

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİLEBİLİR YAPRAKLARDAN ELDE EDİLEN SUDA ÇÖZÜNEN  
POLİSAKKARİTLERİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ

Büşra AKTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Mart, 2022

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİLEBİLİR YAPRAKLARDAN ELDE EDİLEN SUDA ÇÖZÜNEN  
POLİSAKKARİTLERİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Büşra AKTAN tarafından hazırlanan tez çalışması 02.03.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Danışman

**Jüri Üyeleri**

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ, Danışman  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

Doç. Dr. Sibel ULUATA, Üye  
İnönü Üniversitesi

---

Danışmanım Doç Dr. Ayşe KARADAĞ sorumluluğunda tarafımda hazırlanan Yenilebilir Yapraklardan Elde Edilen Suda Çözünen Polisakkaritlerin Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Büşra AKTAN

İmza



*Aileme*  
*ve*  
*yanımda olan herkese*

## TEŞEKKÜR

---

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden destek, yardım ve anlayışlarını esirgemeyen, her daim bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, değerli danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışma boyunca her türlü teknik bilgi, yardımları ve emekleri için Kübra ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana olan sevgi ve inançlarıyla maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim, bugünlere gelmemi sağlayan aileme ve yanımda olduklarını her daim hissettiren dostlarıma teşekkürlerimi içtenlikle sunarım.

Büşra AKTAN

# İÇİNDEKİLER

<b>SİMGE LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>KISALTMA LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>1 GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı .....	3
1.3 Hipotez .....	3
<b>2 LİTERATÜR ÖZETİ</b>	<b>5</b>
2.1 Biyoaktif Bileşenler .....	5
2.1.1 Fenolik Bileşikler .....	5
2.1.2 Antioksidanlar .....	6
2.1.3 Antidiyabetik Maddeler .....	10
2.2 Polisakkaritler .....	11
2.3 Yenilebilir Yapraklar .....	14
2.3.1 Şeker pancarı ( <i>Beta vulgaris subsp. Vulgaris</i> ) .....	14
2.3.2 Ebegümece Yapağı ( <i>Malva sylvestris</i> ) .....	15
2.3.3 Kale Yapağı ( <i>Brassica oleracea var. Acephala</i> ) .....	16
2.3.4 Karalahana ( <i>Brassica oleracea var. viridis</i> ) .....	17
2.3.5 Cibes (azman, lahana patlağı) .....	17
2.3.6 Beyaz Lahana ( <i>Brassica oleracea var. capitata</i> ).....	18
2.3.7 Hardal Yapağı ( <i>Brassica juncea L.</i> ) .....	19
<b>3 MATERYAL-METOT</b>	<b>21</b>
3.1 Materyal.....	21
3.2 Metot .....	21
3.2.1 Yaprakların Ekstraksiyonu.....	21
3.2.2 Antioksidan Aktivitesi Tayini.....	25
3.2.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini .....	29
3.2.4 Diğer Biyoaktif Bileşikler .....	30

3.2.5 FTIR.....	33
3.2.6 $\alpha$ -glukozidaz Aktivitesi Tayini .....	33
3.2.7 $\alpha$ -amilaz Aktivitesi Tayini.....	34
3.3 İstatistiksel Analiz .....	36
<b>4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
4.1 FTIR Sonuçları .....	37
4.2 Polisakkarit Verimi.....	43
4.3 Antioksidan Aktiviteleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarı .....	45
4.4 Diğer Biyoaktif Bileşikler .....	49
4.5 $\alpha$ -glukozidaz Aktivitesi Tayini .....	52
4.6 $\alpha$ -amilaz Aktivitesi Tayini.....	54
<b>5 SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>56</b>
<b>KAYNAKÇA</b>	<b>58</b>
<b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR</b>	<b>66</b>

## SİMGE LİSTESİ

---

$\alpha$	Alfa
$\gamma$	Gama
M	Molarite
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
%	Yüzde



## KISALTMA LİSTESİ

---

$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
$\mu\text{mol}$	Mikromol
AE	Alkali Ekstraksiyon
dak	Dakika
g	Gram
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
KE	Klasik Ekstraksiyon
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mbar	Milibar
nm	Nanometre
ppm	Milyonda Bir Birim
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
sn	Saniye
TE	Troloks Eşdeğeri
TFMM	Toplam Fenolik Madde Miktarı

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1 İstatistiksel verilerle doğal polisakkarit ekstraksiyonlarının ve polisakkarit sentezinin literatür analizi (Ren vd., 2019) .....	13
Şekil 2. 2 Şeker pancarı yaprağı.....	14
Şekil 2. 3 Ebegümece yaprağı.....	15
Şekil 2. 4 Kale yaprağı .....	16
Şekil 2. 5 Karalahana yaprağı .....	17
Şekil 2. 6 Cibes yaprağı .....	18
Şekil 2. 7 Beyaz lahana yaprağı .....	19
Şekil 2. 8 Hardal yaprağı .....	20
Şekil 3. 1 Ön işlem görmüş yapraklar .....	22
Şekil 3. 2 Ekstraksiyon.....	22
Şekil 3. 3 Konsantre ekstraktlar .....	23
Şekil 3. 4 Etanol ile çöktürme .....	23
Şekil 3. 5 Diyaliz.....	24
Şekil 3. 6 Kurutulmuş suda çözünen polisakarit örnekleri .....	24
Şekil 3. 7 DPPH yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi.....	26
Şekil 3. 8 ABTS yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi.....	27
Şekil 3. 9 FRAP yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi.....	28
Şekil 3. 10 CUPRAC yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi.....	29
Şekil 3. 11 Toplam fenolik tayini için hazırlanan standart gallik asit kalibrasyon eğrisi .....	30
Şekil 3. 12 Protein tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi .....	31
Şekil 3. 13 Karbonhidrat tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 3. 14 Üronik asit tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi .....	33
Şekil 4. 1 Karalahana yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	39
Şekil 4. 2 Şeker pancarı yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	40
Şekil 4. 3 Ebegümece yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	40

<b>Şekil 4. 4</b>	Kale yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumlar .....	41
<b>Şekil 4. 5</b>	Cibes yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	41
<b>Şekil 4. 6</b>	Beyaz lahana yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	42
<b>Şekil 4. 7</b>	Hardal yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları .....	42
<b>Şekil 4. 8</b>	Sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin $\alpha$ -glukozidaz aktivitesi sonucu .....	52
<b>Şekil 4. 9</b>	Alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritlerin $\alpha$ -glukozidaz aktivitesi sonucu .....	53
<b>Şekil 4. 10</b>	Sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin $\alpha$ -amilaz aktivitesi sonucu .....	54
<b>Şekil 4. 11</b>	Alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritlerin $\alpha$ -amilaz aktivitesi sonucu .....	55

## TABLO LİSTESİ

---

<b>Tablo 2. 1</b> Polisakkaritlerin kendi içinde sınıflandırılması (Delgado ve Masuelli, 2019) .....	12
<b>Tablo 3. 1</b> Çalışmada kullanılan yapraklar.....	21
<b>Tablo 4. 1</b> Ekstraksiyonlar sonucu elde edilen polisakkarit verimleri .....	43
<b>Tablo 4. 2</b> Yapraklardan sıcak su (KE) ve alkali ekstraksiyon (AE) ile elde edilen polisakkaritlerin toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktiviteleri .....	47
<b>Tablo 4. 3</b> Yapraklardan sıcak su (KE) ve alkali ekstraksiyon (AE) ile elde edilen polisakkaritlerin karbonhidrat, protein ve üronik asit aktiviteleri g/100 g ekstrakt (suda çözünür polisakkarit) .....	50

## Yenilebilir Yapraklardan Elde Edilen Suda Çözünen Polisakkaritlerin Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi

Büşra AKTAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Bu çalışmada karalahana, şeker pancarı, ebegümece, kale, cibes, beyaz lahana ve hardal yaprağından sıcak su ekstraksiyonu (KE) ve alkali ekstraksiyon (AE) ile suda çözünen polisakkaritler elde edilmiştir. Elde edilen polisakkaritlerin antioksidan, fenolik madde, antidiyabetik ve diğer biyoaktif özellikleri belirlenmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimi %8,26 ile KE ile elde edilen ebegümeceinde tespit edilmiştir. AE sonucu karalahana, kale, ebegümece ve şeker pancarında verim azalırken hardal, cibes ve beyaz lahanada verimin arttığı görülmüştür. Polisakkaritlerin antioksidan aktiviteleri DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. Genel olarak KE örneklerinde DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. En yüksek antioksidan aktiviteleri sırasıyla hardal ( $413,05 \pm 5,66$  mg TE/g), ebegümece ( $35,61 \pm 0,40$  mg TE/g), beyaz lahana ( $15,08 \pm 0,13$  mg TE/g), kale ( $78,83 \pm 3,47$  mg TE/g) olarak tespit edilmiştir. Alkali ekstraksiyonda DPPH yöntemine göre en yüksek aktiviteye sahip polisakkarit yine hardal ( $378,62 \pm 11,33$  mg TE/g) olarak hesaplanmıştır. ABTS ve FRAP yöntemine göre ebegümece ( $27,04 \pm 0,60$  mg TE/g,  $12,32 \pm 0,97$  mg TE/g), CUPRAC yöntemine göre ise beyaz lahana ( $55,87 \pm 3,71$

mg TE/g) en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Sonuçlar, polisakkaritlerin farklı radikallere karşı antioksidan mekanizmalarının örneğe ve ekstraksiyon yöntemine bağlı olduğunu göstermiştir. Fenolik madde miktarları incelendiğinde ebegümece ekstraktının her iki ekstraksiyon yönteminde de en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. Polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. Örneklerin enzim inhibisyon aktivitesinin konsantrasyona bağlı olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında  $\alpha$ -glukozidaz,  $\alpha$ -amilaza kıyasla daha yüksek inhibisyon göstermiştir. Akarboz ile karşılaştırılabilir değerler belirlenmiş ve en yüksek inhibisyon ebegümece ekstraktında görülmüştür. Hem ebegümece hem de hardal ekstraktı için 5 mg/mL konsantrasyonda enzim inhibisyonunun yaklaşık %50 olduğu ve bu değer in akarbozdan önemli ölçüde farklı olmadığı tespit edilmiştir. Yenilebilir yaprakların sıcak su ekstraktları antioksidan aktivite analizleri açısından daha yüksek sonuçlar verirken, alkali ekstraktları daha iyi antidiyabetik özellikler göstermiştir. Çalışmamız, seçilen yenilebilir yaprakların suda çözünür polisakkaritlerinin antioksidan ve antidiyabetik özellikler gösterdiğini ve fonksiyonel gıdaların zenginleştirilmesinde bir kaynak olarak düşünülebileceğini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Polisakkarit, ekstraksiyon, biyoaktif bileşen, antioksidan, fenolik.

# Determination of Bioactive Properties of Water-Soluble Polysaccharides Obtained from Edible Leaves

Büşra AKTAN

Department of Food Engineering

MSc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe KARADAĞ

In this study, water-soluble polysaccharides were obtained from edible leaves of sugar beet, mallow, kale, black cabbage, cibes, white cabbage and mustard greens leaves by hot water extraction (HWE) and alkaline extraction (AE). Antioxidant, phenolic substance, antidiabetic and other bioactive properties of the polysaccharides were determined. The extraction yield of mallow (%8,26) in HWE was found the highest. It was observed that extraction yield was decreased in black cabbage, kale, mallow and sugar beet by AE, while it was increased in mustard green, cibes and white cabbage. Generally HWE samples showed higher antioxidant activity of DPPH, ABTS, CUPRAC and FRAP. It was determined in mustard green ( $413.05 \pm 5.66$  mg TE/g), mallow ( $35.61 \pm 0.40$  mg TE/g), kale ( $78.83 \pm 3.47$  mg TE/g) and white cabbage ( $15.08 \pm 0.13$  mg TE/g), respectively. The results showed that, the antioxidant mechanisms of polysaccharides against different radicals depended on the sample and extraction method. Phenolic compound analysis result showed that mallow extract has the highest value in both extraction method. Inhibition of polysaccharides on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme were determined, it was observed that the enzyme inhibition activity of samples was concentration dependent. The samples showed highest inhibition on  $\alpha$ -glucosidase compared to  $\alpha$ -amylase, and the highest inhibition was

observed in mallow extracts, and comparable values to acarbose has been determined. Around 50% of enzyme inhibition was observed at 5 mg/mL concentration for both mallow and mustard green alkali extracts, and it was not significantly different of acarbose. Hot water extracts of edible leaves yielded higher results in terms of antioxidant activity assays, whereas alkali extracts showed better antidiabetic properties. Our study revealed that water-soluble polysaccharides of selected edible leaves showed antioxidant and antidiabetic properties and they can be considered to enrich functional foods.

**Keywords:** Polysaccharide, extraction, bioactive ingredient, antioxidant, phenolic.



### 1.1 Literatür Özeti

Türkiye'de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, tüm Avrupa kıtasında yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına yakındır. Ülkemiz mevcut bitki çeşitliliği açısından oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ülkemiz florası yaklaşık 12.006 taksondan oluşmaktadır (Atabey vd., 2020).

Bitkiler, yaprak, çiçek, ağaç kabuğu, tohum, meyve, kök gibi özel kısımlarında biriken alkaloidler, steroidler, tanenler, glikozitler, uçucu yağlar, sabit yağlar, reçineler, fenoller ve flavonoidler gibi birçok aktif bileşik içerir. Bitki materyallerinin faydalı tıbbi etkileri, tipik olarak bu ikincil ürünlerin kombinasyonundan kaynaklanır. Fitokimyasalların antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve radyo-koruyucu aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir ve bu özelliklerinden dolayı büyük ölçüde tıbbi amaçlar için kullanılırlar (Gupta vd., 2012).

Son yıllarda, bitki, hayvan, mantar, deniz yosunu gibi doğal kaynaklardan izole edilen polisakkaritler, antitümör, immünomodülasyon, anti-oksidasyon ve anti-inflamatuvar etkiler gibi çok çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle artan bir ilgi görmüştür. Yıllar boyunca polisakkaritler, gıda ve kozmetik bileşenleri olarak ve nutrasötik ve farmakolojik uygulamalarda kullanılmıştır. Bu nedenle polisakkaritler şu anda ekonomik açıdan önemli ve küresel endüstrileri destekleyen birçok kaynaktan üretilmektedir (Yu vd., 2018).

Bitki türevli polisakkaritler, sağlık üzerine birçok faydasından dolayı çeşitli endüstrilerde yaygın bir ilgi görmeye devam etmektedir. Bu bitki türevli polisakkaritlerin çok çeşitli fonksiyonlu biyolojik özelliklere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Diğer biyolojik özelliklerinin yanı sıra antioksidatif, antitümör, antivirüs, hipoglisemik ve bağışıklık düzenleyici etkileri nedeniyle oldukça değerlidir (Chen vd., 2020).

Bitki ekstraktlarından elde edilen bazı biyoaktif moleküller (uçucu yağlar, polisakkaritler, oligopeptitler, lifler...) yıllardır gıda formülasyonunda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bazı bitki ekstraktları, emülsifiye edici ve stabilize edici aktivitelere ek olarak, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere de sahiptir. Tüketicilerin doğal içeriklere olan ilgisinin artmasıyla beraber bitkilerden ekstrakte edilen polisakkaritler, başta gıda sektörü olmak üzere birçok sektör için ilgi çekici katkı maddesi haline gelmiştir. Bitkilerdeki birçok doğal maddenin antioksidan aktiviteye sahip olduğu iyi bilinmektedir. Bitkilerde bulunan birçok doğal madde (özellikle antioksidanlar ve fenolik bileşikler) kanser, kardiyovasküler hastalık riskini azaltabilir. Bu nedenle, gıda ve farmasötik ürünlerde kullanım için doğal olarak oluşan antioksidanlara olan ilgi son yıllarda önemli ölçüde artmıştır (Taşkın ve Bitiş, 2016).

Antioksidan aktivite, polisakkarit biyolojik aktivitesinin önemli bir yönüdür. Polisakkaritlerin antioksidan aktivitesi, polisakkaritlerin vücut tarafından üretilen serbest radikalleri temizleme yeteneğini ifade eder. Polisakkaritler, lipid peroksidasyon reaksiyonunun zincir uzunluğunu azaltabilir ve lipid peroksidasyon reaksiyonunun ilerlemesini önleyebilir veya yavaşlatabilirler. Bitki polisakkaritlerinin pek çok çeşidi ve zengin içeriği vardır ve bunların çoğu suda çözünür polisakkaritlerdir, hammaddeden ayrılması kolay ve nispeten ucuzdur (Huang ve Huang, 2020).

Araştırmacıların, serbest radikallerin ateroskleroz, görme kaybı, kanser ve diğer bazı kronik hastalıklarda rol oynadığını keşfettiği 1990'lardan beri antioksidanlar dikkat çekmeye başlamıştır. Düşük sebze ve meyve alımına sahip kişilerin, bu hastalıkların gelişimi için diğerlerine göre daha büyük risk altında olduğunu tespit etmişlerdir (Rafieian-Kopaei vd., 2013). Antioksidan içeriği yüksek gıda veya besin takviyesi tüketimi, serbest radikallere ve reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı koruma mekanizmalarını güçlendirir ve bu nedenle kronik hastalıklardan korunmaya yardımcı olur (Şamec vd., 2016). Epidemiyolojik veriler ve in vitro çalışmalar, antioksidan fitokimyasallara sahip sebzelerin kanser ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere büyük dejeneratif hastalıklara karşı güçlü koruyucu etkileri olduğunu kuvvetle göstermektedir (Singh vd., 2006).

Rajasekaran ve arkadaşları (2005), yaptıkları çalışmada diyabetik sıçanların plazma ve pankreasındaki Aloe vera yaprağı jelinden elde edilen etanolik ekstraktın antioksidan aktivitesinin, diyabette oksidatif stresi iyileştirmede bu bitkinin etnofarmakolojik kullanımını destekleyen, kullanılan standarttan daha yüksek olduğunu buldu.

Çeşitli çalışmalar polisakkaritlerin glukoz homeostazı üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini kanıtlamıştır. Polisakkaritlerin oksidatif stres hasarına karşı savunma mekanizması yoluyla diyabet komplikasyonlarını azalttığı ve nihayetinde insülin duyarlılığını artırdığı rapor edilmiştir. In vivo hayvan çalışmaları, biyoaktif polisakkaritin oksidatif stresi azaltarak tip 2 diyabet gelişimini engelleyebileceğini kanıtlamıştır. Polisakkaritler ince bağırsak geçiş süresini değiştirerek sindirim enzimini baskılar, karbonhidrat sindirimini engeller, bu yolla hipoglisemik etki sağlar. Bu engellemeler genellikle inülin, tanen ve fitik asit gibi diyet bileşenleri tarafından gerçekleştirilir. Tüm bu adımlar, kan şekeri seviyesini kontrol etmek için diyabette etkili bir stratejidir (Ganesan ve Xu, 2019).

## **1.2 Tezin Amacı**

Yenilebilir yapraklar, Türk mutfağında önemli bir yere sahiptir. Ülkemizin farklı coğrafi bölgelerinde yetişen ve özellikle sarma ve salata yapımında kullanılan birçok farklı türde yaprak bulunmaktadır. Özellikle son yıllarda gıda sağlık ilişkisinin ve hastalık riskini azaltma konusunun önem kazanmasıyla, biyoaktif bileşiklerin tanımlanması ve fonksiyonel gıdalarda kullanılması önem kazanmıştır. Fonksiyonel gıdaların yanı sıra bitkisel kaynaklı gıda takviyelerinin üretimi ile ilgili talep de son yıllarda artmıştır. Bu çalışmada 7 adet yenilebilir yaprak (şeker pancarı, ebegümece, kale, karalahana, cibes, beyaz lahana, hardal) kullanılmıştır. Bu yapraklardan iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen suda çözünür polisakkaritlerin biyoaktif (antioksidan ve antidiyabetik) özellikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada ileride geliştirilebilecek fonksiyonel gıda veya takviyeler için farklı bitkisel kaynakları tanıtmak amaçlanmıştır.

## **1.3 Hipotez**

Yenilebilir yapraklar, başta antioksidan özellik gösteren bileşikler olmak üzere birçok farklı biyoaktif madde içerirler ve bu biyoaktif bileşiklerin sağlık üzerinde

olumlu etkileri vardır. Çalışmamızın hipotezi, sofralarımızda sıklıkla kullandığımız yenilebilir yapraklardan iki farklı yöntemle elde edilen ekstraktların antioksidan ve antidiyabetik etkisinin örnekler ve ekstraksiyon yöntemleri göz önüne alınarak değerlendirmektir.



### 2.1 Biyoaktif Bileşenler

Biyoaktif bileşikler, doğada bulunan, besin zincirinin bir parçası olan ve insan sağlığı üzerinde etkisi olduğu gösterilebilen esansiyel ve esansiyel olmayan bileşiklerdir. Gıdalarda doğal bileşenler olarak bulunan biyoaktif maddeler, ürünün temel besin değerinin ötesinde sağlık yararları sağlar (Biesalski vd., 2019).

Bitki hücreleri iki tür metabolit üretir. Birincil metabolitler yani karbonhidratlar, lipidler ve proteinler doğrudan büyüme ve metabolizma ile ilgilidir. Birincil metabolitler, fotosentezin bir sonucu olarak üretilir ve ayrıca hücre bileşeni sentezinde yer alır. Bitki hücrelerinde amino asitler, proteinler ve lipidler gibi ikincil metabolitler de üretilir. İkincil metabolitler, birincil metabolizmanın ürünleri olarak kabul edilir ve genellikle metabolik aktivitede yer almazlar (alkaloidler, fenolikler, uçucu yağlar ve terpenler, steroller, flavonoidler, ligninler, tanenler vb.). Bu ikincil metabolitler, farmasötiklerin, gıda katkı maddelerinin, kokuların ve pestisitlerin ana kaynağıdır (Bernhoft, 2010).

Biyoaktif bileşiklerle ilgili yapılan çalışmalarda; faydalı bakterilerin gelişimine katkı sağladığı, zararlı bakterilerin gelişimini engelleyerek inhibisyon etki gösterdiği, biyokimyasal reaksiyonlarda substrat olarak, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör veya inhibitör olarak görev aldığı, bağırsaktaki istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılmasına yardımcı olduğu, reaktif ve toksik kimyasallar için yakalayıcı ajan olarak kullanıldığı ve sağlık üzerinde olumlu etkiler gösterdiği ortaya konmuştur (Polat, 2012).

#### 2.1.1 Fenolik Bileşikler

Genel olarak polifenoller olarak adlandırılan fenolik bileşikler tüm bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerdir. En yaygın olarak bulunan fitokimyasal gruplarından biri olan bu bileşikler, bitkilerde fizyolojik ve morfolojik öneme sahiptir. Bu bileşikler, meyve ve sebzelerin renk ve duyuşal özelliklerine katkıda

bulunmanın yanı sıra bitkilerde koruma ve savunma sağlar. Doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerin çoğu, bir veya daha fazla fenolik gruba bağlı mono ve polisakkaritlerle konjugatlar halinde bulunur. Ayrıca esterler ve metil esterler gibi fonksiyonel türevler olarak da ortaya çıkabilir (Balasundram vd., 2006).

Bitki fenoliklerinin, yüksek ışık, düşük sıcaklıklar, patojen enfeksiyonu, otçullar ve besin eksikliği gibi çevresel streslerin, bitkilerde serbest radikallerin ve diğer oksidatif türlerin üretimini artmasına neden olabileceği durumlarda savunma bileşikleri olarak kilit bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Lattanzio, 2013).

Diyet fenolik bileşiklerden elde edilen olası sağlık yararları, diğer fenoliklerle konjugasyonu, glikosilasyon/açılasyon derecesi, moleküler boyut ve çözünürlük dahil olmak üzere yapıları tarafından belirlenen absorpsiyon ve metabolizmalarına bağlıdır. Fenolik bileşiklerin biyoyararlanımı, hücre duvarı yapılarındaki farklılıklardan, hücrelerdeki glikozitlerin yerleşiminden ve fenolik bileşiklerin gıda matrisine bağlanmasından da etkilenebilir. Farklı meyve veya sebzelerin toplam fenolik içerikleri arasında ve hatta farklı araştırmacılar tarafından bildirilen aynı meyve veya sebzeler için büyük farklılıklar vardır. Bu farklılıklar, bu bileşik gruplarının karmaşıklığından, ekstraksiyon ve analiz yöntemlerinden kaynaklanabilir (Balasundram vd., 2006).

Meyvelerin, otların, sebzelerin, tahılların ve fenolik bakımından zengin diğer bitki materyallerinin ham özleri, lipidlerin oksidatif bozunmasını geciktirdiği ve böylece gıdanın kalitesini ve besin değerini iyileştirdiği için gıda endüstrisinde giderek daha fazla ilgi görmektedir. Fenolik bileşiklerden elde edilen faydalı etkiler, antioksidan aktivitelerine atfedilmektedir. Fenoliklerin antioksidan aktivitesi, esas olarak, indirgeyici ajanlar, hidrojen vericiler ve tekli oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerine izin veren redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Kahkönen vd., 1999).

### **2.1.2 Antioksidanlar**

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya serbest radikalin yayılmasını çeşitli mekanizmalardan biri (veya daha fazlası) ile keserek oksidasyonu geciktiren bileşikler veya sistemlerdir. Serbest radikallerle etkileşime

girerek onları stabilize eder ve serbest radikallerin neden olabileceği hasarları kısmen veya tamamen önleyebilirler (Shinde vd., 2012).

Antioksidan molekülü kendi elektronlarından birini bağışlayarak serbest radikallerle reaksiyona girer ve zincir reaksiyonunu sonlandırabilir. Böylece çöpçü görevi görür, hücre ve doku hasarını önler (Sen vd., 2010).

Antioksidanların etki mekanizması farklı durumlarla açıklanabilir:

- 1) Zincirleme reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri tutarlar.
- 2) Diğer antioksidanların yenilenmesinde etkilidirler.
- 3) Pro-oksidan görevi gören metal katalistleri şelatlarlar.
- 4) Enzimleri inhibe veya aktive ederler.
- 5) Oksidanlar veya radikallerle tepkimeye girerler (Ekici ve Sağdıç, 2008).

Antioksidan savunma mekanizmaları hem enzimatik hem de enzimatik olmayan stratejileri içerir. Birbirleriyle ve farklı serbest radikal türlerine karşı sinerji içinde çalışırlar (Maritim vd., 2003).

Düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, koenzim Q, karotenler, glutatyon ve eser elementler) reaktif radikalleri inaktif duruma getirmekten sorumludur. Glutatyon, ubikinon, albümin ve metallotioneinler ve ürik asit dahil olmak üzere bazıları vücutta üretilir. Ancak çoğu, diyetle alınan bitkiler veya mineraller gibi doğal kaynaklardan elde edilen eksojen bileşiklerdir. Serbest radikal savunmasında yer alan endojen antioksidanlar, vücudu ROS'a karşı koruyamadıklarında, eksojen antioksidanlara ihtiyaç vardır. Hemen hemen tüm canlı organizmalar, hem prokaryotlar hem de ökaryotlar, biyoaktif bileşikler üretme yeteneğine sahiptir (Flieger vd., 2021).

Epidemiyolojik araştırmalar, yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşen içeren gıdaların tüketilmesiyle oksidatif stresin oluşturduğu olumsuz koşulların iyileştirilebileceğini doğrulamaktadır (Pisoschi vd., 2016).

Antioksidanlar, vücuda diyet takviyesi olarak verilmesinin yanı sıra gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kararsız bileşenlerin oksidasyonunu önlemek için katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Günümüzde, oksidatif hasarı önlemede veya geciktirmede eksojen antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır. Olumlu sağlık

etkilerine yönelik ilk olumlu araştırmalar, in vitro deneylerle sağlandı (Flieger vd., 2021).

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, serbest radikal süpürücü özelliklere sahip bitki kökenli antioksidanların, oksidatif strese bağlı çeşitli hastalıklarda terapötik ajanlar olarak büyük öneme sahip olabileceğini göstermiştir. Çalışmalarda bitki ekstraktları radikal süpürücüler ve lipid peroksidasyonunun inhibitörleri olarak etkili bulunmuştur. Pek çok sentetik antioksidan bileşik toksik ve/veya mutajenik etkiler göstermiştir, bu da birçok araştırmacının doğal antioksidan arama ilgisini uyandırmıştır (Sen vd, 2010).

Antioksidanlar, organizmanın serbest radikallerin saldırısına bağlı patolojilere karşı savunma mekanizmalarından sorumludur. Bu nedenle, bitki kaynaklı antioksidan alımı, kanser, parkinson, alzheimer veya ateroskleroz gibi oksidatif strese neden olan dejeneratif hastalıkların önlenmesinde rol oynar (Moharram ve Youssef, 2014).

Antioksidan aktivite doğrudan ölçülemez, daha çok antioksidanın oksidasyon derecesini kontrol etmedeki etkileri ile ölçülür (Antolovich vd., 2002). Antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi için çeşitli analitik yöntemler, spektrometri, elektrokimyasal testler ve kromatografi olmak üzere üç farklı kategoriye ayrılır (Moharram ve Youssef, 2014).

### **2.1.2.1 Antioksidan Aktivite Ölçüm Yöntemleri**

- DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) Yöntemi

DPPH metodu, son zamanlarda doğal antioksidan çalışmalarında oldukça popüler hale gelen bir antioksidan aktivite ölçüm yöntemidir. Bu yöntem, antioksidanların biyolojik sistemlerde yaygın olarak bulunmayan bir başka radikal olan 2,2-difenil pikrilhidrazil'i (DPPH) azaltma yeteneğini spektrofotometre ile ölçer (Moharram ve Youssef, 2014). DPPH'nin izlenmesinde uygulanan çeşitli yöntemler vardır ancak basitliği ve doğruluğu nedeniyle en sık kullanılan izleme yöntemi UV spektrometresidir. DPPH, absorban 517 nm'de maksimum absorban gösterir (Moon ve Shibamoto, 2009). DPPH radikali 517 nm'de absorbe eder ve ikinci bir substratsız sistemde, bu absorbanstaki azalma izlenerek antioksidan aktivite belirlenebilir (Antolovich vd, 2002).

Çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçları standardize etmek için Trolox ve EC50 olarak iki farklı birim kullanılmıştır. Trolox eşdeğeri (TE) birimi; Trolox, ticari olarak suda çözünen bir E vitamindir. Antioksidan bir bileşenin aktivitesi, 100 g bileşen (TE/100 g) başına Trolox eşdeğerlerinin mikromolleri cinsinden ifade edilir (Moon ve Shıbamoto, 2009).

- ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Yöntemi

Sulu ve yağ fazlarındaki uygulamalarda kolay uygulanabilirliği nedeniyle antioksidan aktivite değerlendirmede yaygın bir yöntemdir. ABTS radikal yöntemi olarak da adlandırılır (Moon ve Shıbamoto, 2009).

Yöntem, ABTS varlığında radikal katyon üretmek için hidrojen peroksit ile metmiyoglobinin aktivasyonuna dayanmaktadır. Bu yöntem, ABTS ve potasyum persülfat arasındaki reaksiyon yoluyla mavi/yeşil ABTS kromoforunun doğrudan üretimini içerir. Absorbans 734 nm'de ölçülür. Antioksidanların önceden oluşturulmuş radikal katyona eklenmesi, ABTS'yi antioksidan aktiviteye, antioksidanın konsantrasyonuna ve reaksiyonun süresine bağlı olarak bir ölçüde ve zaman ölçeğinde azaltır. Böylece ABTS radikal katyonunun inhibisyon yüzdesi olarak renk giderme derecesi konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak belirlenir. Yöntem, hem suda çözünen hem de yağda çözünen antioksidanların, saf bileşiklerin ve gıda özlerinin incelenmesinde uygulanabilir (Re vd., 1999).

- Ferrik İyonu İndirgeyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Yöntemi

Bu yöntemin prensibi, antioksidanların varlığında bir ferrik-tripiridil triazin kompleksinin demirli, renkli formuna indirgenmesine dayanır (Guo vd., 2003).

$Fe^{3+}$ -TPTZ kompleksi, bir antioksidan tarafından  $Fe^{2+}$  formuna indirgendiğinde, 593 nm'de yoğun bir mavi renk gelişir. Böylece antioksidan etki bir  $Fe^{2+}$ -TPTZ kompleksinin oluşumunun 593 nm absorpsiyonda spektrofotometre ile izlenmesiyle değerlendirilir. Bu yöntem tekrarlanabilir ve hızlı sonuçlar verir (Moon ve Shıbamoto, 2009).

- CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi) Yöntemi

Yöntem, antioksidan solüsyonun (doğrudan veya asit hidrolizinden sonra) bir bakır (II) klorür solüsyonu, bir neocuproin alkollü solüsyonu ve pH 7'de bir

amonyum asetat sulu tamponu ile karıştırılmasını ve ardından gelişen absorbansın 450 nm'de ölçülmesini içerir (Apak vd., 2004).

CUPRAC testi için optimum pH 7.0'dır ve gerçek koşullar altında antioksidan etkiyi simüle eden fizyolojik pH'a (7.4) yakındır. Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların aktivitelerini ölçebilir (Gulcin, 2020).

### **2.1.3 Antidiyabetik Maddeler**

Diyabet, dünya çapında nüfusun önemli bir bölümünü etkileyen, etkileri yıkıcı olan yaygın bir sistemik hastalıktır. Diabetes mellitus, hiperglisemi ve endojen insülinin sekresyonunun veya etkisinin yetersizliği ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda artan kanıtlar, oksidatif stresin diyabetin patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Diyabette serbest radikaller, glikoz oksidasyonu, proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu ve ardından glike edilmiş proteinlerin oksidatif bozunması ile orantısız olarak oluşur. Anormal derecede yüksek serbest radikal seviyeleri ve aynı anda antioksidan savunma mekanizmalarının azalması, hücrel organellerin ve enzimlerin zarar görmesine, artan lipid peroksidasyonuna ve insülin direncinin gelişmesine neden olabilir. Oksidatif stresin bu sonuçları, diabetes mellitus komplikasyonlarının gelişimini teşvik edebilir (Maritim vd., 2003).

Yüksek düzeyde ve güçlü antioksidan bileşiklere sahip bitkiler, diabetes mellitus gibi oksidatif stres içeren bozuklukların iyileştirilmesinde önemli bir role sahiptir. Bu bitkilerin ve antioksidan bileşenlerinin diyabet ve komplikasyonları üzerindeki etkilerini araştıran ve iyi sonuçlar elde eden birçok araştırma vardır (Rahimi vd., 2005).

Çalışmalar, bazı polisakkaritlerin vücuttaki insülin salgısını artırmamasına rağmen, karaciğerdeki glukokinaz, heksokinaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenazın (G6PD) aktivitesini önemli ölçüde iyileştirebildiğini ve ayrıca plazmadaki trigliserit ve kolesterol seviyesini de azalttığını göstermiştir. Son çalışmalarda bilim adamları bitkilerden elde edilen polisakkaritlerden hipoglisemik etkiye sahip bir dizi polisakkarit bulmuşlardır. Bu ilerde yapılacak çalışmalar için umut verici bir gelişmedir (Shi, 2016).

Polisakkaritlerin glikoz kontrolü üzerindeki etkisi, esas olarak ince bağırsak geçiş süresini değiştirerek elde edilir. Polisakkaritler, karbonhidratın sindirim enzimi baskılanmasını önler ve bu enzimleri dizginler (Hu vd., 2018).

İnsan vücudunda normalde birkaç dinamik karbonhidrat bulunur. Sindirim enzimleri olan  $\alpha$ -amilaz (tükürük veya pankreas) ve  $\alpha$ -glukozidaz (ince bağırsak) en belirgin olanlarıdır.  $\alpha$ -amilaz, uzun zincirli karbonhidratı parçalayan enzimdir. Bağırsak fırça sınırındaki  $\alpha$ -glukozidaz, oligosakkaritin monosakkarite sindirilmesi için gereklidir. Sonuç olarak,  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz aktivitelerinin kısıtlanması, glukozun kan glukozuna dönüşümünü önemli ölçüde engelleyebilir. Bildirildiği üzere, birçok polisakkarit,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz üzerinde inhibitör bir etki gösterir. Polisakkaritler, gıda sindirimini ve emilimini geciktirerek tokluk kan şekeri alımını azaltabilir. Farklı klinik çalışmalar, çözünür lif viskozitesinin tokluk kan şekerini düşürmedeki önemli rolünü vurgulamış ve ayrıca polisakkaritlerin viskozitedeki artışla birlikte tokluk kan şekeri üzerinde gelişmiş bir etkiye sahip olduğunu doğrulamıştır. Ek olarak, bazı araştırmalar polisakkaritin glikozu bağlayabildiğini ve emebildiğini ve böylece ince bağırsakta düşük glikoz konsantrasyonunu koruduğunu da göstermektedir (Hu vd., 2018).

## 2.2 Polisakkaritler

Polisakkarit, genellikle doğrusal veya dallı zincirlerdeki glikozidik bağlantılar yoluyla 10'dan fazla monosakaritten oluşan, moleküler ağırlığı on binlerce hatta milyonlarca olan bir tür doğal makromoleküler polimerdir. Bitkilerde, mikroorganizmalarda, alglerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunur. Proteinlere ve polinükleotitlere benzer şekilde polisakkarit, yaşam aktivitelerinde temel makromolekülerdir ve hücre-hücre iletişimde, hücre yapışmasında ve bağışıklık sisteminde moleküler tanımda önemli roller oynar (Yu vd., 2018). Polisakkaritler proteinler ve nükleik asitler gibi biyopolimerlerle karşılaştırıldığında, yapısal değişkenlik açısından en büyük potansiyele sahiptirler. Bu sebeple biyolojik bilgi taşımak için en yüksek kapasiteyi sunarlar. Monosakkarit birimleri, çok çeşitli dallı veya doğrusal polisakkarit yapıları oluşturmak için birkaç noktada birbirine bağlanabilirler (Shi, 2016).

Protein ve nükleik asitten farklı olarak polisakkaritlerin yapısı, monosakkarit kalıntılarının bileşimindeki, glikozidik bağlardaki, şeker birimlerinin dizisindeki, polimerizasyon derecelerindeki ve dallanma noktasındaki farklılıklara bağlı olarak çok daha karmaşık bir yapı gösterir. Bunların dışında, çeşitler, kökenler ve partiler arasındaki farklılıklar ve hatta ekstraksiyon yöntemleri ve fraksiyon prosedürleri gibi diğer faktörlerin polisakkaritlerin fizikokimyasal ve yapısal özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Wang vd., 2016).

Polisakkaritler geniş bir çözünürlük yelpazesi gösterirler. Bazıları soğuk suda kolayca çözünürken bazıları ise sadece sıcak suda çözünür. Çözünmez olanlar ise kaynayan suda bile çözünemezler. Polisakkaritler, hidrojen bağı yoluyla su molekülleri ile etkileşime girebilen çok sayıda hidrojen grubu, oksijen atomu ve diğer grupları içerir. Bu etkileşimler, gıda sistemlerinde suyun hareketliliğini kontrol eder, buz kristali oluşumunu ve büyümesini etkiler. Bu nedenle gıdaların dokusal ve fonksiyonel özellikleri üzerinde özel bir etki sağlayabilirler (Cui, 2005).

Polisakkaritlerin 1943 yılında ilaç olarak ilk kullanımından bu yana karmaşık yapısı ve çeşitliliği, biyokimyanın gelişmesi, çeşitli ayırma teknolojilerinin araştırılması ve uygulanmasıyla yavaş yavaş kabul edildi (Huang ve Huang, 2020).

Polisakkaritler, doğada bulunma şekillerine bağlı olarak depo, yapısal, jel formu ve doğadaki köken olmak üzere dört gruba ayrılabilir (Tablo 2.1):

**Tablo 2. 1** Polisakkaritlerin kendi içinde sınıflandırılması (Delgado ve Masuelli, 2019)

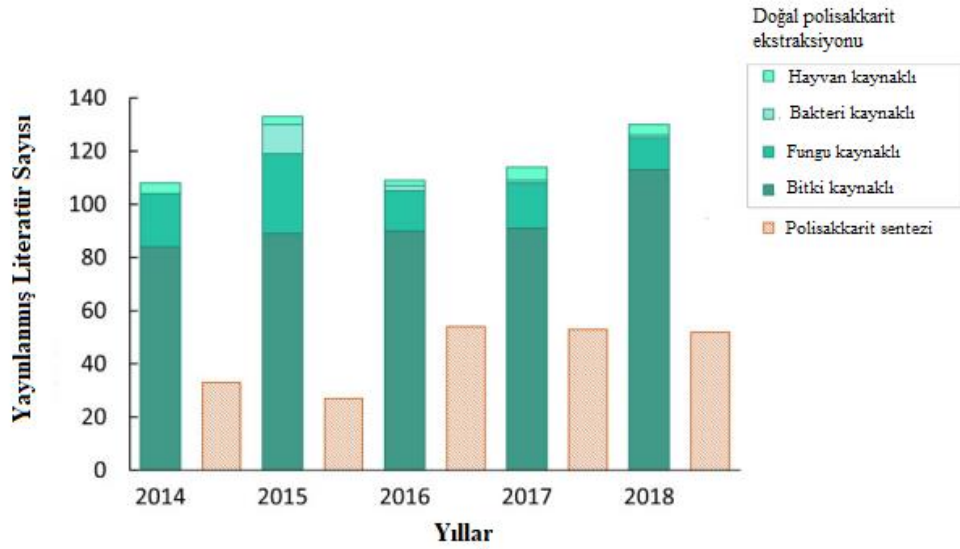
Depo	Yapısal	Jel Formu	Doğadaki Köken
Glikojen	Selüloz	Mukopolisakkarit	Mikroorganizmalar
Glukomannan	Kitin	Pektin	Bitkiler
Niştasta	Hyaluronan	Agar	Hayvanlar
Galaktomannan		Niştasta	

Son yıllarda araştırmacılar, doğal ürünlerden elde edilen polisakkaritlerin geniş kapsamlı faydalı terapötik etkilere ve sağlığı geliştirici özelliklere sahip olduğunu doğruladılar (Wang vd., 2016).

Çalışmalar, polisakkaritlerin antioksidan, antitümör, bağışıklık arttırıcı, antikoagülan, yaşlanma karşıtı, çoğalma önleyici, hipoglisemik ve hipolipidemik, antiviral aktivite, antiradyasyon, gıda lezzetini iyileştirme ve yardımcı enzim katalitik prosesinde mükemmel biyolojik aktivitelere sahip olmanın yanı sıra, aynı zamanda sentetik kimyasalların toksisitesini, teratojenisitesini ve potansiyel kanserojenliğini de azaltabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, polisakkaritlerin araştırılmasına giderek daha fazla ilgi gösterilmiştir (Huang ve Huang, 2020).

Polisakkaritleri karmaşık matris ağlarından biyoaktivite kaybını en aza indirerek izole etmek çok önemlidir (Liu vd., 2015).

Kapsamlı in vitro antioksidan çalışmalara göre, polisakkarit gerçekten de etkili bir antioksidandır. Genel olarak, polisakkaritlerin antioksidan potansiyelleri tek bir faktör tarafından değil, birkaç ilgili faktörün bir kombinasyonu tarafından belirlenir (Wang vd., 2016).



**şekil 2. 1** İstatistiksel verilerle doğal polisakkarit ekstraksiyonlarının ve polisakkarit sentezinin literatür analizi (Ren vd., 2019)

## 2.3 Yenilebilir Yapraklar

### 2.3.1 Şeker pancarı (*Beta vulgaris subsp. Vulgaris*)

Tüm ekili pancarlar, *Beta vulgaris subsp. vulgaris*. pancarın (Beta) menşei merkezinin, Dicle ve Fırat nehirlerinin yakınında bulunan Orta Doğu olduğuna inanılmaktadır. *Beta vulgaris* ekili şeker pancarı, kökü yüksek konsantrasyonda sakkaroz içeren ve ticari olarak şeker üretimi için yetiştirilen bir bitkidir (Lim, 2016).

Yapraklar bitkinin %20 - 34'ünü oluşturur. Pancar şeker üretimi için kullanılırken, yapraklar ağırlıklı olarak tarlalarda bırakılmaktadır. Protein bakımından yapraklar, kök ve gövdeden daha fazla protein içermektedir (Toruk vd., 2003).

Şeker pancarı köklerinin sulu ve etanolik ekstraktlarının, fare hepatom hücresinde in vitro çalışmada radikal katyonları ve faz II enzim indükleyici aktiviteleri azaltan, serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (El-Gengahı vd., 2016). Şeker pancarı yaprakları salata, haşlama, kavurma gibi çok çeşitli şekillerde tüketilir. Ülkemizde daha çok yaprak sarması olarak tüketilir.



Şekil 2. 2 Şeker pancarı yaprağı

### 2.3.2 Ebegümece Yaprağı (*Malva sylvestris*)

Genellikle ebegümece olarak bilinen *Malva sylvestris*, sığ loblu yaprakları ve geç ilkbaharda açan mor çiçekleri olan yıllık bir bitkidir (Samavati ve Manoochehrizade, 2013).

Bu türün kimyasal ve toplam fenolik içerikleri hakkında analitik veriler çok nadirdir. Bununla birlikte, önceki kimyasal araştırmalar, *Malva sylvestris*'in yaprak ve gövdelerinde antosiyaninler, flavonlar, flavonoller, ferulik asit, hidroksisinnamik asitler, steroller, seskiterpenler, mono ve diterpenlerin varlığını göstermiştir (Beghdad vd., 2014).

*M. sylvestris* L.'nin gastronomik gelenekleri, çorbalarda, yahnilerde ve salatalarda yaprak ve sapların kullanımını dikkate alır. Genç yaprakları salatalarda çiğ olarak, olgun yaprakları çorbalarda ve haşlanmış sebze olarak tüketilir. Ülkemizde, özellikle Ege Bölgesi'nde ebegümece yaprağı sarması olarak sofralarda yer alır. *M. sylvestris*, Panirak olarak adlandırılan İran'da yaygın olarak sebze ve tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Bitki çiçekleri kesik yara, egzama, deri enfeksiyonlu yaralar, bronşit, sindirim sorunları ve iltihaplara çare olarak kullanılır (Samavati ve Manoochehrizade, 2013).

Ayrıca bazı *M. sylvestris* türlerinin ekstraktlarının, fareleri etanolün neden olduğu gastrik lezyonlardan koruduğu da gösterilmiştir. *M. sylvestris* üzerinde yapılan çalışmalar, bağışıklık sistemini etkileyebilecek polisakkaritler başta olmak üzere çeşitli bileşiklerin varlığını göstermiştir (Samavati & Manoochehrizade, 2013).



Şekil 2. 3 Ebegümece yaprağı

### 2.3.3 Kale Yaprağı (*Brassica oleracea var. Acephala*)

Dünyanın çeşitli bölgelerinde yetiştirilen Brassicaceae familyasına ait türler insan beslenmesine önemli katkılar sağlamaktadır. Doğu Akdeniz ülkeleri ve Anadolu, bu familyanın menşei olarak kabul edilmektedir. Kale (*Brassica oleracea var. acephala*), Türkiye'de yeşil yapraklı sebzeler arasında önemli bir yere sahiptir (Şevik ve Cansız, 2021). Brassica cinsinden sebzeler ilgili onlarca yıldır yapılan epidemiyolojik çalışmalar, bu sebzelerin bulunduğu diyetlerin çeşitli kanser türleri ve diğer kronik hastalıklar için daha düşük risk ile ilişkili olduğuna dair kanıt sunmuştur (Šamec vd., 2018). Brassicaceae, yani Brassica oleracea türlerinin fenolikler (flavonoidler ve hidrokisisinnamik asit türevleri) ve glukozinolatlar dahil olmak üzere önemli bir biyoaktif bileşen kaynağı olduğu iyi bilinmektedir (Ferrerres vd., 2009).

Brassica bitkileri tüketimi ile ilişkili insan sağlığı yararları, antioksidanların varlığı ile açıklanabilir. Brassica oleracea bitkilerinin antioksidan potansiyelleri diğer bitkilere göre yüksektir (Aires, 2015).

Zhou ve Yu (2006), yaygın olarak tüketilen 38 sebzenin antioksidan kapasitesini çeşitli yöntemlerle ölçmüş ve ıspanak, brokoli ve ravent ile birlikte kaleyi en yüksek antioksidan aktiviteye sahip sebze olarak bildirmiştir. Ayrıca, Sikora ve arkadaşları (2008) kale, brokoli, Brüksel lahanası, yeşil ve beyaz karnabaharda antioksidan aktiviteyi ölçmüş ve kalenin çok daha yüksek antioksidan içerdiğini tespit etmişlerdir.



Şekil 2. 4 Kale yaprağı

#### 2.3.4 Karalahana (*Brassica oleracea var. viridis*)

Karalahana (*Brassica oleracea var. viridis*), koyu yeşil renkte büyükçe yaprakları bulunan Karadeniz Bölgesi'nin en tipik sebzelerindendir. Yetiştirilmesi kolay olduğu için bölgede fazlaca yetiştirilmekte ve tüketilmektedir (Tosun vd., 2002).

Yapılan araştırmalar karalahananın sahip olduğu vitaminler, yağ asitleri, aminoasitler ve fenolik bileşiklerin vücutta oluşan oksidatif hasara karşı etkili olabileceğini ortaya koymuştur (Kent vd., 2016).

Son yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, Brassicaceae ailesine ait sebzelerin yüksek seviyelerde karotenoidler, tokoferoller ve askorbik asit nedeniyle iyi bir doğal antioksidan kaynağı olarak hareket ettiğini göstermiştir. Ayrıca epidemiyolojik kanıtlar, bu bileşiklerin insan vücudunu, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasara karşı korumaya yardımcı olabileceğini göstermektedir. Karotenoidler, tokoferoller ve askorbik aside ek olarak, bitkisel gıda alımıyla ilgili antioksidan etkinin çoğu, esas olarak meyve ve sebzelerin lezzet ve renk özellikleri ile ilişkilendirilen fenolik bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler ve C vitamini, Brassica sebzelerinin başlıca antioksidanlarıdır (Cartea vd., 2011).



Şekil 2. 5 Karalahana yaprağı

#### 2.3.5 Cibes (azman, lahana patlağı)

Çoğunlukla Ege Bölgesi'nde yetiştirilen cibes, turpgiller ailesinin şifalı bitkilerindendir. Lahanalar kesilip toplandıktan sonra kök kısımları toprakta kalır. Bu kök kısmı tekrar yeşerip filizlenir. Bu filizlenen kısım cibes, azman, lahana patlağı gibi isimlerle adlandırılır (Karaca vd., 2015).

Cibes, Ege Bölgesi'nde çeşitli şekillerde tüketilir. Haşlama, kızartma, sarma, salata gibi birçok farklı şekilde sofralarda yerini alır. Yaygın olarak tüketilmesi, bahçelerde kolaylıkla bulunmasından kaynaklanmaktadır. Yöre halkı cibesin, gaz sancularına, şeker hastalığına ve ödemlere iyi geldiğini belirtmektedir. Ocak, Şubat ve Mart aylarında ve ayrıca ilkbaharda rahatlıkla bulunur. Girit mutfağında en çok kullanılan şifalı otlar arasında yer alan cibes, lahana veya brokoli hasadı sonrası kesimde oluşan yeni sürgünler olarak bilinir (Atabey vd., 2020).



Şekil 2. 6 Cibes yaprağı

### 2.3.6 Beyaz Lahana (*Brassica oleracea var. capitata*)

Beyaz lahana, dünyanın en yaygın olarak yetiştirilen sebzeleri arasındadır. Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar ve kale bitkilerini içeren Brassica cinsine ve Brassicaceae (Cruciferae) hardal ailesine aittir. Birçok ülkenin kültüründe ve geleneksel mutfağında önemli bir yere sahip olan beyaz lahana, geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle salatalarda taze olarak, haşlanarak, kızartılarak veya fermente ürün olarak tüketilir (Şamec vd., 2016).

Yapılan çalışmalar lahananın, antioksidan, antikanser (Park vd., 2014a, b) ve potansiyel anti-obezite (Williams vd., 2013) özellikleri gösteren polifenolikler, glukozinolatlar, karotenoidler ve C vitamini gibi fitokimyasallar açısından zengin bir sebze olduğunu ortaya koymuştur. Lahana, gıda olarak tüketimin yanı sıra baş ağrısı, gut, ishal ve peptik ülser gibi hastalıkların tedavisi için de önemli bir sebzedir. Pek çok araştırma, lahanadaki faydalı fitokimyasallara, özellikle indol-3-karbinol (I3C), sülforafan ve indollere odaklanmıştır. Bu bileşikler, kanser üreten maddeleri parçalayan ve ortadan kaldıran vücudun antioksidan ve detoksifikasyon

mekanizmalarını etkinleştirmeye ve stabilize etmeye yardımcı olur (Singh vd., 2006).

Beyaz lahananın, yaygın olarak tüketilen diğer sebzelerle karşılaştırıldığında, orta düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Şamec vd., 2016).

Diabetik ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada (Asadujjaman vd., 2011), lahana ekstraktının kan şekeri seviyesinin düzenlenmesinde etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucu lahana ekstraktının, kan şekeri seviyesini önemli ölçüde azalttığı, karaciğer glikojen içeriğini azalttığı ve glikoz ile indüklenen sıçanlarda glikoz toleransını iyileştirdiği tespit edilmiştir.



Şekil 2. 7 Beyaz lahana yaprağı

### 2.3.7 Hardal Yaprağı (*Brassica juncea L.*)

*Brassica juncea L.* yani Hint hardalı, ülkemizde kahverengi veya kırmızı hardal olarak bilinen bir bitki türüdür. Siyah hardalın ve yağ şalgamının doğal şartlar altında melezlenmesi ile oluşmuştur (Chen vd., 2013).

Hardal, vitaminler, mineraller, diyet lifi, klorofiller, glukozinolatlar (ve bunların bozunma ürünleri), polifenoller ve uçucu bileşenler (alil) gibi çok sayıda fitokimyasal içerir. Ek olarak hardal, antioksidan, antiinflamatuvar ve bakteriyostatik ve antiviral aktivite dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik aktiviteye sahip olabilir (Tian ve Deng, 2020).

Yapılan bir çalışmada (Young Kim vd., 2003), diyabetli sıçanlarda gerçekleştirilen oral uygulamada gözlemlenen antioksidan aktivite göz önüne alındığında, hardal

yaprağının oksidatif stresi azaltmak için etkili olduğu ve diyabet dahil serbest radikalle ilişkili hastalıkların önlenmesine katkıda bulunması beklenmektedir.

Polifenollerin içerik ve türlerinin hardal çeşidi, bölümü, işleme yöntemi ve tespit yöntemi ile büyük ölçüde değiştiği gözlenmiştir. Genel olarak, yan tomurcuklardaki polifenol içeriğinin, diğer bitki bölümlerinden daha yüksek olduğu raporlanmıştır. Diğer bitki bölümlerindeki polifenol içeriği tohum > yaprak > kök > gövde olarak sıralanmıştır. Hardal yapraklarının antioksidan etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar hardal yaprağının antioksidan etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Tian ve Deng, 2020).

Literatürde bildirildiğine göre; kırmızı ve yeşil hardal yapraklarıyla yapılan antidiyabetik aktivite çalışması sonucu kırmızı hardal yapraklarının,  $\alpha$ -glukozidaz aktivitesinin inhibisyonunu indüklediği, ancak  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerinde zayıf bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kırmızı hardal yapraklarının glikozu azaltmada yeşil hardal yapraklarından daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Tian ve Deng, 2020).

Brassica sebzeleri üzerine yapılmış birçok çalışma mevcuttur; ancak hardalla ilgili yapılan çalışmalar çok azdır. Yenilebilir kısımların besinsel bileşimi hakkında daha az çalışma yapılmıştır (Sun vd., 2018).



**Şekil 2. 8** Hardal yaprağı

### 3.1 Materyal

Bu çalışma kapsamında Türkiye’de yetişen salata ve sarma yapımında kullanılan 7 farklı yenilebilir yaprak kullanılmıştır (Tablo 3.1). Materyaller seçilirken tüketim yaygınlığı, temin edilebilirliği ve ucuz olması gibi özellikler dikkate alınmıştır. Materyallerden beyaz lahana, karalahana ve şeker pancarı yerel pazardan taze olarak 1’er kg olmak üzere temin edilmiş ve analiz anına kadar dondurucuda (-25 °C) muhafaza edilmiştir. Taze cibes, kale yaprağı, ebegümece ve hardal ise 1’er kg olarak Kasım aylarında Antalya bölgesinden temin edilmiş ve aynı şekilde dondurucuda muhafaza edilmiştir.

**Tablo 3. 1** Çalışmada kullanılan yapraklar

Bitki adı	Botanik adı	Familya
Şeker pancarı	<i>Beta vulgaris subsp. Vulgaris</i>	Amaranthaceae
Karalahana	<i>Brassica oleracea var. viridis</i>	Brassicaceae
Beyaz lahana	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	Brassicaceae
Hardal	<i>Brassica juncea L.</i>	Brassicaceae
Cibes	-	Brassicaceae
Kale	<i>Brassica oleracea var. Acephala</i>	Brassicaceae
Ebegümece	<i>Malva sylvestris</i>	Malvaceae

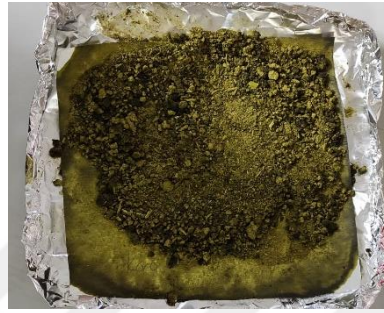
### 3.2 Metot

#### 3.2.1 Yaprakların Ekstraksiyonu

##### 3.2.1.1 Ön İşlem

Taze yapraklar dondurucudan alınmış ve çözünmeleri sağlanmıştır. Çözünen yapraklar döner tepsili kurutucuya alınmıştır. 55 °C, 2 m/sn, 6 d/dk’da nem değeri ±%10 olana kadar kurutulmuştur. Kurutulan yapraklar öğütülerek ince toz haline

getirilmiştir. Toz haline getirilen yapraklar yaklaşık 100 mL hegzan ile ıslatılıp hegzan uçana kadar çeker ocakta bekletilmiştir. Daha sonra lipidleri, pigmentleri, monosakkaritler, oligosakkaritler ve diğer küçük moleküler ağırlıklı safsızlıkları gidermek için yaklaşık 100 mL etanol ile ıslatılıp bir gece boyunca etanolde bekletilmiştir. Bir gece etanolde bekletilen örnekler 55 °C etüvde kurutulmuştur. Kurutma sonunda ön işlemleri tamamlanmış örnekler ekstraksiyon için hazır hale gelmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1 Ön işlem görmüş yapraklar

### 3.2.1.2 Sıcak Su Ekstraksiyonu

Sıcak su ile ekstraksiyon işleminde çözücü olarak sıcak su kullanılmıştır. Ön işlem görmüş örnekler sıcak su (1:20 g/mL) ile ekstrakte edilmiştir. Ön işleme tabi tutulmuş yapraklardan 20 gr alınıp 400 mL 90 °C saf su ile muamele edilip 90 °C'lik sıcak su banyosunda 4 saat boyunca ekstraksiyona bırakılmıştır (1.ekstraksiyon). 4 saatin sonunda örnekler süzülüp tekrardan 400 mL saf su ile muamele edilip 90 °C'lik sıcak su banyosunda 2 saat boyunca ekstraksiyona bırakılmıştır (2. ekstraksiyon) (Şeki 3.2).



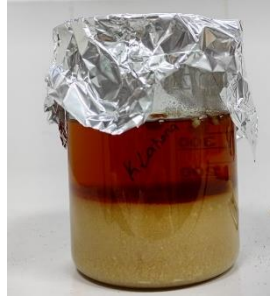
Şekil 3. 2 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon sonunda oluşan ekstraktlara sırasıyla konsantre etme, çöktürme, santrifüj, deproteinizasyon (sevag), diyaliz ve dondurarak kurutma işlemleri uygulanmıştır. İlk olarak ekstraktlar vakumlu rötary evaporatörde (55 °C, 60 mbar) 100 mL hacme kadar konsantre edilmiştir (Şekil 3.3).



**Şekil 3. 3** Konsantre ekstraktlar

Konsantre edilen ekstraktlar %96'lık etil alkol (1:3, h:h) ile karıştırılıp bir gece +4 °C'de bekletilmiş ve çökmesi sağlanmıştır (Şekil 3.4). Bir gece sonunda örnekler alınıp 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj uygulanarak faz ayrımı sağlanmıştır. Süpernatant süzölmüş, çökelti ise Sevag yöntemi ile proteinlerin uzaklaştırılması için ayrılmıştır.



**Şekil 3. 4** Etanol ile çöktürme

Oluşan çökeltiler bir miktar saf su ile çözündürüldükten sonra yaklaşık 10 mL Sevag reaktifi ile (bütanol;kloroform, 1:4, h:h) muamele edilmiştir. Örnekler tekrar santrifüj edilip, üst faz uzaklaştırılıp oluşan çökelti önce etanol sonra aseton ile yıkanmıştır. Diyaliz tüplerine alınan örnekler 2 gün boyunca saf su içerisinde diyalize bırakılmıştır (Şekil 3.5).



**Şekil 3. 5** Diyaliz

Diyaliz süresi boyunca etrafındaki saf su 4 saatte bir değiştirilmiştir. Diyaliz sonunda örnekler dondurmalı kurutucuda kurutularak toz haline getirilmiş ve analiz zamanında kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.6).



**Şekil 3. 6** Kurutulmuş suda çözünen polisakarit örnekleri

### 3.2.1.3 Alkali Ekstraksiyonu

Alkali ekstraksiyon yönteminde çözücü olarak alkali bir çözelti kullanılmıştır. Ön işlem görmüş örnekler NaOH çözeltisi (pH 10, 1:20 g/mL) ile ekstrakte edilmiştir. Ön işleme tabi tutulmuş yapraklardan 20 gr alınıp 400 mL NaOH ile muamele edilip 90 °C'lik sıcak su banyosunda 4 saat boyunca ekstraksiyona bırakılmıştır (1.ekstraksiyon). 4 saatin sonunda örnekler süzülüp tekrardan 400 mL NaOH ile muamele edilip 90 °C'lik sıcak su banyosunda 2 saat boyunca ekstraksiyona bırakılmıştır (2. ekstraksiyon).

Ekstraksiyon sonunda oluşan ekstraktlara sırasıyla konsantrasyon, çökeltme, santrifüj, deproteinizasyon (sevag) ve diyaliz işlemleri uygulanmıştır. İşlemler sonunda örnekler yine freeze dryer ile kurutulup analiz zamanında kadar hava

almayan bir kap içerisinde +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Verim (3.1)'de verilen formülle hesaplanmıştır (Chen vd., 2020).

$$\% \text{ verim} = \left( \frac{m_2 (g)}{m_1 (g)} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

$m_2$ : elde edilen polisakkarit ağırlığı

$m_1$ : ön işlem görmüş yaprak ağırlığı

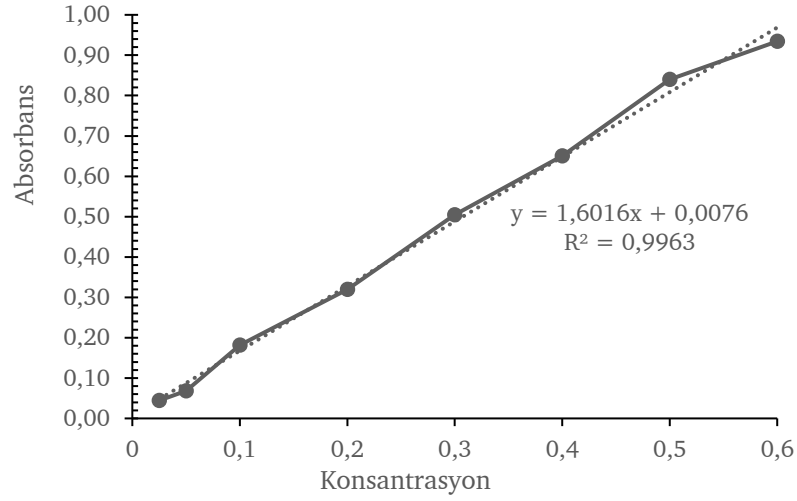
### 3.2.2 Antioksidan Aktivitesi Tayini

Elde edilen polisakkaritlerin antioksidan aktiviteleri 4 farklı yöntemle belirlenmiştir. Toz haldeki polisakkaritler saf su ile 50 ppm, 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm olmak üzere 7 defa seyreltilmiştir. Analizler bu seyreltik çözeltiler ile gerçekleştirilmiştir. Her bir analiz için en iyi sonucu veren seyreltik çözelti esas alınıp analizler bu çözeltiler üzerinden yapılmıştır.

#### 3.2.2.1 DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi Tayini

Bu yöntemde temel olarak antioksidan tarafından DPPH serbest radikale proton transferi reaksiyonu 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olur. Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır (Şenol, 2015). Yöntem Singh ve ark. (2002)'na göre gerçekleştirilmiştir. 100 µL ekstrakt, 4.9 mL DPPH metanol çözeltisi (0.1mM) ile karıştırılmıştır. Oluşan karışım karanlıkta oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon sonrası oluşan renk değişimi 517 nm' de ölçülmüştür.

DPPH aktivitesi Troloks eğrisi (Şekil 3.7) kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/100 g polisakkarit şeklinde verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y=1,601x+0,0076$  ve  $R^2=0,9963$  dir. ( $y=517$  nm'de absorbans değeri,  $x$ =Troloks konsantrasyonu (mg/mL)).

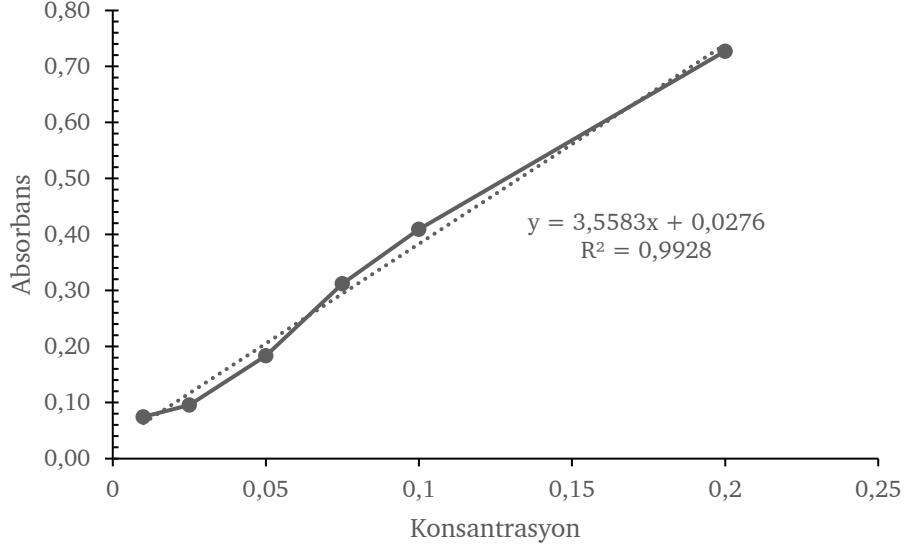


**Şekil 3. 7** DPPH yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi

### 3.2.2.2 ABTS+ Radikali Yakalama Aktivitesi Tayini

Yöntem Re ve ark. (1999)'na göre gerçekleştirilmiştir. Elektron transfer temelli bir yöntem olan ABTS yöntemi, ABTS radikalinin ABTS.+ radikal katyonuna yükseltgenmesi temeline dayanır. ABTS radikal katyonu, 7 mM ABTS amonyum ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisinin karıştırılması ile hazırlanmış, kullanılmadan önce oda sıcaklığında 12-16 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Stok çözelti, 734 nm dalga boyundaki absorbansa değeri 0.700' lük bir absorbansa gelene kadar saf su ile seyreltilmiştir. 100 µL ekstrakt, 2 mL ABTS stok çözeltisi ile karıştırılmıştır. Oluşan karışım karanlıkta 6 dk bekletilmiştir. Reaksiyon sonrası oluşan renk 734 nm' de ölçülmüştür.

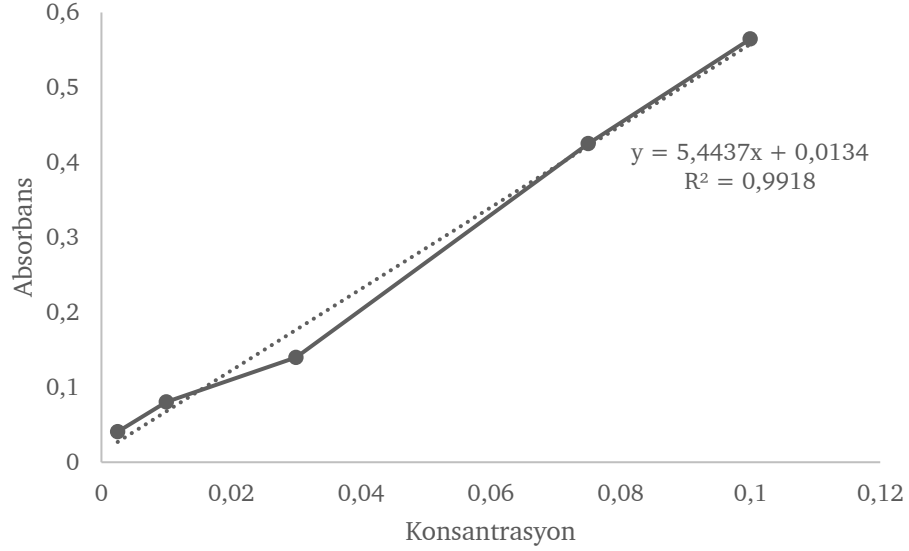
Kalibrasyon eğrisi Troloks standardı için hazırlanmış (Şekil 3.8) ve sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/100 g polisakkarit şeklinde verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y=3,5583x+0,0276$  ve  $R^2=0,9928$  dir. ( $y=734$  nm'de absorbans değeri,  $x$ =Troloks konsantrasyonu (mg/mL)).



**Şekil 3. 8** ABTS yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi

### 3.2.2.3 FRAP Tayini

FRAP tayini Benzie ve Strain (1996)' a göre gerçekleştirilmiştir. Kullanımdan hemen önce FRAP reaktifi 10:1:1 oranında 300 mM asetat tamponu (pH 3.6), 10 mM 2, 4, 6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) çözeltisi ve 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  karıştırılıp hazırlanmıştır. 300 mM asetat tamponu, 0.31 g sodyum asetat trihidrat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), 1.6 ml asetik asit ile karıştırılıp son hacim 100 mL'ye gelinceye kadar saf su ile seyreltilmiştir. 100  $\mu\text{L}$  ekstrakt, sırasıyla 900  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  ve 2 mL FRAP reaktifi ile karıştırılıp karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 593 nm'de absorbansları köre karşı ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi Troloks standardı için hazırlanmış (Şekil 3.9) ve sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/100 g polisakkarit şeklinde verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y=5,4437x+0,0134$  ve  $R^2=0,992$  dir. ( $y=593$  nm'de absorbans değeri,  $x$ =Troloks konsantrasyonu (mg/mL)).

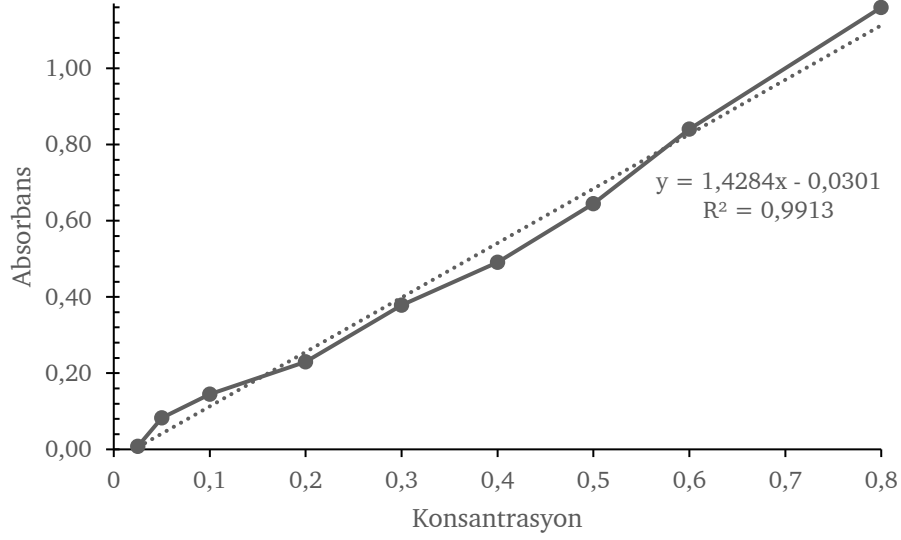


**Şekil 3. 9** FRAP yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi

#### 3.2.2.4 CUPRAC Tayini

CUPRAC tayini Apak ve ark., (2004) tarafından hazırlanan yöntemle gerçekleştirilmiştir. 7.5 mM neokuprin, 1 mL CuCl<sub>2</sub>, 1 M amonyum asetat tampon (pH 7.0) çözeltileri bir test tüpüne alınmıştır. Üzerine 0,1 mL ekstrakt ve 1 mL saf su eklenmiştir. Karanlıkta 1 saat inkübe edildikten sonra 450 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

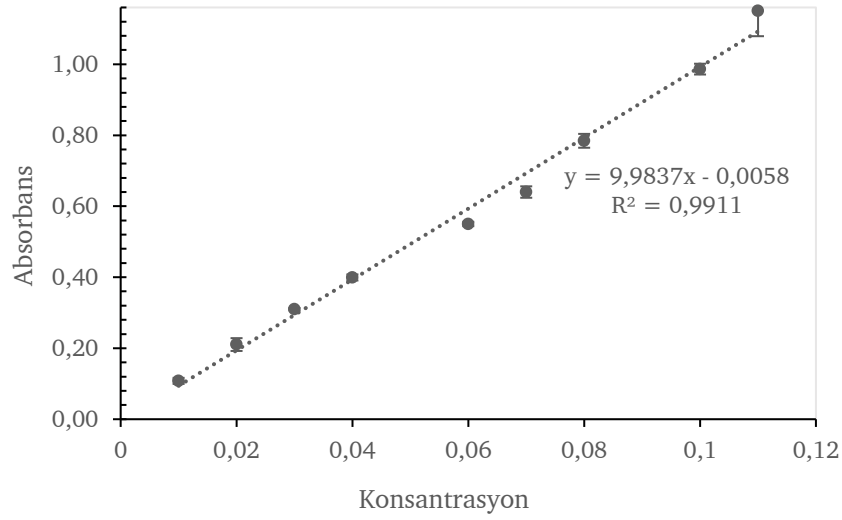
Kalibrasyon eğrisi Troloks standardı için hazırlanmış (Şekil 3.10) ve sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/100 g polisakkarit şeklinde verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y=1,4284x-0,0301$  ve  $R^2=0,9913$  dir. ( $y=450$  nm'de absorbans değeri,  $x$ =Troloks konsantrasyonu (mg/mL)).



**Şekil 3. 10** CUPRAC yöntemi için hazırlanan standart Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi

### 3.2.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu (FC) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Yöntem Singleton ve Rossi (1965)'ye göre gerçekleştirilmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). %7,5'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hazırlanmıştır. 0,5 mL ekstrakt, 2,5 mL folin (FC) reaktifi ve 2 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  reaksiyon tüpüne alınmıştır. Karışım karanlıkta oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 760 nm'de ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi Gallik Asit standardı için hazırlanmış (Şekil 3.11) ve sonuçlar mg gallik asit/100 g polisakkarit şeklinde verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y = 9,9837x - 0,0058$  ve  $R^2=0,9911$  dir. ( $y=760$  nm'de absorbans değeri,  $x =$  gallik asit konsantrasyonu (mg/mL)).



**Şekil 3. 11** Toplam fenolik tayini için hazırlanan standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

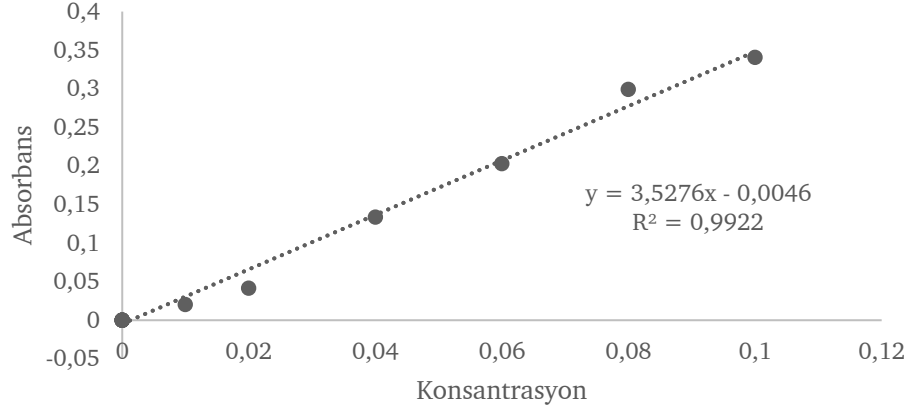
### 3.2.4 Diğer Biyoaktif Bileşikler

#### 3.2.4.1 Protein Tayini

Yöntem Bradford (1976)'a göre gerçekleştirilmiştir. Reaktifin (blue reagent) hazırlanması: 100 mg Coomassie Blue G250'yi 50 mL %95 etanol içinde çözülmüştür. Çözelti daha sonra 100 mL %85 fosforik asit ile karıştırılıp distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Amber şişede, oda sıcaklığında saklanmıştır.

Protein standardı: distile su içinde 1 mg/mL (mikro tahlil için 100 µg/mL) konsantrasyonunda sığır γ-globulini stok solüsyon olarak kullanılır. Bu, -20°C'de küçük parçalar halinde donmuş halde saklanmalıdır.

Her mikrofüj tüpüne 100 µL ekstrakt ve 1 mL blue reagent eklenip ve nazikçe ama iyice karıştırılmıştır. Protein reaktifi eklendikten sonra 5 ila 60 dakika arasında, spektrofotometrede 595 nm'de her numunenin absorbansı ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi microassay yöntemi standardı için hazırlanmış (Şekil 3.12) ve sonuçlar g/100 g olarak verilmiştir. Standart eğrinin denklemi  $y = 3,7636x - 0,0215$  ve  $R^2=0,9911$  dir. (y=595 nm'de absorbans değeri, x = protein konsantrasyonu (mg/mL)).

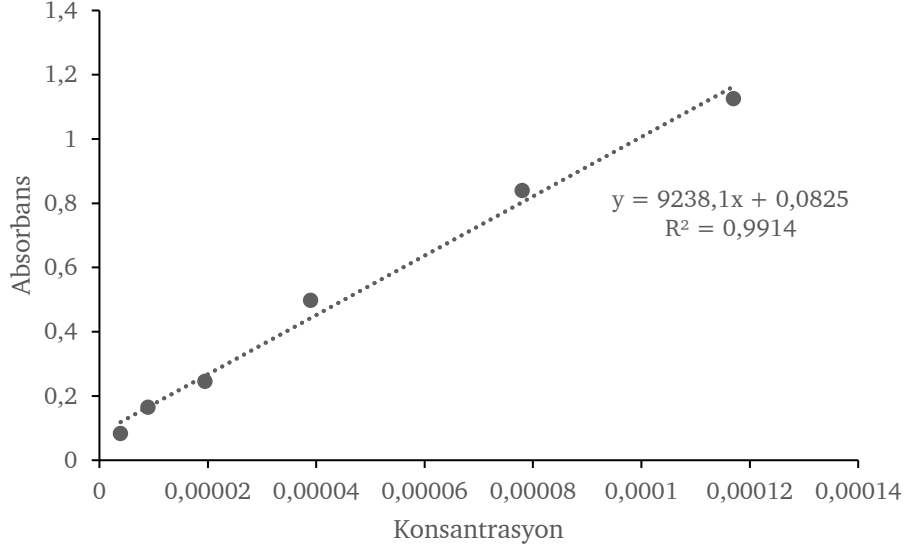


**Şekil 3. 12** Protein tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi

#### 3.2.4.2 Karbonhidrat Tayini

Elde edilen ekstraktların karbonhidrat tayini Fenol-Sülfürik asit yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Yöntem Albalasmeh ve arkadaşlarına (2013) göre gerçekleştirilmiştir. Bu sulu çözeltilerdeki karbonhidrat konsantrasyonunun belirlenmesi için bugüne kadar en yaygın olarak kullanılan kolorimetrik yöntemdir. Standart eğri, standart glikoz çözeltisi kullanılarak oluşturulmuştur. Bu yöntemin temel prensibi, karbonhidratların konsantre sülfürik asit ile reaksiyona girerek kurutulduklarında furfural türevleri üretmesidir. Furfural türevleri ve fenol arasındaki daha fazla reaksiyon, saptanabilir bir renk geliştirir (Albalasmeh vd., 2013).

250 µL ekstrakt deney tüpüne alınıp üzerine 750 µm sülfirik asit eklenmiştir. Karışım vorteks cihazında iyice karıştırıldıktan sonra üzerine 150 µm fenol çözeltisi eklenmiştir. 90 °C'lik sıcak su banyosunda 5 dakika bekletilen tüpler sonrasında buzlu su içine alınıp 5 dakika da burada bekletilip soğuması sağlanmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede, 490 nm'de ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi çizilip sonuçlar g/100 g olarak verilmiştir (Şekil 3.13).

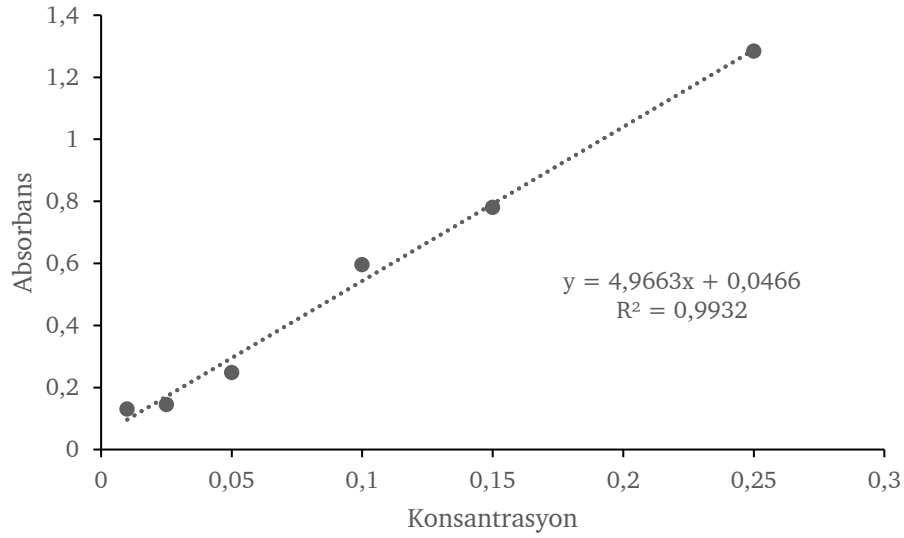


**Şekil 3.13** Karbonhidrat tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi

### 3.2.4.3 Üronik Asit Tayini

Yöntem Jafari ve arkadaşlarına (2017) göre gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların üronik asit içeriği, meta-hidroksidifenil reaktifi ile spektrofotometri yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. D-galakturonik asit standart olarak alınmıştır.

503 mg sodyum tetraborat, 200 mL sülfirik asit ile muamele edilip sodyum teraborat-sülfirik asit çözeltisi hazırlanmıştır. 0,2 mL (200 µL) ekstrakt deney tüpüne alınıp üzerine 1,2 mL sodyum teraborat – sülfirik asit çözeltisi eklenmiştir. Sülfirik asit, karışımda sıcaklık artışına sebep olduğu için hemen buzlu suya alınıp soğutulmuştur. Soğutulan tüpler bir vorteks karıştırıcı ile karıştırılmış, ardından 5 dakika boyunca sıcak su banyosuna alınmıştır. Daha sonra ikinci kez buzlu su banyosunda soğutulmuştur. Örnek bulunan tüplere 20 µL metahidroksi çözeltisi, referans tüplere ise NaOH eklenip vorteks cihazında iyice karıştırılmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede, 520 nm'de 5 dakika içerisinde ölçülmüştür. Standart eğri, farklı konsantrasyonlardaki standart d-galakturonik asit çözeltilerinden elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisi çizilip sonuçlar g/100 g olarak verilmiştir (Şekil 3.14).



**Şekil 3. 14** Üronik asit tayini için hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi

### 3.2.5 FTIR

FTIR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometre), bilinmeyen bir bitki ekstraktında bulunan bileşiklerin veya fonksiyonel grupların (kimyasal bağlar) karakterizasyonunda ve tanımlanmasında değerli bir araç olduğunu kanıtlamıştır. Saf bileşiklerin FTIR spektrumları bileşiklerin kendine özgüdür ve o bileşiğin moleküler parmak izi gibidirler. Bu spektrumlar bir kütüphaneye kaydedilerek bilinmeyen bileşiklerin spektrumları bu kütüphane ile karşılaştırılarak tanımlanabilir. FTIR için numuneler çeşitli şekillerde hazırlanabilir (Sasidharan vd., 2011). Polisakkaritlerdeki ana fonksiyonel grupları ayırt etmek için FTIR kullanılmıştır. Toz haldeki her bir polisakkarit örneği 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  frekans aralığında 2 defa analiz edilmiştir.

### 3.2.6 $\alpha$ -glukozidaz Aktivitesi Tayini

Analiz için gerekli kimyasallar:

- Substrat: 4-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-Glucopyranoside substrat
- Enzim:  $\alpha$ -Glucosidase
- Tampon hazırlama: 20 mM pH:6.9 Sodyum Fosfat
- Gıdadan gelen örnekler 10 mg/mL olacak şekilde tamponda çözülür.
- İnhibitör: 0.1 M  $\text{Na}_2 \text{CO}_3$  hazırlanır.

- Substrat (-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-Glucopyranoside) hazırlama: 3 mM olacak şekilde tamponda çözülür. Analiz anında günlük taze olarak hazırlanır.
- Enzim çözeltisi alikotlar şeklinde hazırlanır, -18 °C de muhafaza edilir ve analiz sırasında buz içinde muhafaza edilir.

Analiz için izlenecek adımlar:

- Analiz öncelikle acarbose ile gerçekleştirilip bir acarbose standardı oluşturulur. Örneklerle yapılan analiz sonucu elde edilen veriler bu acarbose standardına göre kıyaslanır.
- Öncelikle bir tüpe enzim diğer tüpe blank (tampon) konup enzimin aktivitesi ölçülür.
- 50  $\mu$ L örnek/acarbose/tampon + 75  $\mu$ L enzim konur. Tüpler 37 °C su banyosunda 5 dakika inkübasyona bırakılır. Sonrasında tüpler alınıp içerisine 75  $\mu$ L substrat eklenir ve 20 dakika inkübasyona bırakılır.
- 2 mL 0.1 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> inhibitörü eklenip reaksiyon durdurulur. 405 nm'de OD<sub>405</sub> değeri okunur.
- Enzim aktivitesi ölçüldükten sonra örneklerin analizine geçilir. Antioksidan aktivitesi sonuçlarına göre en iyi sonucu gösteren 3 örnek (şeker pancarı, ebegümece, hardal) üzerinden analiz gerçekleştirilmiştir.
- Örnekler farklı konsantrasyonlarda hazırlanır.

İnhibisyon yüzdesi ise (3.2)'de verilen denkleme göre hesaplanır (Wu ve ark., 2020).

$\alpha$ -glukozidaz inhibisyon aktivitesi (%) =

$$\frac{[(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{blank-control}}) - (Abs_{\text{sample}} - Abs_{\text{sample-control}})] \times 100}{(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{blank-control}})} \quad (3.2)$$

### 3.2.7 $\alpha$ -amilaz Aktivitesi Tayini

Analiz için gerekli kimyasallar:

- Tampon: 6.7 mM NaCl içeren 100 mL 20 mM sodyum fosfat tamponu hazırlanır. (pH 6.9)

- Çözünür Nişasta Çözeltisi (Substrat) : Çözülebilir patates nişastası sodyum fosfat tamponunda çözülerek %1.0 (w/v) oranında substrat hazırlanır. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra nişasta çözeltisine 5 mL saf su eklenerek uygun hacme (25 mL) tamamlanır.
- Sodyum Potasyum Tartrat Çözeltisi: 2 M NaOH içinde 5,3 M sodyum potasyum tartarat çözeltisi hazırlanır.
- DNS (3,5-dinitrosalisilik asit 96 mM 3,5 dinitrosalisilik asit (MW: 228,12 g/mol) solüsyonu hazırlanır.
- Renk Reaktif Solüsyonu: 10 mL 5.3 M sodyum potasyum tartarat solüsyonu ile 20 mL 96 mM 3,5-dinitrosalisilik asit solüsyonu karıştırılır.
- Maltoz Standardı: 10 mL %0,2 w/v maltoz standardı hazırlanır.
- Enzim (pankreatik amilaz): Kullanmadan hemen önce, saf su içinde hazırlanır.

Analiz için izlenecek adımlar:

- Acarbose standardı: Analiz öncelikle acarbose ile gerçekleştirilip bir acarbose standardı oluşturulur. 20 µL acarbose/örnek + 80 µL enzim + 100 µL substrat eklenip 25 °C 3 dk inkübe edilir. Blank tüpüne acarbose yerine tampon konur. 3 dk ısıtıldıktan sonra tüplere DNS çözeltisi eklenir ve 10 dk kaynatılır. Kaynadıktan sonra soğutulur ve 900 µL saf su eklenir. 540 nm'de OD<sub>540</sub> değeri okunur.

İnhibisyon yüzdesi ise (3.3)'de verilen denkleme göre hesaplanır (Wu ve ark., 2020).

$\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesi (%) =

$$\frac{[(Abs_{control} - Abs_{blank-control}) - (Abs_{sample} - Abs_{sample-control})] \times 100}{(Abs_{control} - Abs_{blank-control})}$$

$$(Abs_{control} - Abs_{blank-control})$$

(3.3)

### 3.3 İstatistiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında tüm örneklerin ölçümleri 3 paralelli olarak yapılmıştır. Analizler sonucu elde edilen datalar SPSS programı (IBM SPSS Statistics 25.0, USA) aracılığıyla değerlendirilmiştir. Sıcak su ve alkali çözelti ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin kendi içindeki özellik farkları Student's t-testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar ise tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiş ve kıyaslamalar için %95 güven aralığında Tukey post hoc testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



#### 4.1 FTIR Sonuçları

Polisakkaritlerin fonksiyonel grupları üzerinden yapılan karakterizasyon tespitinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FTIR)'dir. Spektroskopi, bir örnekte gelişen kimyasal değişimler sırasında yayılan veya absorplanan elektromanyetik ışınımın ölçülmesi prensibine göre çalışır. Ölçüm verileri, bileşenlerin gösterdikleri dönme, titreşim ve enerji değişimleri sonucu oluşmaktadır (Yılmaz, 2015).

FTIR, bilinmeyen bitki ekstraktlarının karakterizasyonunda ve tanımlanmasında değerli bir araç olduğunu kanıtlamıştır. Saf bileşiklerin FTIR spektrumları kendilerine özeldir, benzersizdir ve bileşiklerin moleküler parmak izi gibidirler. Bileşiği bilinmeyen bir bitkinin spektrumu, spektrumu bilinen bileşiklerden oluşan bir kütüphane ile karşılaştırılarak tanımlanabilir. FTIR için numuneler çeşitli şekillerde hazırlanabilir (Sasidharan vd., 2011). Polisakkaritlerdeki ana fonksiyonel grupları ayırt etmek için FTIR kullanılmıştır. Toz haldeki her bir polisakkarit örneği 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  frekans aralığında 2 defa analiz edilmiştir.

Analiz sonucu elde edilen FTIR spektrumları Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7'de gösterilmiştir.

Spektrumlarda görülen 3600–3200  $\text{cm}^{-1}$ , 3000–2800  $\text{cm}^{-1}$ , 1400–1200  $\text{cm}^{-1}$  ve 1200–1000  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki absorpsiyon bantları, polisakkaritlerin karakteristik absorpsiyon pikleridir (Wang vd., 2012).

İki farklı ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin yaklaşık polisakkaritlerin karakteristik absorpsiyonlarını açıkça gösterdiği görülmektedir. Ekstraksiyon yöntemleri arasında büyük bir fark gözlenmeyip, aynı yapraktan farklı yöntemlerle elde edilen polisakkaritlerin benzer fonksiyonel gruplara ait pikler verdikleri spektrumlarda görülmektedir.

Polisakkaritler, polisakkaritlerin karakteristik zirvesi olan  $3500\text{ cm}^{-1}$  ve  $3000\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda genellikle geniş ve geniş bir germe titreşimi absorpsiyon zirvesine sahip olan büyük miktarda -OH içerirler (Huang ve Huang, 2020).

Polisakkaritlere ait spektrumda  $3359\text{ cm}^{-1}$  ve  $3270\text{ cm}^{-1}$  arasında kalan geniş ölçüde yoğun tepe noktası, O-H'nin germe titreşimlerini temsil etmektedir. Beyaz lahana (Şekil 4.6) ve kale (Şekil 4.4) polisakkarit spektrumlarında görülen  $2931\text{ cm}^{-1}$  ve  $2926\text{ cm}^{-1}$ 'de bulunan zayıf bantlar, C-H gerilme ve bükülme titreşimleriyle ilişkilendirilmiştir (Karadağ vd., 2019). Spektrumlar görülen  $2349\text{ cm}^{-1}$  ve  $2361\text{ cm}^{-1}$  arasını içine alan bölgenin, metil (CH<sub>3</sub>) ve metilen (CH<sub>2</sub>) fonksiyonel gruplarındaki simetrik ve asimetrik C-H germe bağlarıyla ilgili bantlar olduğu görülebilir (Pop vd., 2013).

Karalahana (Şekil 4.1) polisakkaritine ait spektrumda  $1707,66\text{ cm}^{-1}$ 'deki bölge karboksilik ürünlerin C-O germe titreşimini temsil eder (Wang vd., 2012).

Spektrumlarda görülen  $1633,06\text{ cm}^{-1}$ ,  $1608\text{ cm}^{-1}$ ,  $1606\text{ cm}^{-1}$  ve  $1601\text{ cm}^{-1}$ 'deki tepe noktalarının C = O asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Chen vd., 2020).  $1400\text{ cm}^{-1}$  ve  $1430\text{ cm}^{-1}$  arasını içine alan bölge simetrik bir C-O germe titreşiminden kaynaklanır. Karboksil gruplarının (COO-) absorpsiyon tepe noktaları, üronik asidin varlığını kanıttır (Sun vd., 2018).  $1599\text{ cm}^{-1}$  ve  $1537\text{ cm}^{-1}$  aralığında görülen bantlar bir amin grubunun N-H deformasyon titreşimini temsil etmektedir (Chen vd., 2020).

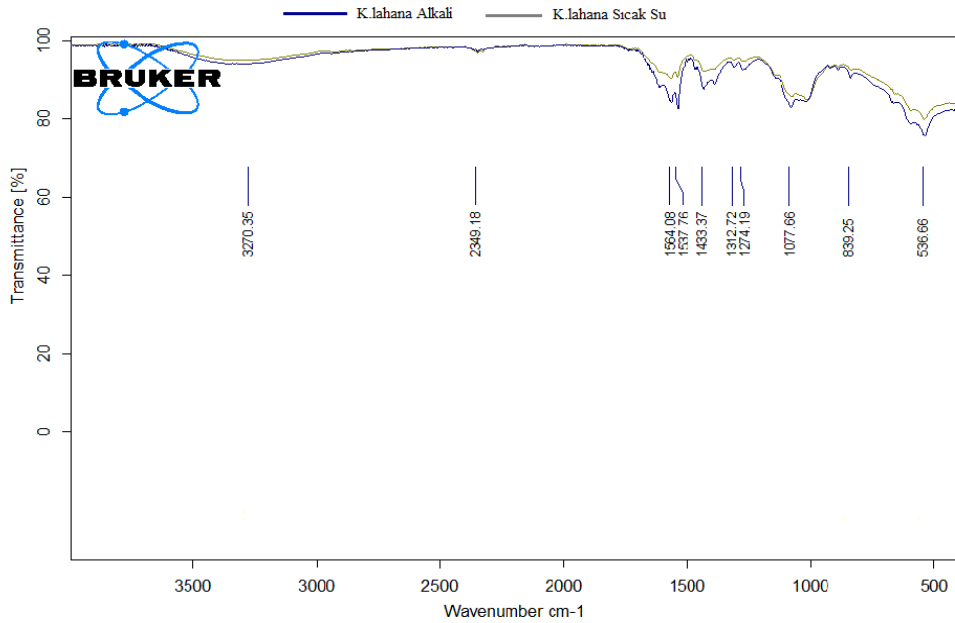
Beyaz lahana (Şekil 4.6) polisakkaritine ait  $1369\text{ cm}^{-1}$ 'deki bant C-OH deformasyon titreşimi ile ilişkilendirilmektedir.  $1300\text{ cm}^{-1}$  ve  $1000\text{ cm}^{-1}$  arasını içine alan bölüme ait pikler genellikle flavonoidler ve fenolik asitlerdeki fonksiyonel gruplarla ilişkilidir ve bu gruplardan kaynaklanan C - O germe ve C-OH bükülmesini temsil eder. Karalahana (Şekil 4.1) polisakkaritine ait  $1274\text{ cm}^{-1}$  ve hardal (Şekil 4.7) polisakkaritine ait  $1271\text{ cm}^{-1}$  spektrumları S = O sülfat gruplarının varlığını gösterir. Ebegümecine (Şekil 4.3) ait  $1247\text{ cm}^{-1}$  civarındaki absorpsiyon zirvesi, S-O asimetrik germe titreşimine karşılık gelmektedir. Spektrumlarda görülen  $1243\text{ cm}^{-1}$ 'e ve  $1240\text{ cm}^{-1}$  bantlarına ait pikler C-O-C simetrik olmayan gerilme titreşiminin bulunduğu bölgedir (Chen vd., 2020).

1400  $\text{cm}^{-1}$  ve 1200  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki tepe noktaları aynı zamanda C-H bantlarının karakteristik absorpsiyonlarına aittir. Şeker pancarına (Şekil 4.2) ait spektrumda 1014,06  $\text{cm}^{-1}$  ve 1143,71  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki geniş bant C-O-H yan gruplarının ve C-O-C glikozidik bant titreşiminin varlığına atfedildi ve piran glikozitlerin karakteristik absorpsiyon bantlarını temsil ettiği literatür çalışmalarınca gösterildi (Karadağ vd., 2019).

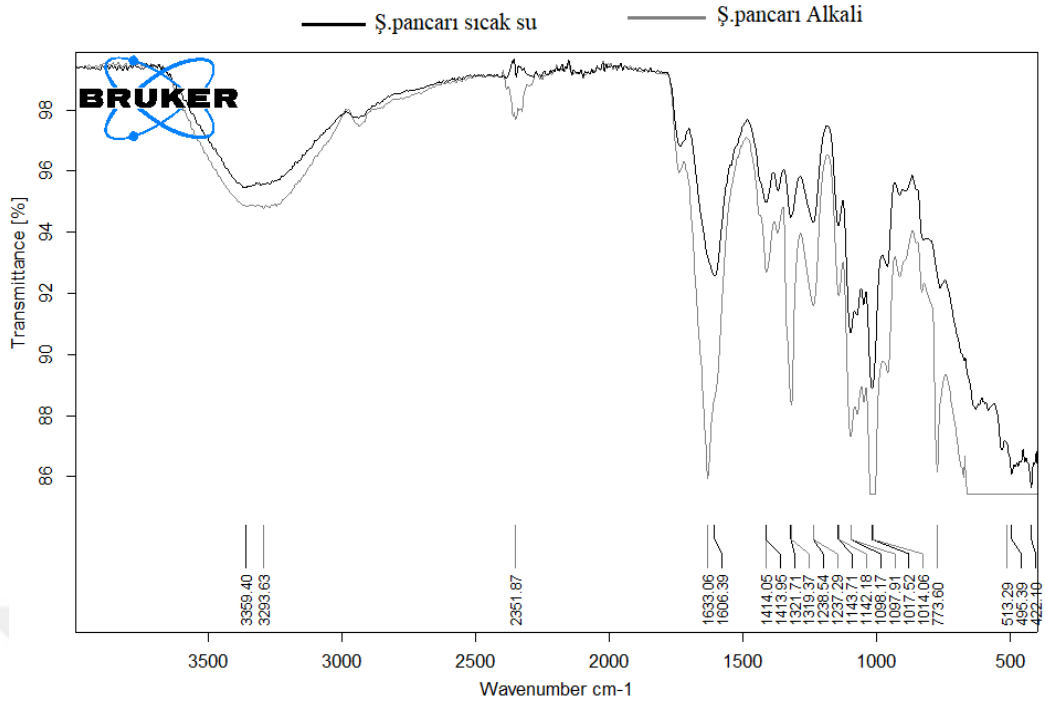
1098  $\text{cm}^{-1}$  ve 1010  $\text{cm}^{-1}$  arasını içine alan bölgedeki tepe noktaları C-O-H ve C-O-C gerilme titreşimleriyle bağlantılıdır (Chen vd., 2020). 1200  $\text{cm}^{-1}$  - 800  $\text{cm}^{-1}$  her polisakarit için tipiktir; bu bölgeye (C-OH) yan gruplarının gerilme titreşimleri ve (C-O-C) glikozidik bant titreşimi ile örtüşen halka titreşimleri hakimdir (Pop vd., 2013).

673  $\text{cm}^{-1}$ , 660  $\text{cm}^{-1}$  ve 601  $\text{cm}^{-1}$  noktalarına ait piklerin alkil-halojenürlerin gerilmesiyle ilgili olduğu bildirilmiştir (Kavita vd., 2014).

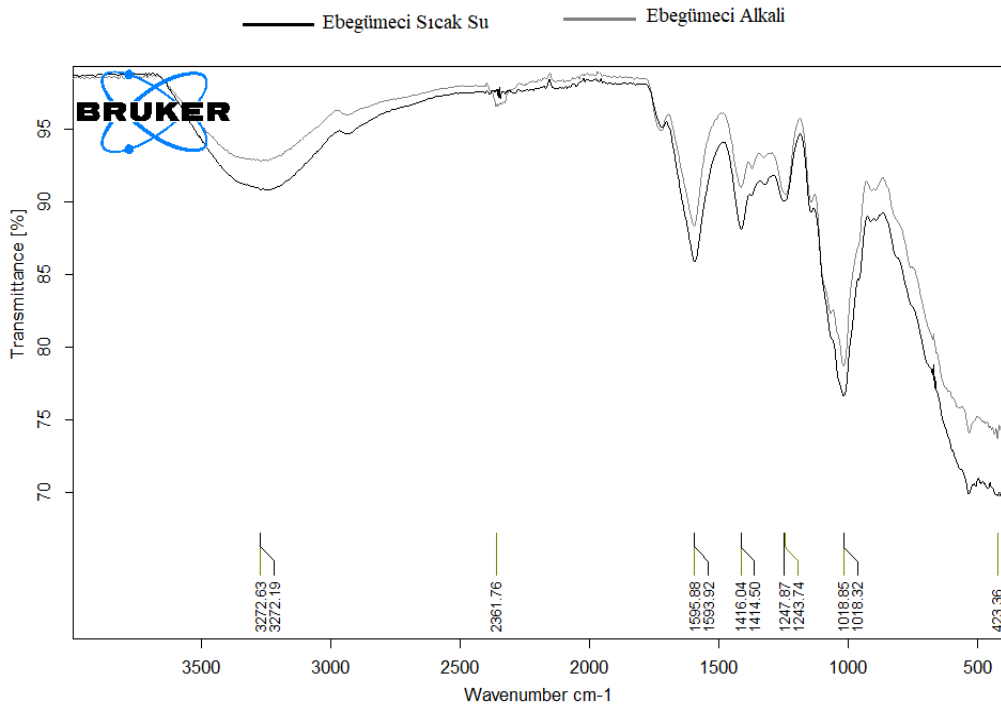
500  $\text{cm}^{-1}$  ve 540  $\text{cm}^{-1}$  arası polisakkaritlerde fosfat ester bağının karakteristik absorpsiyon zirvesidir ve bu absorpsiyon zirvesi beyaz lahanaya polisakkaritleri hariç tüm diğer polisakkaritlerde görülmüştür. (Huang ve Huang, 2020).



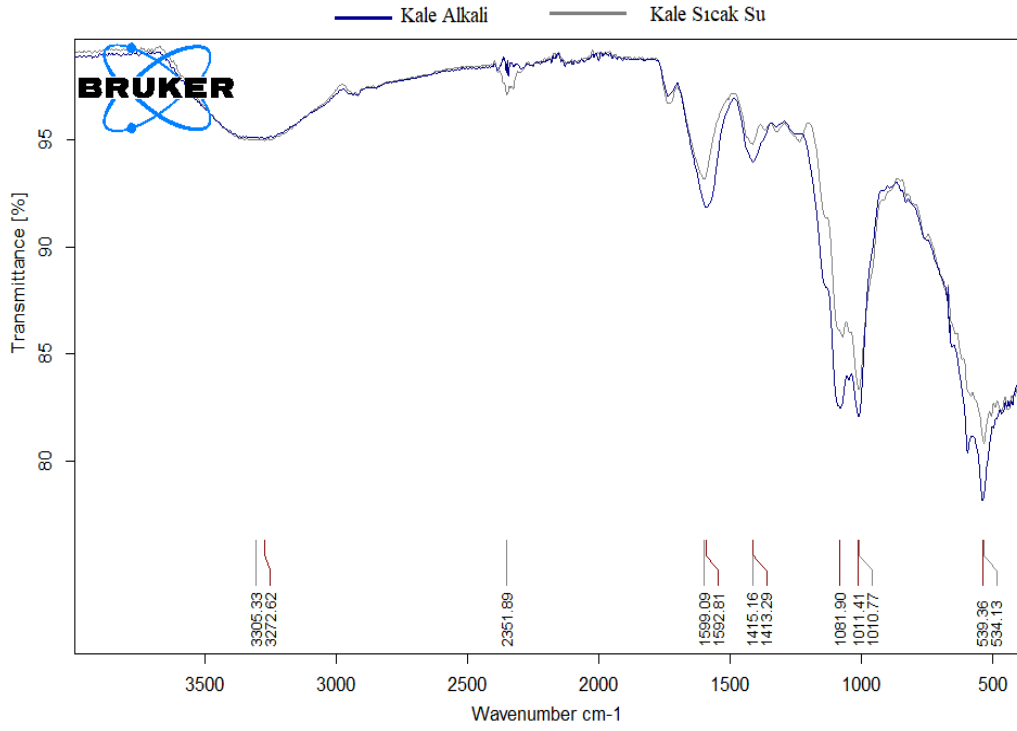
**Şekil 4. 1** Karalahana yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları



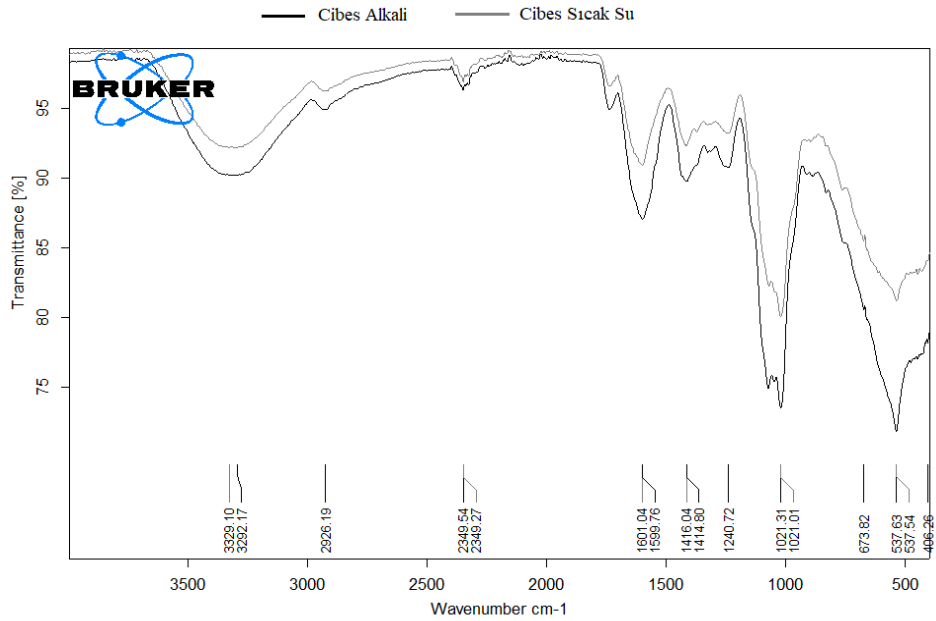
Şekil 4. 2 Şeker pancarı yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları



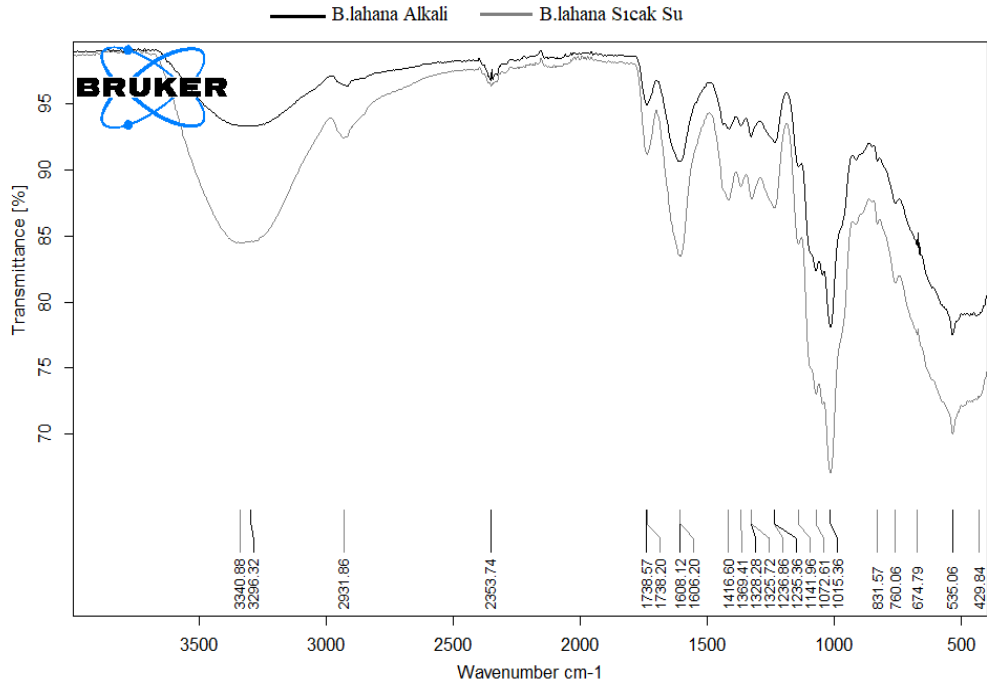
Şekil 4. 3 Ebegümeci yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları



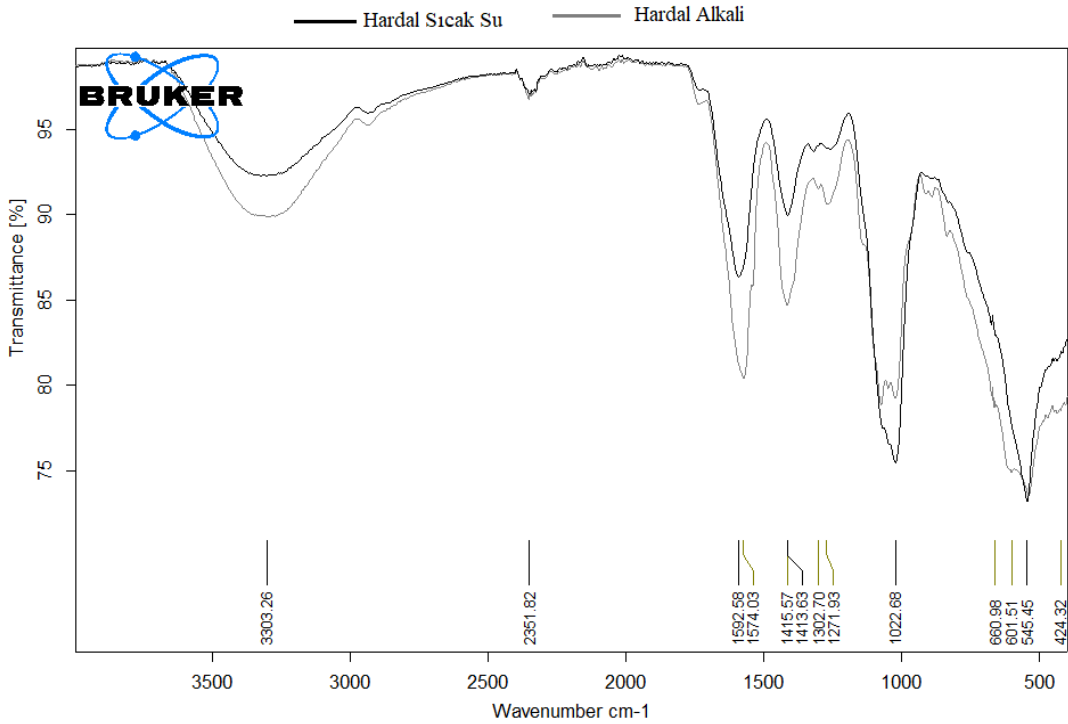
Şekil 4. 4 Kale yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumlar



Şekil 4. 5 Cibes yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları



Şekil 4. 6 Beyaz lahana yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları



Şekil 4. 7 Hardal yaprağından sıcak su ve alkali ekstraksiyonla elde edilen polisakkaritlerin FTIR ile belirlenen spektrumları

## 4.2 Polisakkarit Verimi

Yapraklardan iki farklı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen polisakkaritlerin % verimleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek ekstraksiyon veriminin %8,26 ile KE ile elde edilen ebegümeçi polisakkaritine ait olduğu tespit edilmiştir. AE yöntemine ait ebegümeçi verimi %6,18 bulunmuştur. Ebegümeçinden KE ile elde edilen polisakkarit verimi alkali ekstraksiyona göre daha yüksektir. Ebegümeçi için AE ile verimin düştüğü söylenebilir.

**Tablo 4. 1** Ekstraksiyonlar sonucu elde edilen polisakkarit verimleri

Örnek	KE verim (%)	AE verim (%)
Hardal	3,87	4,90
Cibes	4,26	6,66
K.lahana	5,29	5,11
B.lahana	3,84	4,35
Kale	4,92	4,42
Ebegümeçi	8,26	6,18
Ş.pancarı	4,90	4,41

Ebegümeçini sırası ile %6,66 (AE) cibes, %6,18 (AE) ebegümeçi, %5,29 (KE) karalahana, %5,11 (AE) karalahana izlemiştir. En düşük ekstraksiyon verimi ise %3,4 ile sıcak su ekstraksiyonu sonucu elde edilen beyaz lahanaya ait polisakkaritte görülmüştür. Hardal, cibes ve beyaz lahanada alkali ekstraksiyon ile polisakkariti verimi artarken; karalahana, kale, ebegümeçi ve şeker pancarında alkali ekstraksiyon ile verim azalmıştır.

Samavati ve Manoochehrizade (2013) *Malva sylvestris* ile ilgili yaptıkları çalışmada alkali ekstraksiyon ile polisakkarit elde edip ekstraksiyon verimini %8,377 olarak bulmuşlardır ve bu değer bizim çalışmamızdaki değere oldukça yakındır.

Chen ve arkadaşları (2020), yaptıkları çalışmada zencefil sapları ve yapraklarından 4 farklı ekstraksiyon yöntemiyle polisakkarit (GSLP) elde edip verim, kimyasal bileşim, yapı özellikleri, hipoglisemik ve antioksidan aktivite özelliklerini karşılaştırmışlardır. GSLP'yi elde etmek için sıcak su ekstraksiyonu (HWE), ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), alkali solüsyon ekstraksiyonu (ASE) ve enzim destekli ekstraksiyon (EAE) dahil olmak üzere dört ekstraksiyon yöntemi kullanılmışlar. Elde edilen veriler sonucu en yüksek ekstraksiyon verimini %11,38 ile alkali solüsyon ekstraksiyonunun gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada HWE verimi %6,38, UAE verimi %8,29, EAE verimi ise %8,13 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada zeytin yaprağından sıcak su yöntemi ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkarit verimi %7,20 olarak tespit edilmiştir (Khemakhem vd., 2017). Yeşil çaydan ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen polisakkarit verimi %4,65 olarak bulunmuştur. Ultrason desteği olmadan aynı şartlar altında veriminin %1,83 düzeylerine düştüğü belirtilmiştir (Karadağ vd., 2019).

*Leonurus cardiaca* L. yaprağından alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkarit verimi %9,17 olarak tespit edilmiştir (Tahmouzi ve Ghodsi, 2014).

Kırmızı ve kahverengi alglerden polisakkarit elde edilen bir çalışmada polisakkarit ekstraksiyonu için soğuk ve sıcak su kullanılmış. Kırmızı alglerin polisakkarit verimi soğuk su için %2,87, sıcak su için %6,46 bulunurken kahverengi alglerin polisakkarit verimi soğuk su için %2,14, sıcak su için %3,89 olarak bulunmuştur (Abou Zeid vd., 2014).

Önceki araştırmalar, sıcaklığın artırılmasıyla bitki dokusunun yapısının şişmeye ve parçalanmaya devam edebileceğini, dolayısıyla numunenin ıslanmasına birlikte çözücülerin penetrasyonunu iyileştirdiğini göstermiştir. Bitki matrisi ve çevreleyen ortam arasındaki kütle transferindeki artış, polisakkaritlerin difüzyonunu ve ekstraksiyon verimini artıracaktır (Ying vd., 2011).

Çalışmamız ve literatürde geçen çalışmalar göz önüne alındığında ekstraksiyon verimini bitki çeşidi, ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon koşulları gibi birçok faktörün etkilediği söylenebilir.

### 4.3 Antioksidan Aktiviteleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarı

Yenilebilir yapraklardan sıcak su ve alkali çözelti ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritler DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC ve toplam fenolik madde miktarı (TFFM) analizlerine tabi tutulmuştur. KE ve AE ile elde edilen polisakkaritlere ait analiz sonuçlarına ait veriler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2'deki sonuçlara bakıldığında KE ile elde edilen yaprak polisakkaritlerinin farklı radikallere karşı antioksidan aktivitelerinin değişkenlik gösterdiği görülmektedir. DPPH yöntemine göre en yüksek aktiviteye sahip polisakkaritin 413,05±5,66 mg TE/g ile hardal olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla cibes (298,54±15,86 mg TE/ g), karalahana (296,94±4,53 mg TE/g), beyaz lahana (284,92±5,66 mg TE/g) ve kale (249,68±7,92 mg TE/g) izlemektedir.

ABTS yöntemine göre ebegümece (35,61±0,40 mg TE/ g), FRAP yöntemine göre beyaz lahana (15,08±0,13 mg TE/ g), CUPRAC yöntemine göre ise kale (78,83±3,47 mg TE/g) en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Hardal DPPH yönteminde en yüksek aktiviteyi gösterirken CUPRAC yönteminde en düşük aktiviteyi göstermiştir. Beyaz lahana FRAP yönteminde en yüksek aktiviteyi gösterirken ABTS yönteminde en düşük aktiviteyi göstermiştir. Aynı şekilde kale CUPRAC yönteminde en yüksek aktiviteyi gösterirken FRAP yönteminde en düşük aktiviteyi göstermiştir. Tüm antioksidan aktivite analiz yöntemleri arasından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. KE ile elde edilen polisakkaritlerin toplam fenolik madde miktarı sonuçlarına bakacak olursak KE ile elde edilen polisakkaritlerden toplam fenolik madde açısından en yüksek miktarın ebegümece (8,93±0,25 mg GAE/ g) bulunduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla şeker pancarı (7,19±0,14 mg GAE/g), kale (6,09±0,00 mg GAE/g), karalahana (5,19±0,00 mg GAE/g) ve hardal (3,84±0,35 mg GAE/g) takip etmektedir.

**Tablo 4. 2** Yapraklardan sıcak su (KE) ve alkali ekstraksiyon (AE) ile elde edilen polisakkaritlerin toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktiviteleri

Örnek	DPPH (mg TE/ g <sup>1</sup> )		ABTS (mg TE/ g <sup>1</sup> )		FRAP (mg TE/ g <sup>1</sup> )		CUPRAC (mg TE/ g <sup>1</sup> )		TFMM (mg GAE/ g <sup>1</sup> )	
	AE	KE	AE	KE	AE	KE	AE	KE	AE	KE
<b>Hardal</b>	378,62±11,33 <sup>aX</sup>	413,05±5,66 <sup>aY</sup>	12,63±0,10 <sup>eX</sup>	12,20±0,40 <sup>eX</sup>	6,58±0,26 <sup>bX</sup>	13,52±0,52 <sup>bY</sup>	30,14±1,49 <sup>deX</sup>	48,38±3,96 <sup>cY</sup>	3,15±0,07 <sup>cX</sup>	3,84±0,35 <sup>eY</sup>
<b>Cibes</b>	305,75±3,40 <sup>bX</sup>	298,54±15,86 <sup>bX</sup>	16,08±0,20 <sup>cX</sup>	10,37±0,20 <sup>eY</sup>	2,63±0,13 <sup>dX</sup>	3,78±0,52 <sup>eY</sup>	41,51±1,73 <sup>bX</sup>	63,78±5,94 <sup>bY</sup>	4,37±0,04 <sup>bcX</sup>	2,83±0,35 <sup>fY</sup>
<b>K.lahana</b>	221,66±9,06 <sup>eX</sup>	296,94±4,53 <sup>bY</sup>	18,11±0,30 <sup>bX</sup>	17,54±2,38 <sup>dX</sup>	0,79±0,26 <sup>eX</sup>	4,79±0,39 <sup>dY</sup>	25,76±0,74 <sup>eX</sup>	62,73±4,46 <sup>bY</sup>	3,07±3,16 <sup>cX</sup>	5,19±0,00 <sup>dX</sup>
<b>B.lahana</b>	273,71±5,66 <sup>cX</sup>	284,92±5,66 <sup>bY</sup>	13,05±0,30 <sup>eX</sup>	6,58±0,40 <sup>fY</sup>	3,18±0,39 <sup>dX</sup>	15,08±0,13 <sup>aY</sup>	55,87±3,71 <sup>aX</sup>	51,88±0,99 <sup>cX</sup>	5,17±0,04 <sup>abcX</sup>	2,93±0,21 <sup>fY</sup>
<b>Kale</b>	43,88±,27 <sup>fX</sup>	249,68±7,92 <sup>cY</sup>	14,73±1,19 <sup>dX</sup>	20,35±0,40 <sup>cY</sup>	7,09±0,78 <sup>bX</sup>	1,21±0,56 <sup>fY</sup>	55,73±4,46 <sup>aX</sup>	78,83±3,47 <sup>aY</sup>	4,99±0,00 <sup>abcX</sup>	6,09±0,00 <sup>cY</sup>
<b>Ebegümeçi</b>	239,28±6,80 <sup>dX</sup>	49,48±5,66 <sup>dY</sup>	27,04±0,60 <sup>aX</sup>	35,61±0,40 <sup>aY</sup>	12,32±0,97 <sup>aX</sup>	9,56±0,45 <sup>cY</sup>	50,44±3,47 <sup>aX</sup>	50,44±3,47 <sup>cX</sup>	7,15±0,35 <sup>aX</sup>	8,93±0,25 <sup>aY</sup>
<b>Ş.pancarı</b>	246,49±5,66 <sup>dX</sup>	31,87±3,40 <sup>eY</sup>	18,67±1,09 <sup>bX</sup>	24,70±0,60 <sup>bY</sup>	5,06±0,45 <sup>cX</sup>	3,97±0,78 <sup>deY</sup>	31,36±2,23 <sup>dX</sup>	54,68±2,97 <sup>cY</sup>	6,63±0,04 <sup>abX</sup>	7,19±0,14 <sup>bY</sup>

<sup>1</sup>g ekstrakt (suda çözünür polisakkarit) üzerinden hesaplanan değerdir.

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda belirtilen farklı harfler (a-f)  $p \leq 0.05$  seviyesinde örnekler arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir. Aynı satırda belirtilen farklı harfler (X-Y) ise aynı örnek için ekstraksiyon yöntemi arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir ( $p < 0.05$ )

Sonuçlara bakıldığında alkali çözelti ekstraksiyonu ile elde edilen yaprak polisakkaritlerinin farklı yöntemlere karşı antioksidan aktivitelerinin değişkenlik gösterdiği görülmektedir. DPPH yöntemine göre en yüksek aktiviteye sahip polisakkaritin yine hardal ( $378,62 \pm 11,33$  mg TE/g) olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla cibes ( $305,75 \pm 3,40$  mg TE/g), beyaz lahana ( $273,71 \pm 5,66$  mg TE/g), şeker pancarı ( $246,49 \pm 5,66$  mg TE/g) ve ebegümece ( $239,28 \pm 6,80$  mg TE/g) takip etmektedir. ABTS ve FRAP yöntemine göre ebegümece ( $27,04 \pm 0,60$  mg TE/g,  $12,32 \pm 0,97$  mg TE/g), CUPRAC yöntemine göre ise beyaz lahana ( $55,87 \pm 3,71$  mg TE/g) en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Tüm antioksidan aktivite analiz yöntemleri arasından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında alkali ekstraksiyon sonucu polisakkaritlerin antioksidan aktivitelerinde azalma olduğu görülmektedir. AE ile elde edilen polisakkaritlerin fenolik sonuçlarına baktığımızda polisakkaritlerden toplam fenolik madde miktarı en yüksek olanın yine ebegümece ( $7,15 \pm 0,35$  mg GAE/g) olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla şeker pancarı ( $6,63 \pm 0,04$  mg GA/g), beyaz lahana ( $5,17 \pm 0,04$  mg GAE/g), kale ( $4,99 \pm 0,00$  mg GAE/g) ve cibes ( $4,37 \pm 0,04$  mg GAE/g) takip etmektedir. AE sonucu cibes ve beyaz lahananın fenolik madde miktarında artış görülürken hardal, karalahana, kale, ebegümece ve şeker pancarının fenolik madde miktarında azalma olduğu görülmüştür. İki ekstraksiyon yönteminde de yaprak polisakkaritlerinin fenolik madde içeriği arasında anlamlı bir fark bulunmuştur.

Aynı örnekler için ekstraksiyon yöntemi arasındaki ilişki ise T testi ile değerlendirilmiştir. Ebegümece CUPRAC için ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değilken diğer yöntemlerde önemlidir. Kalede tüm ölçüm metotları için ekstraksiyon yöntemleri arasındaki farkın önemli, karalahanada ABTS ve TFMM için fark önemli değilken DPPH, FRAP ve CUPRAC metotlarında önemli olduğu tespit edilmiştir. Beyaz lahanada CUPRAC için ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değilken diğer yöntemlerde önemlidir. Cibes polisakkaritlerinde ABTS, FRAP, CUPRAC ve fenolik madde açısından ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak görülen

farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. DPPH açısından fark önemli değildir. Hardal polisakkaritlerinde DPPH, FRAP, CUPRAC ve fenolik madde miktarı açısından ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak görülen farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. ABTS için fark önemli değildir. Şeker pancarı polisakkaritlerinde tüm metotlar açısından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur.

Kale yaprağına ait ABTS değeri literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada kale yaprağının alkali ekstraksiyon sonucu ABTS değeri 14,93 mg TE/g olarak bulunmuştur (Zhou ve Yu, 2006).

Yapılan bir çalışmada zencefil yapraklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle polisakkarit ekstrakte edilmiştir. İn vitro hipoglisemik aktivite ve antioksidan aktivite deneyleri, alkali yöntemle elde edilen polisakkaritlerin biyolojik kapasitelerinin diğer yöntemlerle ekstrakte edilen polisakkaritlerden daha üstün olduğunu göstermiştir. Ek olarak, alkali polisakkaritler daha iyi biyolojik aktivite sergilemiştir (Chen vd., 2020). DellaGreca ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan çalışmada, *Malva sylvestris*den elde edilen ekstraktının antioksidan kapasitesi DPPH ile belirlenmiş çalışmada *Malva sylvestris*'in antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Polisakkaritlerin farklı antioksidan yöntemlerinde farklı aktivite göstermesi; antioksidanların reaksiyon mekanizmalarının değişiklik göstermesi, farklı radikallere karşı reaksiyon mekanizmalarının farklı olması, tüm bu antioksidan aktiviteyi ölçen metotların farklı reaksiyon ve koşullara bağlı olmasıyla açıklanabilir (Öztan, 2006).

Cheng ve arkadaşları (2013) *Epimedium acuminatum* bitkisinin yaprağından biyoaktif polisakkaritleri izole etmek için sıcak su, ultrasonik destekli, enzim ve mikrodalga destekli ekstraksiyonları karşılaştırmış ve elde edilen dört polisakkaritin benzer fizikokimyasal özelliklere sahip olduğunu keşfetmiştir. Bununla birlikte, sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin antioksidan aktivitesinin, diğer yöntemlerle izole edilenlerden daha güçlü olduğu görülmüştür.

İğde bitkisiyle yapılan çalışmada yaprak kısmına ait DPPH ve ABTS değerleri sırasıyla 3,6 mg TE/g ve 5,33 mg TE/g olarak bulunmuştur. Meyve kısmına ait DPPH değeri 30,53 mg TE/g, ABTS değeri ise 38,68 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. İğde yaprağından alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritin toplam fenolik madde miktarı %3,62 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada iğde bitkisinin meyvesine ait fenolik madde miktarı ise %18,32 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Sonuç incelendiğinde fenolik içeriğinin aynı bitkinin farklı bölümlerinde bile değişebileceği belirtilmiştir (Berктаş ve Çam, 2020).

*Jasminum officinale* yaprakları ile yapılan çalışmada yaprakların sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğini değerlendirmişlerdir. *Jasminum officinale*'e ait toplam fenolik madde miktarı 104,02 mg GAE/g olarak bulunmuştur (Dubey vd., 2016).

*Primula veris*'in çiçek, yaprak ve kökleri alkali ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş ve ekstraktların toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışma sonucu, ekstraktların önemli miktarda fenolik içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapraklar için fenolik madde miktarı 136-159 mg GAE/L, DPPH inhibisyonu % 16,0-17 bulunmuştur (Lupitu vd., 2018).

#### 4.4 Diğer Biyoaktif Bileşikler

Polisakkaritlerin karbonhidrat, protein ve üronik asit analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar % olarak verilmiştir. Tablo 4.3'de sıcak su ekstraksiyonu polisakkaritlerinin analiz sonuçları gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek karbonhidrat miktarı beyaz lahanaya (%48,55±5,97), en yüksek protein miktarı şeker pancarına (%1,53±0,38), en yüksek üronik asit miktarı şeker pancarına (%23,92±2,37) aittir. Polisakkaritlerin karbonhidrat, protein ve üronik asit miktarları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4. 3** Yapraklardan sıcak su (KE) ve alkali ekstraksiyon (AE) ile elde edilen polisakkaritlerin karbonhidrat, protein ve üronik asit aktiviteleri g/100 g ekstrakt (suda çözünür polisakkarit)

Örnek	g/100 g ekstrakt (suda çözünür polisakkarit)					
	Karbonhidrat		Protein		Üronik asit	
	AE	KE	AE	KE	AE	KE
Hardal	8,31±1,36 <sup>fX</sup>	9,54±0,34 <sup>fX</sup>	0,92±0,28 <sup>bX</sup>	0,73±0,23 <sup>bcX</sup>	4,24±0,14 <sup>fX</sup>	7,40±0,28 <sup>dY</sup>
Cibes	18,55±0,14 <sup>dX</sup>	23,18±0,77 <sup>cY</sup>	0,45±0,14 <sup>cdX</sup>	0,92±0,23 <sup>bX</sup>	17,01±2,90 <sup>dX</sup>	5,87±0,43 <sup>dY</sup>
K.lahana	11,64±0,28 <sup>efX</sup>	13,31±0,72 <sup>deY</sup>	0,28±0,03 <sup>eX</sup>	0,36±0,04 <sup>cY</sup>	9,12±0,17 <sup>eX</sup>	10,95±0,09 <sup>cY</sup>
B.lahana	56,07±2,68 <sup>bX</sup>	48,55±5,97 <sup>aX</sup>	1,36±0,17 <sup>aX</sup>	0,64±0,06 <sup>bcY</sup>	46,20±0,95 <sup>aX</sup>	23,38±2,09 <sup>aY</sup>
Kale	13,64±0,60 <sup>eX</sup>	15,67±0,72 <sup>dY</sup>	0,52±0,00 <sup>cdX</sup>	0,62±0,04 <sup>bcY</sup>	17,59±1,74 <sup>dX</sup>	15,96±2,11 <sup>bX</sup>
Ebegümeçi	26,63±2,68 <sup>cX</sup>	15,89±0,90 <sup>dY</sup>	0,63±0,00 <sup>cX</sup>	0,94±0,03 <sup>bY</sup>	32,01±1,57 <sup>bX</sup>	10,67±1,00 <sup>cY</sup>
Ş.pancarı	60,29±3,75 <sup>aX</sup>	27,98±1,73 <sup>bY</sup>	1,15±0,00 <sup>abX</sup>	1,53±0,38 <sup>aX</sup>	20,83±1,71 <sup>cX</sup>	23,92±2,37 <sup>aX</sup>

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda belirtilen farklı harfler  $p \leq 0.05$  seviyesinde örnekler arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir. Aynı satırda belirtilen farklı harfler (X-Y) ise aynı örnek için ekstraksiyon yöntemi arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir ( $p < 0.05$ )

Alkali çözelti ekstraksiyonu polisakkaritlerinin analiz sonuçları verilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek karbonhidrat miktarının şeker pancarına (%60,29±3,75), en yüksek protein miktarının beyaz lahanaya (%1,36±0,17), en yüksek üronik asit miktarının beyaz lahanaya (%46,20±0,95) ait olduğu görülmektedir. Polisakkaritlerin karbonhidrat, protein ve üronik asit miktarları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Aynı örnekler için ekstraksiyon yöntemi arasındaki ilişki ise T testi ile değerlendirilmiştir. Hardalda üronik asit için ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli

iken karbonhidrat ve proteinde önemli değildir. Karalahana ve ebegümecinde yöntemler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür. Cibeste karbonhidrat ve üronik asit, beyaz lahanada protein ve üronik asit, kalede karbonhidrat ve protein, şeker pancarında karbonhidrat için fark önemlidir.

Alkali ekstraksiyon ile beyaz lahana polisakkaritlerinin karbonhidrat, protein ve üronik asit miktarları sıcak su ekstraksiyonuna kıyasla artış göstermiştir. Şeker pancarı ve ebegümecinin karbonhidrat miktarları artış gösterirken diğer örneklerinki azalış göstermiştir. Polisakkaritlerin protein miktarlarının alkali ekstraksiyon sonucu azaldığı tespit edilmiştir. Cibes, beyaz lahana, kale ve ebegümecinin üronik asit miktarları artarken hardal, karalahana ve şeker pancarının azalmıştır.

Zeytin yaprağından sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritte protein içeriği Bradford yöntemine göre, toplam karbonhidrat ise fenol sülfürik asit kolorimetrik yöntemine göre belirlenmiştir. Protein içeriği %1,07 karbonhidrat içeriği ise %92,48 olarak bulunmuştur (Khemakhem vd., 2018).

Cyclocarya paliurus bitkisini yaprağından sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritte protein içeriği  $9,26 \pm 0,24$ , üronik asit içeriği ise  $23,5 \pm 1,05$  olarak bulunmuştur (Xie vd., 2013). Üronik asit içeriği bizim çalışmamızdaki şeker pancarı ve beyaz lahana ile benzerlik göstermektedir.

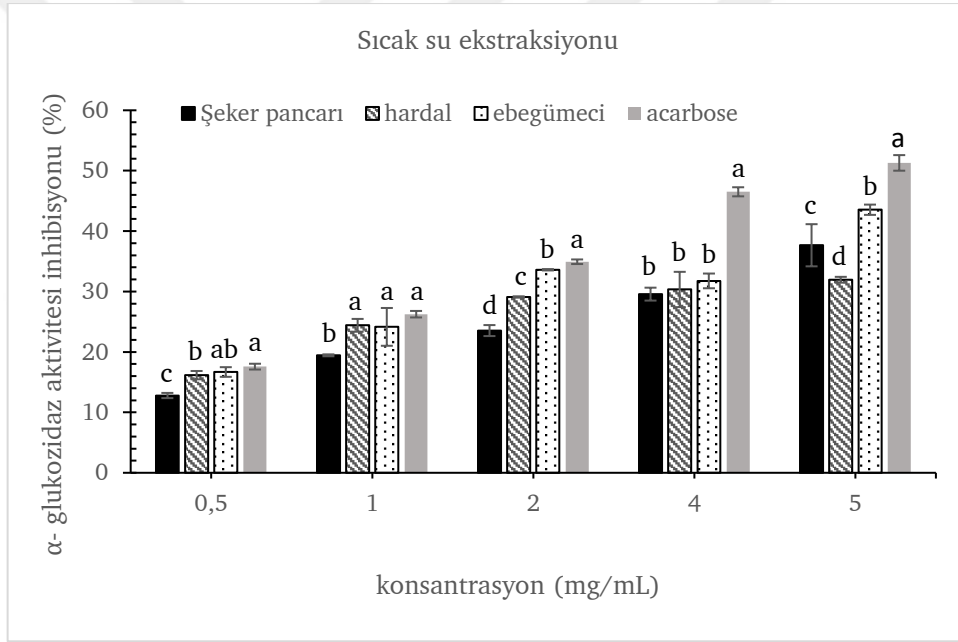
Yine Cyclocarya paliurus bitkisinin başka bir türü olan ve Çin'de sağlık çayı olaak adlandırılan *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja bitkisinden sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin karbonhidrat içeriği %79,6, üronik asit içeriği %20,2, protein içeriği ise %8,44 olarak bulunmuştur (Xie vd., 2010).

Yapılan bir çalışmada *Rosa roxburghii* Tratt meyvesinden alkali ekstraksiyon ile suda çözünebilir polisakkaritler elde edilmiş ve biyoaktif özellikleri incelenmiş. Çalışma sonucu üronik asit içeriği  $14,78 \pm 0,06$ , karbonhidrat içeriği  $63,79 \pm 0,73$  ve protein içeriği  $4,10 \pm 0,58$  olarak tespit edilmiş (Wang vd., 2018).

## 4.5 $\alpha$ -glukozidaz Aktivitesi Tayini

Bitkilerin antidiyabetik aktiviteleri  $\alpha$ -glukozidaz aktivitesi % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

Analiz sonuçlarına göre her iki ekstraksiyon yöntemi için de polisakkarit konsantrasyonu arttıkça  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etme özelliği artmıştır. Ancak sıcak su ekstraksiyonunda 4 mg/mL konsantrasyondaki ebegümeçi polisakkaritinin 2 mg/mL'deki konsantrasyona göre inhibisyon özelliği azalmıştır. Sıcak su ekstraksiyonuna bakıldığında genel olarak en yüksek inhibisyonu ebegümeçi polisakkariti göstermiştir. En düşük inhibisyon ise şeker pancarında görülmüştür. Konsantrasyonlar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.8).

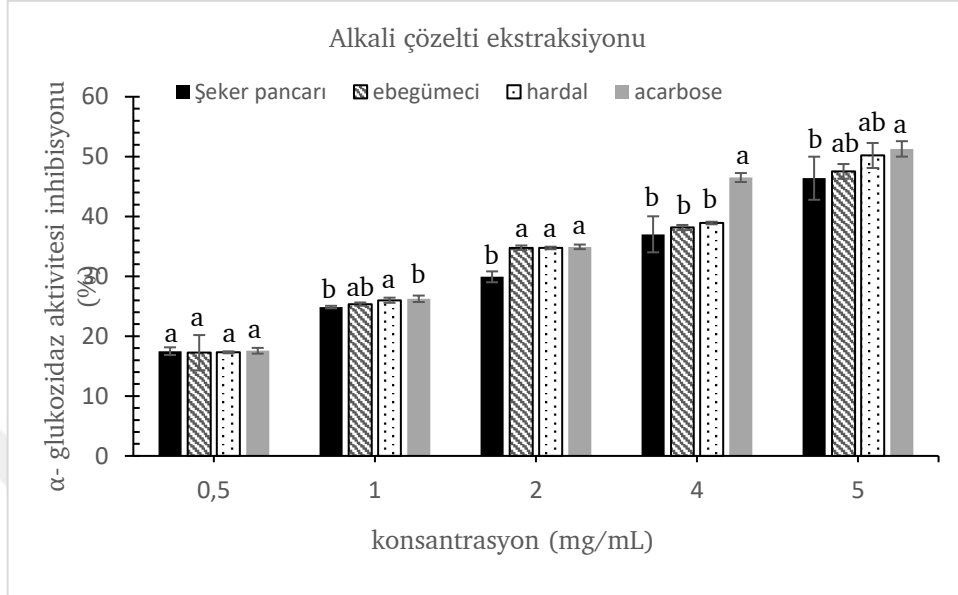


**Şekil 4. 8** Sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz aktivitesi sonucu

Aynı konsantrasyon değerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p \leq 0.05$ ) gösterirken, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ( $p > 0,05$ ) olmadığını göstermektedir.

Alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etme özelliklerinin klasik ekstraksiyona kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Şeker pancarı polisakkariti diğerlerine kıyasla daha düşük inhibisyon özelliği göstermiştir. 5 mg/mL, 4 mg/mL, 2 mg/mL ve 1 mg/mL

konsantrasyonlardaki fark istatistiksel olarak önemliyken, 0,5 mg/mL konsantrasyondaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9** Alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz aktivitesi sonucu

Aynı konsantrasyon değerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p \leq 0.05$ ) gösterirken, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ( $p > 0,05$ ) olmadığını göstermektedir.

İğde bitkisiyle yapılan çalışmada meyve ekstraktlarının  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etme potansiyelinin olduğu, aksine yaprakların  $\alpha$ -amilaz enzimine karşı inhibitör aktivite sergilemediği görülmüştür. İğde bitkisinin sahip olduğu bu antidiyabetik özellik sahip olduğu fenolik bileşiklerin hidroksil gruplarıyla ilişkilendirilebilir (Berктаş ve Çam, 2020).

Yeşil çayla yapılan çalışmada doza ve ekstraksiyon metoduna bağlı olarak yeşil çay polisakkaritinin  $\alpha$ -glukozidaz enzimi inhibisyonu incelenmiş. Polisakkarit konsantrasyonu arttıkça  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etme özelliği artmış. Ayrıca ekstraksiyon yönteminin  $\alpha$ -glukozidaz inhibe edici aktivite üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirtilmiş. Ultra ses destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen ham polisakkaritler, klasik sıcak su ile elde edilen polisakkaritlere kıyasla daha düşük inhibe edici aktivite göstermiş (Karadağ vd., 2019).

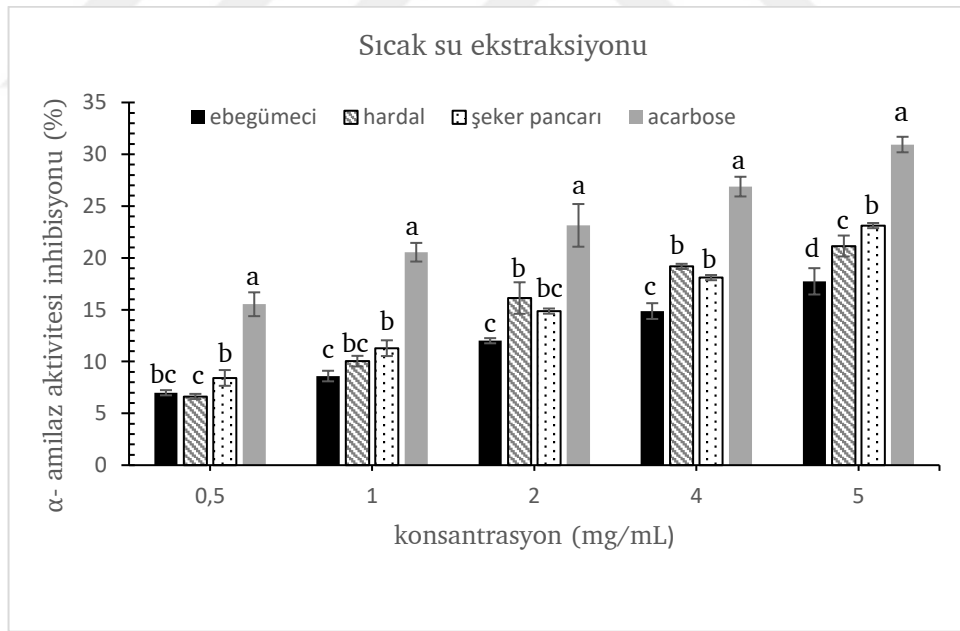
*Mallotus furetianus* bitkisinden etanol ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz enzimi inhibisyonu incelenmiş ve konsantrasyon arttıkça inhibisyonun arttığı görülmüştür. Maksimum inhibisyon değeri yine akarbozdan düşük çıkmıştır (Chen vd., 2019).

#### 4.6 $\alpha$ -amilaz Aktivitesi Tayini

Bitkilerin antidiyabetik aktiviteleri  $\alpha$ -amilaz aktivitesi % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

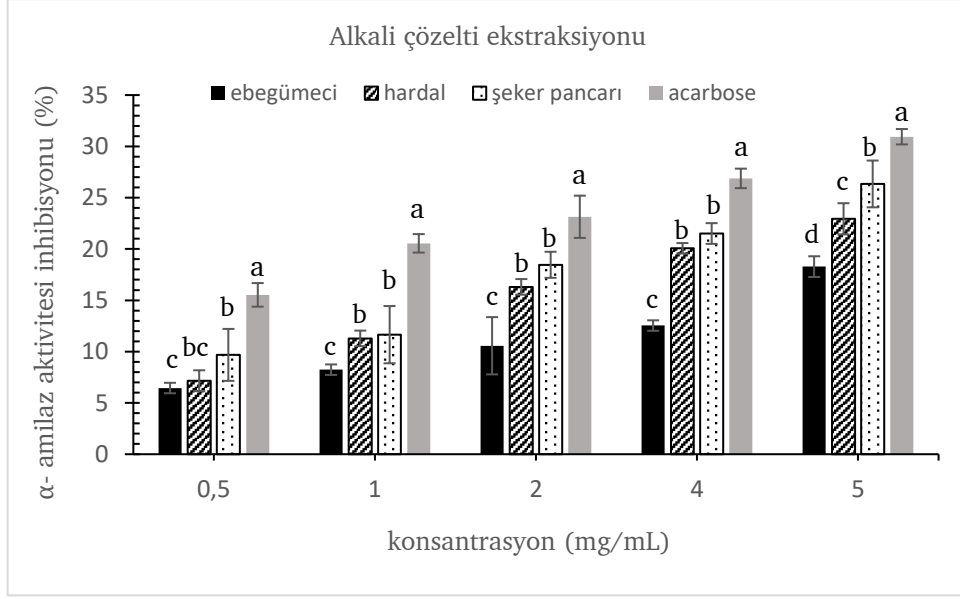
Analiz sonuçlarına göre her iki ekstraksiyon yöntemi için de polisakkarit konsantrasyonu arttıkça  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerinde inhibe etme özelliği artmıştır.

Sıcak su ekstraksiyonu sonuçlarına bakıldığında bakıldığında 5 mg/mL, 1 mg/mL ve 0,5 mg/mL'de en yüksek inhibisyonu şeker pancarı göstermiştir. 4 mg/mL ve 2 mg/mL'de en yüksek inhibisyonu hardal polisakkariti göstermiştir. Genel olarak en düşük inhibisyon ebeğümecinde görülmüştür. Konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.10).



**Şekil 4. 10** Sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -amilaz aktivitesi sonucu

Aynı konsantrasyon değerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p \leq 0.05$ ) gösterirken, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ( $p > 0,05$ ) olmadığını göstermektedir.



**Şekil 4. 11** Alkali ekstraksiyon ile elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -amilaz aktivitesi sonucu

Aynı konsantrasyon değerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p \leq 0,05$ ) gösterirken, aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ( $p > 0,05$ ) olmadığını göstermektedir.

Alkali ekstraksiyon sonuçlarına bakıldığında tüm konsantrasyonlar için en yüksek inhibisyon şeker pancarında, en düşük inhibisyon ebegümeceinde görülmüştür. Konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.11).

Genel olarak antidiyabetik analiz sonuçlarına bakıldığında polisakkaritlerin  $\alpha$ -amilaz inhibisyonu  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonuna göre daha düşük aktivite göstermiştir. Hem  $\alpha$ -glukozidaz hem de  $\alpha$ -amilaz için inhibisyonun doza bağımlı olduğu tespit edilmiştir.

*Momordica charantia* bitkisinden elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesi incelenmiş.  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesinin doza bağlı olduğu ve konsantrasyonun artmasıyla aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. 6,69 mg/mL'de %50 inhibisyon gösterirken 10 mg/mL'de yüksek değer olan %89,1 ile mükemmel  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesi göstermiştir (Tan ve Gan, 2016).

Wang ve ark. (2010), *Camellia sinensis* bitkisinin yaprağı ve çiçeklerinden farklı yöntemlerle polisakkarit elde edip  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitelerini incelemişler.  $\alpha$ -amilaz inhibisyonu tüm ekstraksiyonlar için  $\alpha$ -glukozidazdan daha düşük aktivite göstermiş.

Çalışmamızda yenilebilir yapraklara uygulanan iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen suda çözünen polisakkaritlerin verim, antioksidan aktivite, fenolik madde miktarı, karakterizasyon, protein, karbonhidrat, üronik asit ve antidiyabetik özellikleri incelenmiştir. Ekstraksiyon sonucu en yüksek verimi %8,26 ile sıcak su ekstraksiyonu sonucu elde edilen ebegümece polisakkariti vermiştir. Alkali ekstraksiyon sonucu karalahana, kale, ebegümece ve şeker pancarında verimin azaldığı gözlenmiştir. Hardal, cibes ve beyaz lahanada ise alkali ekstraksiyon sonucu polisakkarit verimi artmıştır. Alkali ekstraksiyonun ekstraksiyon verimini kısmen düşürdüğü ancak verimin yaprağın cinsine, özelliklerine göre değişiklik gösterebileceği söylenebilir. Antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında KE yönteminde DPPH yöntemi için en yüksek aktiviteye sahip polisakkaritin  $413,05 \pm 5,66$  mg TE/ g ile hardal olduğu tespit edilmiştir. ABTS yöntemine göre ebegümece ( $35,61 \pm 0,40$  mg TE/ g), FRAP yöntemi için beyaz lahana ( $15,08 \pm 0,13$  mg TE/ g), CUPRAC için ise kale ( $78,83 \pm 3,47$  mg TE/g) en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. AE yönteminde DPPH yöntemi için en yüksek aktiviteye sahip polisakkaritin yine hardal ( $378,62 \pm 11,33$  mg TE/g) olduğu bulunmuştur. ABTS ve FRAP yöntemi için ebegümece ( $27,04 \pm 0,60$  mg TE/g,  $12,32 \pm 0,97$  mg TE/g), CUPRAC yöntemine göre ise beyaz lahana ( $55,87 \pm 3,71$  mg TE/g) en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Farklı yapraklardan elde edilen polisakkaritler, antioksidan yöntemlerinde farklı aktivite göstermiştir. Bu durum polisakkaritlerin farklı radikallere karşı reaksiyon mekanizmalarının farklı olmasıyla açıklanabilir. AE sonucu cibes ve beyaz lahananın fenolik madde miktarında artış görülürken hardal, karalahana, kale, ebegümece ve şeker pancarının fenolik madde miktarında azalma olduğu görülmüştür. Alkali ekstraksiyon ile beyaz lahana polisakkaritlerinin karbonhidrat, protein ve üronik asit miktarları sıcak su ekstraksiyonuna kıyasla artış göstermiştir. Şeker pancarı ve ebegümeceinin karbonhidrat miktarları artış gösterirken diğer örneklerinki azalış göstermiştir. FTIR spektrofotometresi ile

yapılan karakterizasyonda elde ettiğimiz polisakkaritlerin gösterdiği absorpsiyonların polisakkaritlerin karakteristik absorpsiyon pikleri olduğu tespit edilmiştir. KE ve AE yöntemine ait spektrumlar benzer pikler vermiştir. Elde edilen polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon aktivitelerine bakıldığında akarboz ile karşılaştırılabilir değerler belirlenmiş ve KE yönteminde en yüksek inhibisyon ebeğümeci ekstraktında görülmüştür. AE yönteminde ise hardal en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Hem ebeğümeci hem de hardal ekstraktı için 5 mg/mL konsantrasyonda enzim inhibisyonunun yaklaşık %50 olduğu ve bu değerın akarbozdan önemli ölçüde farklı olmadığı tespit edilmiştir. AE ile polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etme özelliği artmıştır.  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesine bakıldığında KE ve AE yönteminde şeker pancarı en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Ebeğümeci her iki yöntem içinde en düşük  $\alpha$ -amilaz inhibisyonu göstermiştir. Genel olarak  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesi  $\alpha$ -glukozidaza göre daha düşük çıkmıştır. Yenilebilir yaprakların sıcak su ekstraktları antioksidan aktivite analizleri açısından daha yüksek sonuçlar verirken, alkali ekstraktları daha iyi antidiyabetik özellikler göstermiştir. Sonuçlara bakacak olursak ekstraksiyon yönteminin  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonu üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Analizler sonucu polisakkaritlerin gösterdiği farklı sonuçları göz önüne alarak, polisakkaritlerin biyoaktif özelliklerininin tek bir faktör tarafından değil çeşitli faktörlerin birleşik etkisi ile kontrol edildiği söylenebilir. Yaptığımız bu çalışma sonucu yenilebilir yapraklardan elde edilen suda çözünür polisakkaritlerin başta antioksidan ve antidiyabetik özellik olmak üzere biyoaktif özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Polisakkaritlerde tespit edilen insan sağlığına yararlı biyoaktif bileşenler farklı alanlarda değerlendirilebilir. Polisakkaritlerin  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzimlerini inhibe edici özellik göstermesi diyabet hastalığında yükselen kan şekerini dengelemek açısından önemlidir. Bu yaprakların sahip oldukları biyoaktif bileşenler sayesinde fonksiyonel gıdaların hazırlanmasında veya doğal antioksidan olarak kullanım açısından önemli potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen analiz sonuçları dikkate alındığında iki ekstraksiyon yönteminin de polisakkarit ekstraksiyonu için iyi birer alternatif olabileceği söylenebilir.

- Abou Zeid, A. H., Aboutabl, E. A., Sleem, A. A., & El-Rafie, H. M. (2014). Water soluble polysaccharides extracted from *Pterocladia capillacea* and *Dictyopteris membranacea* and their biological activities. *Carbohydrate polymers*, *113*, 62-66.
- Aires, A. (2015). Brassica composition and food processing. In *Processing and impact on active components in food* (pp. 17-25). Academic Press.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, *127*(1), 183-198.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(26), 7970-7981.
- Asadujjaman, M., Hossain, M. S., Khan, M. R. I., Anisuzzaman, A. S. M., Ahmed, M., & Islam, A. (2011). Antihyperglycemic and glycogenesis effects of different fractions of brassica oleracea in Alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *2*(6), 1436.
- Atabey, S., Yildiztekin, M., Tuna, A. L., Nazli, O., Ceylan, O., & YOKAŞ, İ. (2020). Mineral Nutrition Status of Some Aromatic Plants Grown in Muğla, Determination of Their Soil Characteristics and Uses in the Kitchen. *International Journal of Secondary Metabolite*, *7*(3), 213-228.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, *99*(1), 191-203.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, *239*(1), 70-76.
- Beghdad, M. C., Benammar, C., Bensalah, F., Sabri, F. Z., Belarbi, M., & Chemat, F. (2014). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, *13*(3).
- Berктаş, S., & Mustafa, Ç. A. M. (2020). İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) Meyve ve Yapraklarının Antioksidan ve Antidiyabetik Özellikleri. *Akademik Gıda*, *18*(3), 270-278.

- Bernhoft, A., Siem, H., Bjertness, E., Meltzer, M., Flaten, T., & Holmsen, E. (2010). Bioactive compounds in plants—benefits and risks for man and animals. *The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo*.
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., ... & Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition, 25*(11-12), 1202-1205.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry, 72*(1-2), 248-254.
- Chen, G., Yuan, Q., Saeeduddin, M., Ou, S., Zeng, X., & Ye, H. (2016). Recent advances in tea polysaccharides: Extraction, purification, physicochemical characterization and bioactivities. *Carbohydrate polymers, 153*, 663-678.
- Chen, J., Zhang, X., Huo, D., Cao, C., Li, Y., Liang, Y., ... & Li, L. (2019). Preliminary characterization, antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from *Mallotus furetianus*. *Carbohydrate polymers, 215*, 307-315.
- Chen, S., Wan, Z., Nelson, M. N., Chauhan, J. S., Redden, R., Burton, W. A., ... & Cowling, W. A. (2013). Evidence from genome-wide simple sequence repeat markers for a polyphyletic origin and secondary centers of genetic diversity of *Brassica juncea* in China and India. *Journal of heredity, 104*(3), 416-427.
- Chen, X., Chen, G., Wang, Z., & Kan, J. (2020). A comparison of a polysaccharide extracted from ginger (*Zingiber officinale*) stems and leaves using different methods: preparation, structure characteristics, and biological activities. *International journal of biological macromolecules, 151*, 635-649.
- Cui, S. W. (Ed.). (2005). *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*. CRC press.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules, 15*(10), 7313-7352.
- Delgado, L. L., & Masuelli, M. (2019). Polysaccharides: Concepts and Classification. *Evolution Poly Tech J, 2*(2), 180013.
- DellaGreca, M., Cutillo, F., Abrosca, B. D., Fiorentino, A., Pacifico, S., & Zarrelli, A. (2009). Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. *Natural product communications, 4*(7), 1934578X0900400702.
- Dubey, P., Tiwari, A., Gupta, S. K., & Watal, G. (2016). Phytochemical and biochemical studies of *Jasminum officinale* leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7*(6), 2632.
- Ekici, L., & SAĞDIÇ, O. (2008). Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda, 33*(5), 251-260.

- El-Gengaihi, S. E., Hamed, M. A., Aboubaker, D. H., & Mossa, A. T. (2016). Flavonoids from sugar beet leaves as hepatoprotective agent. *Int J Pharm Pharm Sci*, 8(4), 281-286.
- Ferreres, F., Fernandes, F., Sousa, C., Valentao, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009). Metabolic and bioactivity insights into Brassica oleracea var. acephala. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(19), 8884-8892.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Ganesan, K., & Xu, B. (2019). Anti-diabetic effects and mechanisms of dietary polysaccharides. *Molecules*, 24(14), 2556.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12), 1719-1726.
- Gupta, A., Naraniwal, M., & Kothari, V., (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural science*, 1(1), 8-26.
- Hu, J. L., Nie, S. P., & Xie, M. Y. (2018). Antidiabetic mechanism of dietary polysaccharides based on their gastrointestinal functions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(19), 4781-4786.
- Huang, H., & Huang, G. (2020). Extraction, separation, modification, structural characterization, and antioxidant activity of plant polysaccharides. *Chemical Biology & Drug Design*, 96(5), 1209-1222.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., & Hosseini, S. S. (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate polymers*, 157, 1315-1322.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Karaca, O. B., Yıldırım, O., & Çakıcı, C. (2015). Girit Yemek Kültürü ve Sürdürülebilirliği (Cretan Food Culture and It's Sustainability). *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 3, 13.
- Karadag, A., Pelvan, E., Dogan, K., Celik, N., Ozturk, D., Akalın, K., & Alasalvar, C. (2019). Optimisation of green tea polysaccharides by ultrasound-assisted

- extraction and their in vitro antidiabetic activities. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 11(5), 479-490.
- Kavita, K., Singh, V. K., Mishra, A., & Jha, B. (2014). Characterisation and anti-biofilm activity of extracellular polymeric substances from *Oceanobacillus iheyensis*. *Carbohydrate polymers*, 101, 29-35.
- Khemakhem, I., Abdelhedi, O., Trigui, I., Ayadi, M. A., & Bouaziz, M. (2018). Structural, antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides extracted from olive leaves. *International journal of biological macromolecules*, 106, 425-432.
- Kent, N. K., KURAL, B. V., Asım, Ö. R. E. M., & Cengiz, S. Karalahana Ekstraktlarının Invitro Okside Lipoproteinlerde Malondialdehit Seviyelerine Etkileri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(2), 42-47.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction 50. *Nat. Prod*, 1543-1580.
- Lim, T. K. (2016). *Edible Medicinal and Non-medicinal Plants: Modified Stems, Roost, Bulbs*. Springer.
- Liu, J., Willför, S., & Xu, C. (2015). A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 31-61.
- Lupitu, A. I., Tomescu, D., Mot, C. A., Moisa, C., Copolovici, D. M., & Copolovici, L. (2018). Variation in phenolic content and antioxidant activity of different plant parts of *Primula veris*. *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol*, 22, 50-53.
- Maritim, A. C., Sanders, A., & Watkins Iii, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 17(1), 24-38.
- Mohammad Azmin, S. N. H., Abdul Manan, Z., Wan Alwi, S. R., Chua, L. S., Mustafa, A. A., & Yunus, N. A. (2016). Herbal processing and extraction technologies. *Separation & Purification Reviews*, 45(4), 305-320.
- Moharram, H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.
- Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- Öztan, T. (2006). *Mor havuç, konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Park, S., Arasu, M. V., Jiang, N., Choi, S. H., Lim, Y. P., Park, J. T., ... & Kim, S. J. (2014a). Metabolite profiling of phenolics, anthocyanins and flavonols in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Industrial Crops and Products*, *60*, 8-14.
- Park, S., Arasu, M. V., Lee, M. K., Chun, J. H., Seo, J. M., Lee, S. W., ... & Kim, S. J. (2014b). Quantification of glucosinolates, anthocyanins, free amino acids, and vitamin C in inbred lines of cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Food chemistry*, *145*, 77-85.
- Pawlaczyk-Graja, I., Balicki, S., & Wilk, K. A. (2019). Effect of various extraction methods on the structure of polyphenolic-polysaccharide conjugates from *Fragaria vesca* L. leaf. *International journal of biological macromolecules*, *130*, 664-674.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*.
- Polat, B. (2012). Kayseri ve çevresinde yetişen bazı yabani meyvelerin biyoaktif özelliklerinin araştırılması. *Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri*.
- Pop, C., Apostu, S., Rotar, A. M., Semeniuc, C. A., Sindic, M., & Mabon, N. (2013). FTIR spectroscopic characterization of a new biofilm obtained from kefiran. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, *19*, 157-159.
- Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A., & Rafieian, M. (2013). Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *Journal of nephropathology*, *2*(2).
- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., & Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *59*(7), 365-373.
- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K., & Subramanian, S. (2005). Modulatory effects of Aloe vera leaf gel extract on oxidative stress in rats treated with streptozotocin. *Journal of pharmacy and pharmacology*, *57*(2), 241-246.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.
- Ren, Y., Bai, Y., Zhang, Z., Cai, W., & Del Rio Flores, A. (2019). The preparation and structure analysis methods of natural polysaccharides of plants and fungi: A review of recent development. *Molecules*, *24*(17), 3122.

- Samavati, V., & Manoochehrizade, A. (2013). Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity. *International journal of biological macromolecules*, *60*, 427-436.
- Šamec, D., Pavlović, I., & Salopek-Sondi, B. (2017). White cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry reviews*, *16*(1), 117-135.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, *8*(1).
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, *3*(1), 91-100.
- Shen, S., Chen, D., Li, X., Li, T., Yuan, M., Zhou, Y., & Ding, C. (2014). Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from leaves of *Paris polyphylla*. *Carbohydrate polymers*, *104*, 80-86.
- Shinde, A., Ganu, J., & Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, *1*(2), 63.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
- Singh, J., Upadhyay, A. K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K. P., & Rai, M. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Scientia Horticulturae*, *108*(3), 233-237.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(1), 81-86.
- Sikora, E., Cieřlik, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., & Pisulewski, P. M. (2008). The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*, *107*(1), 55-59.
- Smith, R. M. (2003). Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of chromatography A*, *1000*(1-2), 3-27.
- Sun, Y., Hou, S., Song, S., Zhang, B., Ai, C., Chen, X., & Liu, N. (2018). Impact of acidic, water and alkaline extraction on structural features, antioxidant

- activities of *Laminaria japonica* polysaccharides. *International journal of biological macromolecules*, 112, 985-995.
- Şenol, O. (2015). Bazı ilaç etkin maddelerinin antioksidan aktivite/kapasitelerinin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi ve kemometrik hesaplamalarla sınıflandırılması. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Şevik, M. A., & Cansız, N. The impact of turnip mosaic virus on physiological and morphological parameters of kale plants. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(3), 919-924.
- Tahmouzi, S., & Ghodsi, M. (2014). Optimum extraction of polysaccharides from motherwort leaf and its antioxidant and antimicrobial activities. *Carbohydrate Polymers*, 112, 396-403.
- Tan, H. F., & Gan, C. Y. (2016). Polysaccharide with antioxidant,  $\alpha$ -amylase inhibitory and ACE inhibitory activities from *Momordica charantia*. *International journal of biological macromolecules*, 85, 487-496.
- Taskin, T., & Bitis, L. (2016). In vitro antioxidant activity of eight wild edible plants in Bursa province of Turkey. *medicine*, 6, 25.
- Tian, Y., & Deng, F. (2020). Phytochemistry and biological activity of mustard (*Brassica juncea*): a review. *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 704-718.
- Toruk, F., Ülger, P., & Kocabıyık, H. (2003). Yonca ve şeker pancarı yaprağından mekanik sistemle bitki suyu eldesi. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2003, 9 (4) 478-485.
- Tosun İ., Tekgüler B., & Evren M. (2002). "Karalahana'nın Kuru Tuzlamayla Muhafazası", *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 32-35.
- Wang, L., Zhang, B., Xiao, J., Huang, Q., Li, C., & Fu, X. (2018). Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit. *Food chemistry*, 249, 127-135.
- Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., & Xie, M. (2016). Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Wang, Y., Mao, F., & Wei, X. (2012). Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from leaves, flowers and seeds of green tea. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 146-153.
- Wang, Y., Yang, Z., & Wei, X. (2010). Sugar compositions,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and amylase inhibitory activities of polysaccharides from leaves and flowers of *Camellia sinensis* obtained by different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(4), 534-539.

- Williams, D. J., Edwards, D., Hamernig, I., Jian, L., James, A. P., Johnson, S. K., & Tapsell, L. C. (2013). Vegetables containing phytochemicals with potential anti-obesity properties: A review. *Food Research International*, *52*(1), 323-333.
- Wu, H., Li, M., Yang, X., Wei, Q., Sun, L., Zhao, J., & Shang, H. (2020). Extraction optimization, physicochemical properties and antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from roxburgh rose (*Rosa roxburghii* Tratt.) leaves. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 517-529.
- Xie, J. H., Liu, X., Shen, M. Y., Nie, S. P., Zhang, H., Li, C., ... & Xie, M. Y. (2013). Purification, physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves. *Food Chemistry*, *136*(3-4), 1453-1460.
- Xie, J. H., Xie, M. Y., Nie, S. P., Shen, M. Y., Wang, Y. X., & Li, C. (2010). Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. *Food Chemistry*, *119*(4), 1626-1632.
- Ying, Z., Han, X., & Li, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*, *127*(3), 1273-1279.
- Young Kim, H., Yokozawa, T., Ju Cho, E., Sik Cheigh, H., Sue Choi, J., & Young Chung, H. (2003). In vitro and in vivo antioxidant effects of mustard leaf (*Brassica juncea*). *Phytotherapy Research*, *17*(5), 465-471.
- Yu, Y., Shen, M., Song, Q., & Xie, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate polymers*, *183*, 91-101.
- Zhou, K., & Yu, L. (2006). Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT-Food Science and Technology*, *39*(10), 1155-1162.

### **Konferans Bildirileri**

1. Aktan, B., Karadağ, A., ve Özkan, K. (2021) “Determination of Antioxidant Activities of Polysaccharides Extracted by Different Extraction Methods from Edible Leaves”. 2. Uluslararası Biyoteknoloji Kongresi, 9-11 Eylül 2021, İstanbul.

