



T.C.  
Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN HİNDİBA  
(*Cichorium* spp.) TÜRLERİNİN FENOLİK  
BİLEŞİKLERİNİN, ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN  
ve ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN  
BİYOALINABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Aynur YILDIRIM**

**Yüksek Lisans Tezi**



**ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN HİNDİBA  
(*Cichorium* spp.) TÜRLERİNİN FENOLİK  
BİLEŞİKLERİNİN, ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN  
ve ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN  
BİYOALINABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Aynur YILDIRIM**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN HİNDİBA (*Cichorium spp.*)  
TÜRLERİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN, ANTİOKSİDAN  
KAPASİTELERİNİN ve ANTİOKSİDAN BİLEŞENLERİN  
BİYOALINABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Aynur YILDIRIM**

Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

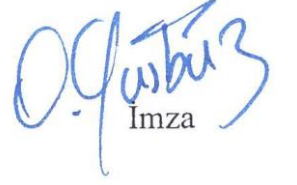
BURSA – 2018

## TEZ ONAYI

Aynur YILDIRIM tarafından hazırlanan “Ülkemizde Yetiştiriciliği Yapılan Hindiba (*Cichorium* Spp.) Türlerinin Fenolik Bileşiklerinin, Antioksidan Kapasitelerinin Ve Antioksidan Bileşenlerin Biyoelenebilirliğinin Araştırılması” adlı tez çalışması Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ

**Başkan :** Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ, Uludağ Üniversitesi,  
Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



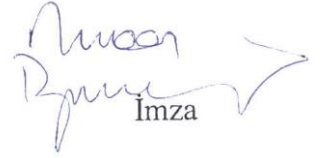
İmza

**Üye :** Doç. Dr. Yasemin ŞAHAN, Uludağ Üniversitesi,  
Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



İmza

**Üye :** Doç. Dr. Nurcan DEĞİRMENCİOĞLU,  
Bandırma Onyedli Eylül Üniversitesi, M.Y.O., Gıda Teknolojisi



İmza

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**



Prof. Dr. Ali BAYRAM  
Enstitü Müdürü

16.12.2018

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

../.. / 2018

**Aynur YILDIRIM**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN HİNDİBA (*Cichorium spp.*) TÜRLERİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN, ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN ve ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN BİYOALINABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

**Aynur YILDIRIM**

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ

Bu çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen hindiba çeşitlerinin (*Cichorium spp.*) toplam fenolik madde, antosiyanin, antioksidan kapasite ve biyoalınabiliklerindeki değişimler araştırılmıştır. Hindiba çeşitlerinde toplam on dokuz fenolik standart taranmış ve en yoğun fenolik asitlerin sırasıyla şiringik asit (2.54 mg/kg) ve trans-ferulik asit (1.85 mg/kg) olduğu, kateşinin de ana flavanol bileşik olduğu bulunmuştur. En yüksek flavanol içeriği yeşil hindiba örneklerinde (0.62 mg / kg) belirlenmiştir. Kırmızı hindiba çeşidi, diğer çeşitlerden daha yüksek antosiyanin (12.80 mg / kg), ekstrakte edilebilir (8855.50 mg GAE / 100g) ve hidrolize edilebilir (7005.51 mg GAE / 100g) toplam fenol özelliği göstermiştir. Ayrıca, hindiba çeşitlerinde CUPRAC testi ile ölçülen antioksidan kapasite değerleri (sırasıyla 570.54 ve 425.14  $\mu$ mol troloks/g dw), diğer yöntemler ile elde edilen sonuçlardan daha geniş bir fark aralığına sahiptir. Yeşil hindiba çeşitlerinde antioksidan aktivitenin biyoalınabilirliği daha yüksek (% 85.88) iken beyaz hindibada toplam fenoliklerin biyoalınabilirliği daha yüksektir (% 61.48).

**Anahtar Kelimeler:** Hindiba (*Cichorium*), fenolik bileşikler, antioksidan kapasite, biyoalınabilirlik, HPLC.

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF THE PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT CAPACITY AND BIOACCESSIBILITY OF ANTIOXIDANT COMPONENTS OF CHICORY CULTIVARS (*Cichorium Spp.*) GROWN IN TURKEY

**Aynur YILDIRIM**

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ

In this study, the changes in phenolics, anthocyanin, antioxidant capacity, and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium spp.*) in Turkey were investigated. A total of nineteen phenolic standards have been screened in the chicory varieties studied, and the most abundant phenolic acids were syringic acid (2.54 mg/kg) and trans-ferulic acid (1.85 mg/kg), respectively, also (+)-catechin was found to be the main flavanol compounds. The highest flavanol content was determined in green chicory samples (0.62 mg/kg). The red chicory variety showed higher anthocyanin (12.80 mg/kg), extractable (8855.50 mg GAE/100g) and hydrolysable (7005.51 mg GAE/100g) total phenolic than the other varieties. Also, the antioxidant capacities in this variety, as measured by the CUPRAC assay (570.54 and 425.14  $\mu\text{mol trolox/g dw}$ , respectively), had a wider range of difference than was found in the other assays. Total phenolics was more bioaccessible from the white chicory variety (61.48 %). However, the bioaccessibility of antioxidant activity was higher in the green chicory variety (85.88 %).

**Keywords:** Chicory, phenolic compounds, antioxidant capacity, bioaccessibility, HPLC

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ yönetiminde hazırlanarak Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda her türlü bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren, yüksek lisans eğitimim süresince desteğini hissettiğim danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ozan GÜRBÜZ'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim. Yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendirmemi sağlayan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Yasemin ŞAHAN'a ve Bandırma Onyedli Eylül Üniversitesi'nden Doç. Dr. Nurcan DEĞİRMENCİOĞLU'na saygı ve şükranlarımı sunarım. Özellikle tezimin yazım aşamasında yardımcı olan arkadaşım Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı araştırma görevlilerinden Elif YILDIZ'a teşekkürler.

Ayrıca, hammadde temin etmemde yardımcı olan Nomad Tarım'dan Arman BADUR'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli aileme tüm kalbimle teşekkür ederim. Eşsiz ve kıymetli eşim Samet YILDIRIM'a hayatıma girdiği ilk günden beri yanımda olduğu için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Karnımdaki minik bebeğime de tekmeleriyle bana eşlik ettiği için kocaman sevgiler...



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	2
2.1. Hindiba ile İlgili Genel Bilgiler .....	2
2.2. Hindibanın Kullanım Alanları ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	3
2.3. Fenolik Bileşikler .....	5
2.4. Hindibadaki Fenolik Bileşikler .....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	10
3.1. Materyal .....	10
3.2. Yöntem.....	13
3.2.1. Toplam Kurumadde Tayini .....	13
3.2.2. Suda Çözünen Kurumadde Tayini .....	13
3.2.3. Kül Tayini .....	13
3.2.4. pH Tayini .....	13
3.2.5. Titre Edilebilir Asitlik Tayini (g/100g).....	14
3.2.6. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi .....	14
3.2.7. Toplam Antosiyanin Miktarının Belirlenmesi .....	16
3.2.8. ABTS, DPPH ve CUPRAC Yöntemleri ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi .....	17
3.2.9. Antioksidan Bileşenlerin Biyoalınabilirliğinin Belirlenmesi.....	20
3.2.10. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi .....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	24
4.1. Toplam Kurumadde Tayini .....	24
4.2. Suda Çözünen Kurumadde Tayini .....	24
4.3. Kül Tayini .....	24

4.4. pH Tayini .....	25
4.5. Titre Edilebilir Asitlik Tayini (g/100g).....	25
4.6. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi .....	26
4.7. Toplam Antosiyanin Miktarının Belirlenmesi .....	27
4.8. ABTS, DPPH ve CUPRAC Yöntemleri ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi .	27
4.9. Antioksidan Bileşenlerin Biyoalnabilirliğinin Belirlenmesi.....	29
4.10. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi .....	30
5. SONUÇ .....	36
KAYNAKLAR .....	37
ÖZGEÇMİŞ .....	43



## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
g	Gram
$\mu\text{m}$	Mikrometre
mL	Mililitre
ppm	Milyonda Bir Kısım
nm	Nanometre

### Açıklama

### Kısaltmalar

CUPRAC	Bakır İyon İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DAD	Diode Array Dedektör
SD	Standart Sapma
HPLC	Yüksek Performanslı Likit Kromatografisi
PBS	Tuzlu Fosfat Tampon
UV	Ultraviyole
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
TE	Troloks eşdeğeri

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Fenolik maddelerin sınıflandırılması .....	6
Şekil 2.2. Fenolik asitlerin yapıları .....	7
Şekil 3.1. Analizlerde kullanılan hindiba türleri .....	10
Şekil 3.2. Beyaz hindiba ( <i>Cichorium intybus</i> L. 'Witlof') .....	11
Şekil 3.3. Yeşil (kıvrıkcık) hindiba ( <i>Cichorium endivia</i> L. ( <i>Crispum</i> group) 'Gloire de l'Exposition) .....	11
Şekil 3.4. Kırmızı hindiba ( <i>Cichorium intybus</i> L. ( <i>Rubifolium</i> group) 'A Palla Rossa') .....	11
Şekil 4.1. Beyaz hindiba etanol karışımı fenolik içeriği .....	31
Şekil 4.2. Kırmızı hindiba etanol karışımı fenolik içeriği.....	32
Şekil 4.3. Yeşil hindiba-etanol karışımı fenolik içeriği .....	32
Şekil 4.4. Beyaz hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği .....	33
Şekil 4.5. Kırmızı hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği.....	33
Şekil 4.6. Yeşil hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği.....	34
Şekil 4.7. Yeşil hindiba fenolik bileşikleri.....	34

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan hindiba örnekleri .....	10
Çizelge 4.1. Hindiba örneklerinin briks, toplam kurumadde ve kül miktarları .....	25
Çizelge 4.2. Hindiba örneklerinin pH değerleri ve toplam asitlikleri .....	26
Çizelge 4.3. Ekstrakte edilebilir fenolik bileşikler ve antioksidan kapasite .....	26
Çizelge 4.4. Hidrolize edilebilir fenolik bileşikler ve antioksidan kapasite .....	27
Çizelge 4.5. Hindiba örneklerinin toplam antosiyanin miktarları.....	27
Çizelge 4.6. Hindiba örneklerindeki fenolik bileşikler .....	30



## 1. GİRİŞ

Ülkemizde birçok bölgede yetişme olanağının olmasına rağmen, hindiba (*Cichorium spp.*) bitkisinin kök ve yaprakları, bazı bölgelerde sınırlı olarak, salata şeklinde veya yemeği yapılarak tüketilmektedir. Değerlendirilme olanakları kısıtlı, yenilebilen bir bitki olan hindiba (*Cichorium spp.*) kök ve yaprakları ile ilgili ülkemizde yapılmış kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamaktadır.

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin rengine ve özellikle ağızda buruk bir tat bırakarak lezzetine etki eden; meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarlarda bulunmakta olan önemli bir bileşen grubudur (Shahidi ve Naczk 1995).

Genellikle sebze olarak tüketilen hindiba (*Cichorium spp.*) bitkisinin kimyasal bileşiminin belirlenmesi; bileşimi belirlenen bitkinin antioksidan kapasitesinin ve antioksidan bileşenlerinin biyoalınabilirliğinin belirlenmesi; fenolik bileşiklerinin belirlenerek besleyici özelliğinin ortaya konulması bu tez çalışmasının konusunu oluşturmaktadır.

Türkiye’de yetiştirilen kırmızı hindiba (*Cichorium intybus L. (Rubifolium Group)* 'A Palla Rossa'), beyaz (Belçika) hindiba (*Cichorium intybus L. 'Witlof'*) ve yeşil (kıvırcık) hindiba (*Cichorium endivia L. (Crispum Group)* 'Gloire de l'Exposition') türlerinin antioksidan kapasitelerini belirlemede ABTS (2,2'-azinobis-(3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve CUPRAC (Bakır İyon İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) metotları kullanılmış ve farklı metotların analitik performansları değerlendirmiştir. Hindiba bitkisinin sahip olduğu antioksidan bileşenlerin ne kadarının insanlar tarafından kullanılabilirdiğinin tespiti amacıyla tez kapsamında antioksidan kapasite içeriğinin biyoalınabilirliğinin belirlenmesi üzerine çalışmalar yürütülmüştür. Ters-faz tekniği yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak fenolik bileşikler kantitatif olarak belirlenmiş ve çalışma sonucunda ortalama miktarları mg/kg cinsinden tespit edilmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Hindiba ile İlgili Genel Bilgiler

Hindiba (*Cichorium intybus L.*) *Asteraceae* ailesine ait; İtalya, İspanya, Yunanistan ve Türkiye gibi Akdeniz ülkelerinin yanı sıra Kuzey Amerika ve Avrasya gibi ılıman bölgelerde de yetiştirilen (Sinkovič ve ark. 2014), yaklaşık 14 türü bulunan bir Akdeniz bitkisidir (Dermarderosian, 2002). Bitkinin yaprakları çiğ halde salata olarak veya pişirilerek sebze olarak tüketilmektedir (Baytop, 1984; Edinçliler, 2000). Hindiba ayrıca mavi papatya, mavi karahindiba, mavi denizci, yabani hindiba, mavi ot, kahve otu, mısır çiçeği, at otu, hindibeh olarak da bilinmektedir (Bias ve Ravishankar, 2001; Mulabagal ve ark. 2009; Sinkovič ark. 2014; Cardina ark. 2013).

Tohumculuk sektörünün gelişimi ile birlikte, ülkemizde tüketim alışkanlığının gelişmeye başlamasıyla, yeni türler ve bu türlere ait çok sayıda hindiba çeşidi piyasada görülmeye başlamıştır (Baytop 1984; Edinçliler 2000). Avrupa ve Kuzey Amerika'da sıkça yetiştirilen hindibanın toprak üstü kısımları; yem bitkisi, yem katkı maddesi, fruktoz ve baharat üretiminde hammadde olarak kullanılır iken kökleri ise sakız yapımında kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2011; Dalar ve Konczak 2014). Kurutulmuş ve kavrulmuş hindiba kökleri aroma için kahve ile birlikte harmanlanmaktadır (Bais ve Ravishankar 2001; Galazka 2002). Kurutulmuş hindiba köklerinden elde edilen hindiba unu, ekmek katkı maddesi olarak kullanılabilir ve ekmek fırımlandığı zaman hindiba, ekmeğin aroma, renk ve lezzetini arttırıcı özelliindedir (Willeman ve ark. 2014). Ayrıca endüstriyel hindiba (*Cichorium intybus var. sativum*), dünyadaki birçok zirai bölgede inülin kaynağı olarak kullanılması sebebi ile ekonomik öneme sahiptir (Wang ve Cui 2011). Taze hindiba yaprakları sahip oldukları yüksek inülin içerikleri ile probiyotik bakterilerde gelişme faktörü olarak özel bir öneme sahiptir (Park ve ark. 2007; Abbas ve ark. 2015).

Yabani hindiba yaprakları acı ve baharatlı bir tada sahiptirler ancak bu tat kaynatılarak azaltılabilir (Baek ve Cadwallader 1998; Bais ve Ravishankar 2001). Yapraklar iyi bir K, Ca ve P kaynağı olmalarının yanı sıra, A ve C vitaminleri açısından da zengindir

(Mulabagal ve ark. 2009; Koner ve ark. 2011). Polifenoller açısından önemli bir kaynak olan hindibadan ekstrakte edilebilen diğer doğal bileşikler ise sakkaritler, organik asitler, alkaloidler, triterpenler, seskiterpenler, kumarinler, flavonlardır (Mares ve ark. 2005; Kocsis ve ark. 2003; Hoste ve ark. 2006; Milala ve ark. 2009). Yabani hindiba örneği üzerinde yapılan element tayinlerinde Fe (5.44 mg/100 g), Cu (1.71 mg/100 g), Mn (4.20 mg/100 g), Mg (0.02 mg/100 g), Zn (5.40 mg/100 g), Na (0.06 mg/100 g), K (0.49 mg/100 g), Ca (0.12 mg/100 g), P (0.04 mg/100 g) olarak tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada örneklerin kül miktarı 16 mg/100 g, pH değeri 5.59, protein miktarı 20.65 g/100 g, azot miktarı ise %3.3 olarak rapor edilmiştir (Kaya ve ark. 2002).

## **2.2. Hindibanın Kullanım Alanları ve Sağlık Üzerine Etkileri**

Geleneksel Hint tıbbında *Cichorium intybus* türünden hazırlanan “ayurveda” adlı tonik; yüksek ateş, ishal, dalak büyümesi durumlarında tedavi amaçlı kullanılmıştır (Chopra ve ark. 1958). Hindiba 17.yy.’dan bu yana, karaciğer ve sindirim sistemi üzerindeki etkisinden dolayı karaciğer bozuklukları, sarılık tedavisi, karaciğer büyümesi, gut, safra taşı rahatsızlıkları, romatizmal hastalıklar, idrar yolları iltihaplanmaları ve tip-2- diyabet tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılmaktadır (Kocsis ve ark. 2003; Pushparaj ve ark. 2007; Muthusamy ve ark. 2008). Hindiba antik Roma ve Yunanistan’da tıbbi bitki ve sebze olarak yetiştirilmiş, fitokimyasal içeriği ile fenolik asit, flavonoid, akumarin, sinamik ve kinik asit türevleri ile antosiyaninler gibi nutrasötik içeriği ile dikkat çekmiştir (Montefusco ve ark., 2015).

Hindiba bitkisinin tüm kısımları; alkaloid, inülin, seskiterpen lakton, kumarin, vitamin, klorofil pigmentleri, doymamış steroller, flavanoid, saponin ve tannin gibi önemli bileşenlerin varlığı nedeniyle büyük tıbbi öneme sahiptir (Molan ve ark. 2003; Nandagopal ve Kumari 2007). Pb,Zn, Cu, and Cd gibi birçok ağır metal içeren hindiba bitkisi; anti-bakteriyel, anti-inflamatuar, anti-mutajenik, anti-kanserojen, hiperglisemik ve anti-ülserojenik etkiye sahip; sindirim problemlerine ve mide yanması rahatsızlıklarında, artirite, karaciğer ile safra kesesi rahatsızlıkları üzerinde tedavi edici ve bağışıklık sistemini destekleyici özellik gösteren odunsu bir bitkidir (Aksoy, 2008; Wilson ve ark. 2004; Dalar ve Konczak 2014; Mares ve ark. 2005; Abbas ve ark. 2015;



Mulabagal ve ark. 2009). Bu etkilerinin yanısıra, yapılan çalışmalar; idrar söktürücü, diyaforetik, iştah açıcı, parazitler için toksik, herbisidal (*Trifolium repens* L., *Lolium perenne* L., ve *Abutilon theophrasti* üzerinde), kuvvet verici, adet dönemini düzenleyici, ateş düşürücü ve safra söktürücü etkilerinin bulunduğunu göstermiştir (Sun ve ark. 2010; Baytop 1984; Edinçliler 2000; Jasniewski 1994). Hindibadan izole edilen laktosin ve laktokosiprin gibi seskiterpenlerin, antibakteriyel ve antimalaryal aktiviteleri bulunmakla birlikte, antifungal ve böcek öldürücü etkilerinin de olduğu ifade edilmektedir (Nandagopal ve Kumari, 2007).

Hindiba bitkisinin etanol ekstraktının karaciğerdeki glukoz-6-fosfataz aktivitesini azaltarak, streptosin yüklenmiş diyabetik farelerde anti-diyabetik ve hipolipidemik, antibakteriyel, antialerjik aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Pushparaj ve ark. 2007; Nishimura ve ark. 2000; Tursunay ve ark. 2009). Tousch ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da, hindibadan ekstrakte edilen kikorik asidin 2,3 dikaffeoil tartarik asit esterinin potansiyel bir antidiyabetik olduğu ilk kez bildirilmiş olup, hem kikorik asidin hem de klorojenik asidin insülin konsantrasyonunu stimüle edici etkisinin olduğu, kikorik asidin de insülin salgılama özelliği nedeni ile potansiyel antidiyabetik ajan olduğu ifade edilmektedir.

Hindiba ekstraktları canlandırıcı içecek üretimi için kullanılırken, hindiba köklerinden fruktoz şurubu ve etanol üretiminde faydalanılmaktadır (Bais ve Ravishankar 2001). Hindiba köklerinin, kanı detoksifiye edici ve iç organlar için dekonjestan özelliğinin olduğu bildirilmektedir (Nishimura ve ark., 2000). Kaynatılan yaprak ve kökler antiinflamatuvar etki gösterirken, yaprak ve köklerin zengin inülin içeriği de bifidojenik özellik göstermektedir (Koner ve ark. 2011). Hindiba kökleri, sakkaroz, glikoz ve fruktoz gibi karbonhidratların yanı sıra, fruktooligosakkaritler ve ortalama % 21 düzeyinde inulin içermektedir. Suda çözünür polifruktan olan inulin diyet lifi grubuna dahildir. İnulin zincirleri,  $\beta$ -(2-1) glikozidik bağlarla bağlanmış 100'ün üzerinde D-fruktofuronaz ünitelerinden meydana gelmektedir (Galazka, 2002). Bu bileşikler, patojenik ve kokuşmaya neden olan bakterileri inhibe etmekte ve yararlı mikrofloranın gelişimini (*Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*) arttırmaktadır. İlave olarak bağırsak peristaltliğini stimüle ederek, kalsiyum, magnezyum ve demir gibi minerallerin ve

özellikle B grubu vitaminlerin emilimini arttırmakta, amonyak gibi toksik metabolitlerin ve dışkıdaki  $\beta$ -glukoronidaz gibi zararlı enzimlerin miktarını azaltarak kolon kanseri ve hiperkolesterolemi riskini düşürmektedirler (Delzenne ve Roberfroid 1994; Torrent 2002; Król ve Zdunczyk 2005). Hindiba köklerindeki polifenolik asitlerin anti-viral, anti-karsinojenik, anti-bakteriyel, anti-inflamatuar, anti-fungal, anti-mutajenik, anti-oksidan, bağışıklık sistemini stimüle edici, kandaki kolesterol seviyesini azaltıcı özelliği ve HIV virüsüne karşı koruyucu etkileri de bulunmaktadır (Wang ve ark., 2003; Innocenti ve ark., 2005; Mares ve ark., 2005; Ren ve ark. 2008).

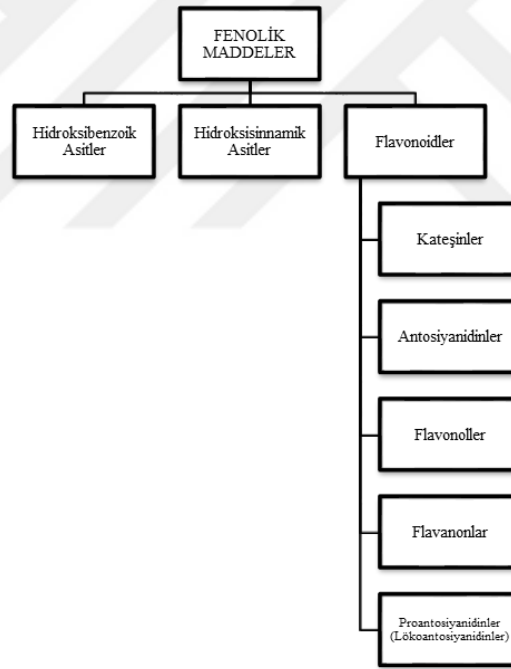
Yapılan çalışmalarda, hindiba yapraklarının sulu ekstraktının fenolik bileşen içeriği, serbest radikal süpürücü özelliği ve DNA hasarları ile protein oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi ile dikkat çekmektedir ve hindiba yaprakları besinsel veya farmasötik amaçlı doğal antioksidanların bir kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Ilaiyaraja ve Farhath 2010; Seeram ve Nair 2002; Seeram ve ark. 2003). In-vitro çalışmalar, hindiba bitkisinin içeriğindeki klorojenik asidin DNA hasarlarına neden olan prosesleri ve mutajenik ve karsinojenik n-nitroso bileşiklerinin sentezlenmesini inhibe ettiğini ortaya koymaktadır (Jueskiewicz ve ark. 2011). Bunun yanı sıra, kafeik asit ve türevlerinin, neoplastik hücrelere karşı in-vitro koşullarda çoğalmayı engelleyici aktivitesi bulunmaktadır (Rodriguez ve Hadley 2002). Diyetle alınan klorojenik ve kafeik asitler, toplam kolesterol ve LDL kolesterolün oksidasyonunu azaltarak kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaktadır (Balasundram ve ark. 2006). Yapılan diğer çalışmalarda, klorojenik asidin toplam kolesterol seviyelerini; serum ve karaciğer lipitlerinin birikimini azalttığı, insülin duyarlılığını artırarak minerallerin dağılımını iyileştirdiği, hiperlipidemik ve insüline dirençli farelerde glikoz toleransını arttırdığı tespit edilmiştir (Rodriguez ve Hadley 2002).

### **2.3. Fenolik Bileşikler**

Fenolik bileşikler bitkilerde fazla miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Böcek ve hayvan zararlılarına karşı bitkiyi korurlar. Fenolik bileşikler bitki kökenli pek çok gıdanın tat ve aromasına katkıda bulunabilirler. Özellikle gıdalarda acılık ve burukluğun kaynağıdır (Nizamlıoğlu ve Nas 2010). Fenolik maddeler, meyvelerde, sebzelerde,

yapraklarda, çekirdeklerde, çiçeklerde ve kabuklarda bulunmaktadır. Doğal yollarla tüketilerek insan beslenmesinin bir parçasını oluşturmalarının yanı sıra tıbbi amaçlı kullanımları da söz konusudur. Eski çağlardan bu yana, insanlar yaygın sağlık problemlerini iyileştirmek için bitkisel kaynaklardan faydalanmaktadır. Ancak, bu bileşiklerin sağlık üzerine önemi son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarla anlaşılmıştır (Shahidi, 1995).

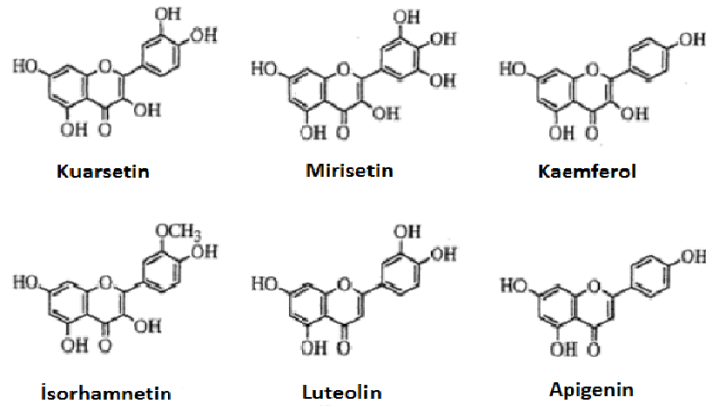
Basit fenolik maddeler ve polifenoller olmak üzere temelde iki gruba ayrılan fenolik maddeler, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamik asitler ve flavonoidler olmak üzere üç kısımda incelenmektedirler (Şekil 2.1). Flavonoidler ise kateşinler, antosiyanidinler, flavonoller, flavanonlar ve proantosiyanidinler (lökoantosiyanidinler) olmak üzere beş alt gruba ayrılmaktadırlar (Cemeroğlu ve Acar 1986).



**Şekil 2.1.** Fenolik maddelerin sınıflandırılması

Flavonoidlerin geniş bir grubu gıdaların renginden sorumludur. Flavonoidler arasında bulunan antosiyanidinler doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar (Cemeroğlu, 2004). Antosiyaninler, bitkilerdeki suda çözünebilen pigmentlerin en önemli grubudur ve antosiyanidinlerin glikozid formudur (Kong ve ark. 2003). Antosiyaninler doğal renk maddeleri olup

sebzeler, meyveler, meyve suları ve şarapların pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerinden sorumludurlar. Antosiyaninlerin, gıda endüstrisinde doğal renklendirici olarak kullanılması fenolik bileşiklerin önemini artırmaktadır. (Nizamlıoğlu ve Nas 2010). Diğer majör fenolikler arasında gallik asit, p-hidroksibenzoikasit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, ellagik asit, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, mirisetin, kuarsetin ve kaemferol vardır (Sellappan ve ark., 2002). Bazı fenolik asitlerin yapıları Şekil 2.2’de yer almaktadır.



**Şekil 2.2.** Fenolik asitlerin yapıları

Fenolik bileşikler doğal antioksidan madde özelliği de göstermektedirler. Serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak veya engelleyerek kanser, kalp hastalığı ve akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıkların oluşumuna engel olurlar (Nizamlıoğlu ve Nas 2010). Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle flavonoidler başta olmak üzere sinnamik asit ve türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Saldamlı, 2007). Bu bileşikler fonksiyonel özelliğini, birçok enzim sisteminde inhibitör ya da aktivatör olmaları, metal şelatı oluşturmaları ve serbest radikallerin süpürülmesinde rol almaları ile göstermektedir (Briviba, 1994). Antioksidanlar serbest radikallerin neden olduğu zararlı etkileri, düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) ve lipoprotein oksidasyonunu önleyerek sağlık üzerinde olumlu etkiler yapmaktadırlar (Kafkas ve ark., 2006)

Sebzelerdeki antioksidan ve fenolik bileşiklerin içeriği sağlıklı beslenme için önemlidir. Ancak, besinlerin biyoalınabilirlik özelliği gıdalarda mevcut antioksidan içeriği kadar önemlidir. Hindiba gibi bazı bitkilerde yüksek antioksidan kapasitesi yanında, vücut tarafından kullanılabilir ya da değerlendirilebilir antioksidan miktarı da çok önemlidir ve bu biyoalınabilirliği olarak kabul edilebilir.

#### **2.4. Hindibadaki Fenolik Bileşikler**

Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler, lezzet, tat ve renk gibi birçok organoleptik fonksiyondan sorumludur. Ayrıca vücut hücrelerinde, bazı enzimatik faaliyetlerin düzenlenmesinde rol oynamasının yanı sıra bazı bileşenlerin oksidasyonunu önlemede de antioksidan olarak rol almaktadır. 3,5-di-o-kaffeoil kuinik asit ve klorojenik asit, hindiba antioksidan aktivitesinin yaklaşık % 70'ini oluşturmaktadır (Fraissee ve ark., 2011).

Hindiba fenolik bakımından zengin bir sebzedir (Innocenti ve ark. 2005; Papetti ve ark. 2006). Bazı hindiba çeşitleri, tavsiye edilen günlük polifenol alımının %40'ını sağlayabilmektedir (Sinkovič ve ark. 2014). Literatür araştırmalarına göre; hindibadaki fenolik bileşen kompozisyonu, bitki türüne ve bitkinin kısımlarına (örneğin, kök, gövde, iç ve dış yapraklar) göre farklılık göstermektedir (Afzal ve ark. 2014; Innocenti ve ark. 2005; Sinkovič ve ark. 2014).

Yabani hindibanın, kafeik asit ve türevleri ile kuarsetin ve kaemferol glikozitler gibi flavonoidlerin varlığından dolayı yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. (Di Venere ve ark., 2009). Antioksidanlar, “oksidasyonu önemli düzeyde geciktiren ya da engelleyen maddeler” olarak tanımlanmaktadır (Huang ve ark. 2005). Fenoliklerin antioksidan etkileri ise, serbest radikalleri bağlamaları, metallere şelat oluşturmaları ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Frankel, 1999). Hindiba yaprak ve köklerinin aktif bileşenleri ise, klorojenik asidin kuinik ve kafeik asitlerle yaptığı bir ester olan monokaffeoilkuinik (MCQA), dikaffeoilkuinik asit-sinarin (DCQA) ve kikorik asittir (Hoste ve ark., 2006; Mulinacci ve ark., 2001, Haffke ve Engelhard, 1986; Clifford, 2000). Ayrıca *Cichorium intybus* L.'nin liyofilize

yaprak ekstraktinin fenoliklerinin ve antosiyaninlerin biyoaktivitesinin hidrosisinnamik asit, flavonoidler, klorojenik asit, kaftarik asit, kikorik asit ve luteolin hegzosidden meydana geldiđi görülmüştür (Dalar ve Konczak, 2014; Sinkovič ve ark., 2014).

Bu araştırmada; yeşil kırmızı ve beyaz hindiba türlerinin fizikokimyasal özellikleri, fenolik bileşikleri, antioksidan kapasitesi ve antioksidan bileşiklerinin biyoalınabilirliği incelenmiştir. Aynı zamanda fenolik bileşikler, Türkiye'de yetiştirilen bir tür olan kırmızı hindiba (*Cichorium intybus* L. (*Rubifolium Group*) '*A Palla Rossa*'), beyaz (Belçika) hindiba (*Cichorium intybus* L. '*Witlof*') ve yeşil (kıvırcık) hindiba (*Cichorium endivia* L. (*Crispum Group*) '*Gloire de l'Exposition*') türleri arasında karşılaştırılmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu araştırmada kullanılan hindiba türleri Bursa Metro Grossmarket'ten temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan hindiba örnekleri Çizelge 3.1 ' de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Araştırmada kullanılan hindiba örnekleri

No	Örnek	Kod	Tür
1	Beyaz Hindiba	B	<i>Cichorium intybus L. 'Witlof'</i>
2	Yeşil (Kıvırcık) Hindiba	Y	<i>Cichorium endivia L. (Crispum group) 'Gloire de l'Exposition'</i>
3	Kırmızı Hindiba	K	<i>Cichorium intybus L. (Rubifolium group) 'A Palla Rossa'</i>

Beyaz hindibaların (*Cichorium intybus L. 'Witlof'*) yetiştiriciliği Nomad Tarım tarafından İstanbul-Silivri'de yapılmaktadır. Kırmızı hindiba (*Cichorium intybus L. (Rubifolium Group) 'A Palla Rossa'*) ve yeşil (kıvırcık) hindiba (*Cichorium endivia L. (Crispum Group) 'Gloire de l'Exposition'*) çeşitlerinin yetiştiriciliği ise Erüst Tarım tarafından Antalya bölgesinde yapılmaktadır. Hindiba çeşitlerinin görselleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4'te verilmiştir. Optimum olgunlukta hasat edilen hindiba çeşitleri analizleri gerçekteştirilinceye kadar -24°C'de muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.1.** Analizlerde kullanılan hindiba türleri



Şekil 3.2. Beyaz hindiba (*Cichorium intybus* L. 'Witlof')



Şekil 3.3. Yeşil (kıvrıkcık) hindiba (*Cichorium endivia* L. (Crispum Group) 'Gloire de l'Exposition')



Şekil 3.4. Kırmızı hindiba (*Cichorium intybus* L. (Rubifolium Group) 'A Palla Rossa')



Hindiba örneklerinin bir kısmı toplam kurumadde, suda çözünen kurumadde, kül, titre edilebilir asitlik, toplam antosiyanin tayinleri ile toplam fenol içeriğinin belirlenmesi ve antioksidan kapasite analizlerinde kullanılırken, bir kısmı da fenolik madde kompozisyonunun HPLC ile belirlenmesinde kullanılmıştır.

Analizlerde kullanılacak hindiba örneklerinin dış yaprakları temizlenmiş, yeşil hindiba örnekleri köklerinden ayrılmış, daha sonrasında örneklerin her bölgesinden alınan hindiba yaprakları porselen havanda ezilerek homojen hale getirilmiştir.

Yapılan fizikokimyasal ve kromatografik analizler, Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyonda kullanılan etanol Fluka (Sigma-Aldrich Co. LLC, USA)'dan; antioksidan kapasite tayinlerinde kullanılan 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Sigma-Aldrich Co. LLC'den, potasyum persülfat Merck Co. (Darmstadt, Almanya)'den; spektrofotometrik toplam fenol analizinde kullanılan folin-ciocalteu reaktifi ve Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Merck Co. (Darmstadt, Almanya)'dan, HPLC ile fenolik madde tayininde kullanılan gallik asit (91,215), trans-kafeik asit (51,868), (+)-kateşin (43,412), ferulik asit (46,278), mirisetin (72,576), kaemferol (96,353), resveratrol (34,092) Fluka (St. Louis, MO, USA) firmasından; kuersetin (Q4951) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından; kafeik asit (C0625), şiringik asit (S6881), p-kumarik asit (C9008), naringin (N1376), hesperidin (H5254), neohesperidin (N1887), rutin hidrat (R5143) Sigma (St. Louis, MO, USA) firmasından; transferulik asit (128,708) vanilik asit (H36001) Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından; klorojenik asit (0050-05-09) HWI Analytic GmbH (Ruelzheim, Germany) firmasından; protokateşik asit (99-50-3) Alfa Aser GmbH & Co. KG. (Karlsruhe, Germany) firmasından temin edilmiştir. . Analizlerde kullanılan HPLC saflığında asetonytril (CH<sub>3</sub>CN), metanol (CH<sub>3</sub>OH), formik asit Merck Scientist firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada, HPLC (Thermo Scientific™ Dionex™ UltiMate™ 3000 RSLC system, including Autosampler, and DAD detector Thermo Scientific™ Dionex™ Chromeleon™ Chromatography Data System Software 7.1.), RP-C18 HPLC kolon (250x4.6 mm, Agilent, CA, USA), dedektör (DAD-3000 Detector), pompa (LPG-3400SD PUMP), örnekleyici (ACC-3000T Autosampler), filtre (Thermo Scientific™ Target2™ Nylon Syringe), 0.45 µm, 30 mm (P/N F2500-1) membran filtreler, çalkalamalı su banyosu (Julabo SW22, JULABO Labortechnik GmbH, Seelbach, Almanya), santrifüj (Heraeus Megafuge 40R Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc.,USA), spektrofotometre (Optizen 322OUV, Optizen Labs LLC, Warsaw, Polonya) kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Toplam Kurumadde Tayini**

Kurumadde tayini, AOAC Metot No: 984.25'e göre yapılmıştır (AOAC 1990).

### **3.2.2. Suda Çözünen Kurumadde Tayini**

Suda çözünen kurumadde tayini, AOAC Metot No: 970.59'a göre yapılmıştır (AOAC 1990).

### **3.2.3. Kül Tayini**

Kül tayini, AOAC Metot No: 940.26'ya göre yapılmıştır (AOAC 1990).

### **3.2.4. pH Tayini**

pH tayini, AOAC Metot No: 981.12'ye göre yapılmıştır (AOAC 1990).

### **3.2.5. Titre Edilebilir Asitlik Tayini (g/100g)**

Titre edilebilir asitlik tayini, AOAC Metot No: 942.15'e göre yapılmıştır (AOAC 1990).

### **3.2.6. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi**

#### **Ekstrakte Edilebilir Fenolik Madde Ekstraksiyonu**

Hindiba örneklerinin ekstrakte edilebilir fenolik madde ekstraksiyonu, Vitali ve ark. (2009)'nın yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem doğrultusunda homojen haldeki örneklerden 10 g tartılmış ve üzerine 1:80:10 oranında 20 mL HCl<sub>kont</sub>/metanol/su çözeltisi ilave edilmiştir. Örnek ve çözelti karışımı çalkalayıcı su banyosunda (JB50-D; Shanghai, China) 20 °C'de 2 saat çalkalanmıştır. Elde edilen karışım süre sonunda 3500 rpm hızda 10 dk santrifüjlenmiştir (Sigma 3K 30, Germany). Santrifüj işleminden sonra berrak kısım ayrılmış ve analizler gerçekleştirilinceye kadar -24°C'de muhafaza edilmiştir.

#### **Hidrolize Edilebilir Fenolik Madde Ekstraksiyonu**

Hindiba örneklerinin hidrolize edilebilir fenolik madde ekstraksiyonu için Vitali ve ark. (2009)'nın geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. Serbest fenolik madde ekstraksiyonunda, santrifüj işleminden sonra kalan tortu (residu) ağzı teflon kapaklı pyrex tüplere konulmuş ve üzerine 20 ml 10:1 oranında metanol/H<sub>2</sub>SO<sub>4con</sub> çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım, çalkalayıcı su banyosunda, 85 °C'de 20 saat çalkalanmış ve süre sonunda 3500 rpm hızda 10 dk santrifüjlenmiştir (Sigma 3K 30, Germany). İşlem sonrası elde edilen berrak kısım analizler gerçekleştirilinceye kadar -24°C'de muhafaza edilmiştir.

## Analiz Yöntemi

Hindiba örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, Apak ve ark. (2008)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yöntemde Folin Ciocalteu çözeltisi kullanılarak, 750 nm dalga boyunda spektrofotometrik analiz yapılmıştır.

Analizde Lowry A çözeltisi ve Lowry B çözeltisi hazırlanmıştır. Lowry A ve Lowry B çözeltileri 50:1 (v/v) oranında karıştırılarak Lowry C çözeltisi elde edilmiştir.

*Lowry A çözeltisi; 0.1 mol/L NaOH içinde %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> olacak şekilde hazırlanmıştır.*

*Lowry B çözeltisi; %1'lik NaKC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> içinde %0.5 CuSO<sub>4</sub> olacak şekilde hazırlanmıştır.*

Deney tüpüne 100 µL hindiba ekstraktlarından konulmuş ve üzerine 2 mL'ye tamamlayacak şekilde saf su ve 2.5 mL Lowry C çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi ardından 10 dk beklenmiş ve süre sonunda 1:3 oranında su ile seyreltilmiş Folin Ciocalteu reaktifinden 0.25 mL ilave edilmiştir. Karıştırma işlemi sonrasında karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda oluşan mavi renk için örneklerin ve standartların absorbans değerleri spektrofotometrede (Optizen 3220UV, Optizen Labs LLC, Warsaw, Polonya) 750 nm dalga boyunda okunmuştur. Folin Ciocalteu yöntemi uygulanan toplam fenolik madde tayini üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde tayininde standart madde olarak gallik asit kullanılmıştır. Kalibrasyon grafiği için 5-50 mg/L konsantrasyon aralığında gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır.

Hindiba ekstraktlarının spektrofotometrik okumalarının yapılması sırasında gerçekleştirilen işlem basamakları gallik asit standartına uygulanmış ve en küçük kareler yöntemiyle doğru denklemi hesaplanmıştır. Ekstraktlar için toplam fenol

miktarları hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak mg gallik asit/100g örnek olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.7. Toplam Antosiyanin Miktarının Belirlenmesi**

Hindiba örneklerindeki toplam antosiyanin miktarı pH-diferansiyel metoduyla tayin edilmiştir (Sellappan ve ark., 2002; Wrolstad ve ark., 2005). Metodun ilkesi monomerik antosiyaninlerin pH 1.0'da renkli oksonyum formunun, pH 4.5'te ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre ortam pH 1.0 ve pH 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılıdır. Ekstraktlardaki antosiyanin konsantrasyonu siyanidin-3-glukozid eşdeğeri olarak hesaplanmış, taze ve kuru ağırlıkta antosiyanin konsantrasyonu mg / kg olarak ifade edilmiştir.

### **Örnek Hazırlama**

Antosiyaninlerin hindiba örneklerinden ekstrakte edilmesi için % 95'lik etil alkol ile 1.5 N HCl çözeltisinin 85:15 oranında karıştırılmasıyla elde edilen çözelti kullanılmıştır. Toplam antosiyanin tayini için 100 g hindiba örneği blender haznesine tartılmış, tartılan örneğin üzerine 100 mL ekstraksiyon çözeltisi ilave edilerek blender maksimum hızda birkaç dakika çalıştırılmış ve örnek homojen hale getirilmiştir. Örnek bir behere aktarılıp ağzı parafilm ile kapatıldıktan sonra +4 °C'de (buzdolabında) bir gece bekletilmiştir. Süre sonunda beher içeriği, buchner hunisi yardımıyla whatman no:1 filtre kağıdından filtre edilmiş ve elde edilen ekstrakt 500 mL'lik ölçü balonuna aktarılarak hacme tamamlanmıştır. Ekstrakt 0.45 µm gözenek çapındaki polivinilklorür filtreden geçirilerek toplam antosiyanin analizine hazır hale getirilmiştir.

### **Ölçüm ve Hesaplama**

Spektrofotometrik ölçüm işleminden önce seyreltme faktörü belirlenmiştir. Örnekler, belirlenen seyreltme faktörüne uygun olarak potasyum klorür tampon (pH 1.0) ve sodyum asetat tampon ile (pH 4.5) aynı oranda seyreltikten sonra spektrofotometrede

(UV Mecasys Optizen 3220) 510 ve 700 nm dalgaboylarında ölçüm yapılmıştır. Seyreltilen örneğin absorbanısı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 1.0}} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 4.5}} \quad (3.1)$$

$$\text{Toplam antosiyanin miktarı (mg/kg)} = A \times MW \times DF \times 100 (\epsilon \times 1) \quad (3.2)$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

A : ( $A_{\text{max abs}} - A_{700}$ ) pH 1.0

MW : Baz alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı (Siyanidin -3-glikozit için = 449.2)

SF : Seyreltme faktörü

$\epsilon$  : Molar absorbanis katsayısı (Siyanidin -3-glikozit için = 26.900)

W : Örnek miktarı

V : Hacim, mL

### **3.2.8. ABTS, DPPH ve CUPRAC Yöntemleri ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi**

Hindiba örneklerinin fenolik bileşiklerinin antioksidan kapasitesi ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve CUPRAC (bakır iyon indirgeme antioksidan kapasitesi) metotları olmak üzere üç farklı metot ile belirlenmiştir. Analizlerde Apak ve ark. (2008) ve Boskou ve ark. (2006) tarafından geliştirilen analitik yöntemler kullanılmıştır. Analizler üç paralelli yapılmış olup, sonuçlar g ağırlık başına  $\mu\text{mol}$  troloks eşdeğeri (TE) olarak hesaplanmıştır.

#### **ABTS Yöntemi ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi**

ABTS yönteminin ilkesi, ABTS ve potasyum persülfat arasında gerçekleştirilen reaksiyon sonucu oluşan mavi/yeşil renkli  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  radikal katyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının sentetik bir antioksidan olan troloksun standart miktarıyla kıyaslanarak bağıl ölçümünün sağlanmasına dayanmaktadır (Cemeroğlu 2010).

Analizde kullanılan ABTS çözeltisi, 7 mM ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ile 2,45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>' ın karıştırılarak karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle elde edilmiştir. ABTS çözeltisinin analize hazır hale gelebilmesi için, çözelti % 96'lık etanolle 1:10 oranında seyreltilmiştir.

*ABTS çözeltisi için; 38.4 mg ABTS ve 6.6 mg K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> tartılmış olup 10 mL balon jodede hacme tamamlanmıştır.*

Analizde 4 mL etanol ve 1 mL ABTS karıştırılarak 6. dk sonunda 734 nm dalga boyunda kör örnek için absorbans değeri okunmuştur (A<sub>kör</sub>). Ardından her bir hindiba türü için x mL ekstrakt alınmış üzerine (4-x) mL etanol ve 1 mL ABTS çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış ve 6 dk sonunda 734 nm' de absorbans değeri okunmuştur (A<sub>örnek</sub>).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{kör} - A_{örnek}}{A_{kör}} \times 100 \quad (3.3)$$

Ölçümler sonucunda hem ekstraktlar hem de fenolik bileşikler için % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

ABTS yöntemi ile antioksidan kapasitenin belirlenmesinde standart olarak troloks kullanılır. Kalibrasyon grafiği, 0.00625-0.05000 mg aralığında troloks çözeltileri ile çizilmiştir ve bu grafikten yararlanılarak ekstraktların antioksidan aktivite tayinleri  $\mu$ mol troloks/g örnek olarak hesaplanmıştır.

### **DPPH Yöntemi ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi**

Bu yöntem, antioksidan bileşiklerin mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH radikalini indirgeme yetenekleri ile ilişkilidir. Mor renkli DPPH radikali, 515-517 nm dalgaboyunda kuvvetli bir absorpsiyon göstermekte ve bu durum spektrofotometrede kolaylıkla belirlenebilmektedir (Prior ve ark. 2005; Sanchez-Moreno 2002). Yöntem temel olarak, metanol ya da etanolde hazırlanan DPPH radikal çözeltisi üzerine test bileşiğinin eklenmesi sonucu radikal çözeltisinin mor renginde meydana gelen

azalmanın spektrofotometrede 515-517 nm dalgaboyunda ölçülmesine dayanmaktadır (Cemeroğlu 2010).

*DPPH çözeltisi; 0.0394 g DPPH, 100 mL'lik bir ölçü balonunda metanol ile hacme tamamlanmıştır. 1 mM konsantrasyona sahip bu çözeltiden 6 mL alınıp 100mL'ye tamamlanarak  $6 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonunda DPPH çözeltisi hazırlanmıştır.*

0.1 mL metanol (kontrol) ve hindiba örnekleri üzerine 3.9 mL DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler 30 dk süreyle karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüp içeriklerinin absorbans değerleri spektrofotometrede (Optizen 322OUV, Optizen Labs LLC, Warsaw, Polonya) 515 nm dalgaboyunda okunmuştur ve % inhibisyon değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [1 - (A_p/A_{DPPH})] \times 100 \quad (3.4)$$

$A_p$  : 515 nm dalga boyunda örneğin absorpsiyonu

$A_{DPPH}$  : 515 nm dalga boyunda kontrolün absorpsiyonu

### **CUPPRAC Yöntemi ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi**

Hindiba örneklerinin antioksidan kapasitesinin CUPPRAC yöntemi ile belirlenmesinde Apak ve ark. (2008)'nin geliştirdiği yöntem izlenmiştir. Analizde  $CuCl_2$ , neokuproin, amonyum asetat çözeltileri aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

*Cu(II) klorür çözeltisi: 0.4262 g  $CuCl_2$  tartılarak 100 mL ölçü balonuna alınmış ve saf su ile çizgisine tamamlanarak hazırlanmıştır.*

*Neokuproin çözeltisi: 0.0390 g neokuproin 25 mL ölçü balona tartılmış ve % 96'lık etil alkolle çizgisine tamamlanarak hazırlanmıştır.*

*Amonyum asetat çözeltisi: 7.708 g amonyum asetat 100 mL ölçü balonuna alınmış ve saf su ile çizgisine tamamlanarak hazırlanmıştır.*



CUPRAC yönteminde standart olarak troloks çözeltisinden yararlanılmaktadır. Çözelti hazırlanırken 0.0256 g troloks tartılmış ve 100 mL metanolde çözdürülmüştür. Hazırlanan bu çözeltiden 10, 25, 50, 100, 150 ve 300 µL konsantrasyonlarında alınmış ve saf su ile toplam hacim 1 mL olacak şekilde tamamlanmıştır.

Hazırlanan saf su, troloks çözeltisi karışımına toplam hacim 4 mL olacak şekilde 1'er mL CuCl<sub>2</sub>, neokuproin ve amonyum asetat çözeltilerinden ilave edilmiştir. Karıştırıldıktan sonra 30 dk karanlıkta bekletilmiş ve antioksidan bulunmayan örneğe karşı 450 nm dalgaboyunda absorbans değerleri okunmuştur.

Kalibrasyon grafiği için 0.0073-0.0430 mg aralığında troloks çözeltileri hazırlanmış ve en küçük kareler yöntemiyle doğru denklemi hesaplanmıştır. Ekstraktlar için antioksidan aktivite değeri, hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak µmol troloks/g örnek olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.9. Antioksidan Bileşenlerin Biyoalınabilirliğinin Belirlenmesi**

Antioksidan bileşenlerin biyoalınabilirliğinin belirlenebilmesi için yapay koşullarda mide ve bağırsak ortamı yaratılmıştır. Analizde Vitali ve ark. (2009)'nın geliştirdiği yöntem kullanılmıştır.

#### **Mide Ortamı**

500 mg homojenize edilmiş örnek üzerine 10 mL saf su ve 0.5 mL pepsin çözeltisi eklenmiştir. Karışımın pH'sı 5 mol/L HCl çözeltisi kullanılarak pH 2 'ye ayarlanmış ve karışım 37 °C'de 1 saat çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir.

*Pepsin çözeltisi; 2 g pepsin tartılarak 100 mL ölçü balonuna konulmuş, 0.1 mol/L HCl asit çözeltisi ile çizgisine tamamlanarak hazırlanmıştır.*

## **Bağırsak Ortamı**

37 °C’de 1 saat çalkalamalı su banyosunda bekletilen örnek, saf su ve pepsin karışımı üzerine 1 M NaHCO<sub>3</sub> eklenerek pH 7.2’ye ayarlanmıştır. Üzerine 2.5 mL bile/pankreatin solüsyonu ve 2.5 mL NaCl/KCl eklenerek 37 °C’de 2.5 saat bekletilmiştir. Örnekler 3500 rpm’de 10 dk santrifüjlenmiş ve üzerine trikloroasetik asit (%20 w/w) eklenmiştir.

*Bile/pankreatin solüsyonu; 0.5 g pankreatin ve 3 g bile tuzunun tartılıp, 250 mL’lik ölçü balonunda çizgisine 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> çözeltisiyle tamamlanmasıyla hazırlanmıştır*

*NaCl/KCl; 100 mL için 0.7 g NaCl ve 0.04 g KCl tartılmış ve ayrı ayrı çizgilerine saf su ile tamamlanarak hazırlanmıştır.*

Elde edilen ekstraktlar üzerine ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleri uygulanarak toplam antioksidan kapasiteleri hesaplanmıştır.

### **3.2.10. Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi**

#### **Ekstraksiyon Yöntemi**

Araştırmada kullanılan hindiba bitkilerinin ekstraksiyonunda Ehlenfeldt ve Prior (2001) ve Prior ve ark., (2001)’nin metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Hindiba örnekleri havanda ezilerek homojen hale getirilmiş ve homojen haldeki hindiba bitkilerinden 5’er g örnek tartılmıştır. Örnekler üzerine 15 mL %4 formik asit içeren metanol çözeltisi ilave edilmiş ve 25°C sıcaklığa ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 15 saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda 15 dk ultrasonik su banyosunda bekletilen örnekler 2000 rpm devirde 40 °C’de 10 dk santrifüjlenmiştir (Sigma 3K30, UK). Elde edilen berrak kısımlar 6000 rpm devirde 40°C’de 20 dk süreyle ikinci kez santrifüjlenmiştir. Son olarak berrak kısımlar membran filtreden (Sigma Z290793, pore size 0.45 µm, diam. 47 mm) geçirilerek hindiba bitkisinin fenolik bileşiklerinin HPLC ile belirlenmesinde

kullanılmak üzere ayrı ayrı örnek tüplerine konulmuştur. Ekstraktlar -80°C sıcaklıkta derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

### **Analiz Yöntemi**

Ekstraktlar tekrar 0.45 µm'lik membran filtreden (Thermo Scientific™ Target2™ Nylon Syringe Filters, 0.45µm, 30 mm (P/N F2500-1)) geçirilmiştir. Fenolik kompozisyonun HPLC ile belirlenmesinde Sellappan ve ark., (2002), You ve ark. (2011), Määttä-Riihinen ve ark. (2005), Willeman ve ark., (2014)'nın metodu modifiye edilerek kullanılmıştır.

Fenolik ekstraktlar, Autosampler (ACC-3000T), pompa (LPG-3400SD), DAD detektörü (DAD-3000); (Thermo Scientific™ Dionex™ Chromeleon™ Chromatography Data System Software 7.1) ve ters fazlı C18 kolon (250x4.6 mm, Agilent, CA, ABD) bulunduran Thermo Scientific™ Dionex™ UltiMate™ 3000 RSLC sistemi ile donatılmış HPLC sisteminde analiz edilmiştir. Fırın ve örnekleyici sıcaklığı 40°C ve 25°C'ye ayarlanmıştır.

Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve konsantrasyonlarının hesaplanması bileşiklerin maksimum absorbans değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Araştırılan fenolik bileşikler ve analiz edildikleri dalgaboyları aşağıdaki gibidir.

**280 nm:** *şiringik asit, galik asit, (+) - kateşin, kafeik asit, vanilik asit, protokateşik asit, naringin, hesperidin ve neohesperidin*

**320 nm:** *trans-ferulik asit, trans-kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve resveratrol*

**360 nm:** *mirisetin, rutin hidrat, kaemferol ve kuarsetin*

Metanol:su:formik asit (3.5/96.4/0.1, v/v/v, solvent A) ve asetonitril: formik asit (98/2, v/v, solvent B) mobil fazdan oluşan gradient elusyon kullanılmıştır. B kompozisyonu 1

dakikada % 0.5, 4 dakikada % 2, 15 dakikada % 3, 20 dakikada % 16, 15 dakikada % 35, 9 dakikada % 62, 4 dakikada % 96, 4 dakikada % 99.5 ve 8 dakikada da % 0.5 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20  $\mu$ L, akış hızı oda sıcaklığında 0.7 mL/dakika olup, tek bir run suresi 80 dakikadır.

Fenolik bileşikler harici bir standart (external standart) kullanılarak kalibre edilmiştir. Fenolik ekstraktlar ve standartlar aynı koşullar altında analiz edilmiş ve enjeksiyonlar arasında 10 dakikalık denge suresi verilmiştir. Tüm analizler 3 paralelli yapılmıştır.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Hindiba örnekleri toplam kurumadde, suda çözünen kurumadde, kül, pH, titre edilebilir asit, toplam antosiyanin miktarları ve toplam fenol içerikleri , antiosidan kapasiteleri ile antioksidan bileşenlerin biyoalınabilirliği yönünden karşılaştırılmış, hindiba örneklerinin fenolik bileşikleri HPLC ile belirlenip miktar ve tür bazlı değişikliği tespit edilmiştir.

### 4.1. Toplam Kurumadde Tayini

Hindiba örneklerinin toplam kuru madde miktarı için genel olarak benzer sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Kırmızı hindiba türünde en yüksek toplam kuru madde miktarına rastlanırken ( $6.44 \pm 0.11^a$ ), bunu sırasıyla yeşil ( $6.03 \pm 0.09^a$ ) ve beyaz ( $5.65 \pm 0.13^a$ ) hindiba türleri takip etmiştir. Jurgonbski ve ark. (2011)'nin yaptığı kurumadde tayininde kurumadde oranı hindiba yapraklarında  $95.0 \pm 0.20^c$  olarak bulunmuştur. Konu ile ilgili bir başka çalışmada (Kaya ve ark. 2002), % nem miktarı yabancı hindiba türünde % 5 olarak tespit edilmiştir. Sonuçların bizim çalışmamıza kıyasla bu kadar farklı çıkmasının sebebi çalışmalarda yabancı hindibanın kurutulmuş örnekleri üzerinde analizlerin yapılmış olmasıdır.

### 4.2. Suda Çözünen Kurumadde Tayini

Hindibaların suda çözünür kurumadde miktarları refraktometre ile belirlenmiştir ve briks olarak ifade edilmiştir. Beyaz ve yeşil hindiba numunelerinin briks değerleri birbirine yakın çıkarken kırmızı hindiba numunesi  $2.33 \pm 0.01^b$  briks değeri ile en düşük brikse sahip numunedir (Çizelge 4.1).

### 4.3. Kül Tayini

Hindiba örneklerinde kül miktarı, türe göre değişiklikler göstermektedir. Yeşil hindiba örneği  $1.30 \pm 0.02^a$  g/100 g ile en fazla kül içeriğine sahip tür olarak tespit edilmiştir. Bunu da sırasıyla kırmızı ( $1.01 \pm 0.04^b$ ) ve beyaz ( $0.65 \pm 0.02^c$ ) hindiba örnekleri

izlemektedir (Çizelge 4.1). Kaya ve ark. (2002)'nin kurutulmuş yabani hindiba örneklerinde yaptıkları kül tayininde, örneklerin % 16 kül içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada (Jurgonbski ve ark. 2011), hindiba yapraklarının ve köklerinin kül miktarı sırasıyla  $3.8\pm 0.03^d$  ve  $6.6\pm 0.06^c$  g/100 g olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** Hindiba örneklerinin briks, toplam kurumadde ve kül miktarları

N o	Kod	Briks (g/100mL )	Toplam Kurumadde (g/100 g)	Kül (g/100g)
1	B	$5.60\pm 0.01^a$	$5.65 \pm 0.13^a$	$0.65\pm 0.02^c$
2	Y	$5.73\pm 0.01^a$	$6.03 \pm 0.09^a$	$1.30\pm 0.02^a$
3	K	$2.33\pm 0.01^b$	$6.44 \pm 0.11^a$	$1.01\pm 0.04^b$

#### 4.4. pH Tayini

Analiz edilen hindiba örneklerinin pH aralığı 5.76 - 6.13 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Kırmızı hindiba örneği pH 5.76 ile en asidik hindiba özelliği gösterir iken yeşil hindiba örneği pH 6.13 ile nötre en yakın hindiba örneğidir. Kaya ve ark. (2002)'nin çalışmalarında hindiba pH değeri 5.59 olarak rapor edilmiştir. Aynı metot uygulanarak yapılan bu çalışma sonucu tespit edilen pH değeri bizim bulduğumuz pH aralığına yakın olmakla beraber aradaki sapmaya tür bazlı değişikliğin sebep olduğu düşünülmüştür.

#### 4.5. Titre Edilebilir Asitlik Tayini (g/100g)

Analizler 3 paralelde yapılmış olup harcanan NaOH miktarı esas alınarak hesaplanan toplam asit miktarları Çizelge 4.2'de kikorik asit cinsinden g/100g olarak verilmiştir. Toplam asitlik miktarı 0.13 – 0.24 g/100 g aralığında tespit edilmiş olup, en yüksek asitliğe  $0.24\pm 0.04^a$  değeri ile beyaz hindiba numunesi sahiptir. Kırmızı hindiba numunesinin toplam asitliği ise  $0.21\pm 0.04^a$  g/100g ile beyaz hindiba numunesine yakındır.  $0.13\pm 0.01^b$  g/100g ile yeşil hindiba en düşük toplam asitliğe sahip numunedir.

**Çizelge 4.2.** Hindiba örneklerinin pH değerleri ve toplam asitlikleri

No	Kod	pH	Toplam asitlik (g/100g)
1	B	6.02± 0.01 <sup>b</sup>	0.24±0.04 <sup>a</sup>
2	Y	6.13± 0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>
3	K	5.76± 0.01 <sup>c</sup>	0.21±0.04 <sup>a</sup>

#### 4.6. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Hindiba örneklerinin hidrolize edilebilir toplam fenol içeriği Çizelge 4.3' te, ekstrakte edilebilir toplam fenol içeriği Çizelge 4.4' te gösterilmiştir. Bu çalışmada analiz edilen hindiba örneklerinin toplam fenol içerikleri 3315.01-8855.50 mg/100 g GAE dw (ekstrakte edilebilir) ve 4183.51-7005.51 mg/100 g GAE dw (hidrolize edilebilir) olarak belirlenmiştir. Ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir hindiba toplam fenolik içerikleri arasında farklar ( $p<0.05$ ) gözlemlenmiştir ve diğer örneklerle kıyasla ekstrakte edilebilir kırmızı hindiba fenoliklerinin toplam içeriğinin, daha yüksek ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Jurgonbski ve ark. (2011)'nin çalışmalarında toplam fenol içeriği  $4.22\pm 0.07^b$  g/100 g olarak belirlenmiştir. Bu değer bizim değer aralığımızda yer almakla beraber değişik yöntemlerin kullanılmasından kaynaklanan farkların olması beklenen bir sonuçtur.

**Çizelge 4.3.** Ekstrakte edilebilir fenolik bileşikler ve antioksidan kapasite

No	Kod	Toplam Fenolik Bileşik (mg/100g GAE Dw)	Antioksidan Kapasite ( $\mu$ mol TE/g dw)		
			ABTS	CUPRAC	DPPH
1	B	3315.01±14.59 <sup>c</sup>	138.52±5.14 <sup>c</sup>	126.02±6.20 <sup>c</sup>	241.50±3.13 <sup>a</sup>
2	Y	4051.65±23.71 <sup>b</sup>	161.80±8.22 <sup>b</sup>	278.88±4.14 <sup>b</sup>	233.66±9.18 <sup>b</sup>
3	K	8855.50±29.43 <sup>a</sup>	179.61±7.78 <sup>a</sup>	570.54±11.29 <sup>a</sup>	205.27±7.50 <sup>c</sup>

ABTS (2,2'-azinobis-(3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) yöntemi, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi, CUPRAC (Bakır İyon İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) yöntemi

**Çizelge 4.4.** Hidrolize edilebilir fenolik bileşikler ve antioksidan kapasite

No	Kod	Toplam Fenolik Bileşik (mg/100g GAE Dw)	Antioksidan Kapasite ( $\mu\text{mol TE/g dw}$ )		
			ABTS	CUPRAC	DPPH
1	B	4183.51 $\pm$ 12.14 <sup>c</sup>	82.49 $\pm$ 3.52 <sup>b</sup>	207.46 $\pm$ 6.43 <sup>c</sup>	117.01 $\pm$ 6.25 <sup>c</sup>
2	Y	6887.76 $\pm$ 33.45 <sup>b</sup>	82.41 $\pm$ 1.45 <sup>b</sup>	328.63 $\pm$ 5.39 <sup>b</sup>	129.64 $\pm$ 8.14 <sup>b</sup>
3	K	7005.51 $\pm$ 28.32 <sup>a</sup>	105.65 $\pm$ 6.41 <sup>a</sup>	425.14 $\pm$ 12.84 <sup>a</sup>	220.36 $\pm$ 9.26 <sup>a</sup>

ABTS (2,2'-azinobis-(3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) yöntemi, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi, CUPRAC (Bakır İyon İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) yöntemi

#### 4.7. Toplam Antosiyanin Miktarının Belirlenmesi

Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir (Nizamlioğlu ve Nas 2010). Bu nedenle en yüksek antosiyanin miktarı 12.80 $\pm$ 1.93<sup>a</sup> mg/kg ile kırmızı hindibada tespit edilir iken yeşil hindiba örneğinde antosiyanin miktarı tespit edilememiştir. Hindiba örneklerinin toplam antosiyanin miktarları Çizelge 4.5'te mg/kg olarak verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Hindiba örneklerinin toplam antosiyanin miktarları

No	Kod	Toplam antosiyanin miktarı (mg/kg)
1	B	3.21 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>
2	Y	Nd*
3	K	12.80 $\pm$ 1.93 <sup>a</sup>

#### 4.8. ABTS, DPPH ve CUPRAC Yöntemleri ile Antiosidan Kapasitenin Belirlenmesi

Antioksidan kapasitenin ölçümü, ölçüm prensiplerine, analiz şartlarına ve antioksidan bileşenlere değişen yanıtlarına göre farklılık göstermektedir (Sariburun ve ark. 2010). Ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir hindiba fenoliklerinin antioksidan kapasiteleri Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Bu sonuçlar ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir kırmızı hindiba fenoliklerinin (179.61-105.65  $\mu\text{mol TE/g}$  ve 570.54-425.14  $\mu\text{mol TE/g}$ ), diğer örneklere kıyasla daha yüksek TEAC<sub>ABTS</sub> ve TEAC<sub>CUPRAC</sub>



değerlerine sahip olduğunu göstermiştir. Kırmızı hindiba kültürü, iyi bilinen antioksidan özelliği olan diğer yiyeceklerden daha üstün ve daha düşük maliyetlidir (Rossetto ve ark. 2005). Önceki araştırmalar göstermektedir ki kırmızı hindiba türü diğer hindiba türleri içerisinde en yüksek DPPH temizleme yeteğine sahip hindiba türüdür (Papetti ve ark. 2006).

ABTS, CUPRAC ve DPPH metotları elektron transfer ölçümlerinde aynı mekanizma reaksiyonuna sahiptir (Apak ve ark. 2008; Fidrianny ve ark. 2013) fakat bu çalışmanın sonuçları, ekstrakte edilebilir beyaz hindiba örnekleri haricinde, hindiba örneklerinde, CUPRAC yönteminin ABTS ve DPPH yöntemlerinden daha yüksek antioksidan kapasite değerleri ortaya koyduğunu göstermiştir. Hindiba örneklerinde, CUPRAC yöntemi değerleri 126.02-570.54  $\mu\text{mol TE/g}$  (ekstrakte edilebilir fenolikler) ve 207.46-425.15  $\mu\text{mol TE/g}$  (hidrolize edilebilir fenolikler) değer aralığında bulunmuştur. Bu durum, fenolik asitlerin (hidroksisinnamik asit) yapısal özelliklerinin, normal olarak, iki -OH grubu taşıyan kafeik ve klorojenik asitlerin, monofenolik (tek -OH grubu taşıyan) ferulik ve p-kumarik asitlerden daha fazla TEAC katsayıları sergilemesi gerektiği gerçeği ile açıklanabilir. Bu nedenle, yapısal gereklilikler, hidroksisinnamik asitlerin, ABTS yöntemi ile değil, TEAC düzenine sahip CUPRAC yöntemi ile ölçülmesi gerektiğini belirtir (Apak ve ark. 2008).

Jurgonbski ve ark. (2011)'nin hindiba örneğinin yapraklarında DPPH yöntemi ile yaptığı antioksidan kapasite ölçümünün sonucu  $210.1 \pm 5.8^b$  olarak tespit edilmiştir. Bu değer DPPH yöntemi ile elde ettiğimiz antioksidan kapasite değer aralığında ( $241.50 \pm 3.13^a$  -  $205.27 \pm 7.50^c$ ) yer almaktadır. Yine aynı çalışmada hindiba köklerindeki antioksidan kapasite  $30.2 \pm 3.1^d$   $\mu\text{mol TE/g}$ , hindiba tohumunda ise  $505.1 \pm 6.0^a$   $\mu\text{mol TE/g}$  bulunmuştur.

Milala ve ark. (2009)'nin çalışmasında dondurularak kurutulmuş materyalin TAEC (mmol Trolox/g) olarak ifade edilen preparatlarının antioksidan aktivitesi hindiba tohumlarından elde edilen ekstrakte,  $0.513$  mmol TE/g (128 mg TE /g) değeri ile en yüksek antioksidan aktivite özelliği göstermiştir. En düşük antioksidan aktivite, hindiba köklerinden elde edilen ekstraktlardan elde edilmiştir ( $0,26$  mmol TE /g (6.5 mg TE g)).

Hindiba yapraklarından elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi ise 0.207 mmol TE /g (51.8 mg TE /g) olarak tespit edilmiştir.

#### **4.9. Antioksidan Bileşenlerin Biyoalınabilirliğinin Belirlenmesi**

Gastrointestinal sindirim sırasında, polifenoller hem indirgenmiş (değerleri düşürülmüş) diğer yiyecekler (ince bağırsaktaki antosiyaninler gibi) ile etkileşimde bulunabilirler hem de hidrolizler tarafından metabolize edilebilirler. Bu yapısal değişiklikler hem onların emilimlerini hem de biyoaktivitelerini etkileyebilir. Örneğin; bağımsız fenollerin antioksidan aktiviteleri onların glikozit ve demir – fenol bağlarından daha yüksektir (Bouayed ve ark., 2012). Gıda polifenollerini ile ilgili birçok literatür verileri sadece sulu organik ekstraktlarda çözünen bileşiklerle ilgilidir (ekstrakte edilebilir polifenoller). Bazı polifenoller, özellikle yüksek polimerizasyon derecesine sahip ve yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerle bağlantılı polifenoller (ekstrakte edilemeyen polifenoller), kullanılan standart ekstraksiyon yöntemlerinden kaçabilir. Bu gıda polifenol fraksiyonu, bağırsaklarda; ince bağırsakta sindirim enzimleri ve kalın bağırsakta bakteriyel bozulma etkisi ile gıda matrisinden serbest bırakıldıktan sonra biyoaktif hale gelebilir (Jenner ve ark. 2005).

Örneklerin toplam fenolik madde başlangıç içeriğinin biyoalınabilirliği % 41.82-61.48 olarak tespit edilmiştir.  $TEAC_{ABTS}$ ,  $TEAC_{CUPRAC}$  ve  $TEAC_{DPPH}$ 'te ise örneklerin biyoalınabilirliği, %77.60-85.88, %62.12-73.49, ve %64.66-76.2'dir. Beyaz hindibanın toplam fenolik içeriğinin biyoalınabilirliğinin diğer hindiba örneklerine göre daha yüksek olmasına karşın, yeşil hindiba, daha yüksek antioksidan aktivitenin biyoalınabilirliğine sahiptir. Bu farklılığın nedeni, bitki materyali, yetiştirilme koşulları ve ölçümler için kullanılan şartlar ile ilgili faktörlerle bağlantılı olabilir. Bütün bu sonuçlar, farklı hindiba örneklerinin, toplam fenoliklerin ve antioksidan kapasitelerinin ortaya çıkmasında etkiye sahip olduğunu kanıtlar ve bu nedenle, biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonu etkiler

#### 4.10. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi

Hindiba örneklerinden ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin HPLC nicel analitik sonuçları Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Hindiba örneklerinde toplam ondokuz fenolik standart çalışılmıştır. Fenolik bileşiklerin yoğunluğu, beyaz, yeşil ve kırmızı hindiba numunelerinde sırasıyla 0.02-2.54 mg/kg, 0.02-1.77 mg/kg, ve 0.02-1.95 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

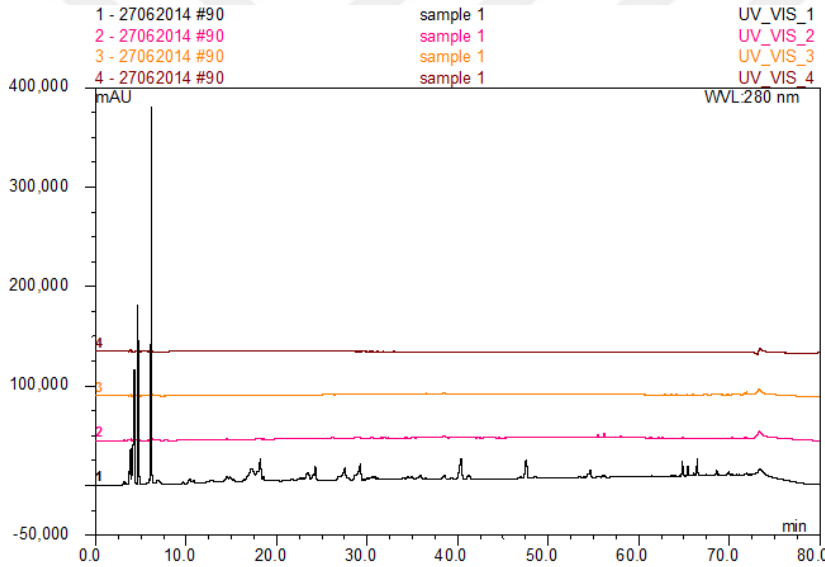
Çizelge 4.6. Hindiba örneklerindeki fenolik bileşikler

Fenolik Bileşikler	Duraklama Zamanı (dk)	Dalga Boyu ( $\lambda$ )	Beyaz Hindiba	Yeşil Hindiba	Kırmızı Hindiba
Gallik Asit	13.49	280	Nd*	0.03±0.00 <sup>a</sup>	Nd
Protokateşik Asit	19.17	280	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>a</sup>	Nd
(+)-Kateşin	23.76	280	2.01±0.15 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>b</sup>	1.95±0.23 <sup>a</sup>
Klorojenik Asit	24.61	320	0.02±0.00 <sup>c</sup>	0.36±0.00 <sup>b</sup>	0.74±0.17 <sup>a</sup>
Kafeik Asit	26.91	280	0.06±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
Trans-Kafeik Asit	27.00	320	0.05±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>a</sup>
Vanilik Asit	27.23	280	Nd	0.08±0.00 <sup>a</sup>	0.11±0.02 <sup>a</sup>
Şiringik Asit	28.13	280	2.54±0.41 <sup>a*</sup>	0.23±0.06 <sup>b</sup>	0.12±0.00 <sup>c</sup>
P - Kumarik Asit	32.30	320	Nd	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>a</sup>
Rutin Hidrat	32.63	360	Nd	0.27±0.02 <sup>a</sup>	0.30±0.00 <sup>a</sup>
Ferulik Asit	34.44	320	Nd	Nd	0.02±0.00 <sup>a</sup>
Trans-Ferulik Asit	34.50	320	0.01±0.00 <sup>b</sup>	1.77±0.11 <sup>a</sup>	1.85±0.19 <sup>a</sup>
Naringin	35.86	280	0.36±0.05 <sup>a</sup>	Nd	0.11±0.00 <sup>b</sup>
Hesperidin	36.52	280	0.09±0.00 <sup>c</sup>	0.17±0.00 <sup>b</sup>	0.42±0.09 <sup>a</sup>
Neohesperidin	37.52	280	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>
Mirisetin	39.56	360	Nd	0.05±0.00 <sup>b</sup>	0.17±0.00 <sup>a</sup>
Resveratrol	41.42	320	Nd	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>
Kuarsetin	45.29	360	Nd	0.62±0.03 <sup>a</sup>	Nd
Kaemferol	50.01	360	Nd	Nd	Nd
TOPLAM			5.18±0.20	3.75±0.12	5.97±0.20

Beyaz hindibada şiringik asit, yeşil hindibada trans-ferulik asit ve kırmızı hindibada (+)-kateşin baskın fenolik bileşikler olarak karşımıza çıkmıştır. Tanımlanmış fenolik bileşikler arasında, yoğunlukları yüksekten alçağa doğru olan önemli fenolik bileşikler şiringik asit > (+)-kateşin > trans-ferulik asit > klorojenik asit > kuarsetin şeklindedir. Fenolik bileşikler, hindiba örnekleri arasında önemli ölçüde farklılık göstermişlerdir. Hiçbir hindiba örneğinde kaemferol belirlenmemiştir.

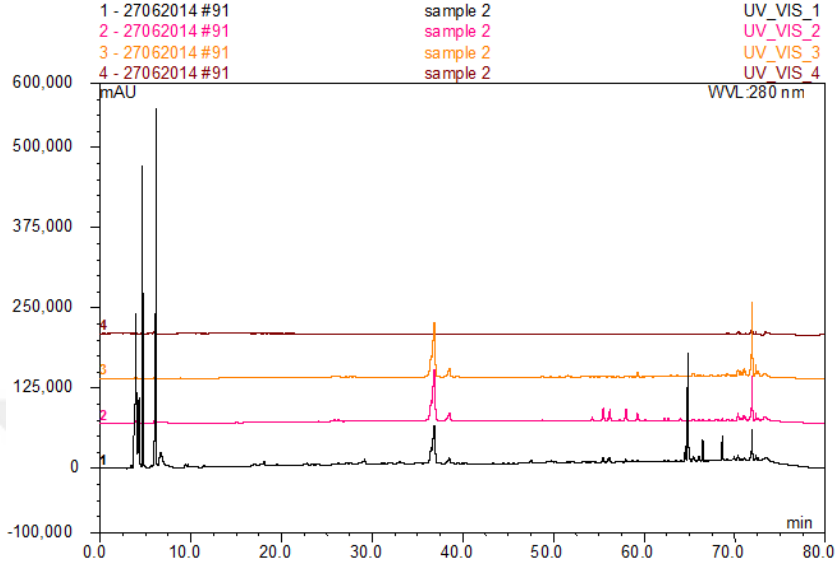
Milala ve ark. (2009)'nın çalışmasında hindiba kök ekstraktlarının ana polifenolik bileşenlerinin, 16. dakika bekletme zamanında oluşan klorojenik asit ve 22.8-24.8 dakikalık alıkonma zamanında görünen klorojenik asit türevleri olduğu belirtilmiştir. Hindiba tohumundan alınan ekstrakte de 5-kafeoilkinik asit (klorojenik asit) ve klorojenik asit türevlerine rastlanmıştır. Yine aynı çalışmada Hindiba yapraklarından alınan liyofilize ekstraktın kromatografisinde ana polifenolik bileşenlerin, kikorik asit, kuarsetin, glukuronid ve klorojenik asit olduğu (sırasıyla 24.03, 22.5 ve 16.1 dakika tutulma süreleri) tespit edilmiştir.

Hindiba örneklerinden beyaz hindibanın etanol ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir.



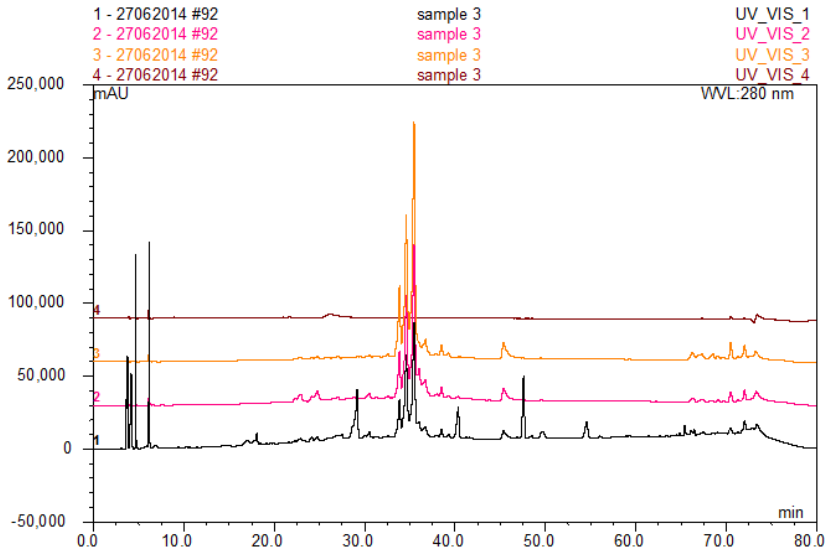
**Şekil 4.1.** Beyaz hindiba etanol karışımı fenolik içeriği

Hindiba örneklerinden kırmızı hindibanın etanol ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.2'de verilmiştir.



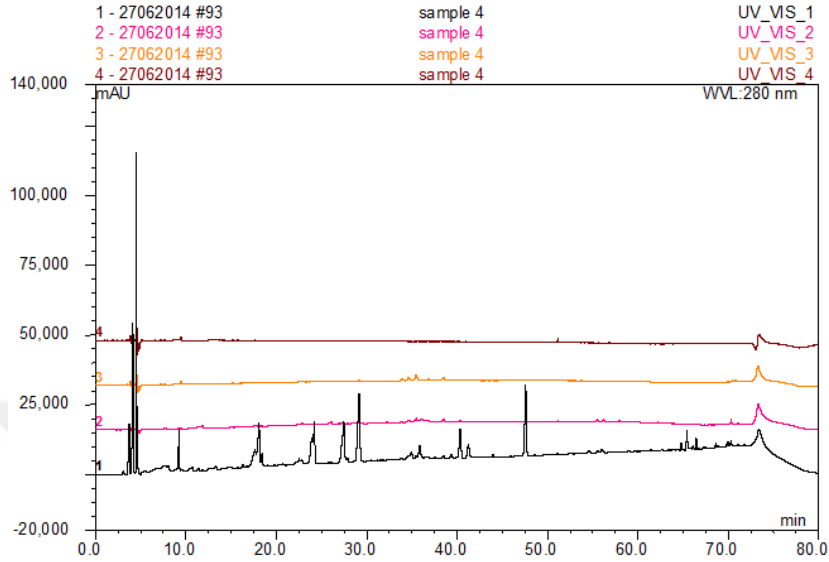
**Şekil 4.2.** Kırmızı hindiba etanol karışımı fenolik içeriği

Hindiba örneklerinden yeşil hindibanın etanol ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.3'te verilmiştir.



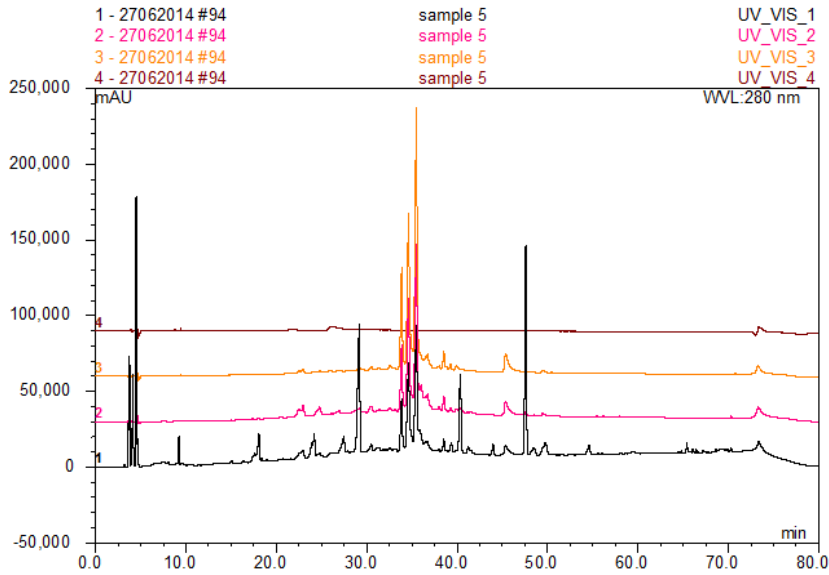
**Şekil 4.3.** Yeşil hindiba etanol karışımı fenolik içeriği

Hindiba örneklerinden beyaz hindibanın metanol-formik asit ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.4'te verilmiştir.



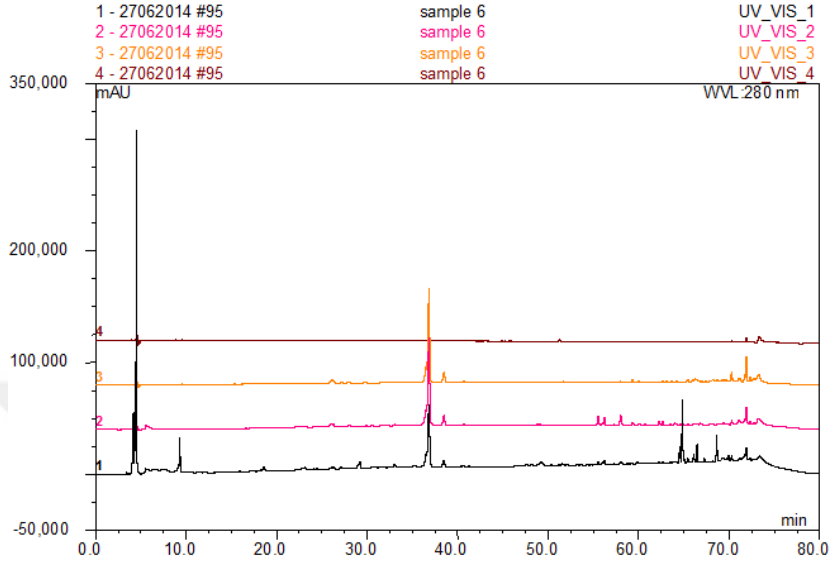
Şekil 4.4. Beyaz hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği

Hindiba örneklerinden kırmızı hindibanın metanol-formik asit ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.5'te verilmiştir.



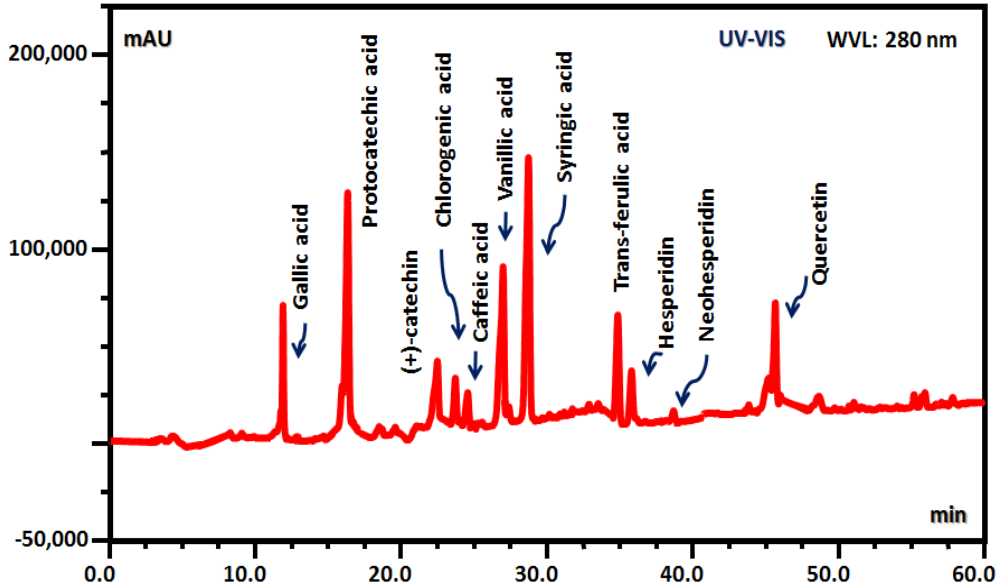
Şekil 4.5. Kırmızı hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği

Hindiba örneklerinden yeşil hindibanın metanol-formik asit ile karışımının HPLC'ye verilmesi ile elde edilen HPLC grafiği Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Yeşil hindiba metanol-formik asit karışımı fenolik içeriği

Benzer çalışmalarda, kültüre alınmış hindiba çeşitlerinde baskın fenolik bileşiklerin klorojenik ve kikorik asit olduğu bulunmuştur (Sinkovič ve ark. 2015). Şekil 4.7'de yeşil hindibada bulunan fenolik bileşiklere ait kromotogram gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Yeşil hindiba fenolik bileşikleri

Fenolik asitlerin yapılarında hidroksil grupları bulunduğu için antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinir ve bunların endojen serbest radikallere bağlı oksidatif hasara karşı savunma sistemine katkıları son derece önemlidir (Saggu ve ark. 2014). Abbas ve ark. (2015)'nin yaptığı çalışmada hindiba yapraklarından elde edilen ekstraktların iyi bir fenolik bileşen kaynağı olduğu ve fenolik bileşenlerin indirgeme gücüne ve DPPH radikallerini temizleme kapasitesine sahip oldukları bulunmuştur. Bu çalışmadaki örneklerin, antioksidan ektiviteye katkı yapabilecek zengin, yüksek flavonoid ve fenolik içeriğe sahip oldukları tespit edilmiştir.





## 5. SONUÇ

Tez çalışması sonucu elde veriler, üç hindiba örneğinin fenolik içeriğinin, toplam miktarlarda ve belirli fenoliklerde değişiklik gösterdiğini göstermektedir. Beyaz (*Cichorium intybus L. 'Witlof'*) ve kırmızı hindiba (*Cichorium intybus L. (Rubifolium group) 'A Palla Rossa'*) örneklerinin toplam fenol miktarlarının benzer olmasına (sırasıyla  $5.18 \pm 0.20$  mg/g dw ve  $5.97 \pm 0.20$  mg/g dw) karşılık, beyaz hindibada, çalışmada incelenen on dokuz standartın dokuzunun haricinde, bireysel fenollerde belirgin olarak daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. HPLC ile belirlenen fenolik maddelerin konsantrasyonları toplamı ile, spektrofotometrik olarak belirlenen toplam fenolik madde miktarı değişkenlik gösterse de HPLC ile belirlenen fenolik maddelerin konsantrasyonları toplamında da spektrofotometre ile belirlenen toplam fenol içeriğinde de kırmızı hindiba fenolik bileşiklerce en zengin tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Yeşil hindiba türü HPLC ile belirlenen fenolik madde miktarı en düşük örnek iken spektrofotometrik olarak belirlenen toplam fenolik madde miktarı en düşük örnek beyaz hindibadır.

Kırmızı, yeşil ve beyaz hindiba türlerinin antioksidan kapasiteleri, ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir toplam fenol içerikleriyle kıyaslandığında sonuçlar paralellik göstermektedir. Buna göre, toplam fenol içeriği en yüksek olan kırmızı hindiba türü antioksidan kapasitesinin de en yüksek olduğu tür olarak tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla yeşil ve beyaz hindiba türleri takip etmektedir. İnsan sağlığı ve beslenmesinde önemi ve kullanımı gün geçtikçe artan hindiba toplam fenolik bileşik içeriklerinin, hindiba türüne bağlı olarak değiştiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, hindiba bitkisi, tüketicilere fenolik ve antioksidan içeriklerinden ve bu bileşiklerin biyoalınabilirliklerinden dolayı önemli sağlık faydaları sağlayacak potansiyele sahiptir.

## KAYNAKLAR

- Abbas, Z. K., Saggi, S., Sakeran, M. I., Zidan, N., Rehman, H., Ansari, A. A. 2015.** Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 322-326.
- Afzal, M., Shadid, M., Mehmood, Z., Bukhari, S. A., Talpur, M. M. A. 2014.** Antimicrobial activity of extract and fractions of different parts and GC-MS profiling of essential oil of *Cichorium intybus* extracted by super critical fluid. *Asian Journal of Chemistry*, 26: 531-536.
- Aksoy, A. 2008.** Chicory (*Cichorium inthybus* L.): Possible biomonitor of metal pollution. *Pakistan Journal of Botany*, 40: 791-797.
- AOAC. 1990.** Official methods of analysis of association of official analytical chemists. Washington, DC, USA.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S. E. 2008.** Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160: 413-419.
- Baek, H. H., Cadwallader, K. R. 1998.** Roasted chicory aroma evaluation by gaschromatography/ Mass spectrometry/Olfactometry. *Journal of Food Science*, 63: 234-237.
- Bais, H. P., Ravishankar, G. A. 2001.** *Cichorium intybus* L - Cultivation, processing, utility, value addition and biotechnology, with an emphasis on current status and future prospects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 467-484.
- 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: 191-203.
- Baytop, T. 1984.** *Türkiye de Bitkiler İle Tedavi (Geçmişteve Bugün)* İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları biscuits. *Food Chemistry*, 114 (4): 1462-1469.
- Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N. K. 2006.** Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94: 558-564.
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T. 2012.** Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131: 1466-1472.
- Briviba, K., Sies, H. 1994.** Nonenzymatic antioxidant defense systems. In *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*; Frei, B., Ed.; Academic Press: New York, pp: 107-128.
- Cardina, J., Herms, C., Koch, T., Webster, T. 2013.** *Chicorium Chicorium intybus. Ohio Perennial & Biennial Weed Guide*. Ohio State University OARDC Extension. Retrieved February 25. (Access 03.06.2015). <http://www.oardc.ohio state.edu/weedguide/singlerecord.asp?id=920>
- Cemerolu, B. 2004.** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, Ankara, 77-88.
- Cemeroğlu, B. 2010.** Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34, Ankara, s: 657.
- Cemeroğlu, B., Acar, J. 1986.** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayın* No:6, Ankara.

- Chopra, R. N., Chopra, I. C., Handa, K. L. 1958.** Tylophora Asthmatica Indigenous Drugs Of India. U.N. Dhor & Sons, Calcutta, pp: 431.
- Clifford M.N. 2000.** Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption. and metabolism. *Journal Science Food Agriculture*, 80, 1033-1043.
- Dalar, A., Konczak, I. 2014.** *Cichorium intybus* from Eastern Anatolia: Phenolic composition antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Industrial Crops and Products*, 60: 79-85.
- Delzenne, N. M., Roberfroid, M. B. 1994.** Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Lebensm. Wiss. Technol.* 27:1-6.
- Dermarderosian, A. 2002.** The review of natural products: facts and comparisons. Missouri, New York, pp: 162-164.
- Di Venere, D., Sergio, L., Linsata, V., Pieralice, M., Cardinalli, A., Cascarano, N., Bianco, V. V. 2009.** Proprieta antiossidanti di specie erbacee spontanee eduli. *Italian Journal of Agronomy*, 4: 635-640.
- Edinçliler, N. 2000.** Ege Bölgesinde Sebze Olarak Değerlendirilen Yabancı Otlar ve Besin Değerleri. Yüksek Lisans Semineri. E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
- Ehlenfeldt, M.K., Prior, R.L. 2001.** Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2222-2227.
- Fidrianny, I., Windyaswari, A. S., Wirasutisna, K. R. 2013.** Antioxidant capacities of various leaves from five colours varieties of sweet potatoes tubers using ABTS, DPPH assays and correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content. *Research Journal of Medicinal Plant*, 7: 130-140.
- Fraisse, D., Felgines, C., Texier, O., Lamaison, J. L. 2011.** Caffeoyl derivatives: major antioxidant compounds of some wild herbs of the *Asteraceae* family. *Food and Nutrition Sciences*, 2: 181-192.
- Frankel, E.N. 1999.** Food antioxidants and phytochemicals: present and future perspectives. *European Journal of Lipid Science and Technology (Euro Fett/Lipid)*, 101: 450-455.
- Galazka I. 2002.** The composition of chicoryflour of selected chicory cultivars Polanowicka and Fredonia in relation to root sizes and the date of harvest., *Żywność Nauka, Technologia* (in Polish; English abstract), 37-45
- Haffke H., Engelhardt U.H. 1986.** Chlorogensäuren in Kaffee-Ersatzstoffen. *Lebensm Unters Forsch*, 183, 45-46.
- Heimler, D., Isolani, L., Vignolini, P., Romani, A. 2009.** Polyphenol content and antiradical activity of *Cichorium intybus* L. from biodynamic and conventional farming. *Food Chemistry*, 114: 765-770.
- Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, Thamsborg, S. M., Hoskin S. O., . 2006.** The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.*, 22: 253-261.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. 2005.** The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Ilaiyaraja, N., Farhath, K. 2010.** Evaluation of Antioxidant and Toxicological properties of Chicory leaves. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 2: 155-163.

- Innocenti, M., Gallori, S., Giaccherini, C., Ieri, F., Vincieri, F. F., Mulinacci, N. 2005.** Evaluation of phenolic content in the aerial parts different varieties of *Cichorium intybus* L., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6497-6502.
- Jenner, A. M., Rafter, J., Halliwell, B. 2005.** Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 38: 763-772.
- Jurgonbski, A., Milala, J., Juszkiewicz, J., Zdunbczyk, Z., Król, B. 2011.** Properties of Non-Inulin Compounds from Chicory, *Food Technol. Biotechnol.* 49 (1): 40-47.
- Juskiewicz, J., Zdunbczyk, Z., Sikorska, S.E., Krol, B., Milala, J., Jurgonski, A. 2011.** Effect of the dietary polyphenolic fraction of chicory root, peel, seed and leaf extracts on caecal fermentation and blood parameters in rats fed diets containing prebiotic fructans. *British Journal of Nutrition*, 105: 710-720.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T. 2006.** Bazı Üzüksü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. II. Ulusal Üzüksü Meyveler Sempozyumu, Tokat, s: 309-312.
- Kaya, İ., İncekara, N., Nemli, Y. 2002.** Ege Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Yabani Kuşkonmaz, Sirken, Yabani Hindiba, Rezene, Gelincik, Çoban Değneği ve Ebegümeçinin Bazı Kimyasal Analizleri.
- Kocsis, L., Hagymasi, K., Kerry, A., Szoke, E. Blazovics, A. 2003.** Effect of Chicory on pancreas status of rats in experimental dislipidemia. *Acta Biol Szegediensis*, 47: 143-146.
- Koner, A., Ghosh, S., Roy, P. 2011.** Isolation Of Antimicrobial Compounds From Chicory (*Cichorium intybus* L.) ROOT. *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*, 1(2): 13-18.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Brouillard, R. 2003.** Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5): 923-933.
- Król B., Zduńczyk Z. 2005.** Bioconversion of sucrose and inulin to prebiotic  $\beta$ -fructooligosaccharides., *in*: Enzymatic modification of food components. (eds. Kołakowski E., Bednarski W., Bielecki S.). Wydawnictwo
- Liu, Y., Wang, Q., Liu H., Chen, G., Cui, J. 2011.** Applied orthogonal design for filtrating conditions of ultrasonic-assisted extraction from plant-chicory. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2493-2502.
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P. H. 2004.** Gonzalez-Paramas, A.M.; Törrönen, A.R. Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52: 4477-4486.
- Mares, D., Romagnoli, C., Tosi, B., Adreotti, E., Chillemin, G., Poli, F. 2005.** Chicory extracts from *Cichorium intybus* L. as potential antifungals. *Mycopathologia*, 160: 85-92.
- Milala, J., Grzelak, K., Krol, B., Juskiewicz, J., Zdunbczyk, Z. 2009.** Composition and properties of chicory extracts rich in fructans and polyphenols. *Polish Journal Food Nutrition Science*, 59(1): 35-43.
- Molan, A. L., Duncan, A. J., Barry, T. N., McNabb, W. C. 2003.** Effect of condensed tannins and sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lundworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International*, 52: 209-218.
- Montefusco, A., Semitaio, G., Marrese, P. P., Iurlaro, A., De Caroli, M., Piro, G., Dalessandro, G., Salvatore, M. 2015.** Antioxidants in varieties of chicory (*Cichorium*

*intybus* L.) and wild poppy (*Papaver rhoeas* L.) or southern Italy. *Journal of Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/923142>

**Mulabagal, V., Wang, H., Ngouajio, M., Nair, M. G. 2009.** Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties. *European Food Research and Technology*, 230: 47-53.

**Mulinacci, N., Innocenti, M., Gallori, S., Romani, A., La Marca, G., Vincieri, F. F. 2001.** Optimization of the chromatographic determination of polyphenols in the aerial parts of *Cichorium intybus* L. *Chromatographia. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 455-461.

**Muthusamy, V. S., Anand, S., Sangeetha, K. N., Sujatha, S., Arun, B., Lakshmi, B. S. 2008.** Tannins present in *Cichorium intybus* enhance glucose uptake and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PTP1B inhibition. *Chemistry Biol Interact*, 174: 69-78.

**Nandagopal, S., Ranjitha Kumari, B. D. 2007.** Phytochemical and antibacterial studies of chicory (*Cichorium intybut* L.) - a multipurpose medicinal plant. *Advances in Biological Research*, 1: 17-21.

**Nishimura H., Kondo Y., Nagasaka T., Satoh A. 2000.** Allelochemicals in chicory and utilization in processed foods. *Journal Chemistry Ecology*, 26: 2233-2241.

**Nizamloğlu N. M., Nas S. 2010.** Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt:5, No:1, 20-35.

**Papetti, A., Daglia, M., Grisoli, P., Dacarro, C., Gregotti, C., Gazzani, G. 2006.** Anti- and pro-oxidant activity of *Chicorium* genus vegetables and effect of thermal treatment in biological systems. *Food Chemistry*, 97: 157-165.

**Park, K. J., de Oliveira, R. A., Brod, F. P. R. 2007.** Drying operational parameters influence on chicory roots drying and inulin extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 85: 184-192.

**Prior, R. L., Lazarus, S. A., Cao, G., Muccitelli, H., Hammerstone, J. F. 2001.** Identification of procyanidins and antocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* spp.) using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 1270-1276.

**Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005.** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302.

**Pushparaj, P. N., Low, H. K., Manikandan, J., Tan, B. K. M, Tan, C. H. 2007.** Anti-diabetic effects of cichorium intybus in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacol*, 111: 430-434.

**Ren, B., Chang, Y., Zheng, H., Cao, B., Qi. Y. 2008.** Study on Effect of Chicory Polysaccharides on Human Immunity. *Food Science*. 29: 579-581.

**Rodriguez, D., Hadley, M. 2002.** Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in ( fa/fa) Zucker rats. *Journal Nutritional Biochemistry*, 13: 717-726.

**Rossetto, M., Lante, A., Vanzani, P., Spettoli, P., Scarpa, M., Rigo, A. 2005.** Red chicories as potent scavengers of highly reactive radicals: A study on their phenolic composition and peroxy radical trapping capacity and efficiency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8169-8175.

**Saggu, S., Sakeran, M. I., Zidan, N., Tousson, E., Mohan, A., Rehman, H. 2014.** Ameliorating effect of chicory (*Chichorium intybus* L.) fruit extract against 4-tert

octylphenol induced liver injury and oxidative stress in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 72: 138-146.

**Saldamli, İ. 2007.** Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.

**Sanchez-Moreno, C. 2002.** Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3): 121-137.

**Sarıburun, E., Şahin, S., Demir, C., Türkben, C., Uylaşer, V. 2010.** Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science*, 75: 328-335.

**Seeram, N. P., Nair, M. G. 2002.** Inhibition of lipid peroxidation and structureactivity-related studies of the dietary constituents, anthocyanins, anthocyanidins and catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5308-5312.

**Sellappan, S., Akoh, C. C., Krewer, G. 2002.** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2432-2438.

**Shahidi, F., Naczki, M. 1995.** Antioxidant Properties of Food Phenolics. In Food Phenolics Sources, Chemistry, Effects, Applications. Technomic Publishing Company, Inc.: Lancaster, PA., pp: 235-273

**Sinkovic, L., Hribar, J., Vidrih, R. 2014.** Influence of cultivar and storage of chicory (*Cichorium intybus* L.) plants on polyphenol Composition and antioxidative potential, *Czech Journal Food Science*, 32 (1): 10-15.

**Sinkovic, L., Hribar, J., Znidar c, D., Treutter, D., Vidrih, R. 2014.** Comparison of the phenolic profiles of forced and unforced chicory (*Cichorium intybut* L.) cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 79(2), 133-137.

**Sinkovič, L., Demsar, L., Žnidarčić, D., Vidrih, R., Hribar, J., Treutter, D. 2015.** Phenolic profiles in leaves of chicory cultivars (*Cichorium intybus* L.) as influenced by organic and mineral fertilizers. *Food Chemistry*, 166: 507-513.

**Sun, L., Hu, T., Wang Q. 2010.** Studies on Herbicidal Activities of Four Solvent Extracts from the Root of *Cichorium intybus* L. *Acta Agrestia Sinica*, 18: 473-476. URL:<http://acad.cnki.net/kns55/detail/detail.aspx?QueryID=0&CurRec=1&DbCode=CJFQ&dbname=CJFDTEMP&filename=CDXU201003036>.

**Torrent, J., V. Barro'n, Q., Liu, S. 2002.** Magnetic enhancement is linked to and precedes hematite formation in aerobic soil, *Geophys. Res. Lett.*, 33, L02401, doi:10.1029/2005GL024818.

**Tousch, D., Lajoix, A. D., Hosy, E., Azay-Milhau, J., Ferrare, K., Jahannault, C., Cros, G., Petit, P. 2008.** Chicoric acid, a new compound able to enhance insulin release and glucose uptake. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 377: 131-135.

**Tursunay, D., Muradil, K., Abdulla, A. 2009.** Antimicrobial Activities of Ethanol Extract from *Cichorium intybus* L. Stems. *Food Science*, 30: 80-82.

**Vitali, D., Dragojević, I. V., Šebečić, B. 2009.** Effects of incorporation of integralrawmaterials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 4: 1462-1469

**Wang M., Simon J. E., Aviles J. F., Zheng Q. Y., Tadmor Y. 2003.** Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 601-608.

**Wang, Q., Cui, J. 2011.** Perspectives and utilization technologies of chicory (*Cichorium intybus* L.): a review. *African Journal of Biotechnology*, 10: 1966-1977.

**Willeman, H., Hance, P., Fertin, A., Voedts, N., Duhal, N., Goossens, J. F., Hilbert, J. L. 2014.** A method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and sesquiterpene lactone content in industrial chicory root foodstuffs. *The Scientific World Journal*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/583180>.

**Wilson, R. G., Smith, J. A., Dean Yonts, C. 2004.** Chicory root yield and carbohydrate composition is influenced by cultivar selection, planting and harvest date. *Crop Science*, 44: 748-752.

**Wrolstad, R. E., Durst, R. W., Lee, J. 2005.** Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 423-428.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aynur YILDIRIM  
Doğum Yeri ve Tarihi : Eskişehir, 29.07.1990  
Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Eskişehir Anadolu Lisesi, 2008

Lisans : Uludağ Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,  
2012

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, Gıda Mühendisliği

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Sofra Yemek Üretim ve Hizmet A.Ş.

İletişim (e-posta) : a.begenirbas@gmail.com

Yayımları\* :

**Begenirbaş A., Gürbüz O. 2012.** Biyobozunur Polimerlerin Gıda Ambalajlamasında Kullanımı, Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve AR-GE Günleri, 13-15 Kasım 2012. (Poster Bildiri)

**Sahan, Y., Gurbuz, O., Guldaz, M., Degirmencioglu, N., Begenirbas, A. 2017.** Phenolics, antioxidant capacity and bio-accessibility of chicory (*Cichorium spp.*) varieties grown in Turkey. *Food Chemistry*, 217: 483-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.108. Epub 201