

Türkiye Çanakkale'den Hünnap Meyvesinin (*Zizyphus Jujuba*) Sulu Ekstresinin Toplam Fenolik Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi

Hasniye YAŞA^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada; Çanakkale'de yetişen *Ziziphus Jujuba* adlı meyvenin sulu ekstresinin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik, flavonoid ve antosianin madde miktarları tayin edildi. Antioksidan kapasite tayini için; DPPH radikalini süpürme aktivitesi, nitrik oksit giderici etkisi, Fe²⁺ kelatlama aktivitesi ve indirgeyici gücü belirlendi. Ekstredekı toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları sırasıyla, 1 mg hünnap meyvesinin sulu ekstresinde $15.21 \pm 1.05 \mu\text{g}$ pirokateşole eşdeğer ve $2.05 \pm 0.45 \mu\text{g}$ kateşine eşdeğer olarak bulundu. Özellikle fenolik ve flavonoid madde açısından oldukça zengin olan bu meyvenin tarımının desteklenmesi ve halk arasında kullanımının artırılması önemlidir. Çanakkale'de yetişen *Ziziphus Jujuba*, standartlar ve yapılmış bazı çalışmalarla karşılaştırıldığında doğal bir antioksidan madde kaynağıdır.

Anahtar kelimeler: Hünnap, *Zizyphus Jujuba*, antioksidan aktivite, toplam fenolik ve flavonidler

Total Phenolic and Antioxidant Activity of an Aqueous Extract from *Zizyphus Jujube* Fruit from Çanakkale, Turkey

ABSTRACT: In this study, we investigated the antioxidant capacity and total phenolic and flavonoid contents of aqueous of *Ziziphus jujuba* from Çanakkale. The antioxidant capacity of the aqueous extract from *Ziziphus jujuba* fruits was measured by various assays including DPPH radical scavenging, nitric oksit scavenging activity, iron chelating activity and reducing power. Total phenolic and flavonoid content of the extract were measured as pyrocatechol and catechin equivalent respectively, $15.21 \pm 1.05 \mu\text{g}$ pyrocatechol and $2.05 \pm 0.45 \mu\text{g}$ catechin. It is especially important to support the cultivation of this fruit, which is very rich in phenolic and flavonoid substances, and to increase its use among the people. Data suggested that *Ziziphus jujuba* grown in Çanakkale may be importance source as natural antioxidant when it was compared with standarts and old articles about the same methods.

Keywords: Jujube, *Zizyphus Jujuba*, antioxidant activity, total phenolics and flavonoids

¹ Hasniye YAŞA (Orcid ID: 0000-0003-3171-9096), İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, Organik Kimya Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hasniye YAŞA, e-mail: hasniye@istanbul.edu.tr

Bu çalışma 28-30 Haziran 2006 tarihine Erzurum' da düzenlenen XVI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısında poster olarak sunulmuştur.

Geliş tarihi / Received: 11.06.2018
Kabul tarihi / Accepted: 27.09.2018

GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar sayesinde bilinçli tüketiciler meyve sebze tüketiminde onların tat, aroma veya kokularının yanında içerdikleri vitamin ve mineral değerlerini de dikkate almaktadırlar. Meyve ve sebzeler, antioksidan veya serbest radikal veya süpürücü etkilerine katkıda bulunan C vitamini, tokoferol, fenolik ve β-karoten gibi zengin bir antioksidan kaynağıdır. Bunlar arasında fenolikle; fenolik hidroksil gruplarının hidrojen verici özellikleri sayesinde güçlü antioksidanlar ve oksidatif stresse bağlı serbest radikal zincir reaksiyonlarını durdurmak için elektron verici olarak görev yaparlar (John ve Shahidi, 2010). Bilimsel yaynlarda, özellikle kardiyovasküler, kanser, Alzheimer ve diyabet hastalıkların tedavisi için fenolik madde mikteri açısından zengin gıda tüketimi önerilmektedir. Bu bağlamda insan sağlığını geliştirmek için fenolik açıdan zengin bitki kaynakları üzerine yoğun bir araştırma bulunmaktadır.

Zizyphus türleri (Rhamnaceae) yaygın olarak Asya ülkelerinde, özellikle Tayvan ve Çin'de alerji, kabızlık, idrar sorunları, depresyon, kronik bronşit, uykusuzluk ve karaciğer hastalıklarının tedavisi için ilaç olarak kullanılmaktadır (Li ve ark., 2005). Bu bağlamda, jujuba meyvesi kanser hücresinin antiproliferasyonu dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkinliklerden sorumlu olan polisakkaritler, fenolikler, flavonoidler ve saponinler gibi hayatı önem taşıyan fonksiyonel bileşenlerin zengin bir kaynağıdır. Kafeik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, ferrulik asit ve *p*-kumarik asit, *Zizyphus*'ta (Muchuweti ve ark., 2005) bildirilen en önemli fenolik maddeler olup, serbest radikallerin aktivitelerini azaltır (Kamiloğlu ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2010). Rhamnaceae ailesinin bir üyesi ve 40 türe sahip olan *Zizyphus jujuba* esas olarak Güneydoğu Asya, Çin ve Akdeniz'in sıcak ve subtropik bölgelerinde ve Türkiye'de Marmara, Batı ve

Güney Anadolu'da yetişen bir meyvedir. (Singh ve Arya, 2011).

Serbest oksijen radikalleri; hücrelerde protein, karbonhidrat, DNA, RNA gibi tüm hayatı fonksiyon taşıyan bileşiklere etki ederler. Bu etkileşim sonucu vücutta geri dönüşümsüz hasarlar oluşur. Bu hasarları önleyici endojen ve eksojen savunma sistemleri mevcuttur. Doğal kaynaklı antioksidanlar bu oluşan hasarı önlemede önemli rol oynarlar. Son yıllarda bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olan ülkemizde doğal kaynaklı olan tedavi yöntemlerine yönelik oldukça yaygınlaşmıştır. Hünnabın antioksidan aktivitesinin, klorojenik asit, gallik asit, protoksekuik asit ve kafeik asit dahil olmak üzere, fenolik bileşiklerin yüksek seviyedeki içeriğine bağlı olduğu düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2010). San ve Yıldırım 2010 yılında hünnabı iyi bir fenolik bileşik kaynağı olarak rapor eden bilim adamları arasındadır.

Literatürde, birkaç hünnap genotipinin sağlığa yararlı bileşenleri bildirilmiştir (Akbulut ve ark., 2008; Li ve ark., 2005; Li ve ark., 2007). Meyve ve ürünlerinin, kanser, inme ve koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkileri olduğunu gösteren bazı çalışmalar vardır (Kalt ve ark., 1999). Bu nedenle, genel besin değerlerini daha iyi tanımlamak için, spesifik antioksidan bileşikler ve toplam antioksidan potansiyeli de dahil olmak üzere, bu tür maddelerin içeriği için farklı meyve türlerinin karakterize edilmesi önemlidir (Ercisli ve Orhan, 2007). Bununla birlikte, hünnap genotiplerinin sağlığı geliştiren bileşenleri hakkında daha ayrıntılı bilgi verilmesi, bu meyvelerin farmasötik, nutrasötik ve tıbbi değerinin daha iyi anlaşmasına ve meyvenin halk tarafından daha fazla tüketilmesine yol açabilir.

Afyon, Kayseri, Manisa, Mersin ve Sakarya (İmamoğlu, 2016), Antalya (Uçkaya, 2011) ve Balıkesir (Özkan, 2017) yoresinden Hünnap meyvelerinin antioksidan aktivite verileri literatürde bulunmaktadır.

Bu nedenle, bu çalışmada literatürde rastlamadığımız Çanakkale yöresinden *Zizyphus Jujuba* (hünnap) sulu ekstresinin antioksidan özellikleri incelendi. Bu amaçla sulu ekstrede, indirgeme gücü (Yıldırım ve ark., 2001), DPPH radikal giderme (Parejo ve ark., 2003), metal kelatlama (Juntachote ve Berghofer, 2005) ve nitrik oksit giderme (Yen ve ark., 2006; Marcocci ve ark., 2006) gibi farklı yöntemlerle antioksidan aktiviteleri araştırıldı. Ayrıca ekstrenin toplam fenolik bileşikleri (Slinkard ve Singleton, 1977), antosianin içerikleri (Zhang ve ark., 2010) ve toplam flavonoid (Sahanaka ve ark., 2005) miktarları da tayin edildi. Elde edilen sonuçlar, α -tokoferol, askorbik asit, BHA (Butilenmiş hidroksi anisol) ve BHT (Butilenmiş hidroksi toluen) gibi doğal ve sentetik antioksidan bileşikler ile karşılaştırıldı.

MATERIAL VE YÖNTEM

Kimyasallar ve reaktifler

Sigma-Aldrich'ten catechin, gallic asit, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikalı (DPPH) ve 2,4,6-tris (2-piridil) - 1,3,5-triazin (TPTZ) standartları alındı. L-askorbik asit, Folin-Ciocalteu'nun fenol reaktifi Merck Co.'dan satın alınmıştır. Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasallar ve reaktifler analitik derecede kullanıldı. Meyve ekstrelerin toplam fenolik, toplam flavanoid miktarı ve antioksidan kapasite tayini absorbans ölçümüleri UV-1240, Shimadzu, Japonya markalı spektrofotometrede yapılmıştır.

Meyve Örnekleri

Zizyphus Jujuba meyveleri 2005 yılında Çanakkale ilinden toplandı. Tek tip şekline göre seçilmiş hünnap meyveleri çesme suyu ile yıkandı ve daha sonra damıtılmış su ile durulandı. 500 g meyve, gölgdede oda sıcaklığında 5 ila 7 gün kurutularak ezildi, plastik torbalara konuldu ve analiz için kullanılana kadar 0 °C' de saklandı.

Ekstrenin Hazırlanması

%10 (w/v) İnfüzyonu hazırlamak için, kurutulup öğütülmüş meyveler (50 g), 15 dakika boyunca destile su (500 mL) ile ekstrakte edildi. Ekstre süzüldü ve bir döner buharlaştırıcıda 40 °C'de vakum altında kuruyana kadar buharlaştırıldı. Sulu ekstre %69 verimle elde edildi, şişelere aktarıldı ve -20 °C'de saklandı.

Fitokimyasal Analiz

Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Zizyphus Jujuba meyveleri ekstresindeki toplam fenolikler, bazı modifikasyonlarla Slinkard ve Singleton (1977) yöntemine göre Folin-Ciocalteau reaktifi ile belirlenmiştir. 0.1 ml *Zizyphus Jujuba* meyve özü (1000 ila 4000 μ g /mL) bir test tüpüne aktarıldı ve hacim destile su ile 4.6 mL'ye seyreltildi. 0.1 mL Folin-Ciocalteau (daha önce destile su ile 3 kat seyreltilmiş) ve 0.3 mL % 2 Na₂C₂O₄ çözeltisi ilave edildikten sonra aralıklı çalkalama ile 2 saat beklemeye bırakıldı. Absorbans 760 nm'de ölçüldü. *Zizyphus Jujuba* ekstresindeki toplam fenolik bileşiklerin miktarı, kalibrasyon eğrisinden eşdeğer miktarda pirokateşol ve özüt başına μ g pirokateşol eşdeğerleri olarak hesaplandı.

Total Flavonoid Miktarı

Total flavonoid, alüminyum klorür metodu kullanılarak analiz edildi (Sahanaka ve arkadaşları, 2005). 1.25 mL destile su, 75 μ L %5 NaNO₂ ve 250 μ L 1000 μ g/mL hünnap ektresi ilave edilerek 6 dakika bekletildi, ardından üzerine 150 μ L %10 AlCl₃.6H₂O eklendi. Karışım, oda sıcaklığında 5 dakika beklemeye bırakıldı. 0.5 mL 1 M NaOH ve 275 μ L destile su eklenerek iyice karıştırıldı. Çözeltinin 510 nm'de absorbansı hemen ölçüldü. Sonuçlar, kateşin eşdeğeri olarak ifade edildi.

Antosianin Miktarı

Kapaklı bir erlende 10 mL metanole 0.02 mL %1 lik HCl ilave edildi. Bu karışımı 250 mg

mL^{-1} kurutulmuş Hünnap meyvesi konuldu. pH'1 5-6 ya ayarlandı. Kapaklı erlen alüminyum folyo ile sarılarak buzdolabında 2 saat karıştırıldı.

$$\text{Total Antosiyanyin } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) = \left[A530 - \left(A657x \frac{0,33}{31,6} \right) \right] x \text{ mL/mg}$$

Daha sonra santrifüj edildi. 530 nm ve 657 nm'de absorbansları ölçüldü.

İndirgeyici Güç

Zizyphus Jujuba meyve özütünün indirgeyici gücü, Oyaizu (1986) yöntemine göre ölçülmüştür (Çelik Onar ve ark., 2012). 1 ml destile su içindeki farklı konsantrasyonlardaki ekstreler (100-400 μg) 2.5 ml fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 ml potasyum ferrisiyanür (%1, w/v) ile karıştırıldı ve karışım 50 °C' de 30 dk inkübe edildi. Daha sonra 2.5 ml trikloroasetik asit (%10, w /v) ilave edildi ve karışım 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüjlendi. Son olarak, 2.5 ml süzüntü, 2.5 ml destile su ve 0.5 ml FeCl_3 (%0,1, w/v) ile karıştırıldı ve absorbans 700 nm'de ölçüldü. Standart antioksidanlar olarak α -Tokoferol, bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanıldı.

Antioksidan Aktivite Tayini

DPPH Serbest Radikal Aktivitesi

Sulu ekstrenin radikal giderme aktivitesi, DPPH metodu ile ölçüldü. (Brand-Williams ve arkadaşları, 1995). Farklı konsantrasyonlardaki ekstrenin 0.75 mL metanollu çözeltisi, 1.5 mL DPPH çözeltisi (20 mg L^{-1}) ile karıştırıldı. 5, 10, 30 ve 60 dakikalık her bekletmeden sonra, absorbans 517 nm'de ölçüldü. Numunenin DPPH inhibisyon yüzdesi,

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[A0 - \frac{A5' - A60'}{A0} \right] x 100$$

denklemine göre hesaplandı. A_0 = Kontrol absorbansı, A_5' , $A_{60'}$ = 5 ve 60 dakika sonra meyve ekstresinin absorbansları.

Fe^{2+} Kelatlama Aktivitesi

Fe^{2+} üzerindeki sulu ekstrelerin kenetlenme aktivitesi, Decker ve Welch (1990) yöntemine göre ölçüldü. Sulu ekstrelerin 1 mL' lik farklı konsantrasyonları (0.25, 0.50 ve 1.0 mg mL^{-1}) 3.7 mL destile su ile karıştırlı. Karışım, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında FeCl_2 (2 mM, 0.1 mL) ve ferrozin (5 mM, 0.2 mL) ile reaksiyona bırakıldı ve daha sonra absorbans spektrofotometrede 562 nm' de ölçüldü. Sulu ekstrelerin Fe^{2+} üzerindeki kelatlama aktivitesi, 0.1 mM EDTA ve 0.025 mM sitrik asit ile karşılaştırıldı.

$$\% \text{ Kelatlama} = [1 - (A1/A0)] x 100$$

A_0 = Kontrol absorbansı, A_1 = Meyve ekstresinin absorbansı

Nitrik Oksit Süpürücü Etki

Ekstrelerin nitrik oksit üzerindeki süpürücü etkisi, Marcocci, Maguire, Droy-Lefaix ve Packer (1994) yöntemine göre ölçüldü. Farklı konsantrasyonlardaki *Zizyphus Jujuba* meyve ekstreleri, test tüplerinde, 1 mL sodyum nitroprusit çözeltisine (25 mM) eklendi ve tüpler 3 saat 37 °C' de inkübe edildi. İnkübasyon çözeltisi (0.5 mL) ve 0.5 ml Griess reaktifi (% 5 H_3PO_4 içinde % 1 sülfanilamid ve % 0.1 naftiletilendiamin dihidroklorür) ile seyreltildi. Nitritin, sülfanilamid ile diazotizasyonu ve akabinde naftiletilendiamin dihidroklorür ile birleştirilmesi sırasında oluşan kromoforan absorbansı 570 nm' de okundu ve Griess reaktifi ile aynı şekilde muamele edilen standart sodyum nitrit çözeltilerinin absorbansları ile karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz

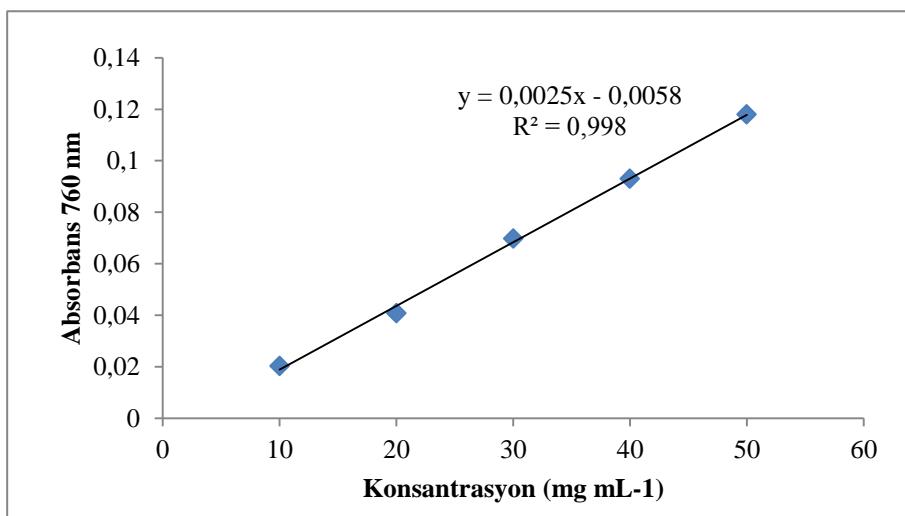
Sonuçlar üçlü analizlerin ortalama \pm standart sapması (SD) olarak ifade edildi. Test edilen parametreler arasındaki korelasyon katsayısı (r^2) regresyon analizi ile oluşturuldu.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplam fenolik, flavonoid ve antosianın içeriği

Fenoller, hidroksil grupları nedeniyle iyi süpürücüler oldukları için çok önemli bitki bileşenleridir. Fenolik bileşikler ve flavonoidlerin, birçok bitkinin antioksidan aktivitesinden sorumlu olduğu kanıtlanmıştır

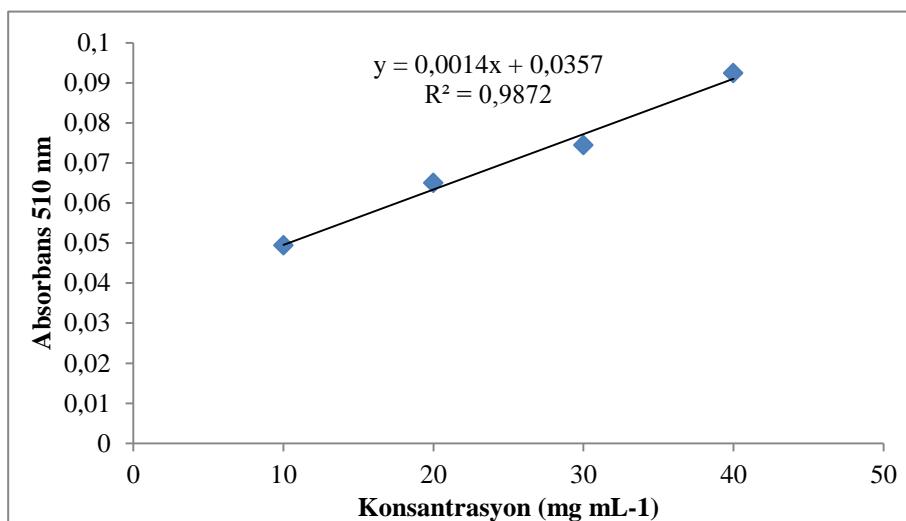
(Geetha ve ark., 2005). Bu antioksidanlar ayrıca antiinflamatuar, antiaterosklerotik ve antikarsinogenik gibi çeşitli biyolojik aktivitelere de sahiptirler (Chung ve ark., 1997). Bu çalışmada toplam fenolik madde tayini, Folin-Ciocalteu metoduna göre yapıldı. Toplam flavonoid madde miktarı ise aluminyum kelatlamaya dayalı bir metotla gerçekleştirildi. Kalibrasyon eğrisi için standart olarak kullanılan pirokateşolun beş farklı konsantrasyonda sudaki çözeltileri hazırlandı. Pirokateşolun sulu çözeltilerinin standart eğrisinden $y = 0.0025x - 0.0058$ grafik denklemi bulundu (Şekil 1). Bu denkleme göre; 1 mg hünnap meyvesinin sulu ekstresinde $15.21 \pm 1.05 \mu\text{g}$ pirokateşole eşdeğer fenolik bileşik olduğu belirlendi.



Şekil 1. Pirokateşol standart eğrisi grafiği

Flavonoidler gibi polifenolik bileşikler de serbest radikalleri ve aktif oksijen türlerini temizleme yeteneklerine göre “yüksek seviyeli” doğal antioksidanlar olarak tanımlanmışlardır (Birt ve ark., 2001). Bunlar, süperoksit anyonunu, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini temizleyerek ve oksidatif süreçlerle hidrojenasyon veya kompleksleme yoluyla oksidatif süreçlere dahil olan stabilize edici serbest radikalleri temizleyerek in vitro veya in vivo sistemlerde antioksidanlar olarak potansiyele sahip konjuge halka yapıları ve

hidroksil grupları içerirler (Klahorst, 2002). *Zizyphus Jujuba* ekstrelerinde bulunan toplam flavonoid bileşiklerin miktarı, kateşinin sulu çözeltilerinin kalibrasyon eğrisinden elde edilen $y = 0.0014x + 0.0357$ grafik denkleminden yararlanılarak kateşine eşdeğer olarak hesaplandı (Şekil 2). Flavonoidlerin miktarı, 1 mg sulu ekstrede $2.05 \pm 0.45 \mu\text{g}$ kateşine eşdeğer olarak hesaplandı. *Zizyphus Jujuba* meyvesinin toplam fenolik, toplam flavonoid ve antosianın miktarları Çizelge 1'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Kateşin standart eğrisi grafiği

Çizelge 1. Toplam fenolik, flavonoid ve antosianin miktarı

Örnek Konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı ($\mu\text{g pirokateşol/mg ekstre}$) [*]	Toplam Flavonoid Miktarı ($\mu\text{g kateşin/mg ekstre}$) [*]	Antosianin Miktarı ^{**}
1000	15.21±1.05	2.05±0.45	17.914±1.62
2000	21.03±1.05	3.47±0.52	14.94±0.70
3000	30.65±0.95	8.75±1.63	-
4000	40.19±1.13	11.32±1.20	-
6000	-	19.94±1.78	-
8000	-	26.67±1.50	-
10000	-	36.05±1.76	-

* Ortalama ± SD, ** Kuru meyve üzerinden hesaplanmıştır.

İndirgeyici Güç

Fe^{3+} indirgenmesi, sıkılıkla fenolik antioksidan etkinin önemli bir mekanizması olan elektron verici aktivitenin bir göstergesi olarak kullanılır ve diğer antioksidan özellikler ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilir (Dorman ve ark., 2003). İndirgeyici güç analizinde, numunelerde indirgeyici (antioksidanlar) bulunması, Fe^{3+} / ferrisiyanür kompleksinin, Fe^{2+} formuna indirgenmesine neden olabilir. Fe^{2+} kompleksinin miktarı, 700 nm'de Prusya mavisi oluşumu ölçülerek izlenebilir. Bir bileşığın indirgeyici güç kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir. Şekil 3,

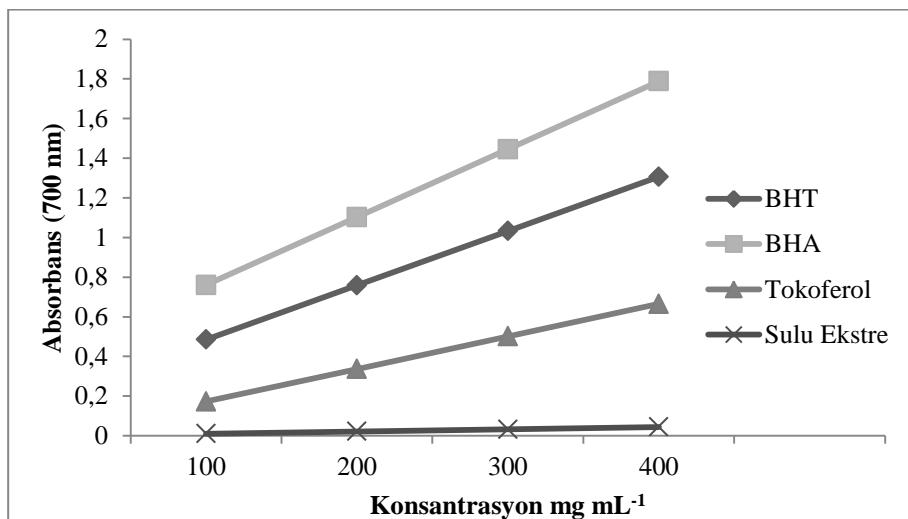
Zizyphus Jujuba ve standartlardan elde edilen ekstrelerin indirgeyici güçleri için konsantrasyon-absorbans arasında çizilen grafiklerini göstermektedir. Sulu ekstrenin indirgeme gücünün sonuçlarına baktığımızda standartların değerlerinin çok altında olduğu görülmektedir. Bu da bize *Zizyphus Jujuba*'nın indirgeyici güç kapasitesinin iyi olmadığını göstermektedir.

DPPH radikal süpürücü aktivite

DPPH, çeşitli antioksidan maddelerin serbest radikal süpürücü etkinliğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Özçelik ve ark.,

2006). DPPH, oda sıcaklığında stabil bir serbest radikaldir ve stabil bir diamagnetik molekül haline gelmek için bir elektron veya hidrojen radikalini almaya eğilimlidir (Xu ve ark., 2005).

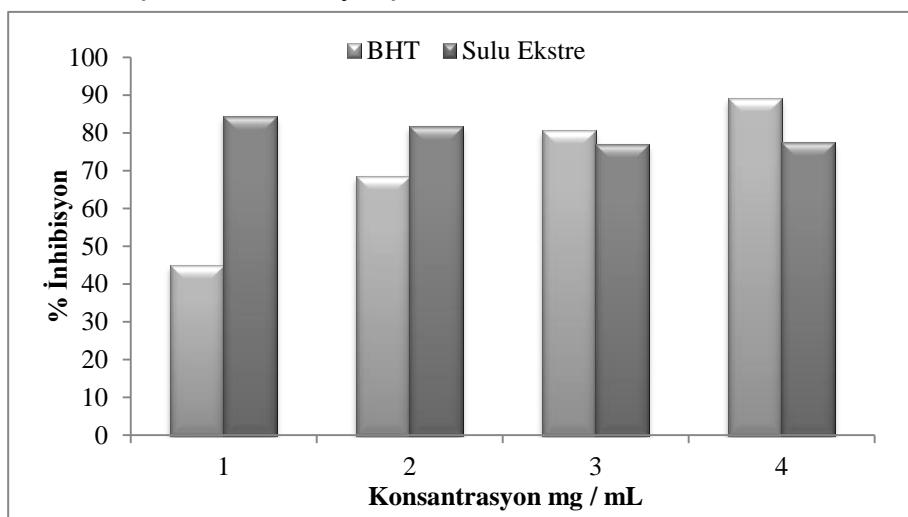
Şekil 4, *Zizyphus Jujuba* 'dan alınan sulu ekstrelerin DPPH radikal süpürücü aktivitesinin konsantrasyon-%inhibisyon grafiğini göstermektedir.



Şekil 3. İndirgeyici Güç

Zizyphus Jujuba 'nın sulu ekstresi ile BHT'ının farklı konsantrasyonları için DPPH radikalini süpürme aktivitesi belirlendi. Bu amaçla elde edilen absorbсион değerlerinden her bir konsantrasyondaki inhibisyon değerleri hesaplanarak konsantrasyona karşı grafiğe geçildi. Şekil 4'te Çanakkale'de yetişen

Zizyphus Jujuba 'nın sulu ekstrelerinin DPPH radikal giderme aktivitesinin, 1 mg mL⁻¹ konsantrasyonda BHT ye göre oldukça yüksek olduğu ancak sulu ekstrenin konsantrasyonundaki değişimin % inhibisyonu çok değiştirmediği görüldü.

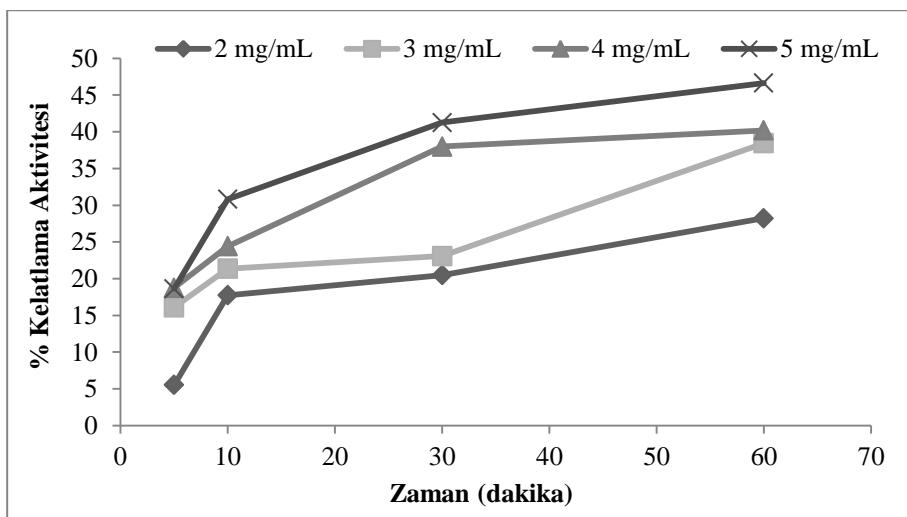


Şekil 4. DPPH Radikal Giderme Etkisi

Fe²⁺ Kelatlama Etkisi

Zizyphus Jujuba sulu ekstresinin Fe²⁺ kelatlama aktivitesi, 2-5 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarında sırasıyla %28.2, %38.4, %40.2 ve %46.6 oranında kelatlama gösterdi (Şekil 5). Diğer taraftan, EDTA'nın 0.04 M konsantrasyonda metal kelatlama etkisi %42,9

bulundu. Bu numunelerin metal kelatlama aktivitesi zamana ve konsantrasyona göre artış göstermiştir, bu da sulu ekstrenin bir peroksidasyon koruyucu olduğunu kanıtlamaktadır.

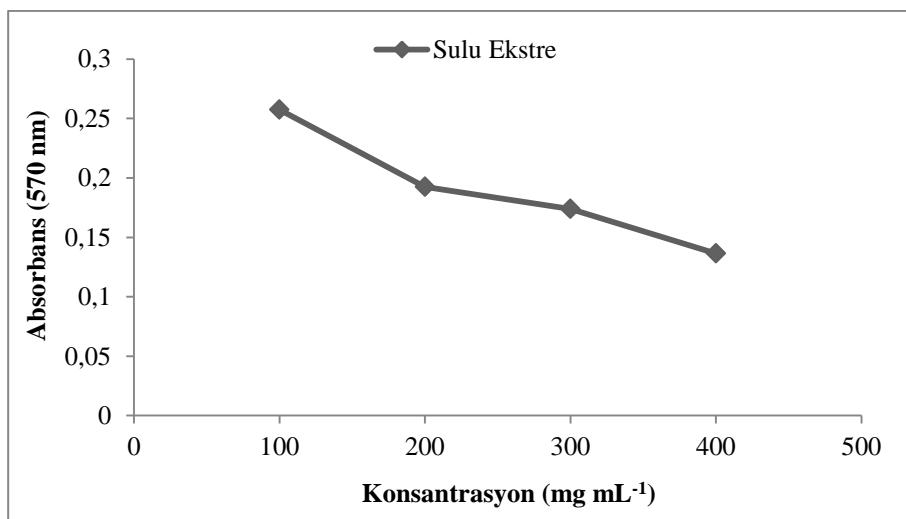


Şekil 5: Fe²⁺ Kelatlama Etkisi

Nitrik Oksit giderici aktivite

NO; sitotoksik, mikrobiyosidal ve mikrobiyostatik aktiviteleri olan bir savunma molekülüdür. Bununla birlikte, büyük miktarlarda NO, peroksinitrit ve diğer reaktif azot oksit türlerinin potansiyel olarak sitotoksik olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, *Zizyphus Jujuba* sulu ekstresinin süpürücü etkisi NO üzerinde araştırıldı. Aerobik şartlar altında nitrik oksit, Griess reaktifi kullanılarak saptanabilen

nitrat ve nitrit oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girer (Marcocci ve ark., 1994). *Zizyphus Jujuba*'nın sulu ekstresinde bulunan nitrik oksit miktarı, nitrik oksidin standart eğrisinden elde edilen $y = 0,0011x + 0,1988$ grafik denkleminden hesaplandı. 0,1 g hünnap meyvesi sulu ekstresinin $53,36 \pm 1.05$ mg nitrik okside eşdeğer olduğu belirlendi. Şekil 6'da, sulu ekstrenin konsantrasyon ile absorbans arasında çizilen grafiğinde, absorbansın konsantrasyon artışıyla azaldığı gözlandı.



Şekil 6. Nitrik oksit giderici etki

SONUÇ

Literatür araştırmasına göre, Çanakkale yöresinde yetişen *Ziziphus Jujuba* (Hünnap) meyvesi ile ilgili hiçbir veriye rastlanmadı. Bu çalışmada bu yöreden toplanan hünnap meyvelerinin antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik ve flavonoid miktarları ilk kez saptandı. Çizelge 1 de görüldüğü gibi *Ziziphus Jujuba*'un sulu ekstresinin toplam fenolik bileşik miktarı ve flavonoid miktarı konsantrasyon artışına bağlı olarak artmış, antosiyanyin miktarı da bunun aksine azalmıştır. Şekil 3. te ise sulu ekstrenin indirgeme gücü BHA > BHT > α -tokoferol > sulu ekstre sıralamasıyla diğer antioksidanlara göre düşük olduğu görülmektedir. DPPH radikal giderme etkisi konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır (Şekil 4). Sulu ekstrenin metal ketallama aktivitesi zaman ve konsantrasyona göre artış göstermiştir. En yüksek ketallama etkisi 5 mg / mL konsantrasyonunda tespit edilmiştir (Şekil 5). Nitrik oksit giderici etki sulu ekstrenin konsantrasyon artışına bağlı olarak azalmıştır (Şekil 6). Sonuç olarak elde edilen verilere göre Çanakkale'den toplanan *Zizyphus Jujuba*'nın (hünnap) antioksidan aktivitelerinin yanında, özellikle fenolik bileşikler açısından zengin olduğu ispatlanmıştır. Meyve bu açıdan değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Akbolat D, Ertekin C, Menges HO, Ekinci K, Erdal I, 2008. Physical and nutritional properties of jujube (*Zizyphus jujube* Mill.) growing in Turkey. Asian Journal of Chemistry, 20: 757-766.
- Birt DF, Hendrich S, Wang W, 2001. Dietary agents in cancer prevention; flavonoids and isoflavonoids. Pharmacology and Therapeutics, 90: 157-177.
- Celik Onar H, Yusufoglu A.S, Turker G, Yanardağ R, 2012. Elastase, tyrosinase and lipoxygenase inhibition and antioxidant activity of an aqueous extract from *Epilobium angustifolium* L. Leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 6(5): 716-726.
- Chung SK, Osawa T, Kawakishi S, 1997. Hydroxyl radical scavenging effects of species and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 61: 118-123.

- Türkiye Çanakkale'den Hünnap Meyvesinin (*Zizyphus Jujuba*.) Sulu Ekstresinin Toplam Fenolik Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi
- Dorman H.D, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkonen M.J, 2003. Characterization of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83: 255-262.
- Ercisli S, Orhan E, 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*, 103: 1380-1384.
- Geetha T, Malhotra V, Chopra K, Kaur IP, 2005. Antimutagenic and antioxidant prooxidant activity of quercetin. *Indian Journal of Experimental Biology*, 43: 61-67.
- İmamoğlu H, 2016. Total Antioxidant Capacity, Phenolic Compounds And Sugar Content Of Turkey *Ziziphus jujubes*. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 15(5): 93-108.
- John, J.A, Shahidi, F, 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *Journal of Functional Foods*, 2: 196–209.
- Juntachote T, Berghofer E, 2005. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chemistry*, 92:193-202.
- Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL, 1999. Antioxidant activity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 4638-4644.
- Kamiloglu, O, Ercisli, S, Sengül, M, Toplu, C, Serçe S, 2009. Total phenolics and antioxidant activity of jujube (*Zizyphus jujube* Mill.) genotypes selected from Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 8: 303–307.
- Klahorst S, 2002. Exploring antioxidants. *Wd Food Ingredients*, (April/May): 54-59.
- Li JW, Ding SD, Ding XL, 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, 40: 3607-3613.
- Li JW, Fan LP, Ding SD, Ding S.L, 2007. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry*, 103: 454-460.
- Li J, Ding S, Ding X, 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, 48: 3607–3613.
- Marcocci L, Maguire J.J, Droylefaix M.T, Packer L, 2006. The Nitric Oxide-Scavenging Properties of Ginkgo Biloba Extract EGb 761. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201: 748-755.
- Muchuweti, M, Genda, G, Ndhlala, A.R, Kasiyamhuru, A, 2005. Sugar, organic acid and phenolic compound of *Zizyphus mauritiana* Lamk. fruit. *European Food Research and Technology*, 221: 570–574.
- Oyaizu M, 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- Ozcelik B, Lee JH, Min DB, 2006. Effects of light, oxygen and pH on absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68: 487-490.
- Özkan Hİ, 2017. Hünnap (*Zizyphus jujuba* Mill.) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Bileşenleri ile Antibakteriyel, Hipoglisemik ve Total Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi. Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).

- Parejoa I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Saavedra G, Murcia M.A, Jiménez A.M, Codina C, 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 73: 1667-1681.
- Sahanaka S, Tachibana Y, Okada Y, 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89: 569-575.
- San B, Yıldırım AN, 2010. Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) selections. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 706-710.
- Singh S, Arya R, 2011. *Zizyphus: An Extroversion Gift of Nature*. *Journal of Sciences*, 1: 15–20.
- Slinkard K, Singleton VL, 1977. Total phenols analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
- Uçkaya F, 2011. Aantalya'da yetişen *Ziziphus Zizyphus*'un antioksidan aktivitesi ve biyokimaysal bileşiminin incelenmesi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Xu J, Chen S, Hu Q, 2005. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.). *Food Chemistry*, 91: 79-83.
- Yen G, Duh P, Su H, Yeh C, Wu C, 2006. Scavenging effects of lotus seed extracts on reactive nitrogen species. *Food Chemistry*, 94: 596-602.
- Yıldırım A, Oktay M, Bilaloğlu V, 2001. The Antioxidant Activity of the Leaves of *Cydonia vulgaris*. *Turkish Journal Of Medical Sciences*, 31: 23-27.
- Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y, Ren F, 2010. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) from China. *Food and Chemical Toxicology*, 48:1461-1465.
- Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y, Ren F, 2010. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) from China. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1461–1465.