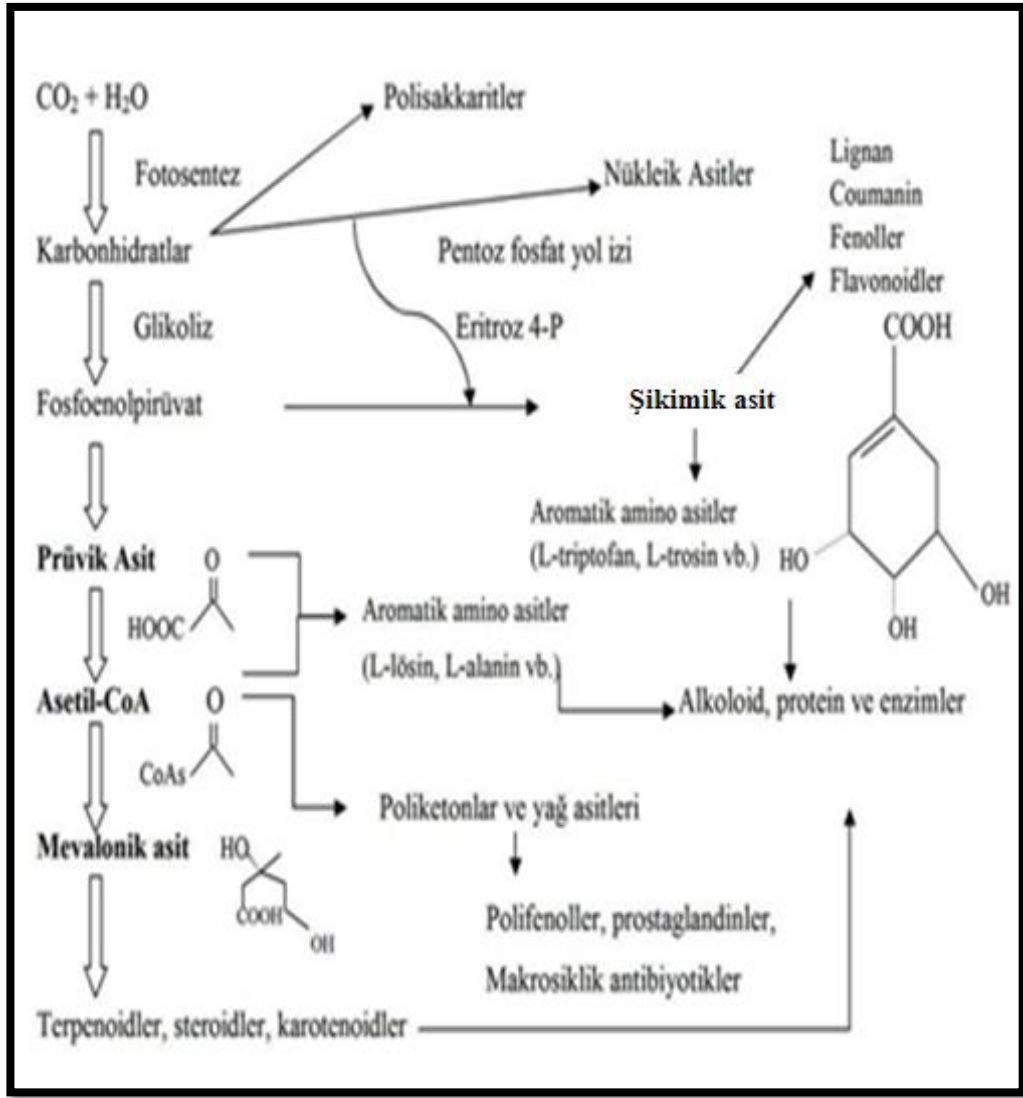
Fenolik bileşikler bitkiler aleminde yaygın ikincil metabolitlerin büyük bir grubunu oluşturup, hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre değişik gruplara ayrılırlar. Polifenollerin en yaygın grubu C6-C3-C6 flavon iskeleti üzerine kurulmuş olan flavonoidlerdir. Doğada 400'den fazla flavonoid tanımlanmış olup, halka yapılarına göre; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, katesinler, antosiyanidinler ve izoflavonoidler gibi isimler almaktadırlar. Ayrıca meyve ve sebzelerde benzoik asit veya sinamik asit türevleri gibi diğer fenolik bileşikler de tanımlanmıştır. Flavonoidler, meyve ve sebzeler kadar tahıllarda da yaygın olarak bulunmaktadır. Flavonoidlerin lipid oksidasyonu

üzerindeki etkileri, peroksi radikalleriyle reaksiyona girmeleri sonucunda elektron transferi yolu ile hidroksil ve süperoksit radikallerini yakalamalarıyla ilişkilidir (www.food.hacettepe.edu.tr/turkis houyeleri/gmu428bilesenler_2_fenolikler.pdf 2013h).

Bitkisel fenolik bileşikler farklı yollardan sentezlendiklerinden metabolik anlamda oldukça heterojen bir gruba oluştururlar. İki temel metabolik yol bulunur; şikimik asit ve malonik asit yolları. Şikimik asit yolu (şekil 2.4) pek çok bitkisel fenoliklerin biyosentezine katılır. Malonik asit yolu bakteri ve funguslarda fenolik ikincil ürünler için önemli bir kaynak oluşturmakla beraber, yüksek bitkilerde daha az önem taşır (www.yavuz.yilmaz.biz/?p=7050 2013ı).

Şikimik asit metabolik yolu glikoliz ve pentoz fosfat yolunda oluşan basit karbonhidrat öncülleri aromatik amino asitlere dönüştürür. Ara ürünlerden biri şikimik asittir ve tüm tepkimeler dizisine, yani metabolik yola, ismi verilmiştir. Geniş spektrumlu ve yaygın kullanımını olan bir herbisit (yabancı ot öldürücü), glifozat (piyasada Roundup adı altında satılmaktadır) bu yoldaki bir basmağı bloke ederek bitkileri öldürür. Bitkiler, funguslar ve bakterilere özgü olan bu metabolik yol hayvanlarda bulunmaz (www.yavuz.yilmaz.biz/?p=7050 2013ı).

Bitkilerde en sık rastlanan fenolik bileşik grupları fenilalaninden türevlenirler. Fenilalanin'den amonyum molekülünün uzaklaşmasıyla sinamik asit oluşur (www.yavuz.yilmaz.biz/?p=7050 2013ı).



Şekil 2.4 Bitkilerin şikimik asit metabolik yolu (Öskay 2009)

2.5.1 Fenolik asitler

Fenolik asitler;

- Hidroksisinnamik asitler
- Hidroksibenzoik asitler

Olmak üzere iki grupta incelenirler.

Hidroksisinnamik asitler: Kafeik asit, kumarik asit

Hidroksibenzoik asitler: Gallik asit, hidroksibenzoik asit (Huykens-Keil 2007)

2.5.2 Flavonoidler (Flavan türevleri)

Flavonoidler yapısal olarak;

- Antosiyanidinler
- Flavonoller
- Flavonlar
- Flavanonlar
- Kateşinler (Flavanoller)
- İzoflavonoidler

olmak üzere altı gruba ayrılırlar.

2.5.2.1 Antosiyanidinler

Doğal antosiyanidinlerin glikozit formuna antosiyanin denilmektedir. Meyve ve sebzelerin kırmızı, bordo, mor, mavi gibi koyu renkleri antosiyaninden kaynaklanmaktadır. Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik bileşiklerin yapısında OH grubu arttıkça mor-mavilik, OCH₃ grubu sayısı arttıkça kırmızı-bordoluk artmaktadır. Başlıca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delphinidin, peonidin ve malvidindir.

Bir şeker molekülü ve kimyasal olarak buna bağlanmış aglikon molekülünden glikozit oluşur. Antosiyanidinler, bitkilerde genellikle serbest formda değil şekerler ile oluşturduğu glikozit ya da antosiyanin formunda bulunurlar. (<http://www.saglikweb.com/tip.sozlugu/glikozitler.asp> 2013i, www.food.hacettepe.edu.tr/turkishouyeleri/mu428bilesenler_2_fenolikler.pdf. 2013h).

Antosiyanidinler ile glikozid bağı yaparak antosiyaninleri oluşturan başlıca şekerler



2.6 Elisitörler

Elisitörler, bitkinin doğal savunma sistemini aktive ederek antimikrobiyal özellikteki bazı bileşiklerin ve etki-tepki mekanizması sonucunda oluşan fitoaleksinlerin birikimini teşvik eder.

Fitoaleksin sentezin başlamasında enzimler etkilidir. Bazen tek bir fitoaleksinin sentezlenebilmesi için 20'den fazla enzime gerek duyulabilmektedir. Enzimleri harekete geçiren ise elisitörlerdir. Fitoaleksin sentezi ve birikimini başlatan faktör, bir patojen etkisine bağlı olarak meydana geliyorsa “biyotik elisitör (uyarıcı)” kavramı ile tanımlanırken; bitki patojen ile bulaşık olsun veya olmasın sinyal molekül etkisi “abiyotik elisitör (uyarıcı)” olarak adlandırılmaktadır (Keskin 2007)

2.6.1 Biyotik elisitörler

Biyotik elisitörlere; polisakkaritler, proteinler, glikoproteinler, bakteri, mantar ve hatta bitkisel kaynaklı hücre duvarı parçalanma ürünleri örnek verilebilir (Erte 2007).

2.6.2 Abiyotik elisitörler

Abiyotik elisitörlere; SÖD, UV ışın, ağır metal iyonları, yaralama, kesme, AlCl_3 , fosetil-Al, ozon örnek verilebilir (Keskin 2007, Erte 2007).

2.6.2.1 Ses ötesi dalga

Ses dalgaları, değişik ortamlar içinde yayınan boyuna dalgalardır. Bu dalgalar her hangi bir ortamda (yani gazlar, katılar veya sıvılar), ortamın özelliklerine bağlı olan bir hızla yayınırlar. Ses dalgası bir ortamda yayılırken; ortamın parçacıkları, dalganın hareket doğrultusu boyunca yoğunluk ve hacim değişiklikleri üreterek titreşirler. Bu parçacık hareketi, dalga hareketinin yönüne dik olan enine dalga hareketindeki durumun tersidir. Ses dalgaları şeklinde ortaya çıkan yer değiştirmeler, denge konumundan itibaren her bir molekülün boyuna yer değiştirmesini gerektirir. Bu sıkışma ve genişleme şeklinde yüksek ve alçak basınç düşmelerine yol açar. Bir mikrofonun diyaframındaki gibi, ses dalgası kaynağı sinüsel olarak titreşirse, basınç değişimleri de sinüsel olur. Frekanslarına göre, boyuna mekanik dalgalar üç gruba ayrılır (Halliday 1992).

Bunlar (Halliday 1992):

- İşitilebilir dalgalar: İnsan kulağının duyarlık sınırı içinde olan ses dalgalarıdır. Bu dalgalar 20 Hz ile 20000 Hz frekansları arasındadır. Bu sesler değişik yollarla yaratılabilir; müzik aletleriyle, boğazdaki ses telleriyle ve hoparlör ile.
- Ses altı dalgalar dalgalar (< 20 Hz); işitilebilir mertebenin altındaki frekansta olan boyuna dalgalardır. Deprem dalgaları bu dalgalara örnektir.
- Ses ötesi dalgalar dalgalar (> 20000 Hz); işitilebilir mertebenin üstündeki frekansları olan boyuna dalgalardır.

SÖD, basınç dalgalarının belirli bir türünü tanımlamak için kullanılırlar. SÖD, taneciklerin birbiriyle etkileşecek kadar yakın olduğu bir ortam içinde, bir cismin titreşim hareketi yapması sonucu oluşurlar. Bu koşullar, sıvılarda, katılarda ve normal ya da yüksek basınçlardaki gazlarda sağlanabilir, ama vakumda ve aşırı seyrek gazlarda sağlanamaz (<http://www.nuveforum.net/1104-genel-araclar/63413-sesotesi-dalgalarolu-smasi-piezoelektrik-transduktorler/> 2012c).

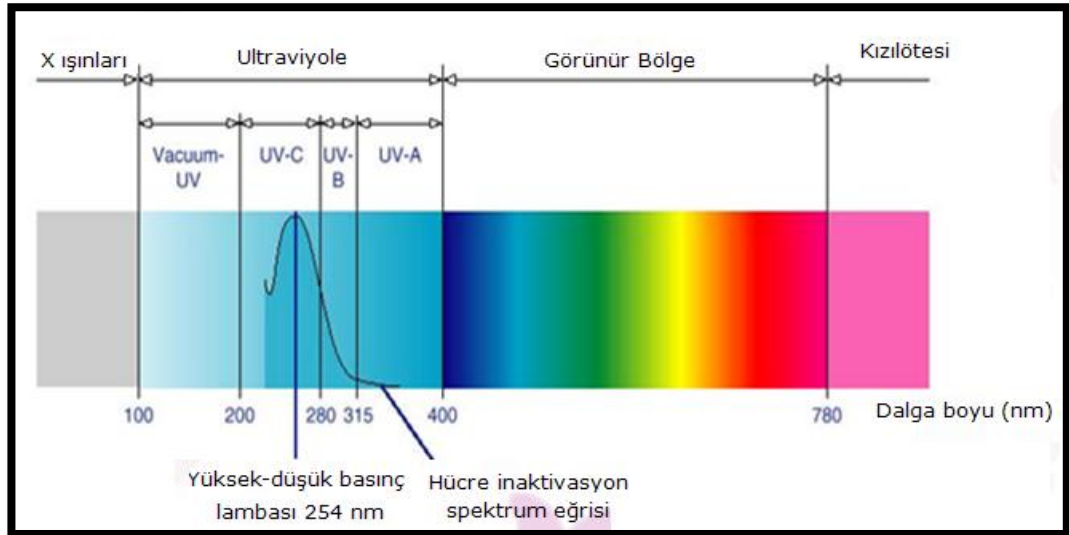
Her ne kadar duyuşal test sonuçlarını olumsuz etkileme ihtimali olsa da, SÖD uygulaması ile bitkideki C vitamini, resveratrol, piseid, antioksidan ve toplam stilben miktarları arttırılabilmektedir. Ayrıca SÖD uygulaması raf ömrünü uzatmada ve meyve kalitesini korumada umut verici bir yöntem olarak düşünölmektedir (Cao 2010).

2.6.2.2 Ultraviyole ışın

Dalga boyu insan gözünün görebildiği ışınlardan daha kısa ancak X-ışınlarından daha uzun olan ışınlara ultraviyole (UV) ışın denir. UV ya da morötesi ışın dalga boyu 100 ile 400 nm arasındaki ışındır. İnsan gözü kırmızı ve mor ışık aralığını görebilir, yani 400 ile 780 nm dalga boyları arasına duyarlıdır. Bunun dışındaki ışınımı algılayamaz. (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Ultraviyole> 2012, <http://www.ultraviyole.net/> 2013k)

Ultraviyole ışın bandı, dört bölgeye ayrılır (şekil 2.5):

1. 400-315 nm arası uzun UV bölgesi (UV-A)
2. 315-280 nm arası orta UV bölgesi (UV-B)
3. 280-200 nm arası kısa UV bölgesi (UV-C)
4. 200-100 nm arası vakum UV bölgesidir. Yüksek enerji içerir.



Şekil 2.5 Elektromagnetik spektrum (<http://www.fokuswater.com/ultraviyoledezenfeksiyon-sistemleri/#.UWctvqIa7ps> 2013l)

Ultraviyole ışınlarının en büyük kaynağı, Güneş'tir. Güneş'ten yayılan enerjinin yaklaşık %9'u, ultraviyole radyasyonudur. Bunun da ancak %14'ü 300 nm'den küçük dalga boylu bölgeye aittir. Güneş'ten gelen ultraviyole ışınların yarısından fazlası, atmosferde tutulur. Öyle ki 300 nm olan küçük dalga boylu ışınlar, yeryüzüne hemen hemen hiç gelmez.

Ultraviyole ışınların etkileri

Bitkilerde henüz tam açıklanamamış birçok sistemde hasara sebep olan UV ışınları bazı fenolik maddelerin (fitoaleksin, flavanoid vb.) biyosentezini harekete geçirdiği, savunma mekanizması ile ilgili olayları başlattığı ve proteinlerin sentezini uyardığı bilinmektedir. Bu sebeplerden dolayı bazı bitkiler için UV başarılı bir elisitördür (Keskin 2007, Huyskens-Keil 2007, Erkan 2008, Wang 2009, Sales 2009, Sales 2010a, Sales 2010b, Eichholz 2011).

Ultraviyole radyasyonları, foto-kimyanın bir bölümünü teşkil eden bazı kimyevî reaksiyonların gerçekleşmesini sağlar. Renklerin Güneş etkisiyle açılması veya solması, bu reaksiyonlara bir örnek gösterilebilir.

Ultraviyole ışınlarının biyolojik etkileri de vardır. 305 nm'den kısa dalga boylu ışınlar, insan cildinde güneş yanığı meydana getirir. Ultraviyole ışınlarının diğer önemli biyolojik etkisi de, insan derisinde ergosterolden D vitamini meydana getirmeleridir. Güneş ışığının bu etkisi, "*raşitizm*" denilen hastalığının önlenmesini veya tedavi edilmesini sağlar. Sedef, deri hücrelerinin hızlı bir büyümesinin neden olduğu bir deri hastalığıdır. Bu durumu UV ışınları önleyebilir. Lupus Vulgaris UV ışınları sayesinde önlenebilen başka bir hastalıktır (<https://sites.google.com/site/uvraysallyouneedtknow/the-benefits-of-uv-rays> 2013)

Toplam ozondaki değişim sonucunda, bulutsuz günlerde, insan derisindeki ultraviyole ışınlarının neden olduğu yanma olaylarında, ozon yoğunluğunda görülen her %1'lik azalmaya karşılık %1.3'lük artış gözlenmiştir. Akut olarak UV-B'ye maruz kalınması güneş yanıklarına, kronik olarak UV-B'ye maruz kalınması ise cildin esnekliğini

kaybetmesine ve deri yaşlanmasının hızlanmasına neden olur. Bazı durumlarda ise güneş ışığına karşı şiddetli alerjik reaksiyonlar kaydedilmiştir.

Birçok insan, güneş ışınlarına çok fazla maruz kalmanın cilt kanserine neden olduğunu bilmektedir. En son yapılan tıbbi araştırmalar UV ışınlarına maruz kalmanın cilt kanserinin yanı sıra diğer cilt problemleri, katarakt, diğer göz problemleri ve bağışıklık sisteminin baskı altına alınması gibi ciddi sağlık problemlerine neden olabileceğini göstermiştir.

UV-B ışınlarına uzun süreli maruz kalınması durumunda; önce insan derisinde bozulma, 40 yaşlarında tümör oluşumu ve 50 yaşlarında ise ileri safhada kanser görülebilmektedir. Ozon yoğunluğunda %10'luk bir azalma olduğunda deri kanserinde %50–80'e varan oranlarda artış görülmektedir. Eğer insanlar 15 yaşından önce yüksek düzeyde UV-B ışınlarına maruz kalmışsa, 30 yaşlarında öldürücü bir deri kanserine yakalanma riski oldukça fazladır. Kanser ile UV radyasyonu arasındaki ilişki, UV radyasyonunun cilt kanserlerinin oluşumu ile ilişkili olduğu kesin olarak belirlenmiştir. (<http://www.frmartuklu.net/bilim-amp-teknoloji/89285-ultraviyole-isininlari-mor-otesi-isininlar.html> 2013j, <http://www.ultraviyole.net/> 2013k)

2.7 Kaynak Araştırması

Kaynak araştırması temel olarak iki ana başlık altında yapılmıştır:

- Kızılcık meyvesiyle yapılan çalışmalar
- Meyvelere elisitör uygulaması

2.7.1 Kızılcık meyvesiyle yapılan çalışmalar

İçerdiği antosiyanin pigmentlerinden dolayı etkileyici kırmızı renge sahip olan kızılcık, yararlı sağlık etkileri olan önemli fenolik içeriğine sahiptir. Bu yüzden doğal kızılcık ürünlerinde fenolik maddeleri tanımlamak, ölçmek ve miktarını artırmak için yapılan

çalışmalar oldukça önemlidir. Kızılcıktaki C vitamini miktarı, portakaldakinin iki katı kadardır. Kızılcıktaki antioksidan özellik, C vitamininden kaynaklanmaktadır. Türkiyede özel bir konuma sahip olan kızılcık, dünyanın hiçbir yerinde Türkiyedeki gibi geniş yetiştirme alanına sahip değildir. Bu nedenle dünya literatüründe kızılcık ile çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

Pantelidis vd. (2007) ahududu, böğürtlen, kuş üzümü, bekaşi üzümü ve kızılcık gibi küçük meyvelerin antioksidan aktivitesini, fenolik bileşenlerini, antosiyanin ve askorbik asit içeriğini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonunda küçük taneli meyvelerin; fenolik bileşenler ve askorbik asit için önemli bir kaynak olduğunu belirtmişlerdir. Kullanılan meyvelerin tümüne aynı analizler yapılmış, en iyi sonuçları kızılcık (*Cornus mas L.*) vermiştir. Kızılcığın antioksidan aktivitesi iki yöntemle belirlenmiştir: demir indirgeme yöntemi (FRAP, ferric reducing antioxidant power) ve deoksibiroz yöntemi (deoxyribose protection). Kızılcığın antioksidan aktivitesi bu yöntemlerle sırasıyla 83.9 $\mu\text{mol AA}$ (askorbik asit)/g kuru meyve ve %98.6 olarak bulunmuştur. Fenolik madde içeriği 1592 mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/100g kuru meyve, antosiyanin içeriği 223mg CG (siyanidin-3-glikozit)/100g yaş meyve, askorbik asit miktarı ise 103mg/100g yaş meyve'dir. Kızılcık çok zengin askorbik asit, antosiyanin, fenolik bileşen ve antioksidan kaynağıdır. Dolayısıyla besin katkı maddesi olarak kullanılması yüksek potansiyele sahiptir.

Tural vd. (2008), bu çalışmada Anadolu'da doğal olarak yetişen kızılcıkların fiziksel, kimyasal ve antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Meyve ağırlığı 0.39-1.03 g, meyve uzunluğu 14.24-22.20 mm, meyve genişliği 9.59-13.21 mm, et/çekirdek oranı 1.34-6.72 arasında değişmektedir. Kuru madde, çözünebilir katı, pH, toplam asitlik, toplam şeker içeriği, indirgenmiş şeker içeriği, indirgenmemiş şeker içeriği, askorbik asit, toplam antosiyanin ve toplam fenolik madde miktarı sırasıyla %15.88-28.19, %12.50-21.00, 3.11-3.53, %1.10-2.53, 76.80-154.00 g kg⁻¹, 52.80-120.00 g kg⁻¹, 0.00-32.30 g kg⁻¹, 0.16-0.88 mg g⁻¹, 1.12-2.92 mg g⁻¹ ve 2.81-5.79 mg g⁻¹ olarak bulunmuştur. FRAP değerleri ise 16.21-94.43 mmol g⁻¹'dir. Kızılcık örneklerinde dominant antosiyanin olarak pelargonidin-3-glukozit tespit edilmiştir.

Kılmanoğlu (2010) yaptığı çalışmada, kıvılcık (*Cornus mas*) ve karayemiş (*Laurocerasus officinalis*) meyvelerinin toplam fenolik madde içeriğini, fenolik bileşimini belirlemiş ve gıda patojenleri *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* Enteritidis üzerine antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Kıvılcık meyve posası ve ekstraktlarının her iki mikroorganizma üzerinde de karayemişe göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinin oluşmasında fenolik madde içeriği kadar fenolik bileşimin de önemli olduğu saptanmıştır. Kıvılcık ve karayemişte toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 412.25 ve 1124.91 mg GAE/100g olarak bulunmuştur. Literatürde bitkiler için bildirilen toplam fenolik madde içerikleri ile karşılaştırıldığında bu meyvelerin iyi bir fenolik madde kaynağı olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca kıvılcık meyvesinde en çok bulunan fenolik bileşiğin antosiyanidin olduğunu belirtmiştir.

Hassanpour vd. (2011) Doğu Azerbaycan ve İran'da doğal olarak yetişen kıvılcığın (*Cornus mas* L.) antioksidan aktivitesi, toplam antosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı, askorbik asit ve toplam flavanoidlerini araştırmışlardır. Kıvılcık genotiplerinin askorbik asit miktarı 183.25-299.5 mg/100 yaş meyve aralığındadır. En yüksek toplam antosiyanin miktarı 442.11 mg CG/100g yaş meyve, toplam flavonoid miktarı ise 669 mg CAT (kateşin)/100 g yaş meyve olarak bulunmuştur. Kıvılcığın metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi sırasıyla Folin-Ciocalteu ve DPPH yöntemine göre belirlenmiştir. En yüksek fenolik madde miktarı 2695.75 mg GAE/100 g yaş meyve, antioksidan aktivitesi %82.37'dir.

Eser (2011), 5 çeşit kıvılcık meyvesinin (*Cornus mas* L.) ve marmelatlarının antioksidan aktivitelerini, toplam fenolik madde miktarlarını, toplam antosiyanin miktarını ve bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini araştırmıştır. Analizler, marmelat örneklerinde 0., 1. ve 2. aylarda yapılmıştır. Kıvılcık meyvesinde antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı, toplam antosiyanin sırasıyla %84.68-94.17, 652.9-1010 µg GAE/mg yaş meyve, 239.2-342.2 mg/100ml olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 4°C'de muhafaza edilen marmelatların özellikle antosiyanin ve fenolik madde içerikleri 20°C'de muhafaza edilen marmelat örneklerinden daha yüksek çıkmıştır. Bu nedenle kıvılcık marmelatlarının 4 °C'de muhafaza edilmesi gerektiği sonucu çıkarılabilir.

Ayrıca bu çalışmada depolama süresi arttıkça besin öğelerinde, nütresötik bileşenlerinde ve kalitesinde azalma olduğu belirlenmiştir.

West vd. (2012), Türkiyede hasat edilmiş ve işlenmiş kıvılcık ürünlerinin antioksidan aktivitesini ve iridoid içeriğini incelemişlerdir. Meyve püresinin (*Cornus mas*) ve meyve suyunun (*Cornus officinalis*) sahip olduğu antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürme, güç indirgeme ve ORAK (oksijen radikali absorbans kapasitesi) yöntemleri ile belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla meyve suyunda %82.32, 30.71 mmol Fe²⁺ mL⁻¹, 22.31 µmol TE mL⁻¹; pürede %73.30, 43.20 mmol Fe²⁺ mL⁻¹, 41.94 µmol TE mL⁻¹'dir. Pürede tanımlanan temel iridoid, 1.67 mg/g derişimle loganik asittir. Meyve suyundaki temel iridoid ise 1.41 mg/g derişimle morronisittir.

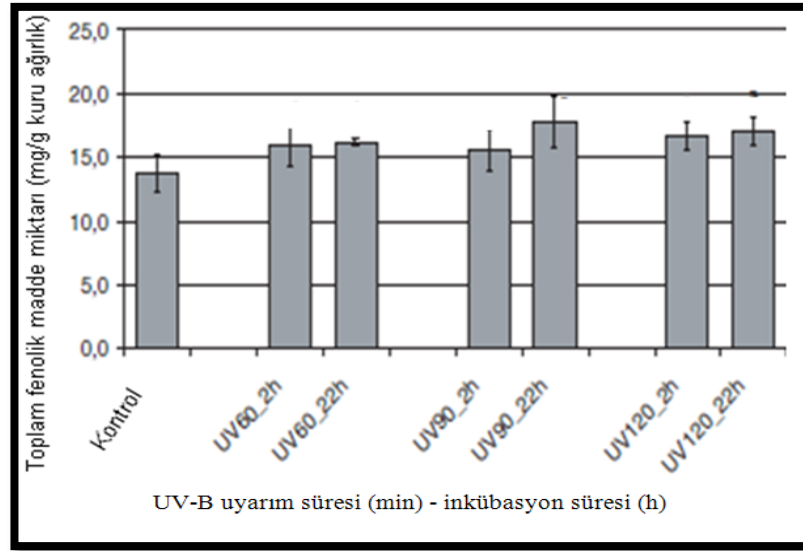
Popovic' vd. (2012), 10 farklı genotipteki kıvılcıkların etanol (%80) ekstraktlarının antioksidan özellikleri ile ilgili çalışma yapmışlardır. Antioksidan özellikleri belirlemek için DPPH, ·NO, O₂⁻ ve ·OH antiradikal güçler (ARP), FRAP, toplam fenolik madde miktarı ve antosiyanin içeriği incelenmiştir. DPPH, ·NO, O₂⁻ ve ·OH radikallerinin tümünde etkili olan en iyi kıvılcık genotipinin NNC-2 olduğu belirlenmiştir. Bu genotipin ARP değerleri sırasıyla 0.798, 0.230, 1.31, 8.30, 0.964'tür. Aynı genotipteki kıvılcığın FRAP değeri 0.435µmol/dm³ Fe⁺²; toplam fenolik madde miktarı 685 mg GAE/100g; antosiyanin içeriği ise 1.468 mg CG/100 g'dır. Yapılan araştırmaya göre fenolik bileşiklerin ve antosiyaninin önemli kaynağı olan kıvılcık yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Doğal bir antioksidan kaynağı olan kıvılcığın; doğal renklendirici ve gıdalarda katkı maddesi olarak kullanımı gelecek vadedmektedir.

2.7.2 Meyvelere elisitör uygulaması

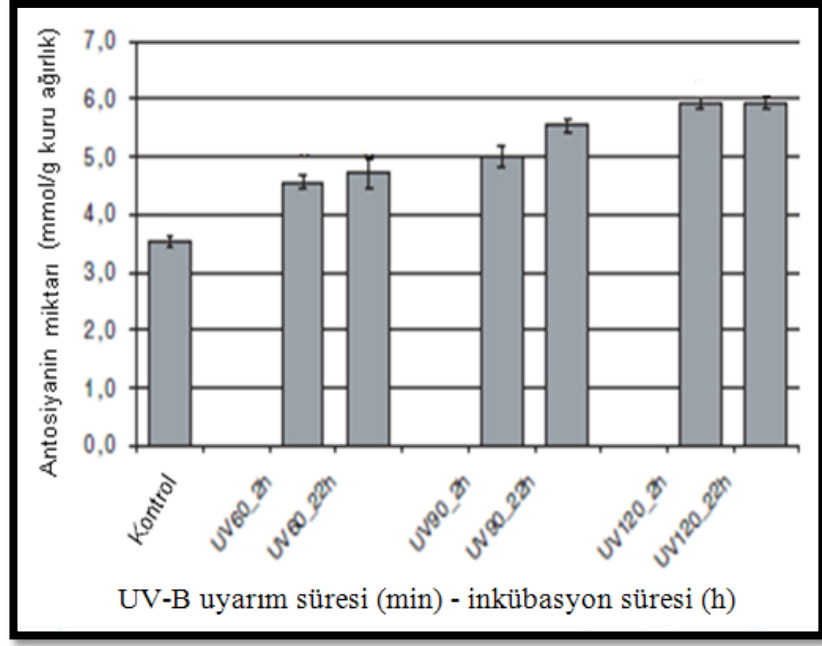
Huyskens-Keil vd. (2007) farklı parametrelerde UV-B uygulaması ile siyah kuş üzümünün toplam fenolik madde miktarındaki, fenolik madde bileşimindeki ve antioksidan aktivitesindeki değişimi incelemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada 8.2 j m⁻²'lik sabit doz ve üç farklı uyarım süresi kullanılmıştır (60 min, 90 min, 120 min). Siyah kuş üzümündeki fenolik bileşikler HPLC ile analizlenirken antioksidan aktivitesi ESR (elektron spin rezonans spektrometresi) ile belirlenmiştir. Siyah kuş üzümünün UV-B

ile uyarılma süresi arttıkça sentezlenen antosiyanin miktarı (%60 artış), flavonol miktarı (%76 artış) ve fenolik madde miktarı (hidroksisinnamik asit: %98, hidroksibenzoik asit: %35) artmıştır. İnkübasyon süresi arttıkça da antioksidan aktivitesinde artış elde edilmiştir. Kısa süreli UV-B uyarımı ile fenolik madde miktarında buna bağlı olarak da antioksidan aktivitesinde artış elde edilmiştir.

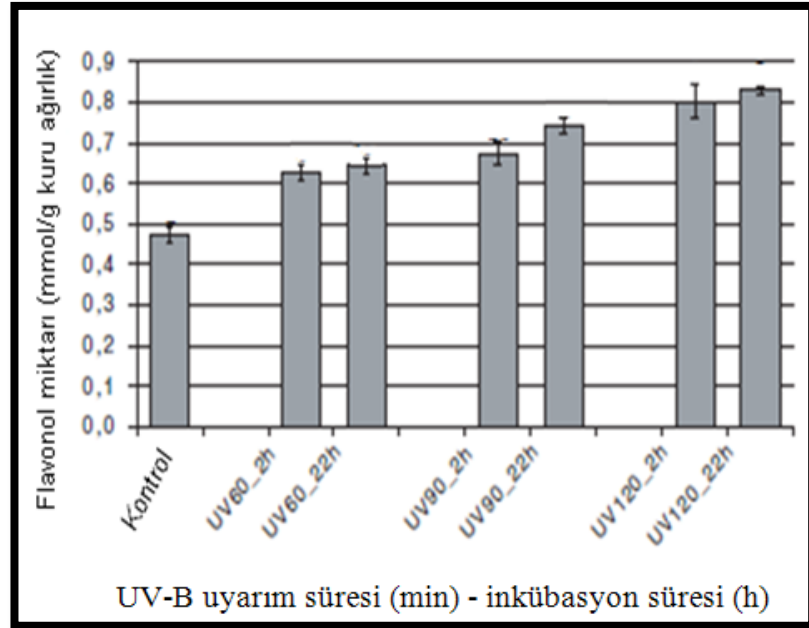
Farklı uyarım ve inkübasyon süresinde UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün toplam fenolik madde miktarındaki, antosiyanin miktarı, flavonol miktarı ve fenolik madde bileşimindeki değişim şekil 2.6, 2.7, 2.8 ve 2.9’da gösterilmiştir.



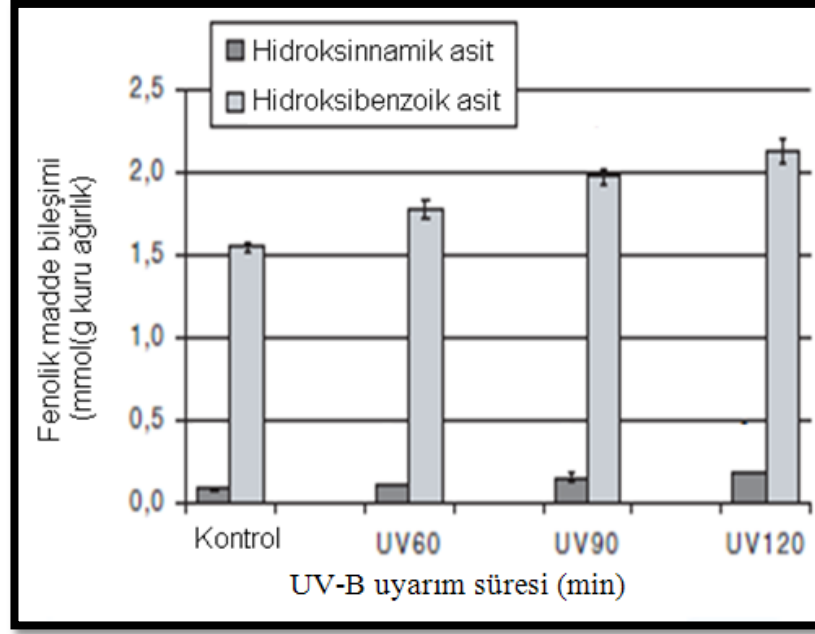
Şekil 2.6 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün toplam fenolik madde miktarındaki değişim (Huyskens-Keil 2007)



Şekil 2.7 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün antosiyanin miktarındaki değişim (Huyskens-Keil 2007)



Şekil 2.8 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün flavonol bileşimindeki değişim (Huyskens-Keil 2007)

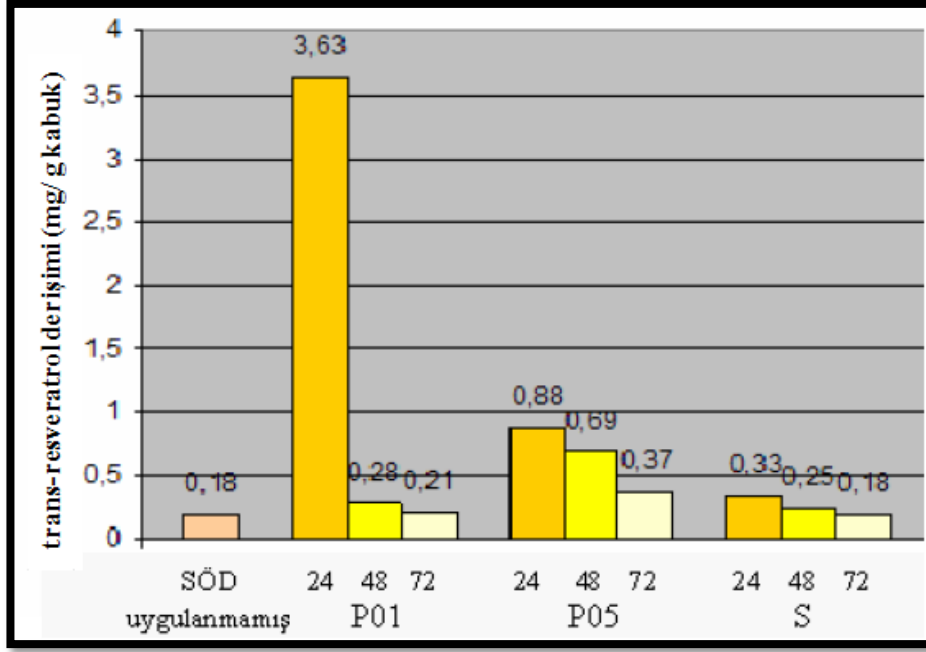


Şekil 2.9 UV-B uyarımı ile siyah kuş üzümünün fenolik madde bileşimindeki değişim (Huyskens-Keil 2007)

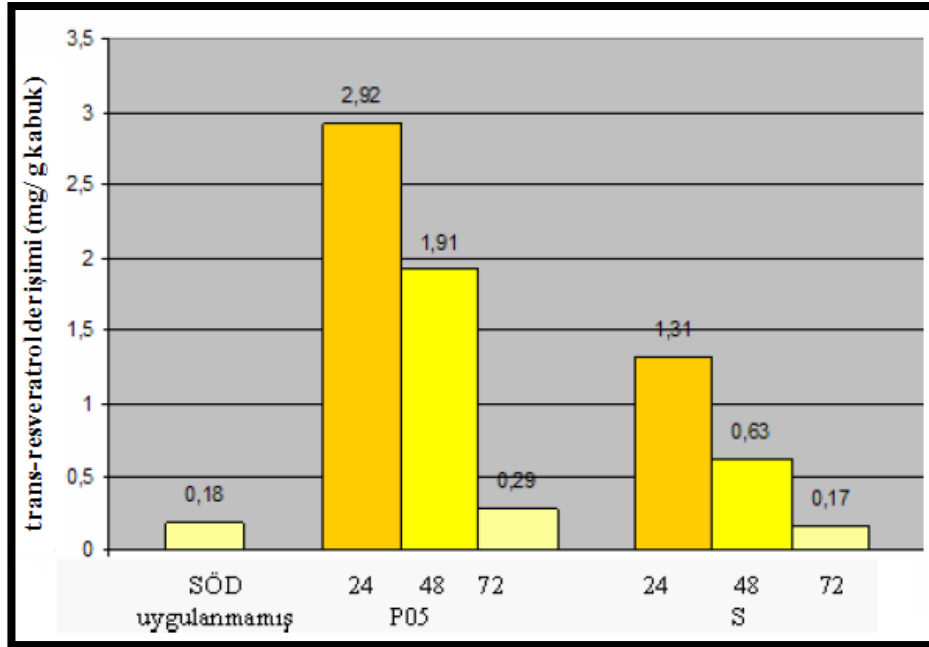
Şekillerden görüldüğü gibi, UV uyarımı ile genelde fenolik bileşik miktarında artış olmaktadır. UV ışınların abiyotik elisitör olarak kullanımının uygun olduğu söylenebilir. Ancak, inkübasyon süresini uzatmanın fazlaca bir yararı olmadığı görülmektedir.

Erte (2007), abiyotik uyarımın siyah üzümde (*Vitis vinifera* L.) trans-resveratrol üretimine etkisini incelemeyi amaçlamıştır. Abiyotik uyarıcı olarak SÖD kullanmıştır. Çalışmasını iki farklı frekansta (20 kHz ve 30 kHz) gerçekleştirmiştir. Dalgalar 10 min ve 1 h süresince periyotlu ve sürekli olarak gönderilmiştir ve 1 h'in daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeleri genellikle olumlu etkileyen SÖD uyarımı ile siyah üzümdeki trans-resveratrol miktarında artış elde edilmiştir.

Siyah üzüm için 20 kHz ve 30 kHz frekanslarda 1 h süresince periyotlu ve sürekli SÖD uyarımının trans-resveratrol miktarına etkisi ve bu etkinin inkübasyon süresi ile değişimi şekil 2.10 ve 2.11'de verilmiştir.



Şekil 2.10 Siyah üzümün 20 kHz frekansta, 1 saat süresince periyotlu (P01 ve P05) ve sürekli (S) SÖD uyarımı sonucunda artan trans-resveratrolün inkübasyon süresi ile (24, 48, 72 h) değişimi (Erte 2007)

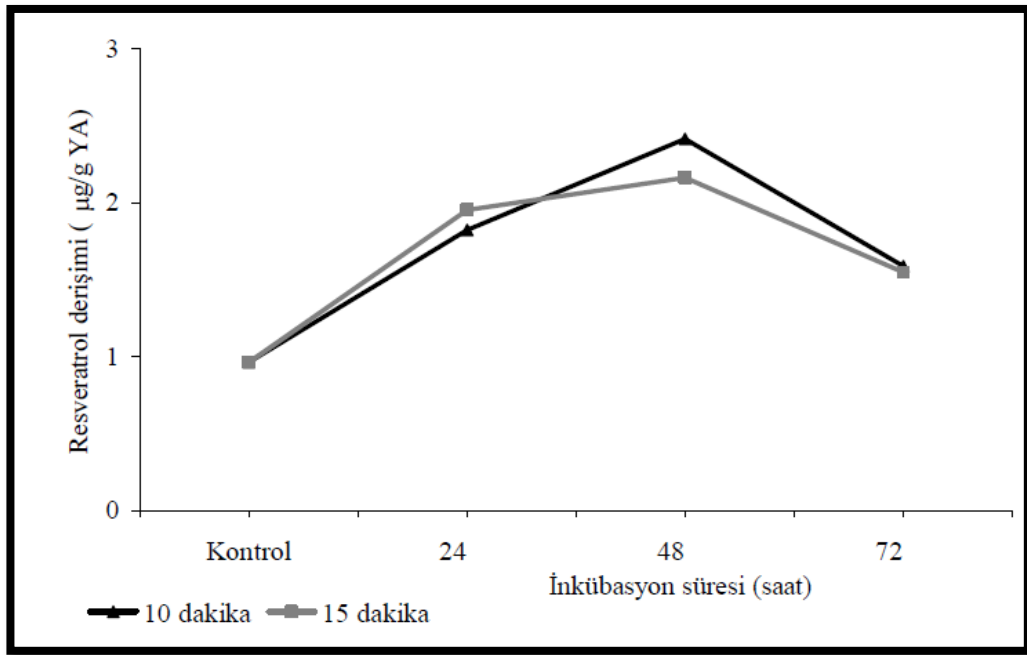


Şekil 2.11 Siyah üzümün 30 kHz frekansta, 1 saat süresince periyotlu (P05) ve sürekli (S) SÖD uyarımı sonucunda artan trans-resveratrolün inkübasyon süresi ile (24, 48, 72 h) değişimi (Erte 2007)

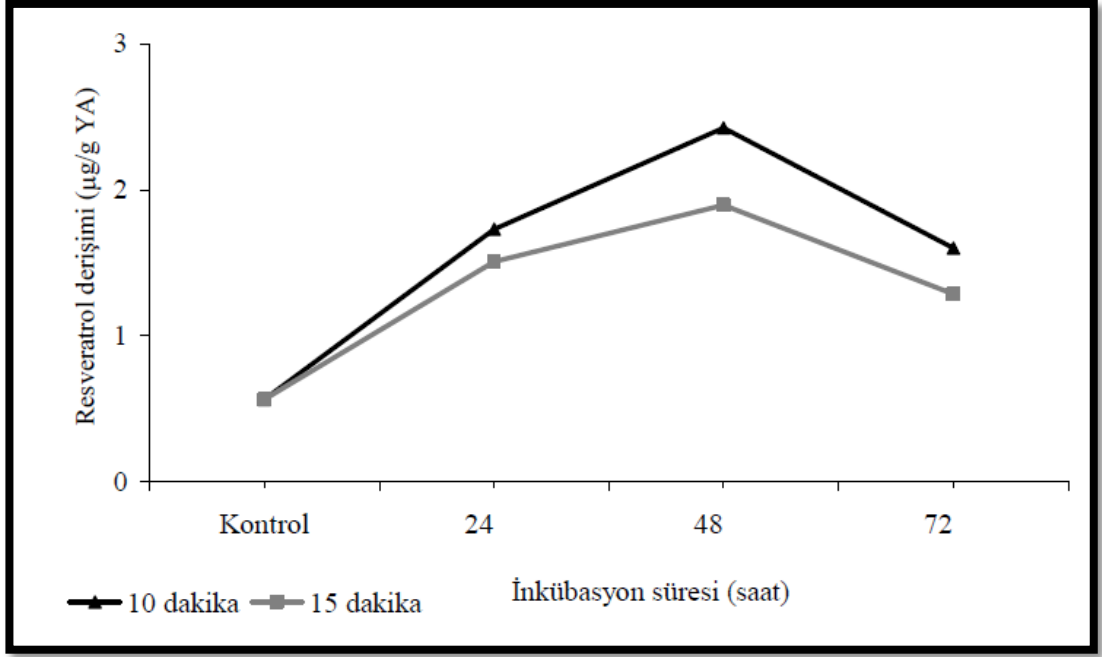
Şekillerden de görüldüğü üzere SÖD uyarımı ile siyah üzümün trans-resveratrol miktarında artış olmaktadır. Siyah üzüm için SÖD uygun elisitördür. Ancak inkübasyon süresini 1 günden 3 güne uzatmak olumlu sonuç vermemiştir. Bu bitki için SÖD uyarımını periyotlu yapmak, sürekli SÖD uygulamasından daha etkili olmuştur.

Keskin (2007), üç farklı üzüm çeşidindeki resveratrol derişimine UV ışın ile uyarımın ve farklı inkübasyon süresinin etkisini araştırmıştır. Çalışmada, 10 ve 15 min süre ile UV ışını uygulamaları ve üç farklı inkübasyon süresi (24, 48, 72 h) sonunda elde edilen trans-resveratrol derişimdeki değişim bulunmuştur.

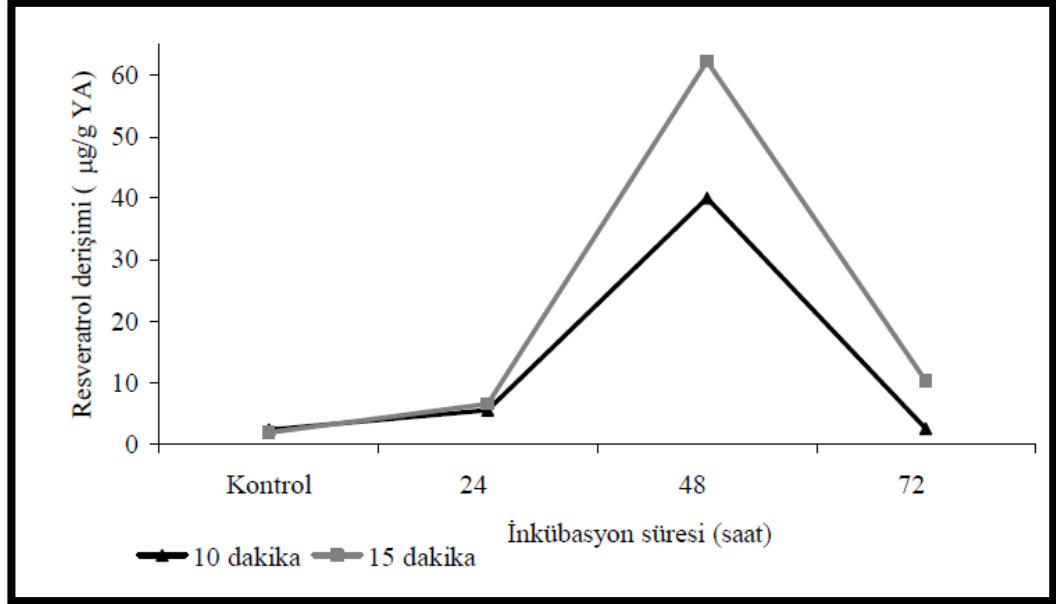
Üzümlerin 10 ve 15 dakika UV ışın ile uyarımının, farklı inkübasyon sürelerinde trans-resveratrol derişimine etkileri şekil 2.12, 2.13 ve 2.14'te verilmiştir.



Şekil 2.12 Çeşit 1'in 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince trans-resveratrol derişimine etkileri (Keskin 2007)



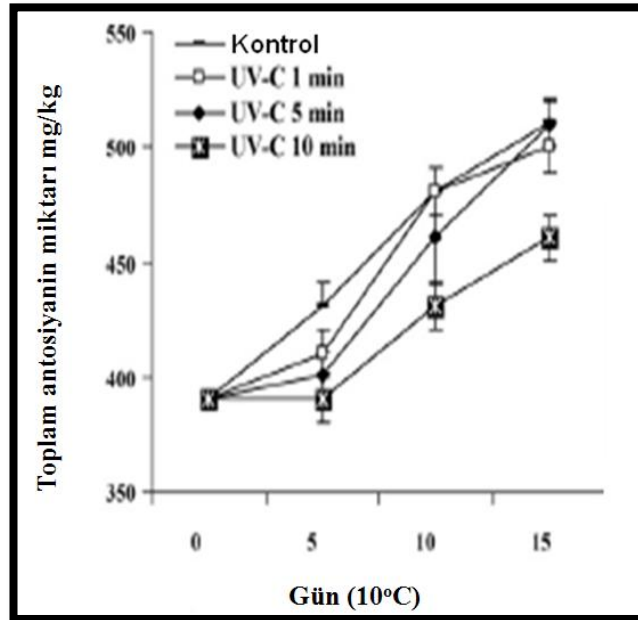
Şekil 2.13 Çeşit 2'nin 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince trans-resveratrol derişimine etkileri (Keskin 2007)



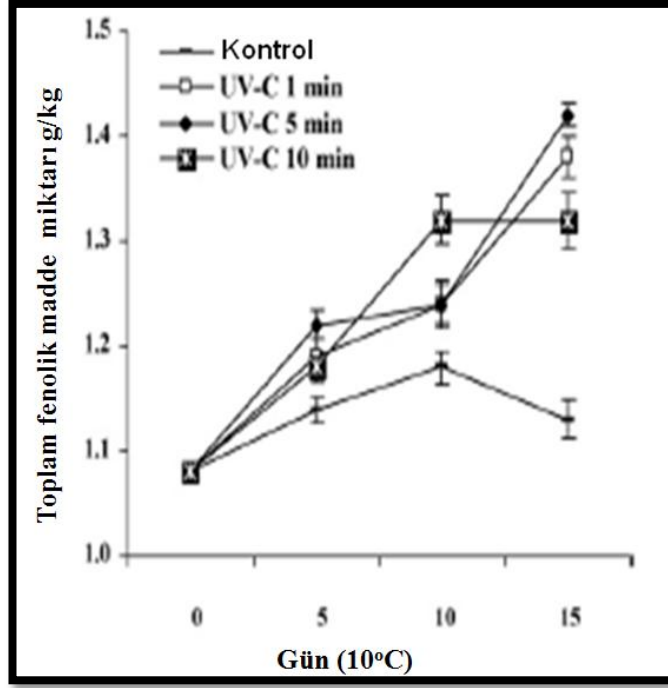
Şekil 2.14 Çeşit 3'ün 10 ve 15 dakika UV ışını uygulamalarının inkübasyon süresince trans-resveratrol derişimine etkileri (Keskin 2007)

Keskin'in çalışmasında, UV ışının önemli bir polifenolik madde olan trans-resveratrolün derişimini artırmada etkili bir elisitör olduğu görölmektedir. Üzüm çeşitlerinde bu etki farklı olmasına karşın, 48 saatlik inkübasyon süresinde trans-resveratrol derişiminde en az 2.5 kat en fazla 60 kat artış meydana gelmiştir.

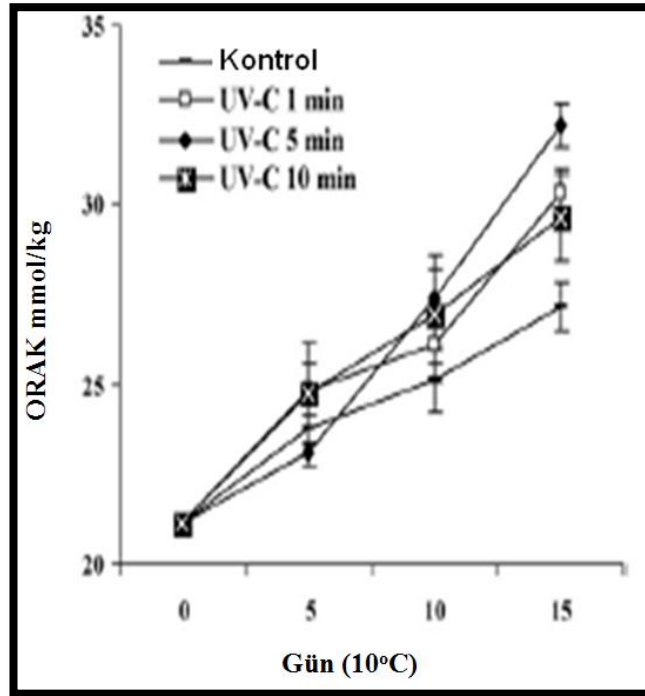
Erkan vd. (2008), farklı UV-C dozları ile uyarılmış çileğin antioksidan kapasitesi, enzim aktivitesi ve çürümesindeki değişimi incelemeyi amaçlamışlardır. Üç farklı UV-C dozu ve uyarım süresi kullanmışlardır [0.43 kJ m^{-2} (1 min), 2.15 kJ m^{-2} (5 min), 4.30 kJ m^{-2} (10 min)]. UV-C uygulanmış çilek, işlem görmemiş çilek ile karşılaştırıldığında antioksidan kapasitesi ve enzim aktivitesinde artış elde edilmiş, meyve çürümesi geciktirilmiştir. Kontrol meyvesinin toplam antosiyanin miktarı 390.8 mg/kg iken bu değer UV-C uyarımından sonra 512 mg/kg 'a çıkmıştır (%31 artış). Toplam fenolik madde miktarı 1.083 g/kg 'dan 1.418 g/kg 'a (%31 artış); ORAK ise 21.11 mmol/kg 'dan 32.21 mmol/kg 'a yükselmiştir (%53 artış). Farklı dozlarda UV-C uyarımının çilekteki toplam antosiyanin miktarına, toplam fenolik madde miktarına, ORAK değerine ve çürümesine etkisi sırasıyla şekil 2.15, 2.16, 2.17 ve 2.18'de verilmiştir.



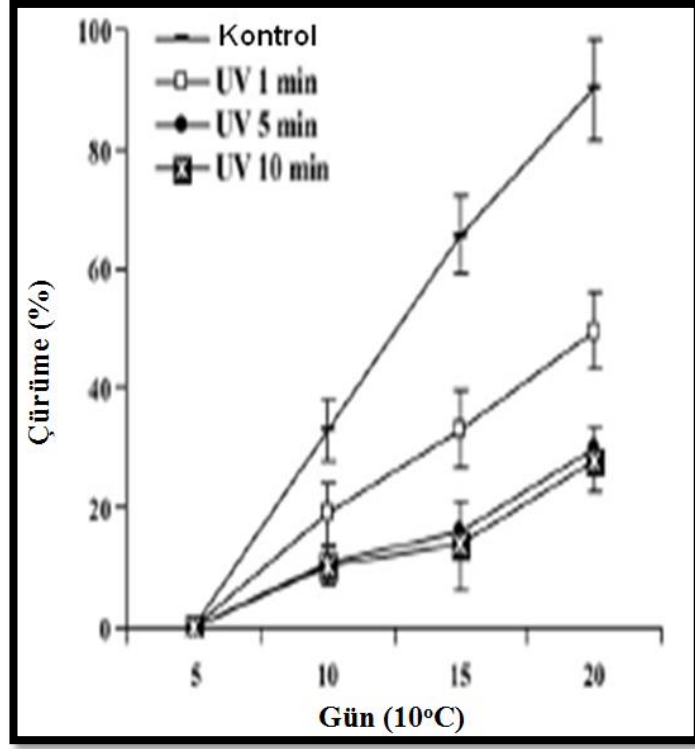
Şekil 2.15 Farklı dozlarda UV-C uyarımının çilekteki toplam antosiyanin miktarına etkisi (Erkan 2008)



Şekil 2.16 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin toplam fenolik madde miktarına etkisi (Erkan 2008)



Şekil 2.17 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin ORAC değerine etkisi (Erkan 2008)



Şekil 2.18 Farklı dozlarda UV-C uyarımın çileğin çürütmesine etkisi (Erkan 2008)

Wang vd. (2009), yaban mersinindeki (*Vaccinium corymbosum* L.) flavonoidlerin miktarında UV-C uygulamasından sonra artış elde etmişlerdir. Kontrol meyvesi ile karşılaştırıldığında 2.15, 4.30 veya 6.45 kJ m⁻² UV-C uygulanmış meyvede antioksidan kapasitesinde, ORAK (oksijen radikal absorban kapasitesi) değerinde, anlamlı bir artış görülmüştür (40.4 µmol TE/g yaş meyve'den sırasıyla 63.2, 59.6, 54.1 µmol TE/g yaş meyve'ye yükselmiştir). 0.43 kJ m⁻² dozda UV-C uygulandığında da fenoliklerde ve antosiyaninde artış olmuştur, fakat bu artış daha az oranda gerçekleşmiştir. Yaban mersinindeki fitokimyasal (bitki kimyası) içeriği arttırmak için optimum doz 2.15 ve 4.30 kJ m⁻²'dir. Bu veriler, UV-C uygulamasının doğru kullanımının yaban mersininin fitokimyasal içeriğini değiştirme yeteneği olduğunu göstermektedir. UV-C uygulanmış meyvelerdeki artış uygulamadan hemen sonra gözlenmiş ve zamanla azalmıştır.

Yaban mersinine değişik dozda UV uyarımının ve inkübasyon süresinin toplam fenolik madde, antosiyanin ve antioksidan kapasitesine etkisi çizelge 2.4 ve 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 2.4 Farklı dozda UV uyarımının yaban mersinindeki toplam fenolik madde, antosiyanin miktarına ve antioksidan kapasitesine (ORAK ve DPPH) etkisi (Wang 2009)

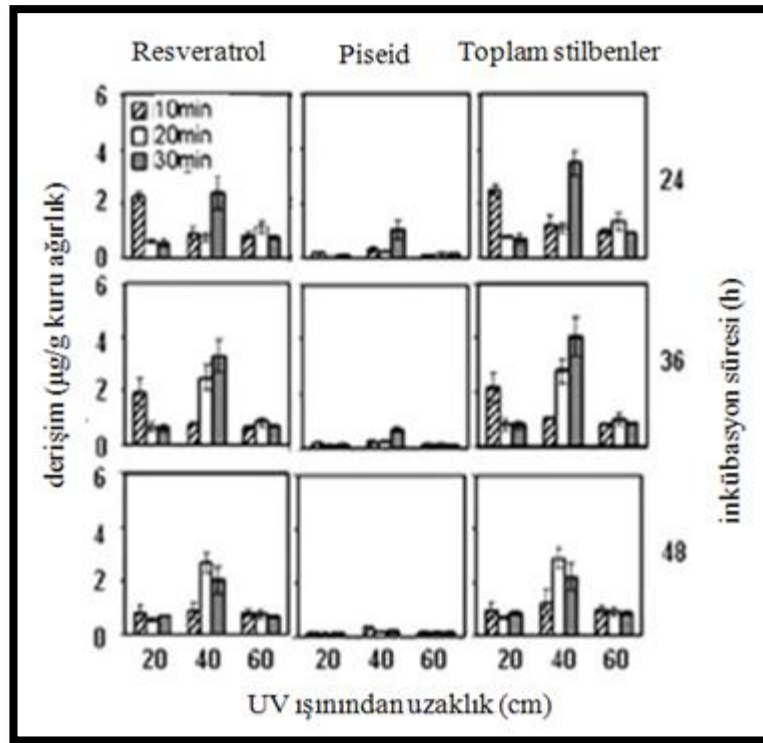
Uygulama (kJ/m^{-2})	Toplam fenolik madde (mg/g taze ağırlık)	Antosiyanin (mg/g taze ağırlık)	ORAK ($\mu\text{mol TE/g}$ taze ağırlık)	DPPH ($\mu\text{mol GAE/g}$ taze ağırlık)
0	3.12	2.02	40.4	30.5
0.43	4.05	2.38	54.4	38.3
2.15	4.97	2.87	63.2	40.8
4.30	4.96	3.11	59.6	43.8
6.45	4.72	2.42	54.1	34.6

Çizelge 2.5 4.30 kJ m^{-2} dozda UV uyarımından sonra yaban mersinindeki toplam fenolik madde, antosiyanin miktarına ve antioksidan kapasitesine (ORAK ve DPPH) 20 °C'ta inkübasyon süresinin etkisi (Wang 2009)

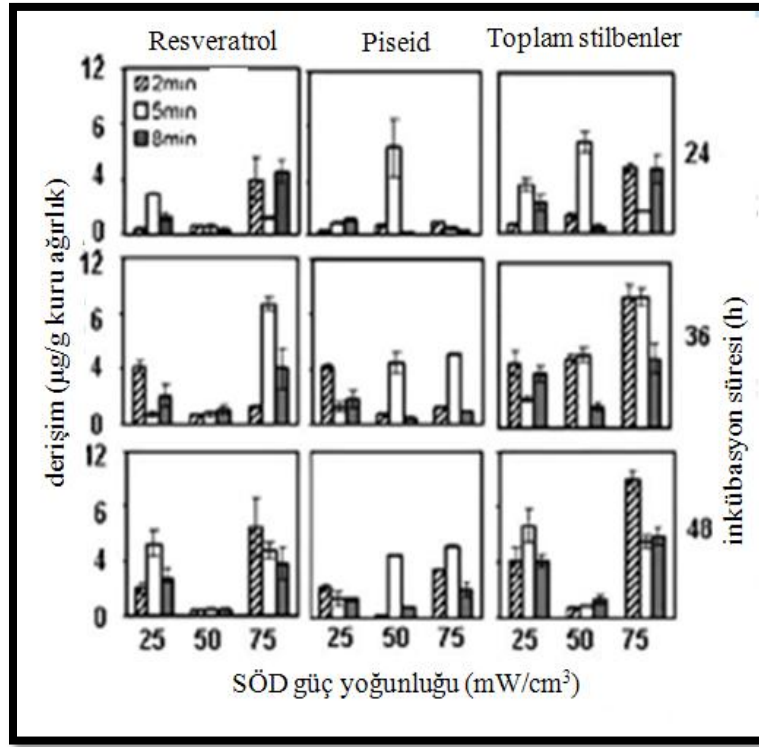
İnkübasyon süresi (h)	Toplam fenolik madde (mg/g taze ağırlık)	Antosiyanin (mg/g taze ağırlık)	ORAK ($\mu\text{mol TE/g}$ taze ağırlık)	DPPH ($\mu\text{mol GAE/g}$ taze ağırlık)
0	4.96	3.12	59.6	43.8
1	4.29	2.65	58.5	37.9
3	3.76	2.57	47.3	34.7
5	3.54	2.48	47.6	34.5
9	3.39	2.29	45.4	33.0
24	3.31	2.13	44.1	32.6

Sales vd. (2009), fıstığın trans-resveratrol, piceid (trans-resveratrolün 3-ss glikoziti), toplam stilbenler ve duyuşal test (*OA: tat ve kokudaki olumlu ya da olumsuz değişiklik*) derişimleri üzerine çeşitli dozlarda uygulanan UV ve SÖD uygulamasının etkilerini, cevap-yüzey yöntemini kullanılarak optimize etmişlerdir. İşlem görmemiş kontrollerle karşılaştırıldığında resveratrol, piceid ve toplam stilbenlerin miktarı artmış, fakat

duyusal test sonucu olumsuz sonuçlanmıştır. UV ile karşılaştırıldığında, SÖD yüksek derişimde stilben bileşenleri üretmiştir, fakat duyusal test sonucu daha olumsuz çıkmıştır. Optimum koşullarda SÖD ile 2.64 - 4.40 µg/g resveratrol ve 4.50 - 6.50 µg/g toplam stilben üretilmiştir. Optimum koşullarda UV ile ise 2.00 - 2.06 µg/g resveratrol ve 2.10 - 2.27 µg/g toplam stilben üretilmiştir. Bir fıstık barı 30 g fıstık içeriyorsa, SÖD uygulanmış 3-5 bar fıstık ile UV uygulanmış 6 bar fıstık bir porsiyon (140 mL yani bir bardak) kırmızı şarap ile aynı miktarda resveratrol içerir. Farklı dozda UV uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve UV uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piceid ve toplam stilbenlere etkisi şekil 2.19'da; farklı dozda SÖD uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve SÖD uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piceid ve toplam stilbenlere etkisi şekil 2.20'de verilmiştir.



Şekil 2.19 Farklı mesafelerden UV uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve UV uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piceid ve toplam stilbenlere etkisi (Sales 2009)



Şekil 2.20 Farklı güç yoğunluğunda SÖD uygulaması, inkübasyon süresi (25 °C) ve SÖD uygulama süresinin fıstıktaki trans-resveratrol, trans-piseid ve toplam stilbenlere etkisi (Sales 2009)

Sales vd. (2010a), farklı dozlarda UV ve SÖD'nın toplam fenolik madde (TF), troloks eş değer antioksidan kapasitesi (TEAK) ve oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAK) yöntemleriyle antioksidan aktivitesini ve uyarılmış fıstıkların genel duyuşal test sonuçlarını araştırmışlardır. UV ve SÖD için optimum proses parametreleri cevap-yüzey yöntemi ile belirlenmiştir. Uyarılmış fıstıkların TF, TEAK, ORAK ve toplam antioksidan aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bütün uyarılmalarda OA değeri düşmüştür. Toplam antioksidan miktarının artmasında SÖD, UV'den daha etkilidir. İnkübasyon süresi 36 saat iken optimum SÖD parametrelerinde sonuçlar şöyledir: AA $\geq 68\mu\text{m TE/g}$, TF $\geq 1.51 \text{ mg GAE/g}$, TEAK $\geq 2.76\mu\text{m TE/g}$ ve OA ≥ 5 (fıstıkların lezzetinde olumlu ya da olumsuz bir değişim meydana gelmemiştir).

UV ve SÖD uygulanmış fıstığın toplam fenolik madde miktarı ve ORAK toplam antioksidan kapasitesindeki değişim çizelge 2.6 ve 2.7'de verilmiştir.

Çizelge 2.6 UV uygulanmış fıstığın toplam fenolik madde miktarı ve ORAK toplam antioksidan kapasitesi (Sales 2010a)

UV Uygulaması için proses parametreleri		TF (mg GAE/g)			ORAK ($\mu\text{mol TE/g}$)		
		İnkübasyon Süresi (h) 25 °C					
		24	36	48	24	36	48
Mesafe (cm)	Uyarım süresi (min)						
20	10	1.58	1.43	1.63	49.60	48.76	53.44
	20	1.66	1.62	1.51	50.67	54.97	42.52
	30	1.56	1.59	1.53	48.44	44.83	46.02
40	10	1.54	1.38	1.38	81.81	52.26	62.21
	20	1.62	1.69	1.57	51.52	43.04	72.30
	30	1.82	1.57	1.62	100.02	52.38	46.18
60	10	1.58	1.63	1.58	50.38	40.77	45.09
	20	1.54	1.47	1.50	32.65	49.35	43.22
	30	1.62	1.50	1.54	40.04	39.21	42.41

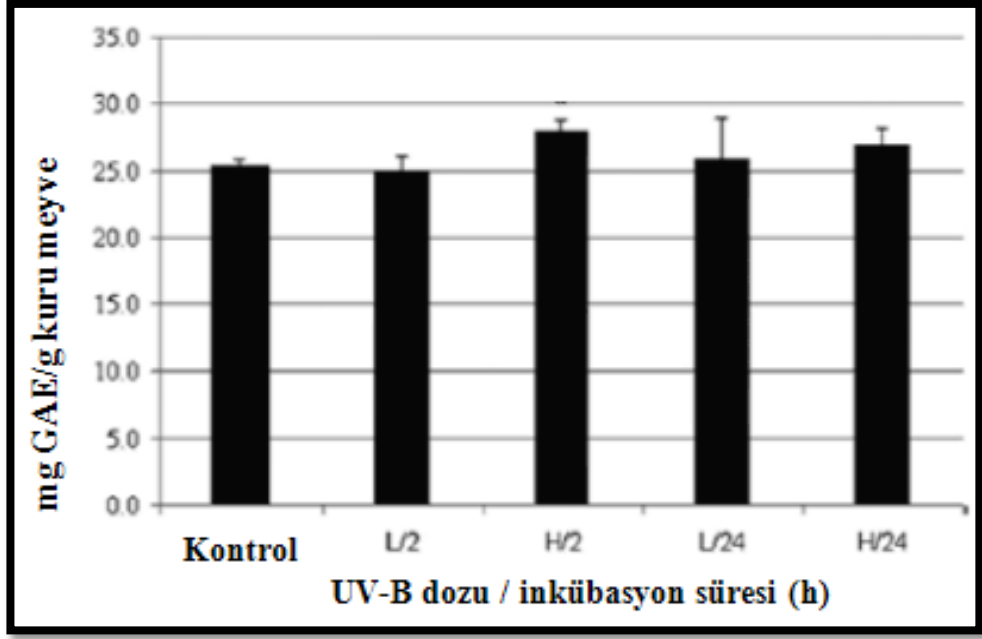
Çizelge 2.7 SÖD uygulanmış fıstığın toplam fenolik madde miktarı ve ORAK toplam antioksidan kapasitesi (Sales 2010a)

SÖD Uygulaması için proses parametreleri		TF (mg GAE/g)			ORAK ($\mu\text{mol TE/g}$)		
		İnkübasyon Süresi (h) 25 °C					
		24	36	48	24	36	48
Güç Yoğunluğu (mW/cm^3)	Uyarım Süresi (min)						
25	2	1.74	1.37	1.76	78.37	78.97	81.33
	5	1.28	1.72	1.48	81.86	75.23	77.83
	8	1.50	1.42	1.53	83.37	66.41	70.24
50	2	1.23	1.86	1.18	64.12	64.09	96.12
	5	1.46	1.34	1.76	97.92	96.92	59.41
	8	1.60	1.58	1.44	88.01	67.59	82.35
75	2	1.26	1.31	1.39	50.22	82.73	66.95
	5	1.27	1.89	1.22	50.00	86.61	58.82
	8	1.56	1.71	1.71	65.74	58.54	55.02

Sales vd. (2010b) trans-resveratrol içeren fenolik antioksidan bileşiklerinin kanser ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığını ve yaşlanmayı geciktirdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada SÖD ve UV uygulamasının birleştirilmesi (SÖD-UV) ile fıstıktaki antioksidanların ve fenoliklerin artışlarının ölçülmesi, proseslerin karşılaştırılması ve optimum parametrelerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarındaki SÖD veya UV'nin tek tek uygulamalarından elde edilen artış ile karşılaştırıldığında, SÖD-UV birlikte uygulaması maksimum artış göstermiştir. SÖD-UV'nin birlikte uygulanması sonucunda trans-resveratrol derişiminde, yalnızca SÖD uygulamasından elde edilen sonucun 1.3 katı, yalnızca UV uygulamasından elde edilen sonucun 2.3 katı artış gözlenmiştir. Bu çalışmada, fıstıktaki resveratrol miktarının arttırılmasında, UV ve SÖD'nin sinerjik etkisinin (eş etkisinin) önemi vurgulanmıştır.

Kındır (2010), farklı şarap ve üzüm suyu proseslerinin atıklarında abiyotik elisitör olarak SÖD ile trans-resveratrol üretim verimi ve antioksidan aktivitelerini arttırmayı amaçlamıştır. SÖD uygulama süresi, kurutma, öğütme, eleme ve saklama işlemlerinin posaların trans-resveratrol içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Her bir örnek için iki farklı periyotta (%1, %10) SÖD uygulaması farklı sürelerle (10 min, 1 h) yapılmış, uygulama sonrasında 1, 2, 3 ve 7 gün inkübasyon süreleri sonundaki trans-resveratrol derişimleri ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. SÖD uyarımı ile trans-resveratrol artışı çok yüksek olmamıştır ve antioksidan aktivitesinde artış elde edilmemiştir.

Eichholz vd. (2011) yaban mersininin (*Vaccinium corymbosum* L.) toplam fenolik madde miktarına ve uçucu metabolitlerin profiline UV-B uyarımının etkisini incelemişlerdir. UV-B uyarımı iki farklı dozda [0.075(L), 0.150(H) Wh/m²] ve iki farklı inkübasyon süresinde (2, 24 h) gerçekleştirilmiştir. Uyarım yapılmamış yaban mersininin toplam fenolik madde miktarı 25.5 mg GAE/g kuru meyve (5 mg GAE/g yaş meyve)'dir. Uyarım ile fenolik madde miktarında artış elde edilmiştir ve en iyi sonuca 0.150 Wh/ m²'lik uyarımdan sonra 2 h inkübasyona bırakılmasıyla ulaşılmış olmasına karşın, fenolik madde miktarında kayda değer bir artış elde edilememiştir. Yaban mersininin fenolik madde miktarının farklı UV-B dozlarında ve farklı inkübasyon süresi ile değişimi şekil 2.21'de verilmiştir.



Şekil 2.21 Yaban mersininin fenolik madde miktarının farklı UV-B dozlarında ve farklı inkübasyon süresi ile değişimi (L/2; 0.075 Wh/ m², 2h ve H/24; 0.150 Wh/ m², 24 h) (Eichholz 2011)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışması kapsamında yapılan araştırmalar ve deneyler 2010 – 2013 yılları arasında yürütülmüştür. Çalışmalar temel olarak Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü laboratuvarları olanaklarından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasında kullanılan materyaller ve izlenen yöntemlerle ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

3.1 Materyal

Çalışma; kırmızı – bordo renge sahip, eliptik şekilli semt pazarından temin edilen kızılçık üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.1’de üzerinde çalışılan kızılçığın görünüşü yer almaktadır.



Şekil 3.1 Olgunlaşmış kızılçığın görünüşü

3.2 Yöntem

Bu çalışma kapsamında -18 °C'ta depolanan kızılçık, analiz öncesinde dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığında erimeye bırakılmıştır. Analize hazır hale gelen meyvenin boyutunu küçültmek ve ortamı homojenleştirmek amacıyla mekanik homojenizer ile posası hazırlanmış ve ekstraksiyona hazır hale getirilmiştir.

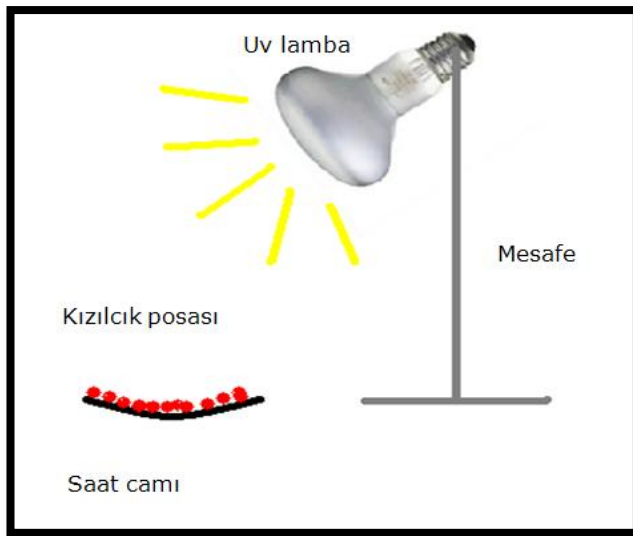
3.2.1 Elisitör uygulanması

Homojen hale gelmiş kızılçık posası üzerine bir miktar saf su ilave ederek (7 g posa + 42 ml saf su) SÖD uyarımı için 100 ml hacimli ceketli cam reaktöre yerleştirilmiştir. Tepkime ortamını sabit sıcaklıkta tutmak için ultrasonik homojenizerler ile yapılan uyarımlarda soğutmalı sirkülatör kullanılmıştır. 10 dakikalık uyarımda reaktör sıcaklığında önemli bir değişiklik olmazken 1 saatlik uyarım sonunda sıcaklık 32 °C'ye yükselmiştir. 20 kHz, 30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizerler ile periyotlu (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) olarak ve 40 kHz frekanslı ultrasonik banyo ile sürekli olarak 10 dakika ve 1 saat süreyle uyarılmıştır. 20 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer (probe çapı: 19 mm) 400 W gücündedir. Uyarımlar %25 genlikte gerçekleştirilmiştir. 30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer (probe çapı: 7 mm) 100W gücündedir. Uyarımlar %100 genlikte gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik homojenizerlerin enerji yoğunlukları EK 1'de verilmiştir. SÖD uyarımının yapıldığı deney sistemi şekil 3.2'de görülmektedir.



Şekil 3.2 SÖD uyarımının yapıldığı deney sistemi

UV uyarımı için bir miktar posa (10 g) saat camına ince bir tabaka halinde yayılarak deney başlatılmıştır. UV uyarımı, dalga boyu 254 nm olan lambanın iki farklı mesafesinde (20 cm, 40 cm) gerçekleştirilmiştir. Uyarımlar 10 dakika ve 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. UV uyarımının şematik gösterimi şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3 UV uyarımının şematik gösterimi

SÖD ve UV uyarımları (ayrı ayrı ve birlikte) bitiminde örnekler 10 dakika, 1 saat, 12 saat, 1 gün, 2 gün, 3 gün, 5 gün ve 7 gün süreyle oda sıcaklığında, azot atmosferinde ve karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda Pantelidis vd. (2007) tarafından belirlenen yöntemle göre kızılçık ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 Ekstraksiyon çözücüsünün seçimi

Yapılan literatür taramasında kızılçık, çeşitli çözücülerle ekstrakte edilmiştir. Bunlardan bazıları metanol, metanol-su ve etanoldür (Pantelidis 2007, Yılmaz 2008, Tural 2008, Hassanpour 2011).

Pantelidis vd. (2007)'ye göre belirlenen yöntemle bazı modifikasyonlar uygulanarak kızılçık ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yayın taraması sırasında karşılaşılan ve kullanılan yöntem EK 2 ve 3'te verilmiştir.

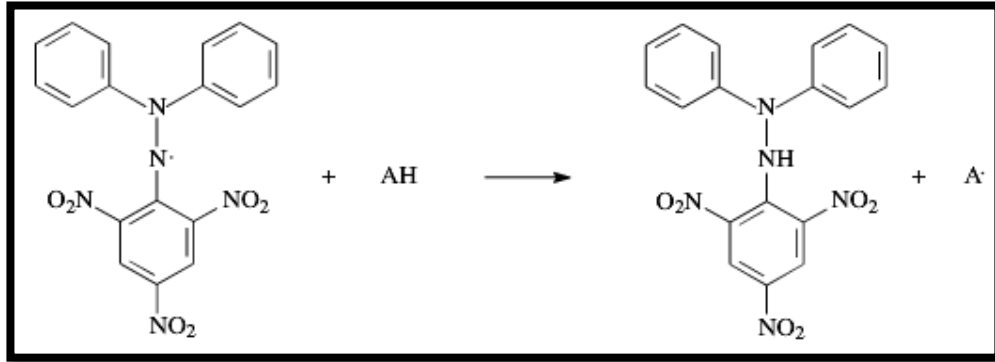
Fenolik madde miktarının belirlenmesinde çözücü olarak ilk önce etanol ile çalışılmış ve $\lambda=760$ nm'de absorbans okunmuştur. Yapılan analiz sonunda etanol ile hazırlanan gallik asit (GA) kalibrasyonu kullanılarak etanol ile ekstrakte edilen kızılçığın fenolik madde miktarı **16.4 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g yaş meyve** olarak hesaplanmıştır. Çözücü olarak metanol-su (hacimce %50-%50) kullanıldığında ise $\lambda=760$ nm'de absorbans okunmuştur. GA (metanol-su ile hazırlanan) kalibrasyonu kullanılarak metanol-su ile ekstrakte edilen fenolik madde miktarı **28.3 mg GAE/g yaş meyve** olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar ışığında çözücü olarak metanol-su kullanmaya karar verilmiştir. Etanol ve metanol-su ile hazırlanan gallik asit kalibrasyonları EK 4'te verilmiştir.

3.2.3 Analiz

Kızılılık posası üzerine SÖD ve UV (ayrı ayrı ve birlikte) uyarımlarının toplam antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik madde miktarına etkisi belirlenmiştir. Toplam antioksidan aktivitesi Jia vd. (2012) ve Hassanpour vd. (2011) tarafından belirlenen DPPH yöntemi; toplam fenolik madde miktarı ise Pantelidis vd. (2007) tarafından belirlenen Folin-Ciocalteu yönteminin bazı modifikasyonları kullanılarak belirlenmiştir. Yayın taraması sırasında karşılaşılan yöntemler EK 5 A ve 5 B'de; kullanılan yöntemler ise EK 6 A ve 6 B'de verilmiştir. Tüm analizler üçer kez tekrar edilmiş ve istatistik değerlendirme yapılmıştır.

3.2.3.1 DPPH• radikali süpürme (yakalama/tutma) metodu

DPPH• (1,1"-difenil-2-pikrilhidrazil); kararlı, sentetik, organik azot radikalidir. Bu yöntem prensip olarak; antioksidanların, DPPH• radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye ve değerlendirmeye dayanır. DPPH• radikali ortamda bulunan antioksidan maddenin protonunu koparır ve α,α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür (şekil 3.4).



Şekil 3.4 DPPH• radikalinin antioksidan madde ile etkileşmesi

Bu dönüşüm DPPH• radikalinin kendine has olan koyu mor rengin açılması ile anlaşılır. Renk solması antioksidan derişimi ile orantılıdır. DPPH• radikali ile antioksidan

aktivitesinin belirlenmesi sıklıkla kullanılan, zamandan kazanç sağlayan bir yöntemdir. Bu radikal 515 nm'de en yüksek absorbanı verir. Bu değer ve DPPH• radikalının kalibrasyon grafiği kullanılarak son derişim bulunur. Başlangıç derişimi bilinen DPPH• radikalının % kaçının süpürüldüğü (tutulduğu) hesaplanabilir (EK 6 A). Bu da % antioksidan aktivitesi olarak ifade edilir (Jia 2012, Hassanpour 2011, Huang 2005).

DPPH• çözeltisi etanol veya metanolde hazırlanabilir. Antioksidan madde ile karıştırıldıktan sonra t dakika süre ile karanlıkta tepkimenin tamamlanması beklenir. Absorbans ölçümleri 515 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak alınır.

Bu tez çalışmasında kullanılacak DPPH• yönteminin oluşturulması için öncelikle DPPH• serbest radikalının metanol-su (hacimce %50-%50) ile 0.1 mM derişiminde çözeltisi oluşturulur. Metanol-su (hacimce %50-%50) ile ekstrakte edilen kızılçık posası, farklı oranlarda seyreltilir. Seyreltik ekstrakt çözeltilerinin her birinden 0.1 mL alınarak üzerlerine 2 mL DPPH çözeltisi ilave edilir. Hazırlanan DPPH+örnek karışımları 515 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak her 15 dakikada ölçülerek tepkimenin tamamlandığı, yani absorbanın sabit kaldığı süre belirlenir.

DPPH• yönteminin oluşturulması için hazırlanan seyreltik örnek ekstraktlarının absorban değerlerinin zamanla değişimi EK 7'de verilmiştir. Buna göre, tüm seyreltik örneklerin absorban değerlerinin sabit kaldığı tepkime süresi (t) 30 dakika, en uygun seyreltme oranı ise 1:19 olarak belirlenmiştir. EK 7'deki çizelge 1'de de görüldüğü üzere bütün seyreltme oranlarında, 30. dakikada kızılçıkta antioksidanlar ile DPPH radikalının tepkimesi tamamlanmaktadır. Elisitör uyarımı sonucunda artışı daha kolay gözleyebilmek için en seyreltik oran tercih edilmelidir (1:39). Ancak bu oran kullanıldığı zaman kızılçık ekstraktını seyreltmek için çok fazla metanol-su kullanılacağı için 1:19 oranı, en uygun seyreltme oranı olarak belirlenmiştir. Tez çalışması boyunca incelenen bütün örneklerin ekstraktları bu oranda seyreltilmiş, 0.1 ml seyreltik ekstrakt üzerine hazırlanmış olan DPPH• çözeltisinden 2 ml eklenerek karanlık ortamda 30 dakika süreyle tepkime için bekletilmiştir. Tepkime süresi sonunda örneklerin absorban değerleri spektrofotometrik olarak, 515 nm dalga boyunda

belirlenmiştir. Örnek içerisinde kalan (tutulamayan) DPPH• radikalinin derişiminin belirlenmesi için, farklı oranlarda seyreltilmiş DPPH• çözeltilerinin absorbans değerleri 515 nm dalga boyunda ölçülerek DPPH• kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır (EK 7).

Bu tez çalışmasında toplam antioksidan aktivitesi, DPPH• çözeltilisinin başlangıç derişimi ($C_0 = 0.1$ mM) ve örnek içerisindeki antioksidan tarafından tutulan DPPH• miktarı ile belirtilmiştir. Oluşturulan kalibrasyon grafiği yardımıyla örnekler içinde kalan (tepkimeye girmeyen) DPPH• derişimleri hesaplanmış (C , mM), örneklerin toplam antioksidan aktivitesi değerleri % tutulan DPPH yani % antioksidan aktivitesi olarak şu şekilde belirlenmiştir:

$$\% \text{ antioksidan aktivitesi} = \frac{C_0 - C}{C_0} * 100$$

3.2.3.2 Folin-Ciocalteu metodu

Toplam fenolik madde miktarı, fenolik yapılı bileşenler antioksidan aktiviteye katkıda bulunurlar ve bir maddenin toplam fenolik madde miktarı hakkında edineceğimiz bilgi antioksidan aktivitenin belirlenmesinde rol oynayabilir. Bu yöntem, ortamda bulunan Mo(VI)' nin antioksidanlar tarafından Mo(V)'e indirgenmesi ile oluşan yeşilimsi rengin spektrofotometrik olarak 765 nm dalga boyunda ölçümü esasına dayanır (Prior 2005).



Folin-Ciocalteu reaktifi, fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımından ibarettir. Bu reaktif sayesinde fenolik ve polifenolik antioksidanların kalorimetrik tayinleri yapılabilir. Yöntem test edilen numunenin, reaktifin oksidasyonunu inhibe etmesi için gerekli miktarı ölçer. Yöntemin dezavantajı sayılabilecek bir yönü; reaktifin sadece fenolik bileşiklerle değil, ortamda mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon verebileceğidir. Bu yüzden bu yöntem için; örneğin toplam indirgeme gücünü ölçtüğü yönünde düşünceler vardır. Bu düşüncelere rağmen Folin-Ciocalteu metodu, hemen

hemen tüm antioksidan çalışmalarında toplam fenol miktarı tayininde kullanılan bir yöntemdir (Prior 2005, Vinson 2005)

Spektrofotometrik olarak 765 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri ve GA - metanol-su kalibrasyon grafiği (EK 4) kullanılarak meyvede bulunan toplam fenolik madde miktarı belirlenir. Toplam fenolik madde miktarı mg GAE/g yaş meyve cinsinden ifade edilir. Kızılıcığın toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi EK 6 B'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.2.4 İstatistiksel değerlendirme

Yapılan deneyler sonucunda en doğruya en yakın sonucu bulmak oldukça önemlidir. Bunun için çalışmayı yürüten kişi gerekli teorik bilgileri toplar, analiz metodunu seçer. Bulduğu sonuçları kısa, anlamlı, güven verici hale getirir ve ondan sonra rapor eder. Bunların yapılabilmesi için ortalama değer, standart sapma, regresyon, güven aralığı gibi istatistik terimlerin iyi bilmesi gerekir (Gündüz 1998).

Ortalama değer

Bir laboratuvarında alınan analiz sonuçlarının toplamının deney tekrar sayısına (n) bölünmesiyle elde edilen sayıya ortalama değer denir ve x_{ort} ile gösterilir.

$$x_{ort} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Standart sapma

Standart sapma bir metodun kesinliğini belirtmeye yarayan göstergeler arasında en önemlisi olup s ile gösterilir.

$$s = \frac{(x - x_{ort})^2}{n - 1}$$

t-Testi (Öğrenci testi)

İstatistiksel değerlendirme yöntemlerinden t-testi, az sayıda tayin yapıldığı zaman uygulanan bir testtir. Az sayıda tayinden, hem ortalama değer (x_{ort}), hem de standart sapma (s) hesaplanır. Bu nedenle de s değeri kullanılarak yapılan işlemlerdeki hatalar büyük olur. t değerleri böyle hataları en aza indirmek amacıyla geliştirilmiştir. t değerleri ile yapılan testlere standart test veya öğrenci testi denir. t değerleri analiz sayısının artmasıyla küçülür.

t-Testi tek ve çift yönlü olmak üzere iki türlü uygulanır. Çift yönlü t-testine daha çok artı veya eksi sistematik hatalar yapılması söz konusu olduğu zaman başvurulur. İki şeyin karşılaştırılması gerektiği hallerde tek yönlü t-Testi kullanılır (Gündüz 1998).

t-Testi hesaplaması için t değerleri ve örnek istatistiksel hesaplama EK 8'de verilmiştir. Buna göre serbestlik derecesi ve risk seviyesi göz önüne alınarak iki yanlı ya da tek yanlı olarak t değeri belirlenir. İstatistiksel hesaplama ise aşağıdaki formül yardımıyla yapılır (Gündüz 1998).

$$\mu = \frac{x_{ort} \pm (t * s)}{\bar{n}}$$

x_{ort} = Ortalama değer (aritmetik ortalama)

t = t-testi için belirlenen değişken

s = standart sapma

n = Deney tekrar sayısı

Tez çalışması kapsamında, tüm deneyler 3 set olarak tekrarlanmıştır. Elde edilen değerler 2 serbestlik derecesi için %95 güven seviyesinde (%5 risk seviyesi) iki yanlı test için bulunan t değeri (t = 4.3) kullanılarak istatistiksel olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Semt pazarından temin edilen kıvılcık, analize kadar -18 °C'ta depolanmıştır. -18°C'tan alınan meyveler oda sıcaklığında erimeye bırakılmıştır. Donu çözülen meyvelerin çekirdeği çıkarılarak mekanik homojenizerde posa haline getirilmıştır.

Posası hazırlanan kıvılcığın elisitör etkisi ile fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin artırılması amaçlanan bu çalışma kapsamında aşağıdaki parametreler incelenmiştir.

- UV uyarımı (20 cm, 40 cm mesafeden)
- SÖD uyarımı (20 kHz, 30 kHz, 40 kHz frekansta)
- Farklı uyarım süreleri (US: 10 min ve 1 h)
- Farklı inkübasyon süreleri (İS: 10 min, 1 h, 12 h, 1 d, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d)

Yukarıdaki parametrelerle yapılan çalışmalar sonucunda en iyi sonuçların elde edildiği UV parametreleri ile SÖD parametreleri kıvılcık posasına birlikte (eşanlı ve ardışık olarak) uygulanmıştır. UV ve SÖD uyarımlarının, kıvılcık posasındaki toplam antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı üzerine birlikte etkisi incelenmiştir.

4.1 UV uyarımı

Tezde üzerinde çalışılan kıvılcık, 10 min ve 1h süre ile iki farklı mesafeden (20 cm ve 40 cm) UV ışını ile uyarılmıştır. Uyarımdan sonra sekiz farklı inkübasyon süresi sonunda, metanol-su ile ekstrakte edilen kıvılcık posasının antioksidan aktivitesindeki ve fenolik madde miktarındaki değişim incelenmiştir.

Farklı UV uyarımları sonrasında kıvılcığın antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar işlem görmemiş kıvılcık posası (kontrol) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar EK 9 (çizelge 3, 4, 5 ve 6)'da verilmiştir.

Farklı UV uyarımları sonrasında kızılıcığın fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar işlem görmemiş kızılıcık posası (kontrol) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar EK 10 (çizelge 15, 16, 17 ve 18)'da verilmiştir.

4.2 SÖD uyarımı

Çalışmada üzerinde çalışılan kızılıcık, 10 min ve 1 h süre ile üç farklı frekansta (20 kHz, 30 kHz ve 40 kHz) SÖD ile uyarılmıştır. 20 kHz ve 30 kHz frekanslı homojenizerlerde uyarımlar periyotlu (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) olarak gerçekleştirilmiştir. 40 kHz frekanslı banyoda ise periyotlu çalışmak mümkün olmadığı için SÖD sisteme sürekli olarak verilmiştir. Uyarımlardan sonra sekiz farklı inkübasyon süresi sonunda metanol-su ile ekstrakte edilen kızılıcık posasının antioksidan aktivitesindeki ve fenolik madde miktarındaki değişim incelenmiştir.

Farklı SÖD uyarımları sonrasında kızılıcığın antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar işlem görmemiş kızılıcık posası (kontrol) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar EK 9 (çizelge 7, 8, 9, 10, 11 ve 12)'da verilmiştir.

Farklı SÖD uyarımları sonrasında kızılıcığın fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar işlem görmemiş kızılıcık posası (kontrol) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar EK 10 (çizelge 19, 20, 21, 22, 23, 24)'de verilmiştir.

4.3 UV - SÖD birlikte uyarımı

Kızılıcık farklı parametrelerle UV ve SÖD ile uyarılmıştır. Bu uyarımlarda en iyi sonuçları veren UV ve SÖD parametreleri belirlenmiştir.

Kızılıcığın antioksidan aktivitesi için en iyi UV koşulu, UV ışınının 40 cm mesafeden 10 min boyunca uygulanması ile; en iyi SÖD koşulu, 40 kHz frekanslı banyoda 10 min'lık

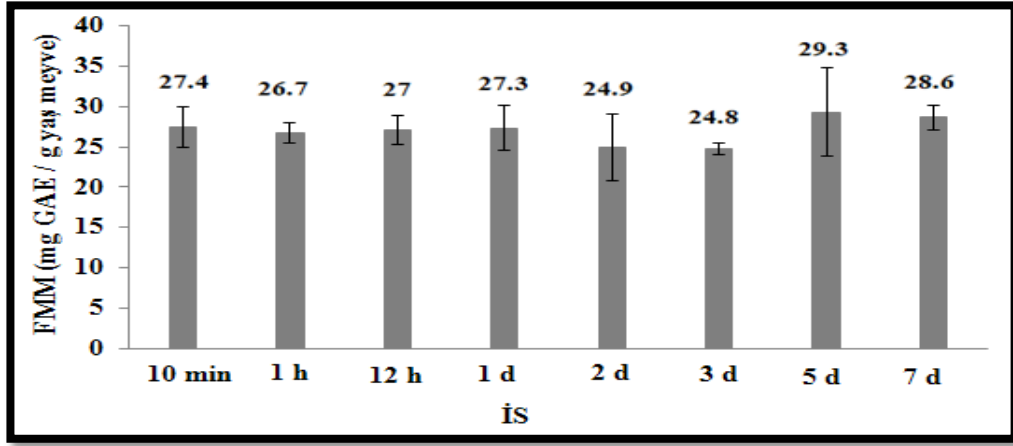
uyarım sonunda elde edilmiştir. Bu iki koşul aynı anda ve ardışık olarak uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar EK 9 (çizelge 13 ve 14)'da verilmiştir.

Kızılciğin fenolik madde miktarı için en iyi UV koşulu, UV ışının 40 cm mesafeden 10 min boyunca uygulanması ile; en iyi SÖD koşulu, 40 kHz frekanslı banyoda 10 min'lık uyarım sonunda elde edilmiştir. Bu iki koşul aynı anda ve ardışık olarak uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar EK 10 (çizelge 25 ve 26)'da verilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

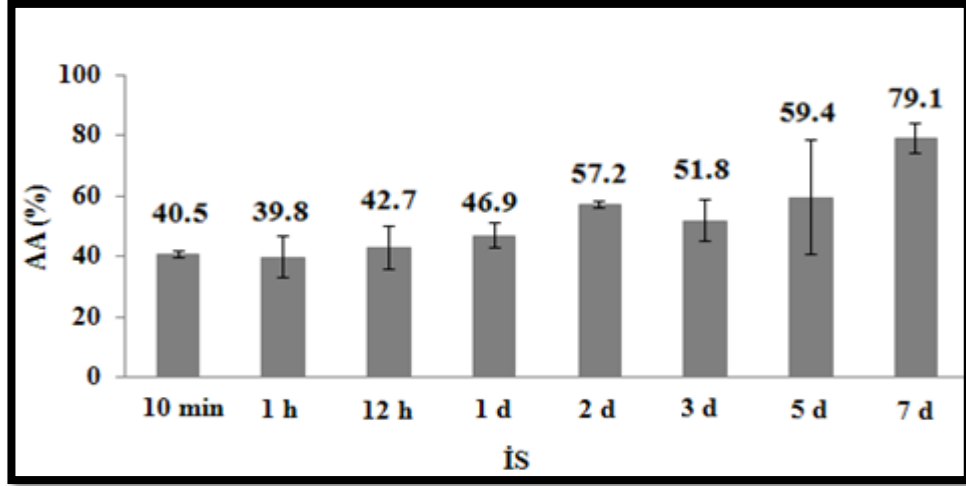
5.1 İşlem Görmemiş Kızılcık

Posası hazırlanmış, UV veya SÖD ile uyarılmamış kıızılcık bir haftaya kadar inkübasyona bırakıldığı zaman fenolik madde miktarında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Başlangıçta 27.4 mg GAE/g yaş meyve olan fenolik madde miktarı 24.9 - 29.3 mg GAE/g yaş meyve aralığında değişmiştir. Farklı inkübasyon sürelerindeki (İS) fenolik madde miktarındaki (FMM) değişim şekil 5.1’de verilmiştir.



Şekil 5.1 İşlem görmemiş kıızılcığın inkübasyon süresine karşı fenolik madde miktarı

İşlem görmemiş kıızılcığın başlangıçtaki antioksidan aktivitesi %40.5 iken bu değer zamanla değişmiştir. 12 saate kadar önemli bir farklılık gözlenmezken bir gün sonunda antioksidan aktivitesinde (AA: %46.9) %16’lık bir artış olurken yedi günün sonunda bu artış (AA: %79.1) %95 olmuştur. Farklı inkübasyon sürelerindeki antioksidan aktivitesindeki değişim şekil 5.2’de verilmiştir. UV veya SÖD ile uyarılmadığı halde antioksidan aktivitesinde görülen bu artış, meyvenin ekstrakte edilmeden önce mekanik homojenizer ile parçalanmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Literatüre göre, bitkilerde budama, kesme-yaralama bitki üzerinde stres etkisi yaratmaktadır (Keskin 2007, Sales 2010a). Kıızılcığın antioksidan aktivitesi için parçalama-kesme işleminin elisitör görevi yaptığı söylenebilir.



Şekil 5.2 İşlem görmemiş kıvılcığın inkübasyon süresine karşı antioksidan aktivitesi

5.2 Kıvılcığa UV Uyarımının Etkisi

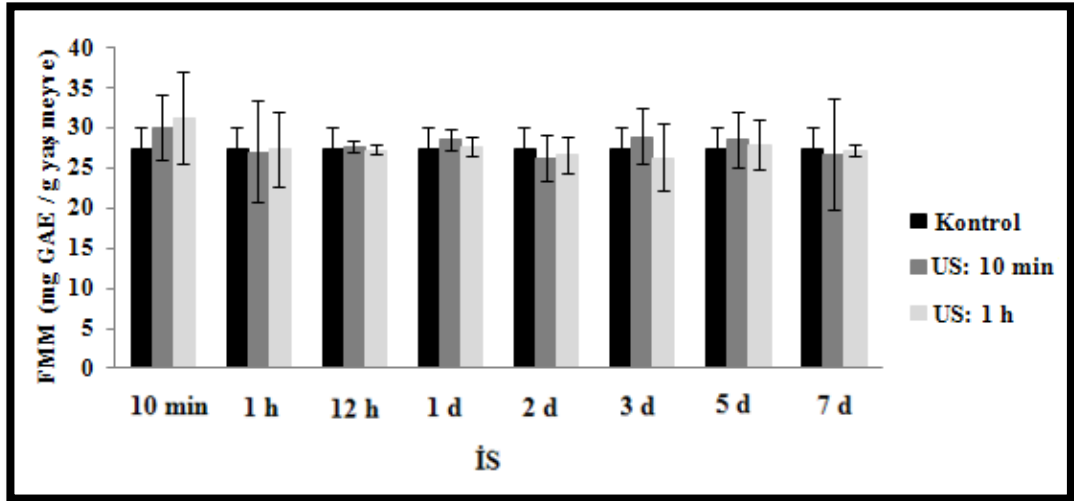
Kıvılcık iki farklı mesafeden (20 cm, 40 cm) UV ile uyarılmıştır. Bu uyarımlar sonucunda sekiz farklı inkübasyon süresinde antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarı analizlenmiştir.

5.2.1 20 cm'den UV uyarımı

UV uyarımı, örneklere 20 cm'den 10 min ve 1 h olmak üzere iki farklı uyarım süresinde gerçekleştirilmiştir. UV ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin farklı inkübasyon sürelerindeki değişimi şekil 5.3 ve 5.4' te verilmiştir.

10 min boyunca 20 cm'den UV uyarımı yapıldığında maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan hemen sonra (İS: 10 min) elde edilmiştir (29.9 mg GAE/g yaş meyve). 20 cm'den 10 min boyunca UV uyarımı yapıldığı zaman 10 min'lık inkübasyon süresi sonunda kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %9'luk bir artış elde edilmiştir (şekil 5.3).

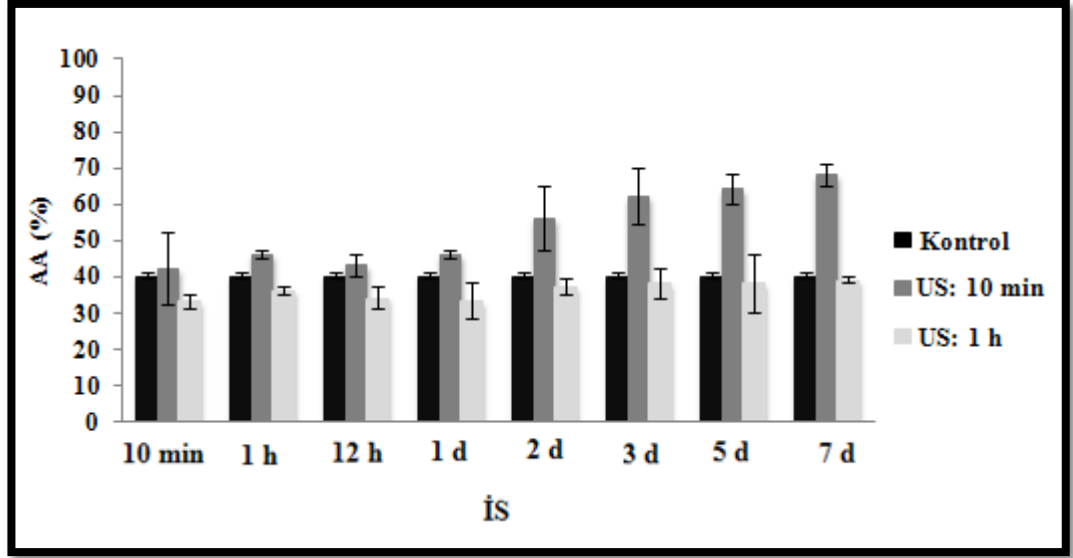
Uyarım 1 h boyunca yapıldığı zaman maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan hemen (İS: 10 min) sonra edilmiştir (31.1 mg GAE/g yaş meyve). 20 cm'den 1 h boyunca UV uyarımı yapıldığı zaman 10 min'lik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %14'lük bir artış elde edilmiştir (şekil 5.3).



Şekil 5.3 20 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

10 min boyunca 20 cm'den UV uyarımı yapıldığında maksimum antioksidan aktivitesi uyarımdan bir hafta sonra (İS: 7 d) elde edilmiştir (AA: %68). 20 cm'den 10 min boyunca UV uyarımı yapıldığı zaman 7 günlük inkübasyon süresi sonunda %70'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.4).

20 cm'den 1 h boyunca uyarım yapıldığı zaman bütün değerlerde kontrole (AA: %40) göre düşüş görülmüştür. 20 cm'den uyarım yapıldığı zaman uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate artırmak antioksidan aktiviteyi olumsuz etkilemiştir (şekil 5.4).



Şekil 5.4 20 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kıvılcığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

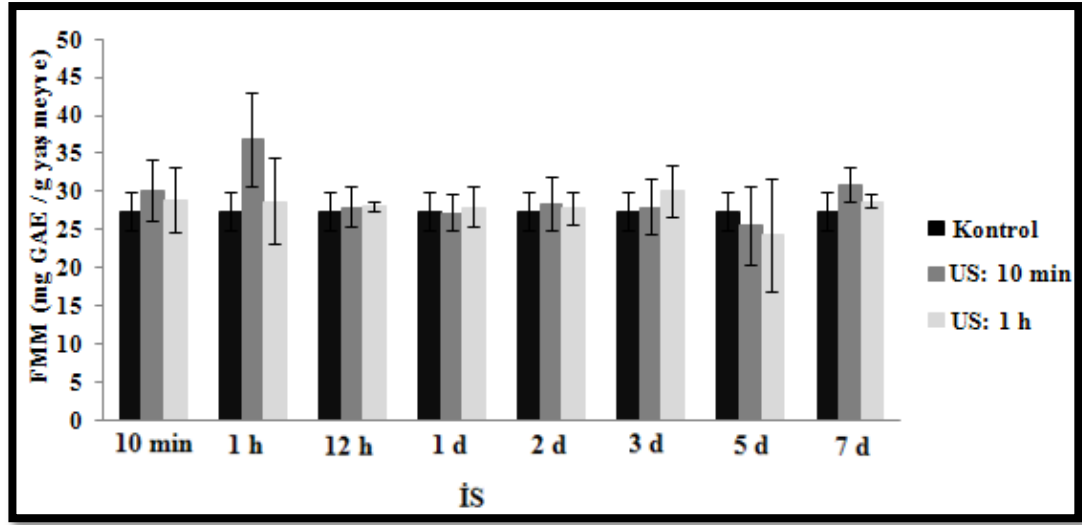
Uyarım süresinin arttırılması ile bitkiye verilen enerji yoğunluğu da artmaktadır. Uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate çıkarmak ile enerji yoğunluğu 6 katına çıkarılmıştır. Bu durum, antioksidanların sentezlendiği reaksiyonlarda kullanılan enzimlerin aktifliğini olumsuz etkilemiştir.

5.2.2 40 cm'den UV uyarımı

UV uyarımı, 40 cm'den 10 min ve 1 h olmak üzere iki farklı uyarım süresinde gerçekleştirilmiştir. UV ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin farklı inkübasyon sürelerindeki değişim şekil 5.5 ve 5.6'da verilmiştir.

10 min boyunca 40 cm'den UV uyarımı yapıldığında maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan 1 saat sonra elde edilmiştir (36.8 mg GAE/g yaş meyve). 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %34'lük bir artış elde edilmiştir (şekil 5.5).

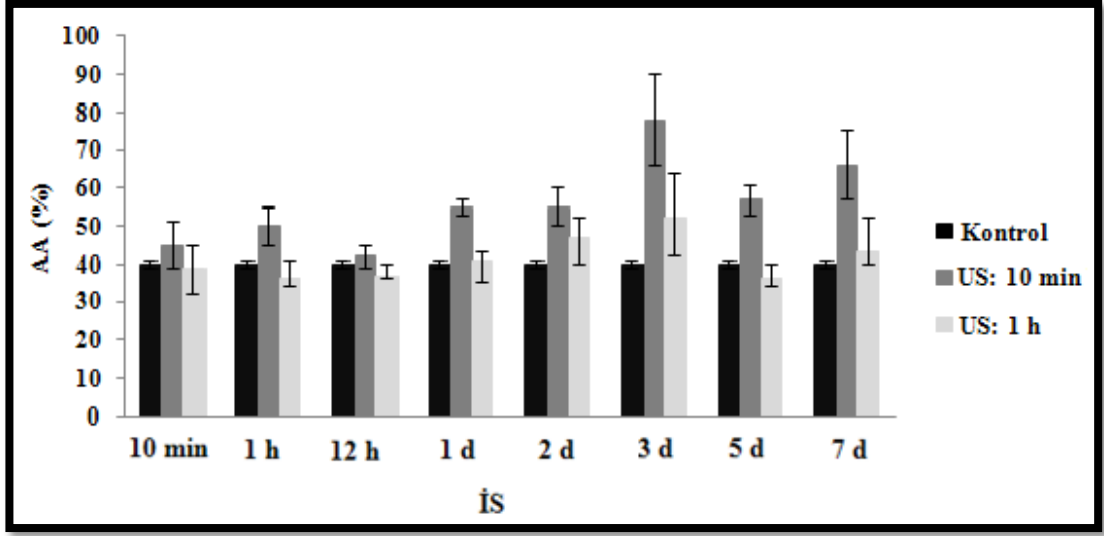
Uyarım 1 h boyunca yapıldığı zaman maksimum fenolik madde miktarında kontrole göre çok az artış elde edilmiştir. En yüksek değere 3 günlük inkübasyon süresi sonunda ulaşılmıştır (30 mg GAE/g yaş meyve). 40 cm'den 1 h boyunca UV uyarımı yapıldığı zaman 3 günlük inkübasyon süresi sonunda kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %9'luk bir artış elde edilmiştir. 7 gün boyunca değerler 24.2 - 30 mg GAE/g yaş meyve aralığında değişim göstermiştir. 40 cm'den UV uyarım yaparken uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate artırmak fenolik madde miktarında düşüşe sebep olmuştur (şekil 5.5).



Şekil 5.5 40 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

10 min boyunca 40 cm'den UV uyarımı yapıldığında maksimum antioksidan aktivitesi uyarımdan 3 gün sonra (İS: 3 d) elde edilmiştir (AA: %78). 40 cm'den 10 min boyunca UV uyarımı yapıldığı zaman 3 günlük inkübasyon süresi sonunda kontrole (AA: %40) göre %95'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.6).

40 cm'den 1 h boyunca uyarım yapıldığı zaman kıvılcığın antioksidan aktivitesi %36 ile %52 arasında değişmiştir (şekil 5.6). Burada da 1 h boyunca UV uyarımı yapmanın, gerek fenolik madde miktarı gerekse antioksidan aktivitesi üzerinde pozitif etki yapmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5.6 40 cm'den 10 min ve 1 h boyunca UV ile uyarılmış kızcılığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

5.3 Kızıcılığa SÖD Uyarımının Etkisi

Kızıcılık üç farklı frekansta (20 kHz, 30 kHz ve 40 kHz) SÖD ile uyarılmıştır. 20 kHz ve 30 kHz frekanslı homojenizerlerde uyarımlar periyotlu (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) olarak gerçekleştirilmiştir. 40 kHz frekanslı banyoda ise periyotlu çalışmak mümkün olmadığı için SÖD sisteme sürekli olarak verilmiştir. Bu uyarımlar sonucunda sekiz farklı inkübasyon süresinde antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarı analizlenmiştir.

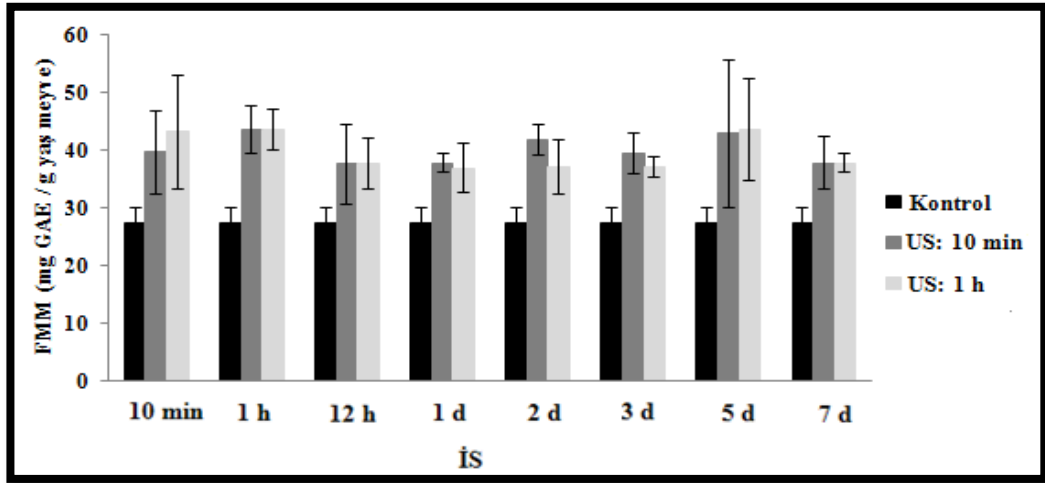
Hiç işlem görmemiş kızcılığın antioksidan aktivitesi %40.5'dir ve UV uyarımlarında kontrol olarak bu değer kullanılmıştır. Ancak SÖD uyarımlarında bu değer kontrol olarak kullanılmaktadır. Örneğe SÖD uygulayabilmek için sulu ortama ihtiyaç duyulmaktadır. Kızıcılık posası saf su ile belli bir oranda karıştırılmıştır (7 g posa + 42 ml saf su). Bu durumda kontrol değişmektedir. Sulandırılmış kızcılık posasının işlem görmeden önceki antioksidan aktivitesi %8'dir. SÖD uygulamalarında ve birleştirilmiş UV-SÖD uygulamalarında antioksidan aktivitesi için kontrol değeri %8 olacaktır.

5.3.1 20 kHz frekansta SÖD uyarımı

SÖD uyarımı 20 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer ile periyotlu olarak (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) 10 min ve 1 h olmak üzere iki farklı uyarım süresinde gerçekleştirilmiştir. Uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin farklı inkübasyon sürelerindeki değişimi şekil 5.7 ve 5.8’de verilmiştir.

10 min boyunca 20 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan 1 h sonra elde edilmiştir (43.6 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %59 artmıştır (şekil 5.7).

Uyarım 1 h boyunca yapıldığı zaman en yüksek fenolik madde miktarı uyarımdan 1 saat sonra elde edilmiştir (43.6 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) yine %59’lük bir artış elde edilmiştir (şekil 5.7).

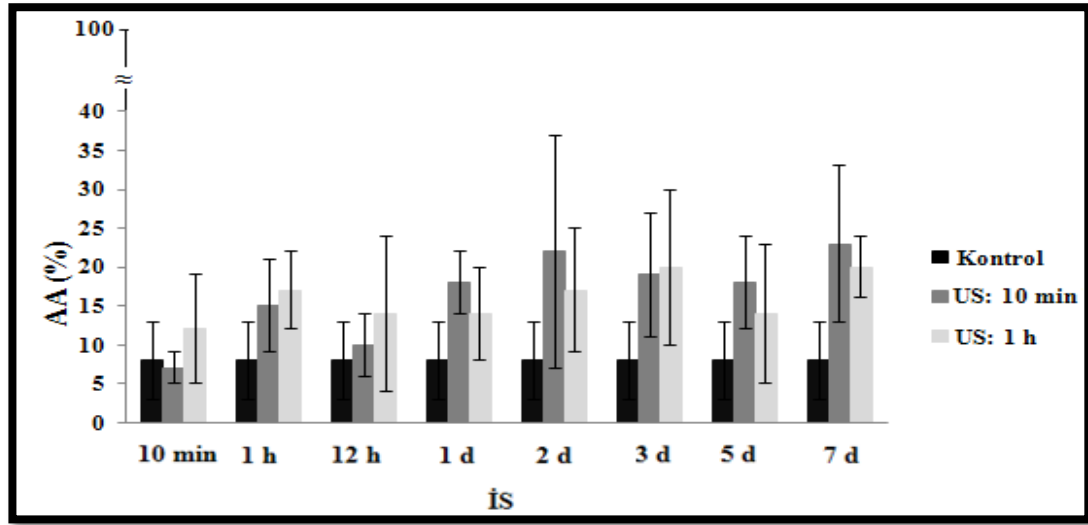


Şekil 5.7 10 min ve 1 h boyunca 20 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

10 min boyunca 20 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum antioksidan aktivitesi uyarımdan 7 gün sonra (İS: 7 d) elde edilmiştir (AA: %23). 20 kHz frekansta 10 min boyunca SÖD uyarımı yapıldığı zaman 7 günlük inkübasyon süresi sonunda

kızılıcığın antioksidan aktivitesinde kontrole (AA:%8) göre %188'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.8).

20 kHz frekansta 1 saat boyunca SÖD uyarımı yapıldığında antioksidan aktivitesinde elde edilen en yüksek değer 7 günlük inkübasyon süresi sonunda %20 olmuştur (şekil 5.8).



Şekil 5.8 10 min ve 1 h boyunca 20 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılıcığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

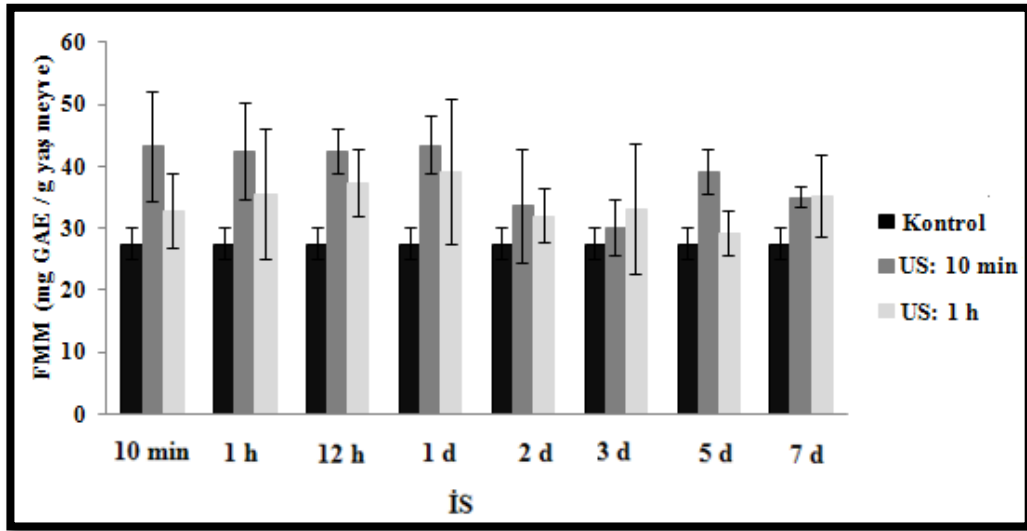
20 kHz frekanslı SÖD uyarımı yaparken uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate çıkarmak antioksidan aktivitesindeki artışın azalmasına sebep olmuştur. 20 kHz frekanslı SÖD uyarımında 10 min uyarım, 1 h'lik uyarımdan daha etkili olmuştur.

5.3.2 30 kHz frekansta SÖD uyarımı

SÖD uyarımı 30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer ile periyotlu olarak (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) 10 min ve 1 h olmak üzere iki farklı uyarım süresinde gerçekleştirilmiştir. Uyarılmış kızılıcığın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin farklı inkübasyon sürelerindeki değişimi şekil 5.9 ve 5.10'da verilmiştir.

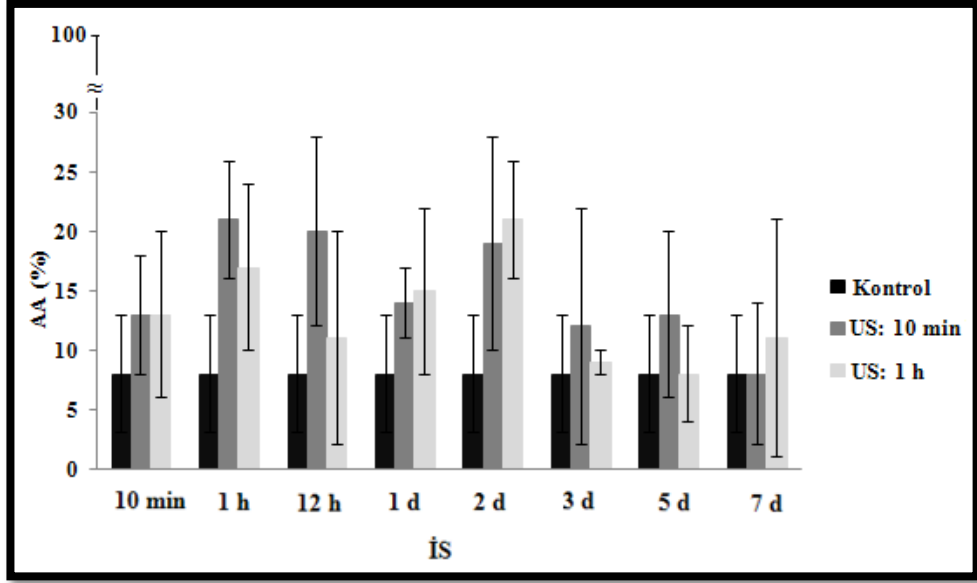
10 min boyunca 30 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan 1 gün sonra elde edilmiştir (43.4 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %58'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.9).

Uyarım 1 h boyunca yapıldığı zaman en yüksek fenolik madde miktarı uyarımdan 1 gün sonra elde edilmiştir (39 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %42'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.9).



Şekil 5.9 10 min ve 1 h boyunca 30 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

10 min boyunca 30 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum antioksidan aktivitesi uyarımdan 1 saat sonra (İS: 1 h) elde edilmiştir (AA: %21). 30 kHz frekansta 10 min boyunca SÖD uyarımı yapıldığında 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda kıvılcığın antioksidan aktivitesinde kontrole (AA: %8) %163'lük bir artış elde edilmiştir. 30 kHz frekansta 1 saat boyunca SÖD uyarımı yapıldığında antioksidan aktivitesinde elde edilen en yüksek değer 2 günlük inkübasyon süresi sonunda %21 olmuştur (şekil 5.10).



Şekil 5.10 10 min ve 1 h boyunca 30 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kıvılcığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

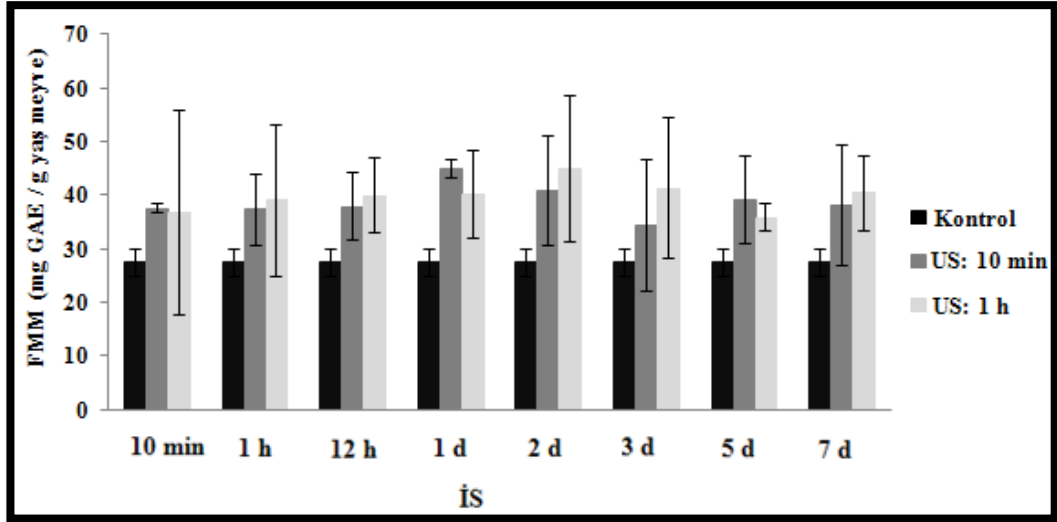
30 kHz frekanslı SÖD uyarımı yaparken uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate çıkarmak antioksidan aktivitesindeki artışı değiştirmemiştir. 30 kHz frekanslı SÖD uyarımında 10 min uyarım sonunda en yüksek artışa 1 günlük inkübasyon sonunda ulaşılırken 1 h'lik uyarımdan sonra en yüksek artışa (10 min uyarımdaki ile aynı değer, %21) 2 günlük inkübasyon sonunda ulaşılmıştır

5.3.3 40 kHz frekansta SÖD uyarımı

SÖD uyarımı 40 kHz frekanslı ultrasonik banyoda 10 min ve 1 h olmak üzere iki farklı uyarım süresinde gerçekleştirilmiştir. Uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin farklı inkübasyon sürelerindeki değişimi şekil 5.11 ve 5.12'de verilmiştir.

10 min boyunca 40 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum fenolik madde miktarı uyarımdan 1 gün sonra elde edilmiştir (44.8 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %64'lük bir artış elde edilmiştir (şekil 5.11).

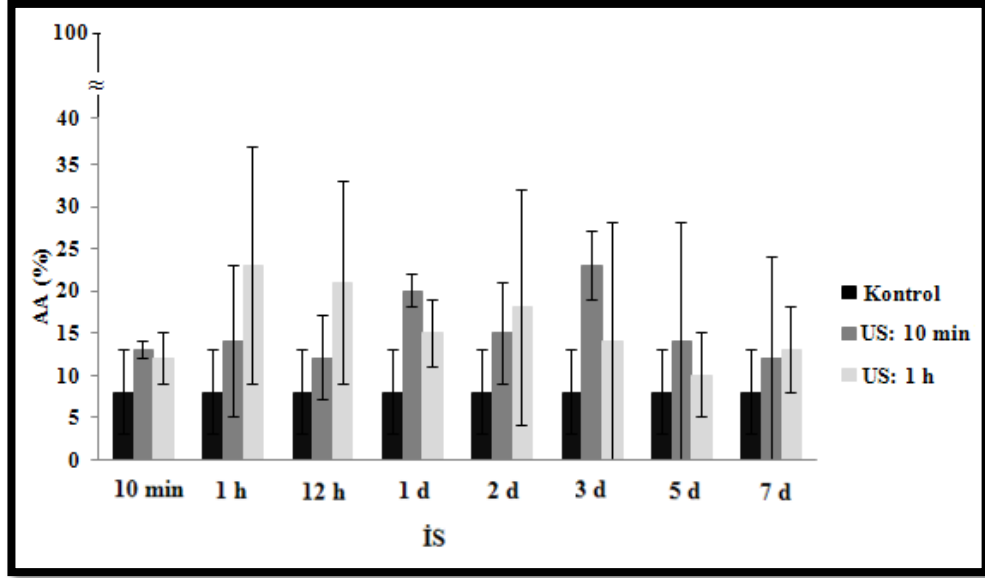
Uyarım 1 h boyunca yapıldığı zaman en yüksek fenolik madde miktarı uyarımdan 2 gün sonra elde edilmiştir (44.8 mg GAE/g yaş meyve). Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) yine %64'lük bir artış elde edilmiştir (şekil 5.11).



Şekil 5.11 10 min ve 1 h boyunca 40 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

10 min boyunca 40 kHz frekansta SÖD uyarımı yapıldığında maksimum antioksidan aktivitesi uyarımdan 3 gün sonra (İS: 3 d) elde edilmiştir (AA: %23). 40 kHz frekansta 10 min boyunca SÖD uyarımı yapıldığı zaman 3 günlük inkübasyon süresi sonunda kıvılcığın antioksidan aktivitesinde kontrole (AA: %8) göre %188'lik bir artış elde edilmiştir (şekil 5.12).

40 kHz frekansta 1 h boyunca SÖD uyarımı yapıldığı zaman antioksidan aktivitesinde elde edilen en yüksek değer 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda %23 olmuştur (şekil 5.12).



Şekil 5.12 10 min ve 1 h boyunca 40 kHz frekansta SÖD ile uyarılmış kızılıcığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

40 kHz frekanslı SÖD uyarımı yaparken uyarım süresini 10 dakikadan 1 saate çıkarmak antioksidan aktivitesindeki artışı değiştirmemiştir.

5.4 Kızılıcığa UV-SÖD Uyarımının Etkisi

Kızılıcık iki farklı mesafeden (20 cm, 40 cm) UV ile ve üç farklı frekansta (20 kHz, 30 kHz ve 40 kHz) SÖD ile uyarılmıştı. Bu iki elisitörün en iyi sonuçları veren parametreleri belirlenmiş (10 min boyunca 20 cm mesafeden UV uyarımı ve 40 kHz frekansta 10 min boyunca SÖD uyarımı) ve ikisinin birlikte uyarımları yapılmıştır. Birleştirilmiş UV ve SÖD uyarımları eş anlı ve ardışık olarak gerçekleştirilmiştir. Bu uyarımlar sonucunda sekiz farklı inkübasyon süresinde antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarı analizlenmiştir (şekil 5.13 ve 5.14).

5.4.1 Eş anlı UV-SÖD uyarımı

Mekanik homojenizer ile posası hazırlanmış kızılıcık 10 dakika boyunca 20 cm mesafeden UV ile ve 40 kHz frekansta SÖD ile 10 dakika boyunca uyarılmıştır.

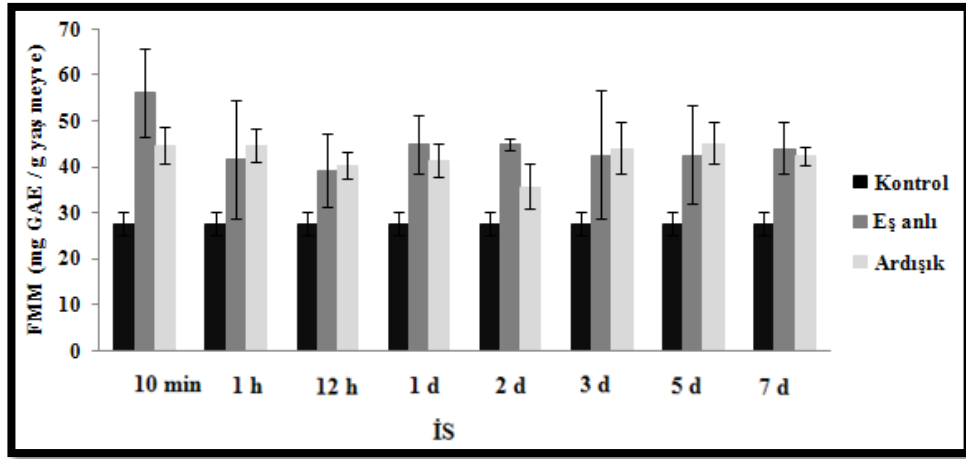
Eş anlı UV-SÖD uyarımı ile 10 dakikalık inkübasyon süresi sonunda kızılığın fenolik madde miktarı 56 mg GAE/g yaş meyve'ye yükselmiştir. Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) **%104**'lük bir artış elde edilmiştir. Eş anlı UV-SÖD uyarımı sonucunda sadece UV (%34 artış) ve sadece SÖD (%64 artış) uyarımına göre fenolik madde miktarında daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır (şekil 5.13).

Eş anlı UV-SÖD uyarımı sonunda kızılığın antioksidan aktivitesi 3 günlük inkübasyon süresi sonunda %39'a yükselmiştir. Kontrole (AA: %8) göre **%388**'lik bir artış elde edilmiştir. Eş anlı UV-SÖD uyarımı sonucunda sadece UV (%95 artış) ve sadece SÖD (%188 artış) uyarımına göre antioksidan aktivitesinde daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir (şekil 5.14).

5.4.2 Ardışık UV-SÖD uyarımı

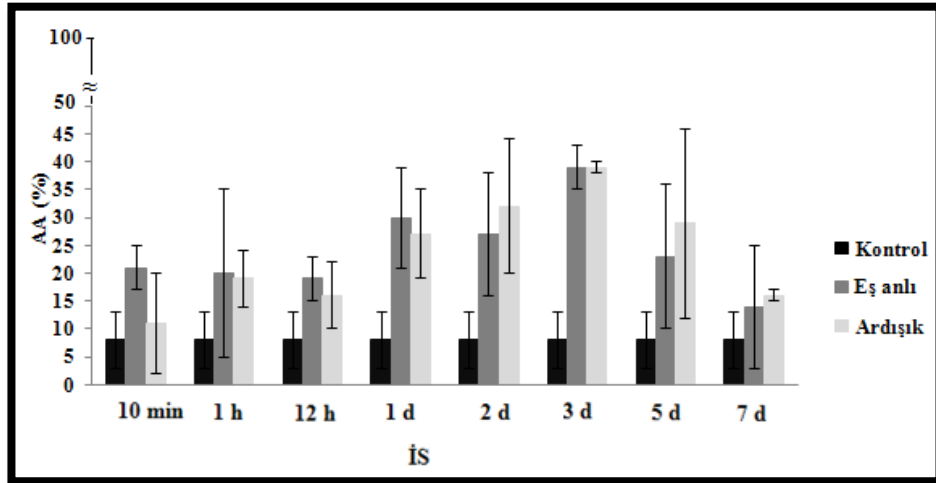
Mekanik homojenizer ile posası hazırlanmış kızılığ 10 dakika boyunca 20 cm mesafeden UV ile uyarıldıktan hemen sonra 40 kHz frekansta SÖD ile de 10 dakika boyunca uyarılmıştır.

Ardışık UV-SÖD uyarımı ile 10 dakikalık inkübasyon süresi sonunda kızılığın fenolik madde miktarı 44.6 mg GAE/g yaş meyve'ye yükselmiştir. Kontrole göre (27.4 mg GAE/g yaş meyve) %63'lük bir artış elde edilmiştir. Eş anlı UV-SÖD uyarımı sonucunda sadece UV (%34 artış) uyarımına göre fenolik madde miktarında daha yüksek sonuçlara ulaşılırken sadece SÖD (%64 artış) uyarımına yakın bir sonuç elde edilmiştir (şekil 5.13).



Şekil 5.13 10 min boyunca UV (40 cm) ve 10 min boyunca SÖD (40 kHz) ile eş anlı ve ardışık olarak uyarılmış kıvılcığın fenolik madde miktarının inkübasyon süresi ile değişimi

Ardışık UV-SÖD uyarımı sonunda kıvılcığın antioksidan aktivitesi 3 günlük inkübasyon süresi sonunda %39'a yükselmiştir. Kontrole göre (AA: %8) %388'lik bir artış elde edilmiştir. Eş anlı UV-SÖD uyarımı sonucunda sadece UV (%95 artış) ve sadece SÖD (%188 artış) uyarımına göre antioksidan aktivitesinde daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir (şekil 5.14).



Şekil 5.14 10 min boyunca UV (40 cm) ve 10 min boyunca SÖD (40 kHz) ile eş anlı ve ardışık olarak uyarılmış kıvılcığın antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresi ile değişimi

Ardışık UV-SÖD uyarımı fenolik madde miktarı için eş anlı UV-SÖD uyarımından daha az etkili olmuştur (şekil 5.13). Antioksidan aktivitesinde ise ardışık uyarım, eş anlı uyarım ile aynı maksimum değeri vermiştir (şekil 5.14). Antioksidan aktivitesinde ise ardışık uyarım, eş anlı uyarım ile aynı maksimum değeri vermiştir (şekil 5.14).

5.5 Genel Değerlendirme

Yapılan literatür taramasında taze kıvılcığın fenolik madde miktarı 5.12 - 26.96 mg GAE/g yaş meyve aralığında bulunmuştur (Hassanpour 2011, Popovic' 2011, Samec 2011). Aralık sınırlarındaki bu farklılığın meyvenin farklı yörelere ait olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada ise kıvılcığın fenolik madde miktarı 27.4 mg GAE/g yaş meyve olarak belirlenmiştir. Literatürde karşılaşılan değerlere göre Hassanpour'un çalışmasında elde edilen sonuca (26.96 mg GAE/g yaş meyve) yakın sonuç elde edilmiştir.

Kıvılcığın antioksidan aktivitesini belirlemek için araştırmacılar farklı yöntemler kullanmışlardır: FRAP, deoksibiroz yöntemi, DPPH yöntemi (Pantelidis 2007, Tural 2008, Hassanpour 2011). Farklı yöntemlerle bulunan antioksidan aktivitelerini karşılaştırılması mümkün olmamaktadır. Tural'ın DPPH yöntemini kullanarak bulduğu antioksidan aktivitesinde meyve ekstraktının seyreltme oranı farklı olduğu için elde edilen sonuçların karşılaştırılması yine mümkün değildir.

Oldukça karmaşık olan bitki metabolizması literatür tarafından net olarak aydınlatılamamaktadır. Tam bir kimyasal deposu olan bitkilerde meydana gelen reaksiyonları tam olarak açıklamak mümkün değildir. Bitki metabolizmasında, CO₂ ve H₂O kullanılarak gerçekleşen fotosentez sonucu açığa çıkan karbonhidratlar glikolize uğrayarak fosfoenolpirüvat açığa çıkarır. Bu ürünün açığa çıkmasıyla birlikte gerçekleşen reaksiyon sonucu şikimik asit oluşur. Elisitörler ile uyarılmış bitkide bazı enzimler aktif hale gelir. Bu enzimler varlığı ile şikimik asit de ikincil metabolit yolizi üzerinden fenolik bileşikleri (fenolik asitler veya flavanoidler) açığa çıkarır (şekil 2.2 ve 2.3). UV ve SÖD ile kıvılcığa verilen stres ile şikimik asitten flavonoidler oluşur.

Kızılıcıkta en baskın flavonoidin antosiyanidin olduğu Kılmanoğlu (2010) tarafından belirtilmiştir (Payne 1991).

UV uyarımı ile kızılıcığın fenolik madde miktarında elde edilen maksimum artış %34, maksimum artış koşulları ise 40 cm mesafeden UV ışınına 10 dakika boyunca maruz kalan posanın 3 günlük inkübasyona bırakılmasıdır. UV uyarımı sonucunda kızılıcığın antioksidan aktivitesindeki maksimum artış %95'tir. Bu artış ise 40 cm mesafeden 10 dakika boyunca UV ışınına maruz kalan kızılıcık posasının 1 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilmiştir. Kızılıcık meyvesi için UV ışınını uzaktan göndermek, yakından göndermekten daha etkili olmuştur (40 cm > 20 cm).

Huyskens-Keil vd., 2007 yılında siyah kuş üzümü ile yaptığı çalışmada meyveyi UV-B ile uyarımıştır. Uyarım sonucunda çalışmalarında toplam fenolik madde miktarında ve antioksidan aktivitesinde artış elde etmişlerdir (sırasıyla maksimum artış %25, %21). Kızılıcık ile yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçların aksine UV-B ışını ile uyarım süresi arttıkça toplam fenolik madde miktarındaki ve antioksidan aktivitesindeki artış artmıştır. UV-C (280-200 nm) ışının dalga boyu UV-B (315-280 nm)'den daha azdır. Işının dalga boyu azaldıkça enerjisi artmaktadır. UV-C ışınının enerjisi daha etkili olduğu için kızılıcıkta UV-C uyarımı yaparken uyarım süresinin uzatılması fenolik maddeleri ve antioksidanları sentezleyen reaksiyonlarda kullanılan enzimlerin aktifliği azalmıştır. Dolayısı ile elisitöre uygun uyarım süresinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

SÖD uyarımı ile kızılıcığın fenolik madde miktarında elde edilen maksimum artış %64, maksimum artış koşulları ise 10 dakika boyunca 40 kHz frekanslı SÖD'ye maruz kalan posanın 1 günlük inkübasyonudur. SÖD uyarımı sonucunda kızılıcığın antioksidan aktivitesindeki maksimum artış %188'dir. Bu artış ise 10 dakika boyunca 40 kHz frekanslı SÖD'ye maruz kalan posanın 3 günlük inkübasyonu sonucunda elde edilmiştir.

Sales (2010a)'ın fıstık üzerine yaptığı çalışmada fenolik madde miktarında en yüksek sonuç (1.82 mg GAE/g) SÖD uyarımı ile elde edilirken antioksidan aktivitesinde (ORAK) en yüksek sonuç (100.02 µmol TE/g) UV uyarımı (40 cm) ile elde edilmiştir. Sales UV uyarımını 3 farklı mesafeden yapmıştır: 20, 40 ve 60 cm. Mesafeyi 20 cm'den 40 cm'ye yükseltmek olumlu sonuçlar verirken 40 cm'den 60 cm'ye yükseltmek olumsuz etkilemiştir. Kızılçık ile yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre de 40 cm'den UV uyarımının yapılması 20 cm'ye göre daha etkili sonuçlar vermiştir ancak 60 cm denenmemiştir. Kızılçık ile yapılan çalışmada SÖD uyarımı (FMM: %64 artış, AA: %188 artış), UV uyarımından (FMM: %34 artış, AA: %95 artış) daha etkili olmuştur. Ayrıca bu iki uyarıma ek olarak kızılçık posa hazırlama sırasında yaralama - kesme işlemi de elisitör etkisi yapmıştır. Kızılçığın fenolik madde sentezini posa hazırlama sırasında uygulanan mekanik homojenizer (yaralama-kesme) etkilemezken antioksidan aktivitesinde artışa sebep olmuş, %40.5'den %79.1'e yükselmiştir (İS: 7d).

En iyi sonuçları veren UV ve SÖD uyarımları birleştirilerek uygulanmıştır. UV ve SÖD'nin birlikte uygulanması (eş anlı ve ardışık), sadece UV veya sadece SÖD uyarımından daha etkili olmuştur. Eş anlı olarak UV-SÖD uyarımı ile fenolik madde miktarında elde edilen artış (%104), ardışık olarak UV-SÖD uyarımı ile elde edilen artıştan daha fazla olmuştur (%63). Antioksidan aktivitesinde eş anlı ve ardışık UV-SÖD uyarımının ikisinde de aynı artış elde edilmiştir (%388). UV ve SÖD'nin eş anlı uygulanması ardışık olarak uygulanmasından daha iyi sonuçlar vermiştir. Birlikte uyarımlarda elde edilen %388'lik artış UV-SÖD uyarımının birlikte uygulanmasına ek olarak kesme - yaralama da elisitör etkisi yapmıştır. Sales (2010b)'da en iyi sonuçları UV ve SÖD uyarımları birlikte uyguladığı proseste en yüksek toplam fenolik madde derişimini [1.74 mg GAE/g (kontrol: 1.26 mg GAE/g)] ve antioksidan kapasitesini (ORAK) [220 µmol TE/g (kontrol: 44.7 µmol TE/g)] elde etmiştir. Sales (2009), fıstık üzerine yaptığı ilk çalışmasında kesme - yaralamanın da sonuçlarını etkilediğini belirtmiştir.

Sonuç olarak UV ve SÖD abiyotik stresleri, kızılçık için etkili elisitörlerdir. UV ve SÖD uyarımları ile kızılçığın antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarında önemli artışlar elde edilmiştir. UV ve SÖD uyarımları ile fenolik madde üretim

reaksiyonlarında kullanılan enzimlerin aktivasyonu hızlanmıştır ve antioksidanların aktivitesi artmıştır. Ancak bu artış inkübasyon süresi boyunca doğrusal bir artış göstermemiştir. Değerler inkübasyon süresi boyunca değişim göstermiştir. Literatürde Erkan (2008)'ın çilek üzerine yaptığı çalışmada ve Sales (2010a, 2010b)'ın fıstık üzerine yaptığı çalışmalarda analizlenen değerlerde de benzer dalgalanmalar görülmüştür.

Abiyotik stresler (kurutma, aşırı tuzluluk, UV, SÖD vb.), bitkide morfolojik, psikolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere sebep olmaktadır. Bu da büyümeyi ve verimliliği etkilemektedir. Bu stresler ayrıca birincil ve ikincil metabolitlerin biyosentez, derişim ve depolanmalarını etkilemektedir (Vahdati 2013).

Tarım ve çevre alanları, küresel ısınma ve endüstrileşmeden kötü etkilenmektedir. Bu olumsuz etkiler ekilebilir alanların %30'unun 25 yıl içinde kayıp olacağını ve bu oranın 2050'de %50'ye ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu durum bitkilerdeki önemli kimyasalların elisitörlerle arttırılması konusunun önemini ortaya koymaktadır (Vahdati 2013).

6. ÖNERİLER

Bu yüksek lisans çalışmasının devamında yapılabilecek başka araştırmalar için öneriler aşağıda sıralanmıştır.

- ✓ Bu çalışmada ultrasonik homojenizerler ile periyotlu (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) olarak çalışılmıştır. Bu çalışmadakinden farklı bir periyotta (örneğin, 0.1 s açık, 0.9 s kapalı) SÖD uyarımı gerçekleştirip periyot etkisi incelenebilir.
- ✓ Kızılcık meyvesi ile çalışılırken derin dondurucuda bekletmenin de stres etkisi yaptığı gözlenmiştir. Meyveyi derin dondurucuda bekletmenin ve bekletme süresinin etkisi araştırılabilir.
- ✓ Kızılcık meyvesi üzerine farklı abiyotik (UV, SÖD, $AlCl_3$, yaralama, ağır metal iyonları vb.) ya da biyotik (bakteri, mantar vb.) elisitörlerin tek başına ya da birlikte kullanıldığı sistemlerin etkisi incelenebilir.
- ✓ Kızılcık meyvesinde uyarımlar sonucunda elde edilen artışların, depolama süresince fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerlerindeki değişim incelenebilir.
- ✓ Kızılcık meyvesi yüksek miktarda askorbik asit içermektedir. Abiyotik veya biyotik uyarımlar sonucunda kızılcığın askorbik asit miktarındaki değişim incelenebilir.
- ✓ Başka meyve örnekleri üzerine UV ve SÖD'nin ayrı ayrı ve birlikte etkisi incelenebilir.

KAYNAKLAR

- Akman, Y. ve Güney, K. 2010. Bitki Biyolojisi Botanik, Palme Yayıncılık, Ankara, s. 669-672
- Anonim. 2012a. Web Sitesi: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>, Erişim Tarihi: 15/03/2012
- Anonim. 2012b. Web Sitesi: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kızılılık>, Erişim Tarihi: 15/03/2012
- Anonim. 2012c. Web Sitesi: <http://www.nuveforum.net/1104-genel-araclar/63413-sesot-esi-dalgalar-olusmasi-piezoelektrik-transduktorler/>, Erişim Tarihi: 03/11/2012
- Anonim. 2013a. Web Sitesi: <http://www.nesilgidaimalat.com.tr/turkce/kizilcik.htm>, Erişim Tarihi: 13/01/2013
- Anonim. 2013b. Web Sitesi http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm, Erişim Tarihi: 26/03/2013
- Anonim. 2013c. Web Sitesi: <http://www.yiyorumbuyuyorum.com/bir-bilenden-yazilari/serbest--radikaller/makale281.html>, Erişim Tarihi: 26/03/2013
- Anonim. 2013d. Web Sitesi: http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16, Erişim Tarihi: 26/03/2013
- Anonim. 2013e. Web Sitesi: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>, Erişim Tarihi: 06/04/2013
- Anonim. 2013f. Web Sitesi: http://www.sifalibitkiler.us/Bitki_sozlugu/antioksidanlar, Erişim Tarihi: 20/03/2013
- Anonim. 2013g. Web Sitesi: <http://www.genbilim.com/content/view/3904/34/>, Erişim Tarihi: 15/03/2013
- Anonim. 2013h. Web Sitesi: www.food.hacettepe.edu.tr/turkishouyelerigm428bilesenler_2_fenolikler.pdf, Erişim Tarihi: 17/01/2013
- Anonim. 2013i. Web Sitesi: www.yavuzyilmaz.biz/?p=7050, Erişim Tarihi: 03/04/2013
- Anonim. 2013j. Web Sitesi: <http://www.saglikweb.com/tip.sozlugu/glikozitler.asp>, Erişim Tarihi: 03/04/2013

- Anonim. 2013j. Web Sitesi: <http://www.frmartuklu.net/bilim-amp-teknoloji/89285-ultraviyole-isininlari-mor-otesi-isininlar.html>, Erişim Tarihi: 27/01/2013
- Anonim. 2013k. Web Sitesi: <http://www.ultraviyole.net/>, Erişim Tarihi: 27/01/2013
- Anonim. 2013l. Web Sitesi: <http://www.fokuswater.com/ultraviyole-dezenfeksiyon-sistemleri/#.UWctvqIa7ps>, Erişim Tarihi: 13/02/2013
- Anonymous. 2012. Web Sitesi: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Ultraviyole>, Erişim Tarihi: 13/01/2012
- Anonymous. 2013. Web Sitesi: <https://sites.google.com/site/uvraysallyouneedtoknow/the-benefits-of-uv-rays>, Erişim Tarihi: 13/01/2013
- Cao, S. 2010. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control*. Vol. 21; pp. 529–532.
- Chiou, A., Karathanos, V.T., Mylona, A., Salta, F.N., Preventi, F. and Andrikopoulos N.K. 2007. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*. Vol. 102; pp. 516-522.
- Cindrić, I.J., Zeine, M., Krpetić, M. and Stingeder, G. 2012. ICP-AES determination of minor and major elements in Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) after microwave assisted digestion. *Microchemical Journal*. Article in press.
- Demir, F. and Kalyoncu, İ.H. 2003. Some nutritional, pomological and physical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Food Engineering*. Vol. 60; pp. 335-341.
- Eichholz, I., Huyskens-Keil, S., Keller, A., Ulrich, D., Kroh, L.W. and Rohn, S. 2011. UV-B-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry*. Vol.126; pp. 60-64.
- Erkan, M., Wang, S. Y. and Wang, C. Y. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. Vol. 48; pp. 163–171.
- Eser, Z. 2011. Kızılcık meyvesi ve marmelatının bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri ile antioksidan aktivitesi ve antosiyanin profilinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Erte, E. 2007. Siyah üzümde (*Vitis vinifera* L.) bulunan resveratrol'ün üretim veriminin artırılmasına ses ötesi dalgaların etkisi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Frei, B. 1994. Natural Antioxidants in Human Health and Disease. Academic Press (transferred digital printing 2006).
- Halliday, D. and Resnick, R. 1992. Fiziğin Temelleri-1 (Çeviren: Prof. Dr. Cengiz Yalçın). Arkadaş Kitabevi, 3. Baskı.
- Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J. and Adlipour, M. 2011 Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. Scientia Horticulturae. Vol. 129; pp. 459-463.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 53; pp. 1841-1856.
- Huyskens-Keil, S., Eichholz, I., Kroh, L. W. and Rohn, S. 2007. UV-B induced changes of phenol composition and antioxidant activity in black currant fruit (*Ribes nigrum* L.). Journal of Applied Botany and Food Quality. Vol. 81; pp. 140-144.
- Gündüz, T. 1998. Kimyacılar İçin İstatistik. Gazi Kitabevi, Ankara.
- İşlek, C. 2009. Serbest ve tutuklanmış *Capsicum annuum* L. hücre süspansiyon kültürlerinde kapsaisin üretimi üzerine bazı uyarıcıların etkisi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Kayış, T. 2010. Diazinon'un subletal konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Keskin, N. 2007. Asma kallus kültürlerinde UV ışını etkisi ile resveratrol üretiminin uyarılması ve belirlenmesi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- Kındır, Ö. 2010. Siyah üzüm posasının antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesinde proses parametrelerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Kılmanoğlu, S. 2010. Kızılıçık ve karayemişin fenolik madde içeriği ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir çalışma. Yüksek lisans tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Nizamlioğlu, N. M. ve Nas, S. 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*. Vol. 5; pp. 20-35.
- Öskay, D. ve Öskay, M. 2009. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi. *e-Journal of New World Sciences Academy*. Vol. 4(2); pp. 32-41).
- Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. and Diamantidis, Gr. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. Vol. 102; pp. 777-783.
- Payne, G., Bringi, V., Prince, C. and Shuler, M. L. 1991. *Plant Cell and Tissue Culture in Liquid Systems*. Hanser Publishers, Munich.
- Popovic', B.M., Štajner, D., Slavko, K. and Sandra, B. 2012. Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) – Comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chemistry*. Vol. 134; pp. 734-741.
- Prior, R. L., Wu, X. and Scaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietry Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53; pp. 3110-3113.
- Sales, J.M. and Resurreccion, A.V.A. 2009. Maximising resveratrol and piceid contents in UV and ultrasound treated peanuts. *Food Chemistry* (117; 674-680).
- Sales, J.M. and Resurreccion, A.V.A. 2010a. Maximizing phenolics, antioxidants and sensory acceptance of UV and ultrasound treated peanuts. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 43; pp. 1058-1066.
- Sales, J. M. and Resurreccion, A.V.A. 2010b. Phenolic profile, antioxidants, and sensory acceptance of bioactive-enhanced peanuts using ultrasound and UV. *Food Chemistry*. Vol. 122; pp. 795-803.
- Tural, S. and Koca, İ. 2008. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*. Vol. 116; pp. 362-366.
- Turhan, S. ve Üstün, N. Ş. 2006. Doğal Antioksidanlar ve Gıdalarda Kullanımları. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Tuzlacı, E. 2006. Türkiye Bitkileri Sözlüğü. Alfa Yayınları, 1. Basım.
- Yılmaz, K. U., Ercişli, S., Zengin, Y., Şengül M. and Kafkas E.Y. 2009. Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chemistry*. Vol. 114; pp. 408-412.

- Vinson, J., Zubik, L., Bose, P., Sammon, N. and Proch, J. 2005. Dried Fruits: Excellent in vitro and in vivo Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol. 24; pp. 44-50.
- Vahdati, K. and Leslie, C. 2013. *Abiotic Stress Plant Responses and Application in Agriculture*. Published by InTech, Croatia.
- Wang, C.Y., Chen, Chi-Tsun. and Wang, S.Y. 2009. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*. Vol. 117; pp. 426-431.
- West, B.J., Deng, S., Jensen, C.J., Palu, A.K. and Berrio, L.F. 2012. Antioxidant, toxicity, and iridoid tests of processed Cornelian cherry fruits. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol. 47; pp. 1392-1397.

EKLER

EK 1 SÖD Uygulamalarının Enerji Yoğunlukları

EK 2 Meyve Ekstraksiyonu

EK 3 Kızılılık Ekstaksiyonu

EK 4 Gallik Asit Kalibrasyon Grafikleri

EK 5 A. DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

EK 5 B. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

EK 6 A. Kızılılığın Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

EK 6 B. Kızılılığın Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

EK 7 DPPH Yöntemi İçin Parametre Belirlenmesi ve DPPH Kalibrasyon Grafiği

EK 8 İstatistiksel Hesaplama İçin 't' Değerleri ve Örnek Hesaplama

EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi)

EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı)

EK 1 SÖD Uygulamalarının Enerji Yoğunlukları

Tez çalışması kapsamında, periyotlu olarak (0.5 s açık, 0.5 s kapalı) farklı sürelerde (10 min, 1 h) SÖD uygulamaları yapılmıştır.

SÖD uygulamasında enerji yoğunluğu (E.Y), birim hacimdeki sıvıya verilen enerjidir ve aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır:

$$E.Y = J/m^3 = W.s/m^3$$

W: Ultrasonik homojenizerin gücü (watt)

s: Toplam SÖD uygulama süresi (saniye)

m³: Kullanılan sıvı hacmi (42 ml = 42 * 10⁻⁶ m³)

- SÖD uygulaması için kullanılan 20 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer 400 W gücüne sahiptir ve uygulamalar boyunca %25 değerinde sabit genlikte çalıştırılmıştır. Bu durumda güç değeri (W); 400W * 0.25 = 100 W olarak alınmıştır.
- SÖD uygulaması için kullanılan 30 kHz frekanslı ultrasonik homojenizer 100 W gücüne sahiptir ve uygulamalar boyunca %100 değerinde sabit genlikte çalıştırılmıştır. Bu durumda güç değeri (W); 100W * 1 = 100 W olarak alınmıştır.

%50 periyotlu 10 min süreyle yapılan SÖD uygulamasında 5 min = 300 s, 1 h süreyle yapılan SÖD uygulamasında ise 30 min = 1800 s uyarım yapılmıştır.

Buna göre enerji yoğunluğu:

$$(E.Y)_{20kHz-10min} = (E.Y)_{30kHz-10min} = (100 W * 300s) / 42 * 10^{-6} m^3 = 714 MJ/m^3$$

$$(E.Y)_{20kHz-1h} = (E.Y)_{30kHz-1h} = (100 W * 1800s) / 42 * 10^{-6} m^3 = 4286 MJ/m^3$$

olarak hesaplanmıştır.

EK 2 Meyve Ekstraksiyonu

Jia vd. 2012

- ✓ Dondurulmuş meyve, oda sıcaklığında bekletilerek buz çözümlür.
- ✓ Blenderla 3 min homojenize edilir.
- ✓ Homojenize edilmiş meyvenin 100 g'ı 900 ml %50 etanol ile 35 °C'ta 2 h karıştırılır (kapalı kapta, karanlıkta, sabit çalkalama hızında).
- ✓ Homojen karışım 0.45 µm filtre membran ile filtrelenir.
- ✓ Filtrat, döner buharlaştırıcıda 40 °C'ta konsantre edilir.

Chiou vd. 2007

Yarı kuru örnekler damıtık su ile 50 ml'ye tamamlanır.

- ✓ 20 g meyve mekanik olarak homojenize edilir ve dondurularak kurutulur.
- ✓ Kuru kütle; temiz, kapalı şişelerde 4 °C'ta analize kadar bekletilir.
- ✓ Bütün analizler dondurularak kurutulmuş örneklere uygulanır.
- ✓ Sonuçlar daha sonra taze ağırlık bazında ifade edilir.
- ✓ Kuru homojenize edilmiş 0.5 g örnek 5 ml metanol ile karıştırılır.
- ✓ Ses ötesi banyoda 15 min tutulur ve oda sıcaklığında 24 h karıştırılır.
- ✓ Karışım, 3000 rpm'de 5 min santifüjlenir ve metanol ekstraktı toplanır.
- ✓ Kalan artık (katı kısım) 5 ml metanol ile 4 kez daha ekstrakte edilir.
- ✓ Sonradan yapılan 4 ekstraksiyonun her biri ses ötesi banyoda 15 min tutuldu ve 10 min karıştırılır.
- ✓ Bütün ekstraktlar birleştirilir, indirgenmiş basınçta metanol uzaklaştırılır ve kalan kısım 1 ml metanolde çözülür.
- ✓ Çözeltilerin 0.2 ml'lik kısmı, toplam fenol içeriği ve toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için 4 °C'ta bekletilir.

Pantelidis vd. 2007

- ✓ Meyve örnekleri 55 °C'ta hava kurutma ile kurutulur ve homojenize edilir.
- ✓ 1 g kuru örnek + 10 ml **ekstraksiyon çözeltisi (%50 metanol/su)**
- ✓ Karışım 4 °C'ta, karanlıkta, 24 h bekletilir (**sıvı kısım¹**).
- ✓ Sıvı kısım¹ alınır, yerine aynı miktarda ekstraksiyon çözeltisi eklenir.
- ✓ Karışım 4 °C'ta, karanlıkta, 48 h bekletilir (**sıvı kısım²**).
- ✓ Sıvı kısım¹ ve sıvı kısım² karıştırılır

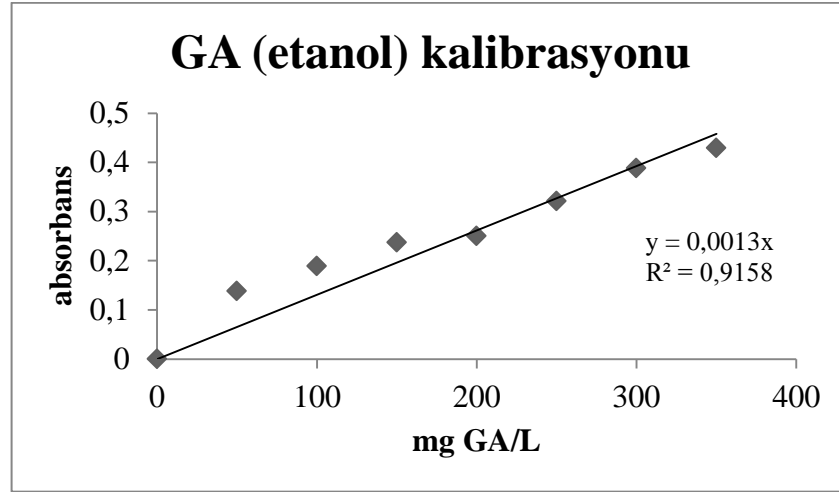
Toplam hacim 25 ml olana kadar ekstraksiyon çözeltisi eklenir.

EK 3 Kızılıcık Ekstaksiyonu (Pantelidis vd. 2007)

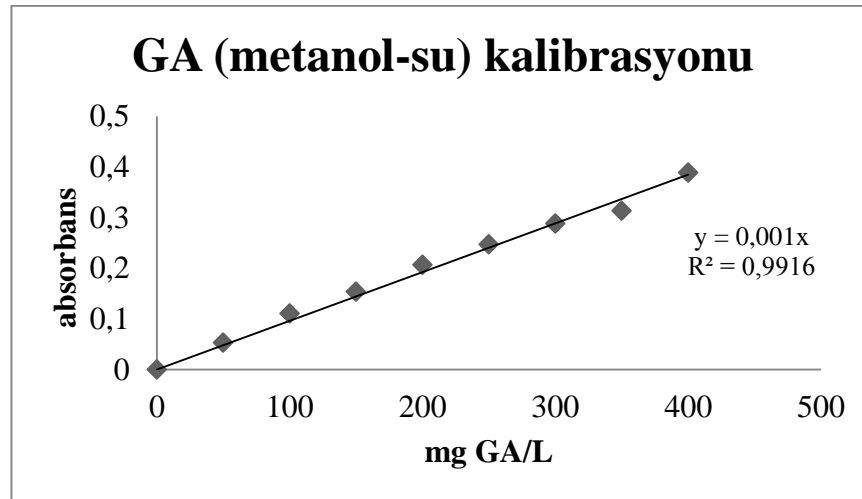
- 1 g posa haline getirilmiş kızılıcık + 10 ml metanol-su (hacimce %50-%50)
- 4 °C, 15 h, 150 rpm, karanlıkta çalkalanır
- 0.45µm'lik filtreden süzülür (ya da 4 °C, 15 min, 3500 rpm'de santrifüjlenir)
- Katısı atılır, sıvı kısım (*esktrakt*) alınır

(Pantelidis 4 °C'ta 24 h karıştırılmadan bekletip sıvısını aldı ve posayı 2. kez 48 h karıştırılmadan bekleterek ekstraksiyon yapmıştı. Bu çalışmada ekstraksiyon 4 °C, 15 h, 150 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir.)

EK 4 Gallik Asit Kalibrasyon Grafikleri



Şekil 1 Etanol ile hazırlanmış gallik asit kalibrasyon grafiği



Şekil 2 Metanol-su (hacimce %50-%50) ile hazırlanmış gallik asit kalibrasyon grafiği

EK 5 A. DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

(Literatürün İncelenmesi)

Jia vd. 2012

- ✓ 0.1 ml ekstrakt (farklı derişimlerde: 6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100 mg/ml) 3 ml 0.1 mM DPPH çözeltisi (DPPH %95 metanolde çözülür) ile karıştırılır.
- ✓ Karışım oda sıcaklığında, 30 min inkübe edilir.
- ✓ Absorbansı 517 nm'de okunur.

$$\% \text{ DPPH süpürme aktivitesi} = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100$$

A_c = DPPH'in başlangıçtaki absorbansı

A_s = 30 min sonunda karışım içinde kalan DPPH'in absorbansı

Hassanpour vd. 2011

Serbest radikal süpürme aktivitesi Nakajima vd. 2004 ve Chiou vd. 2007'nin modifikasyonuna göre belirlenmiş:

- ✓ 50 µl seyreltilmiş ekstraktlar (2-20 mg/ml) 1 ml ($6 \cdot 10^{-5}$ M) DPPH-metanol çözeltisine eklenir.
- ✓ Karışım çalkalanmış ve 30 min boyunca oda sıcaklığında bekletilir.
- ✓ Absorbans 515 nm'de okundu. Kontrol için metanol kullanılır.

$$\% \text{ DPPH inhibisyon} = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100$$

Chiou vd. 2007

- ✓ Her bir metanol ekstraktı 1:5 oranında metanol ile seyreltilir (çalışma çözeltisi).
- ✓ Çalışma çözeltisi metanol ile 1:2 oranında 6 seri seyreltmeye tabi tutulur.
- ✓ 7 çözeltinin (çalışma çözeltisi + 6 seyreltilmiş çözelti) her birinin 0.1 ml'lik kısmı 3.9 ml DPPH çözeltisine ($6 \cdot 10^{-5}$ M metanolde) eklenir ve karıştırılır.
- ✓ 30 min sonra 515 nm'de absorbansı okunur.
- ✓ DPPH çözeltisinin absorbansı (kontrol) da ölçülür.
- ✓ Elde edilen veriler DPPH'in %50 sini temizlemek için gerekli meyvenin miktarını (mg) belirlemek için kullanılır (EC_{50})
- ✓ % kalan DPPH aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\% \text{ kalan DPPH} = A_t * \frac{100}{A_c}$$

A_c = DPPH'in başlangıçtaki absorbansı

A_t = 30 min sonunda karışım içinde kalan DPPH'in absorbansı

EK 5 B. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi (Literatürün İncelenmesi)

Jia vd. 2012

- ✓ Metanol/aseton/su (3.5:3.5:3 v/v/v) (%1 formik asit içeriyor) ile 10 kat seyreltilen ekstraktın 1ml'si Folin-Ciocalteu'nun fenol ayracı ile karıştırılır ve 3 min oda sıcaklığında bekletilir.
- ✓ Karışıma 3 ml Na₂CO₃ (75g/l) eklenir ve 2 h oda sıcaklığında bekletilir.
- ✓ Örnek filtre edilir (0.45 µm) ve 760 nm'de absorbans okunur.

Pantelidis vd. 2007

- ✓ 0.05 ml seyreltilmiş ekstrakt ve 0.45 ml su, 2.5 ml Folin-Ciocalteu'nun fenol ayracı (1:9 oranında seyreltilmiş) ile karıştırılır.
- ✓ 2 ml (%7.5 w/v) Na₂CO₃ eklenir.
- ✓ 50 °C'ta, 5 min karanlıkta bekletildikten sonra 760 nm'de absorbans okunur.

EK 6 A. Kızılığın Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi (Jia 2012, Hassanpour 2011)

(Bu çalışmada kullanılan yöntem)

- 1 ml ekstrakt 1:39*, 1:19, 1:9, 1:4, 1:1 (2.5, 5, 10, 20, 50 mg/ml) oranında seyreltilerek ve seyreltilmeden (100mg/ml)
- 2 ml DPPH çözeltisi + her bir çözeltinin 0.1 ml'si
(3.9 mg DPPH/100ml metanol-su yani 0.1 mM)
- t min oda sıcaklığında bekledikten sonra 515 nm'de absorbans okunmuştur
(t = 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90)
- DPPH çözeltisinin absorbansı da okunmuştur (Co = DPPH'in başlangıç derişimi, 0.1 mM)
- DPPH'in % tutulan miktarı aşağıdaki gibi hesaplandı:

$$\% \text{ antioksidan aktivitesi} = \frac{Co - C}{Co} * 100$$

Co = DPPH'in başlangıçtaki derişimi (mM)

C = DPPH'in çözeltide kalan kısmının derişimi (mM)

Tüm absorbans okumalarında curl için metanol-su (hacimce %50-%50) kullanılır.

(Hassanpour DPPH'ı metanolde, Jia %95'lik metanol-suda çözmüşler. Bu çalışmada DPPH radikali %50'lik metanol-su da çözülmüştür.)

* 1:39 → '1 ml ekstrakt, 39 ml metanol-su (hacimce %50-%50) ile seyreltildi' demek

EK 6 B. Kızılıcığın Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

(Pantelidis 2007)

(Bu çalışmada kullanılan yöntem)

- 0.05 ml *ekstrakt* + 0.45 ml saf su
+ 2.5 ml Folin-Ciocalteu'nun fenol ayracı (1:9* oranında saf su seyreltilmiş)
- 2 ml (%7.5 w/v) Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilir
- 50 °C'ta, 5 min, karanlıkta bekletilir
- 760 nm'de absorbans okunur
- Gallik asit kalibrasyon grafiği yardımı ile **mg GAE/ml** olarak belirlenen fenolik madde miktarı, aşağıdaki gibi hesaplanarak **mg GAE/g yaş meyve** birimine dönüştürülür.

$$\frac{A \text{ mg GAE}}{\text{ml}} * \frac{0.05\text{ml} + 0.45\text{ml}}{0.05\text{ml}} \text{ kat} * \frac{10 \text{ ml}}{1 \text{ g yaş meyve}} = B \frac{\text{mgGAE}}{\text{g yaş meyve}}$$

*1:9 → ‘‘1 ml Folin-Ciocalteu’ nun fenol ayracı, 9 ml saf su ile seyreltildi’’ demek

EK 7 DPPH Yöntemi İçin Parametre Belirlenmesi ve DPPH Kalibrasyon Grafiği

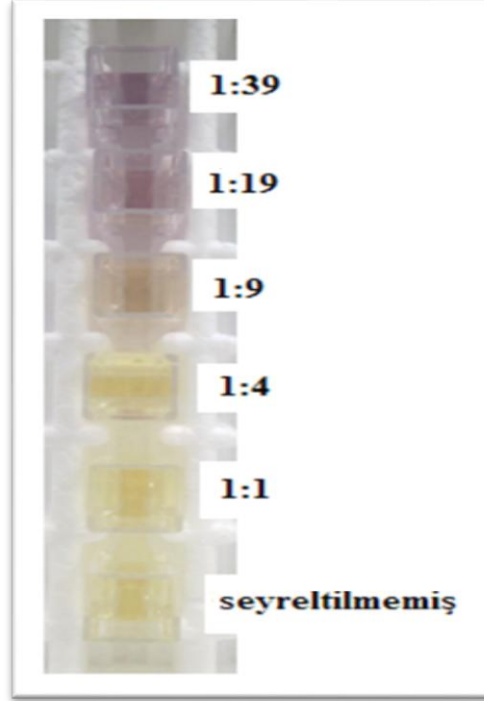
Örneklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan DPPH yönteminde, örnek için en uygun seyreltme oranı ve örnek - DPPH radikali karışımının tepkime süresi tez çalışması için spesifik olarak belirlenmiştir. Bunun için farklı oranlarda seyreltilen örnek çözeltilerinin spektrofotometrik olarak zamana karşı belirlenen absorban değerleri çizelge 1’de yer almaktadır.

Çizelge 1 Yöntem belirleme (Farklı derişimlerdeki kızılılık ekstraktlarındaki DPPH absorbanı)

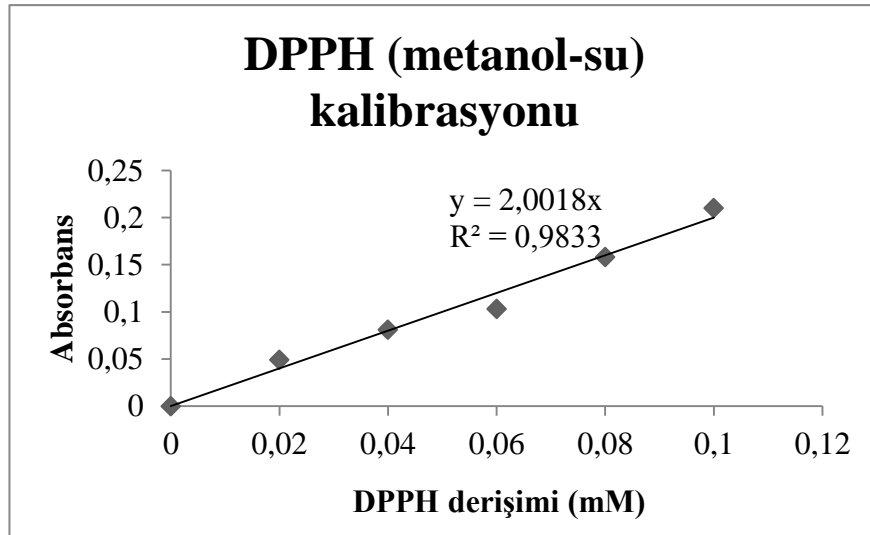
Süre (min)		0	15	30	45	60
Seyreltme oranı	Derişim (mg/ml)	Absorbans				
1:39	2.5	0.190	0.165	0.163	0.163	0.163
1:19	5	0.176	0.126	0.121	0.121	0.121
1:9	10	0.173	0.080	0.072	0.072	0.072
1:4	20	0.168	0.053	0.046	0.045	0.045
1:1	50	0.158	0.048	0.032	0.032	0.032
Seyreltilmemiş	100	0.151	0.042	0.024	0.024	0.024

Şekil 3’te görüldüğü gibi, örnek-DPPH radikali karışımında örneğin seyreltme oranı arttıkça antioksidan ile reaksiyona giren DPPH radikali derişimi de artacağı için ortamda bulunan DPPH radikali miktarı azalmaktadır. Bu durum mor rengin açılması ile anlaşılır. Renk solması antioksidan derişimi ile orantılıdır. Kızılılık ekstraktının seyreltme oranı azaldıkça ortamda bulunan antioksidan miktarı fazla olacağı için reaksiyona giren DPPH radikali miktarı artar, mor rengin kaybolduğu ve absorbanın azaldığı görülür.

**EK 7 DPPH Yöntemi İçin Parametre Belirlenmesi ve DPPH Kalibrasyon Grafiği
(devam)**



Şekil 3 Farklı oranlarda seyreltilmiş örnekler ile DPPH radikalinin oluşturduğu karışımında renk solması



Şekil 4 Metanol-su (hacimce %50-%50) ile hazırlanmış DPPH kalibrasyon grafiği

EK 8 İstatistiksel Hesaplama İçin 't' Değerleri ve Örnek Hesaplama

Çizelge 2 t-Testi kritik değerleri

Serbestlik derecesi	Risk Seviyeleri					
	Tek Yanlı Test			İki Yanlı Test		
	% 10	% 5	% 1	% 10	% 5	% 1
1	3.08	6.31	31.82	6.31	12.71	63.66
2	1.89	2.92	6.97	2.92	4.30	9.92
3	1.64	2.35	4.54	2.35	3.18	5.84
4	1.53	2.13	3.75	2.13	2.78	4.60
5	1.48	2.02	3.36	2.02	2.57	4.03
6	1.44	1.94	3.14	1.94	2.45	3.71
7	1.42	1.89	3.00	1.89	2.36	3.50
8	1.40	1.86	2.90	1.86	2.31	3.36
9	1.38	1.83	2.82	1.83	2.26	3.25
10	1.37	1.81	2.76	1.81	2.23	3.17
11	1.36	1.80	2.72	1.80	2.20	3.11
12	1.36	1.78	2.68	1.78	2.18	3.06
13	1.35	1.77	2.65	1.77	2.16	3.01
14	1.35	1.76	2.62	1.76	2.15	2.98
15	1.34	1.75	2.60	1.75	2.13	2.95
20	1.32	1.72	2.53	1.72	2.08	2.85
30	1.31	1.70	2.46	1.70	2.04	2.75
60	1.30	1.67	2.39	1.67	2.00	2.66
120	1.29	1.66	2.36	1.66	1.98	2.62
Sonsuz	1.28	1.64	2.33	1.64	1.96	2.58

Örnek istatistiksel hesaplama:

$$n = 3$$

3 tekrar:

$$x_1 = 31.8 \text{ mg GAE/g yaş meyve}$$

$$x_2 = 29.1 \text{ mg GAE/g yaş meyve}$$

$$x_3 = 28.8 \text{ mg GAE/g yaş meyve}$$

$$x_{\text{ort}} = 29.9 \text{ mg GAE/g yaş meyve}$$

$$S^2 = [(x_{\text{ort}} - x_1)^2 + (x_{\text{ort}} - x_2)^2 + (x_{\text{ort}} - x_3)^2] / (n-1)$$

$$S^2 = [(29.9 - 31.1)^2 + (29.9 - 29.1)^2 + (29.9 - 28.8)^2] / (3 - 1) = 2.73$$

$$S = 1.65$$

$$t = 4,3$$

$$\mu = x_{\text{ort}} \pm (4.3 * S) / (n^{1/2}) = 29.9 \pm (4.3 * 1.65) / (3^{1/2})$$

$$\mu = 29.9 \pm 4.1 \text{ mg GAE/g yaş meyve}$$

EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi)

Çizelge 3 UV (20 cm) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 20 cm	10 min	40	46	46	43	46	53	65	64	67
			42	46	42	46	60	59	63	68
			38	47	44	46	55	61	66	69
			42±10	46±1	43±3	46±1	56±9	62±8	64±4	68±3

Çizelge 4 UV (20 cm) ile 1h uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 20 cm	1 h	40	33	37	34	35	38	40	35	38
			34	36	36	33	38	37	40	38
			32	36	33	32	36	36	40	39
			33±2	36±1	34±3	33±5	37±2	38±4	38±8	39±1

Çizelge 5 UV (40 cm) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 40 cm	10 min	40	48	52	42	55	54	72	59	62
			44	50	41	55	54	82	56	65
			44	48	43	56	57	79	57	70
			45±6	50±5	42±3	55±2	55±5	78±12	57±4	66±9

EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi) (devam)

Çizelge 6 UV (40 cm) ile 1 h uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 40 cm	1 h	40	40	37	37	43	44	48	36	42
			36	36	36	39	46	53	37	42
			41	36	37	43	50	56	36	44
			39±7	36±2	37±1	41±6	47±7	52±10	36±2	43±3

Çizelge 7 SÖD (20 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 20 kHz	10 min	8	6	17	12	18	28	16	21	28
			8	16	10	20	15	22	16	20
			6	12	9	17	21	20	19	21
			7±2	15±6	10±4	18±4	22±15	19±8	18±6	23±10

Çizelge 8 SÖD (20 kHz) ile 1 h uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 20 kHz	1 h	8	9	19	11	16	13	16	11	18
			15	15	19	12	19	24	18	24
			11	15	13	15	18	19	13	20
			12±7	17±5	14±10	14±6	17±8	20±10	14±9	20±4

EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi) (devam)

Çizelge 9 SÖD (30 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 30 kHz	10 min	8	12	22	6	13	19	10	15	11
			15	19	11	15	23	16	13	6
			11	22	12	13	16	8	10	7
			13±5	21±5	10±8	14±3	19±9	12±10	13±7	8±6

Çizelge 10 SÖD (30 kHz) ile 1 h uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 30 kHz	1 h	8	14	18	7	12	20	9	10	13
			9	14	11	15	19	9	8	15
			15	20	14	18	23	8	7	7
			13±7	17±7	11±9	15±7	21±5	9±1	8±4	11±10

Çizelge 11 SÖD (40 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 40 kHz	10 min	8	13	17	10	20	16	24	12	11
			13	16	13	20	17	22	10	8
			13	10	11	19	13	25	21	18
			13±1	14±9	12±5	20±2	15±6	23±4	14±14	12±12

EK 9 Deney Sonuçları (Antioksidan Aktivitesi) (devam)

Çizelge 12 SÖD (40 kHz) ile 1 h uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 40 kHz	1 h	8	11	26	20	13	18	10	8	12
			13	27	17	14	24	12	10	12
			13	17	26	16	13	21	11	15
			12±3	23±14	21±12	15±4	18±14	14±14	10±5	13±5

Çizelge 13 UV (40 cm) + SÖD (40 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV (40 cm) + SÖD 40 kHz	10 min	8	22	26	20	34	32	39	28	15
			19	19	17	27	24	40	18	9
			21	14	20	29	24	37	23	18
			21±4	20±15	19±4.3	30±9	27±11	39±4	23±13	14±11

Çizelge 14 UV(40 cm) → SÖD(40 kHz) ile 10 min+10 min uyarılmış kızılciğın antioksidan aktivitesi (%)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV (40 cm) ↓ SÖD 40 kHz	10 min + 10 min	8	10	21	18	24	37	39	38	16
			7	18	14	30	27	38	22	15
			13	17	17	27	32	39	30	15
			11±9	19±5	16±6	27±8	32±12	39±1	29±17	16±1

EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı)

Çizelge 15 UV (20 cm) ile 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı
(mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 20 cm	10 min	27.4	31.8	29.3	27.5	28.9	26.8	29.9	27.2	23.3
			29.1	24.2	27.2	27.9	24.8	27.3	28.2	27.7
			28.8	27.2	27.8	28.4	26.8	29.1	29.9	28.6
			29.9±4.1	26.9±6.3	27.5±0.7	28.4±1.3	26.1±2.9	28.8±3.4	28.4±3.4	26.5±6.9

Çizelge 16 UV (20 cm) ile 1h uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı
(mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 20 cm	1 h	27.4	30.2	29.2	26.8	26.9	27.4	28.0	28.7	26.8
			33.7	26.9	27.2	27.8	25.5	25.7	26.3	27.0
			29.3	25.5	27.2	27.9	26.6	24.9	28.0	27.4
			31.1±5.7	27.2±4.6	27.1±0.6	27.5±1.2	26.5±2.3	26.2±4.1	27.7±3.1	27.1±0.7

Çizelge 17 UV (40 cm) ile 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı
(mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 40 cm	10 min	27.4	29.1	35.2	27.8	30.0	30.0	28.9	23.2	31.8
			29.2	39.7	28.9	23.9	27.2	27.1	26.5	30.6
			31.9	35.5	26.9	27.7	27.8	27.6	27.0	30.1
			30.1±3.9	36.8±6.2	27.9±2.6	27.2±2.5	28.3±3.6	27.9±3.6	25.5±5.1	30.8±2.2

EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı) (devam)

Çizelge 18 UV (40 cm) ile 1h uyarılmış kızılıcığın fenolik madde miktarı (mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV 40 cm	1 h	27.4	27.7	27.4	28.2	28.7	28.2	31.2	20.7	28.9
			27.8	27.3	27.7	26.7	26.8	30.3	25.7	28.3
			30.8	31.3	28.2	28.2	28.3	28.6	26.2	28.8
			28.8±4.3	28.7±5.7	28.0±0.7	27.9±2.6	27.8±2.1	30.0±3.3	24.2±7.5	28.7±0.9

Çizelge 19 SÖD (20 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılıcığın fenolik madde miktarı (mgGAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 20 kHz	10 min	27.4	42.0	42.7	40.6	37.8	40.6	39.9	46.9	38.5
			36.4	42.7	37.1	37.1	42.0	37.8	37.1	35.7
			40.6	45.5	35.0	38.5	42.7	40.6	44.8	39.2
			39.7±7.2	43.6±4.0	37.6±7.0	37.8±1.7	41.8±2.7	39.4±3.6	42.9±12.8	37.8±4.6

Çizelge 20 SÖD (20 kHz) ile 1h uyarılmış kızılıcığın fenolik madde miktarı (mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 20 kHz	1 h	27.4	47.6	44.1	37.8	38.5	37.8	36.4	46.9	38.5
			39.9	42.0	39.2	35.0	35.0	37.1	39.9	37.1
			42.0	44.8	35.7	37.1	38.5	37.8	44.1	37.8
			43.2±9.9	43.6±3.6	37.6±4.4	36.9±4.3	37.1±4.6	37.1±1.7	43.6±8.8	37.8±1.7

EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı) (devam)

Çizelge 21 SÖD (30 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı (mgGAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 30 kHz	10 min	27.4	44.1	39.2	41.3	42.7	35.0	28.7	40.6	35.7
			46.2	45.5	44.1	45.5	36.4	29.4	37.8	34.3
			39.2	42.7	42.0	42.0	29.4	32.2	38.5	35.0
			43.2±8.9	42.5±7.8	42.5±3.6	43.4±4.6	33.6±9.2	30.1±4.6	39.0±3.6	35.0±1.7

Çizelge 22 SÖD (30 kHz) ile 1 h uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı (mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 30 kHz	1 h	27.4	35.0	39.2	35.0	40.6	32.2	32.2	28.7	32.2
			30.1	30.8	39.2	33.6	33.6	29.4	30.8	37.1
			32.9	36.4	37.8	42.7	30.1	37.8	28.0	36.4
			32.7±6.1	35.5±10.6	37.3±5.3	39.0±11.8	32.0±4.4	33.1±10.6	29.2±3.6	35.2±6.6

Çizelge 23 SÖD (40 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı (mgGAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 40 kHz	10 min	27.4	37.8	38.5	40.6	45.5	37.8	28.7	42.7	37.8
			37.1	39.2	37.1	44.8	45.5	37.8	37.8	33.6
			37.8	34.3	35.7	44.1	39.2	36.4	36.4	42.7
			37.6±1.0	37.3±6.6	37.8±6.3	44.8±1.7	40.8±10.2	34.3±12.2	39.0±8.2	38.0±11.3

EK 10 Deney Sonuçları (Fenolik Madde Miktarı) (devam)

Çizelge 24 SÖD (40 kHz) ile 1 h uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı
(mgGAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
SÖD 40 kHz	1 h	27.4	31.5	35.0	37.1	41.3	38.5	46.2	35.0	39.9
			45.5	45.5	42.7	42.7	48.3	35.7	37.1	37.8
			32.9	36.4	39.9	36.4	47.6	42.0	35.7	43.4
			36.6±19.1	39.0±14.2	39.9±7.0	40.1±8.2	44.8±13.6	41.3±13.1	35.9±2.7	40.4±7.0

Çizelge 25 UV (40 cm) + SÖD (40 kHz) ile 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı
(mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV (40 cm) + SÖD 40 kHz	10 min	27.4	56.7	47.6	38.5	47.6	44.1	37.1	37.8	45.5
			51.8	38.5	42.7	44.1	44.8	48.3	46.2	41.3
			59.5	38.5	36.4	42.7	44.5	42.0	43.4	44.8
			56.0±9.7	41.5±13.0	39.2±8.0	44.8±6.3	44.8±1.3	42.5±14.0	42.5±10.6	43.9±5.6

Çizelge 26 UV (40 cm) → SÖD (40 kHz) ile 10 min + 10 min uyarılmış kızılciğın fenolik madde miktarı (mg GAE/g yaş meyve)

Elisitör	Uyarım süresi	Kontrol	İnkübasyon süresi							
			10 min	1 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
UV (40 cm) ↓ SÖD 40 kHz	10 min + 10 min	27.4	46.1	46.1	41.2	40.0	37.5	41.3	43.1	43.1
			42.9	44.1	40.4	42.9	33.5	44.8	46.6	41.6
			44.7	43.2	38.9	41.4	35.8	45.5	45.4	42.0
			44.6±4.1	44.5±3.7	40.2±2.9	41.4±3.6	35.6±5.0	43.9±5.6	45.0±4.5	42.2±1.9

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gözde BAYKAL

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 21.01.1987

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Fatih Sultan Mehmet Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
Fen Bilimleri Branşı (2001-2005)

Lisans: Ankara Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Mühendisliği Bölümü (2005-2010)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı (2010-2013)