

## Farklı Solvent Tipi ile Yapılan Ekstraksiyon İşleminin Hünnap (*Ziziphus jujube*) Meyvesinin Biyoaktif Özellikleri Üzerine Etkisi

Beyza ÇİFTÇİ<sup>1</sup>, Kevser KARAMAN<sup>2\*</sup>, Mahmut KAPLAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kayseri

\*Sorumlu yazar: [kevserkaraman@erciyes.edu.tr](mailto:kevserkaraman@erciyes.edu.tr)

Geliş Tarihi: 17.12.2019

Düzeltilme Geliş Tarihi: 08.01.2020

Kabul Tarihi: 08.01.2020

### Özet

Bu çalışmada hünnap (*Z. jujube*) meyvesinin farklı solvent tipi ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrelerin biyoaktif performansları incelenmiş ve solvent tipine bağlı olarak biyoaktif parametrelerde meydana gelen değişim analiz edilmiştir. Solvent olarak etanol, metanol, aseton ve su ile organik solventlerin sulu karışımları (1:1) kullanılmış ve ekstre örneklerin de toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı ile antiradikal aktivite ve antioksidan kapasite değerleri belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları 198.6-9504 mg GAE/kg, toplam flavonoid madde miktarları ise 872.5-5037.5 mg CE/kg aralığında belirlenmiş olup, en düşük değer aseton ile alınan ekstrede, en yüksek değer ise aseton:su karışımı ile elde edilen ekstrede belirlenmiştir. Örneklerin DPPH ve ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktiviteleri ise sırasıyla %1.49-63.7 ve 0.38-13.65 µg Troloks/g olarak belirlenmiş ve en yüksek değerler yine aseton:su karışımı ile elde edilen ekstre örneğinde tespit edilmiştir. Ekstre örneklerinin en yüksek antioksidan etki gösterdiği solvent tipi de yine aseton:su karışımı olmuş ve örneklerin antioksidan ve antiradikal aktiviteleri sahip oldukları fenolik madde yoğunluğu ölçüsünde artış göstermiş ve aralarında pozitif ve önemli bir ilişki olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Hünnap, solvent, ekstraksiyon, fenolik, antioksidan, antiradikal.

## The Effect of Extraction with Different Solvent Types on Bioactive Properties of Jujube (*Ziziphus jujube*) Fruit

### Abstract

In this study, the bioactive performance of extracts obtained by extracting jujube (*Z. jujube*) fruit with different solvent type was investigated and the changes in bioactive parameters depending on solvent type were investigated. As solvent, ethanol, methanol, acetone, water and their mixtures with water (1: 1) were used and total phenolic and flavonoid content and antiradical activity and antioxidant capacity values of the samples were determined. Total phenolic content of the samples was determined as 198.6-9504 mg GAE/kg and total flavonoid content was determined as 872.5-5037.5 mg CE/kg. The lowest value was obtained with acetone and the highest value was for acetone:water mixture. DPPH and ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities of the samples were determined as in the range of 1.49-63.7% and 0.38-13.65 µg Trolox/g respectively and the highest values were determined in the extract sample obtained with acetone:water mixture. Solvent type where the extract samples showed the highest antioxidant effect was also a mixture of acetone and water, and the antioxidant and antiradical activities of the samples showed an increase in the density of phenolic substances and positive and significant relationships was observed between them.

**Key words:** Jujube, solvent, extraction, phenolic, antioxidant, antiradical.

## Giriş

Son on yılda, fitokimyasallar, anti-kanser ajanları olarak artan bir ilgi odağı haline gelmiştir. (Aravindaram ve Yang, 2010, Tosetti ve ark., 2009). Fitokimyasal içeriği güçlü olan *Ziziphus* türleri (Rhamnaceae familyası), çoğunlukla Asya ve Amerika'nın subtropikal ve tropikal bölgelerinde, aynı zamanda Akdeniz bölgesinde de bulunmaktadır (Plastina ve ark. 2012). Hünnap (*Ziziphus jujube* Mill.) 45 cins ve 550 tür içeren Rhamnaceae ailesinde (Ghobadi ve ark., 2019) meyve üretimi için en önemli *Ziziphus* türü olarak kabul edilmektedir. Hünnap meyvesi 4000 yılı aşkın bir geçmişi ile Çin, Avrupa, Güney ve Doğu Asya ve Avustralya'da yaygın olarak dağılmıştır (Gao ve ark., 2013).

Hünnap genellikle hem beslenmede hem de nutrasötik anlamda biyolojik olarak aktif bileşiklerin mükemmel bir kaynağı olarak tanınmaktadır. Kurutulmuş hünnap meyveleri, binlerce yıldır gıda, gıda katkı maddesi ve aroma olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Önceki çalışmalar hünnapın triterpenik asitler, flavonoidler, serebrositler, amino asit, fenolik asit, mineral bileşen ve polisakkarit dahil çeşitli bileşenleri içerdiğini ortaya koymuş, taze bir hünnap meyvesinin ortalama %77.86 nem, %1.20 protein, %0.20 lipid ve %20.23 oranında karbonhidrat içerdiği bildirilmiştir (Gao ve ark., 2013). *Ziziphus* bitkisinin farklı kısımları, Çin halk tıbbında sindirim bozuklukları, zayıflık, karaciğer şikayetleri, obezite, idrar sorunları, diyabet, cilt enfeksiyonları, iştahsızlık, ateş, farenjit, bronşit, anemi, diyare, uykusuzluk ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Plastina ve ark., 2012).

Doğal fenolik bileşik kaynaklarının bileşimlerinin yanı sıra bu bileşiklerin yapı ve fizikokimyasal özellikleri de göz önüne alındığında, evrensel bir ekstraksiyon protokolü düşünülemez ve her bir fenolik kaynak için bir ekstraksiyon prosedürü tasarlanmalıdır (Thoo ve ark., 2010). Fenolik bileşiklerin bitki matriksinden ekstraksiyonu, kimyasal yapıları, kullanılan ekstraksiyon metotları ve solventleri, partiküllerin büyüklüğü, zaman, depolama koşulları ve diğer maddelerin varlığı gibi birçok faktörden etkilenmektedir.

Fenolik bileşikler, şekerler, asitler veya alkol gruplarla birleştirilebilen farklı hidroksil gruplarına sahip olabilir. Sonuç olarak, fenolik bileşiklerin polariteleri büyük ölçüde değişkendir ve tüm fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde özütlenmesi için tek bir yöntem geliştirmek zordur (Mokrani ve Madani, 2016).

Bazı araştırmacılar tarafından hünnap meyvesinin biyoaktif özellikleri ile ilgili yayınlanmış

çalışmalar olmasına rağmen (Xue ve ark., 2009; Du ve ark., 2013; Gao ve ark., 2012), bu çalışmalarda genellikle tek solvent üzerinde çalışmalar yürütülmüş, solvent tipinin biyoaktif özellikler üzerine etkisi konusunda araştırmalar sınırlı kalmıştır. Mevcut çalışmada etanol, metanol, aseton, su, ve bu organik solventlerin eşit orandaki sulu karışımları (etanol:su, metanol:su ve aseton:su) solvent olarak kullanılmış ve kullanılan bu solventler ile elde edilen ekstre örneklerinin temel biyoaktif özellikleri (toplam biyoaktif bileşen konsantrasyonu, antiradikal aktivite ve antioksidan kapasite) karşılaştırılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Çalışmada materyal olarak kullanılan hünnap meyvesi (*Ziziphus jujube*) Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş. (Kayseri, Türkiye)'den kurutulmuş olarak temin edilmiştir. Temin edilen materyal çekiçli değirmenden tüm meyve olarak geçirilmiş ve homojen bir toz haline getirilip 250 µm çaplı elek ile elendikten sonra denemelerde kullanılmıştır. Kullanılan meyvenin nem değeri %17.45 ve kül miktarı ise %2.87 olarak belirlenmiştir. Örnekler analize alınana kadar -18 °C sıcaklıkta ağızları sıkıca kapatılarak muhafaza altına alınmıştır.

### Yöntem

#### Hünnap meyvesinin ekstraksiyonu

Çalışma kapsamında dört farklı solvent (etanol, metanol, aseton ve su) ve bu solventlerin eşit orandaki sulu karışımları ekstraksiyon işleminde çözücü olarak kullanılmış ve ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen sıvı ekstraktların biyoaktif performansları kıyaslanmıştır. Bu amaçla 1 g toz haldeki hünnap örneği 20 mL ilgili solvent ile karıştırılmış ve ağızları sıkıca parafilm ile sarılmış falkon tüplerinde oda sıcaklığında (20-25 °C) çalkalamalı su banyosunda 1 saat süreyle ekstraksiyona bırakılmıştır. Süre sonunda örnekler 9000 g hızında ve +4 °C sıcaklıkta 5 dk süreyle santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve işlem sonunda üst faz 0.45 µm şırınga filtre yardımıyla süzülerek analize hazır hale getirilmiştir. Şekil 1'de farklı solvent tipleri ile elde edilen ekstraktlara ait görsel verilmiştir.

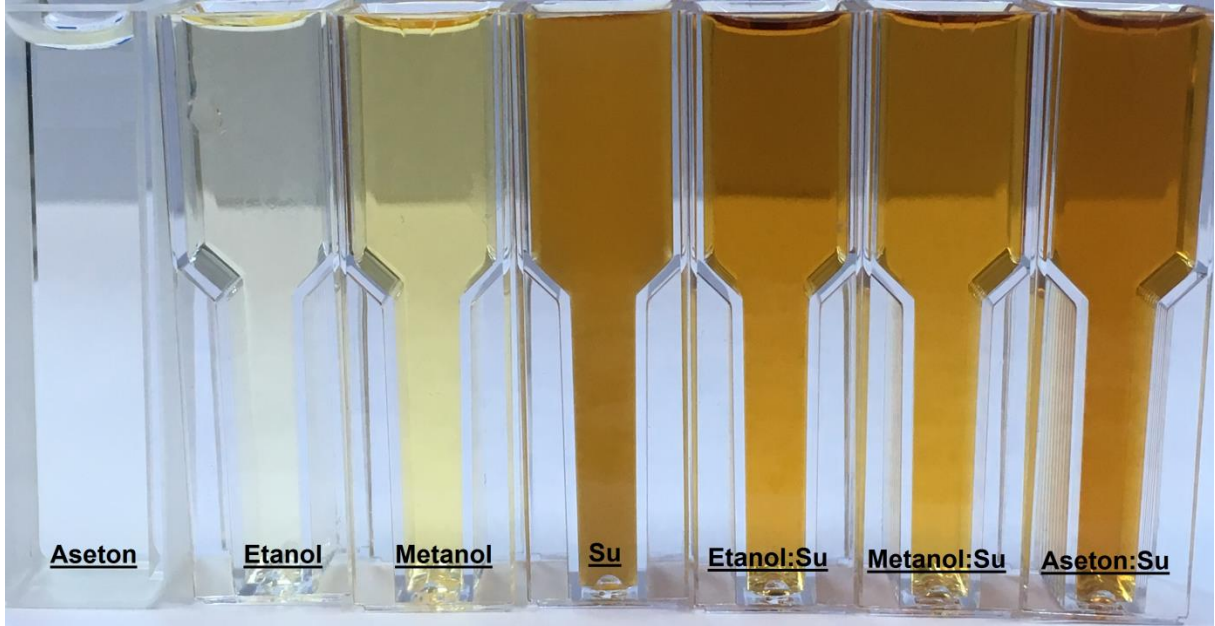
#### Hünnap meyvesinin biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi

##### Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları Singleton ve Rossi (1965) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 200 µL hünnap ekstresi 1800 µL saf su ile karıştırılmış ve ardından örneklere 1 mL Folin Cioceltau (1/10

oranında su ile seyreltilmiş) reagenti eklenmiştir. Daha sonra örnekler 2 mL sodyum karbonat (%2 w/v) ilavesi yapılmış ve tüplerin ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra vortekslenerek 2 saat süreyle oda sıcaklığında (20-25 °C) ve karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda örneklerin absorptans değerleri 765 nm'de UV-vis

spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarları galik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon kütvesi kullanılarak mg GAE/kg olarak hesaplanmıştır. Ölçümler iki tekrür ve dört paralel olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 1. Farklı solvent kullanımı ile elde edilen ekstre örnekleri.

#### **Toplam flavonoid madde miktarının belirlenmesi**

Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı Zhishen ve ark. (1999) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla 500 µL örnek, 2 mL su ile karıştırılmış ve ardından örneklere 150 µL NaNO<sub>2</sub> (%5 w/v) ilavesi yapılmıştır. 5 dk süre sonunda 150 µL AlCl<sub>3</sub> (%10 w/v) eklenen örnekler 6 dk inkübasyona alınmış ve ardından 1 mL NaOH eklenmiş ve 1.2 mL su ilavesi ile örnek hacmi 5 mL'ye tamamlanmıştır. Örnekler vorteks ile karıştırıldıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında (20-25 °C) ve karanlık ortamda inkübasyona bırakılmış ve sonrasında örneklerin absorptans değerleri 510 nm'de UV-vis spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülmüştür. Toplam flavonoid madde miktarları kateşin standardı ile hazırlanan kalibrasyon kütvesi kullanılarak mg CE/kg olarak hesaplanmıştır. Ölçümler iki tekrür ve dört paralel olacak şekilde yapılmıştır.

#### **DPPH radikali süpürme aktivitesi**

Örneklerin DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikali süpürme aktivitesi Faller ve Fialho (2009)'ya göre tespit edilmiştir. Bu amaçla 100 µL hünnap ekstresi 3900 µL DPPH radikal solüsyonu (0.1 mM) ile karıştırılmış, ağızları sıkıca

kapatıldıktan sonra vortekslenip 30 dk süreyle oda sıcaklığında (20-25 °C) ve karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda örneklerin absorptans değerleri UV-vis spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) 517 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Örneklerin DPPH radikali süpürme aktivitesi, ölçülen absorptans değerlerinin aşağıdaki denklemde yerine konması ile % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Inhibisyon}_{\text{DPPH}} = \left[ \frac{(\text{Absorptans}_{\text{Kontrol}} - \text{Absorptans}_{\text{Örnek}})}{\text{Absorptans}_{\text{Kontrol}}} \right] \times 100$$

#### **ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktivitesi**

Örneklerin ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktivitesi Wettasinghe ve ark. (2002) ile Mathew ve Abraham (2006) tarafından önerilen metot dikkate alınarak belirlenmiştir. 7 mmol ABTS<sup>+</sup> bir miktar suda çözülmüş ve 2.45 mmol potasyum persülfat ile muamele edilerek hacmine tamamlanmıştır. Karışım daha sonra oda sıcaklığında (20-25 °C) 16 saat koyu mavi renk oluşana kadar bekletilmiş ve analize hazır hale getirilmiştir. Koyu mavi renkli bu çözelti, tampon çözelti (pH 7.4) ile absorptansı 734 nm de 0.7 olana kadar seyreltilmiştir. Daha sonra bu seyreltilmiş çözeltiden 2 mL (ABTS<sup>+</sup> çözeltisi) alınarak 100 µL uygun oranlarda (1:30) seyreltilmiş örnek ekstresi ile karıştırılmış ve 6 dk inkübasyon sonunda absorptans değerleri UV-vis

spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) 734 nm’de ölçülmüştür. ABTS<sup>+</sup> radikal katyonundaki azalma yüzde olarak aşağıdaki denkleme göre hesaplanmış ve sonuçlar TEAC (Troloks eşdeğer antiradikal kapasite) olarak verilmiştir. Yapılan tüm deneyler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Inhibisyon}_{\text{ABTS}^+} = \left[ \frac{\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}^-} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}}}{\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}^-}} \right] \times 100$$

#### **Demir şelatlama aktivitesi**

Örneklerin demir şelatlama aktiviteleri Rival ve ark. (2001) tarafından önerilen metotta kısmi modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 1-10 oranında seyreltilmiş örnek ekstresinden 1 mL alınmış ve üzerine 3.7 mL etanol (%95 v/v) eklenmiştir. Ardından örnekler 100 µL FeCl<sub>2</sub> ilavesi yapılmış ve örnekler vortekslenirken hemen sonra 200 µL ferrozine (5 mM) eklenmiştir. Homojen şekilde karıştırılan örnekler karanlık ortamda ve oda sıcaklığında (20-25 °C) 10 dk süreyle inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda örneklerin absorbens değerleri 562 nm’de UV-vis spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülmüştür. Örneklerin demir şelatlama aktivitesi değerleri aşağıdaki denklem kullanılarak % inhibisyon şeklinde hesaplanmıştır. Yapılan tüm deneyler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi (Inh.)} = \left[ \frac{\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}^-} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}}}{\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}^-}} \right] \times 100$$

#### **Demir indirgeme (redüktif potansiyel) aktivitesi**

Örneklerin antioksidan kapasiteleri hakkında fikir veren indirgeme gücü Oyaizu (1986)’nun uyguladığı yöntem temel alınarak tespit edilmiştir. Çeşitli konsantrasyondaki örnek ekstrelerinin ve standart (askorbik asit) maddenin 1 mL’si 2.5 mL 0.2 M fosfat tampon çözeltisi (pH=6.6) ile karıştırılmış ve sonrasında 2.5 mL % 1 w/v potasyumferrisiyanid [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] eklenerek 50 °C’de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra reaksiyon karışımına 2.5 mL trikloroasetik asit (10% w/v) eklenerek 1000 g de 10 dk santrifüj edilmiş ve çözeltinin üst kısmından 2.5 mL alınarak 2.5 mL distile su ve 0.5 mL %0.1 FeCl<sub>3</sub> eklendikten sonra örnekler vortekslenmiş ve 700 nm’de absorbens değerleri UV-vis spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülmüştür. Sonuçlar mg askorbik asit eşdeğer (mg AAE/kg) olarak verilmiştir. Yapılan tüm deneyler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

#### **Fosfomolibden yöntemi ile antioksidan kapasite**

Örneklerin antioksidan kapasite değerleri Prieto ve ark. (1999) tarafından önerilen yöntem kullanılarak tespit edilmiştir. Bu kapsamda ilk olarak test çözeltisi (0.6 M sülfirik asit (30 mL), 28 mM sodyum fosfat (28 mL) ve 4 mM amonyum molibdat (40 mL) birleştirilmesi ile taze olarak hazırlanmış ve sonrasında 0.4 mL örnek, 4 mL test çözeltisi ile karıştırılmış ve test tüpleri vortekslenirken sonra su banyosunda 95 °C sıcaklıkta 90 dk süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda örneklerin absorbens değerleri 695 nm’de UV-vis spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülmüştür. Antioksidan aktivite sonuçları askorbik asit standardı ile çizilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak mg askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/kg) olarak verilmiştir. Yapılan tüm deneyler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

#### **İstatistiksel analiz**

Çalışma kapsamında elde edilen verilerin birbiri ile kıyaslanması amacıyla SAS istatistiksel paket programı kullanılmıştır (SAS, 2000). Değerlendirilen örneklerin özellikleri tek faktör varyans analiz yöntemi kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile de solventler birbiri ile kıyaslanmıştır (p<0.05). Test parametreleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla Pearson korelasyon analizi XLSTAT programı (XLSTAT, 2013) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **Bulgular ve Tartışma**

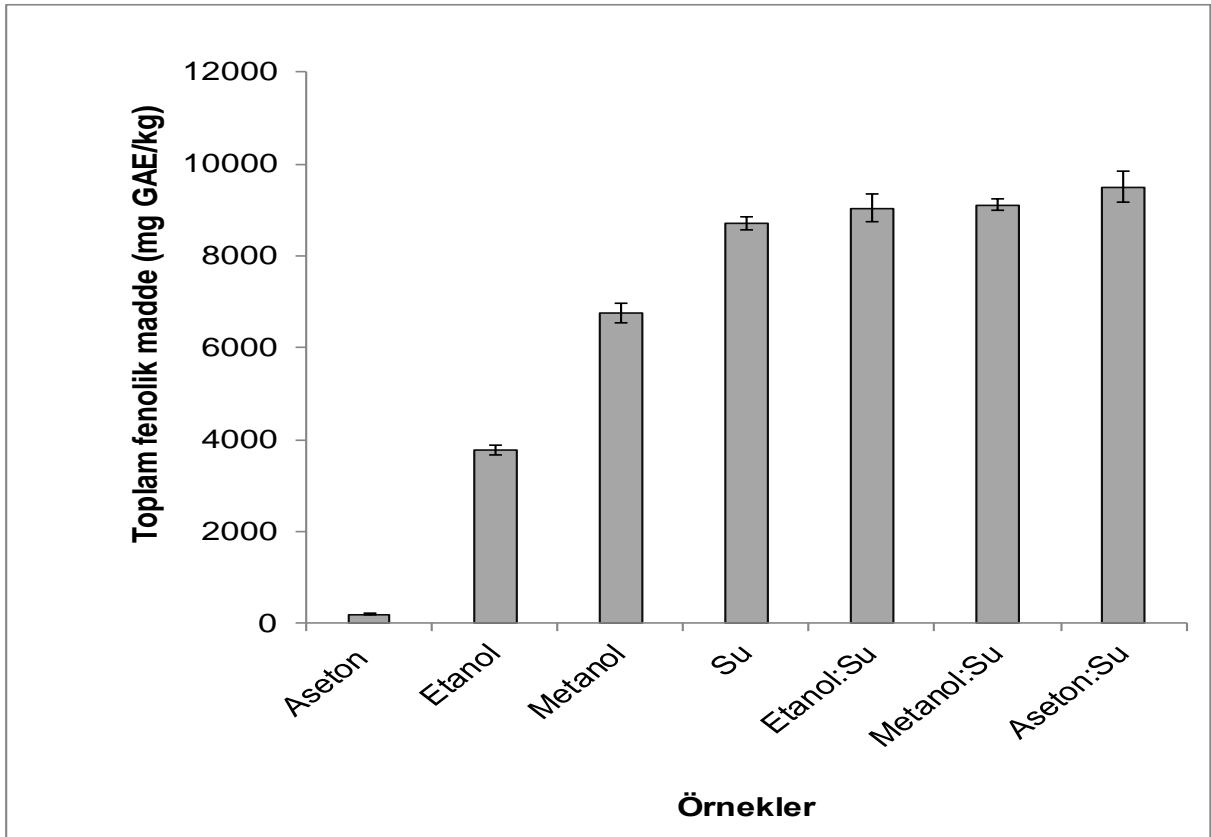
##### **Hünnap meyvesinin biyoaktif bileşen konsantrasyonu**

Hünnap meyvesinin farklı solventler ve bu solventlerin saf su ile 1:1 oranındaki karışımları ile yapılan ekstraksiyon işlemi neticesinde elde edilen sıvı ekstraktlarına ait görüntü Şekil 1’de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere solvent tipine göre elde edilen ekstraktların renkleri birbirinde oldukça farklı ve daha açık iken solventlerin su ile karıştırılması ile daha koyu bir ekstre elde edilmiştir.

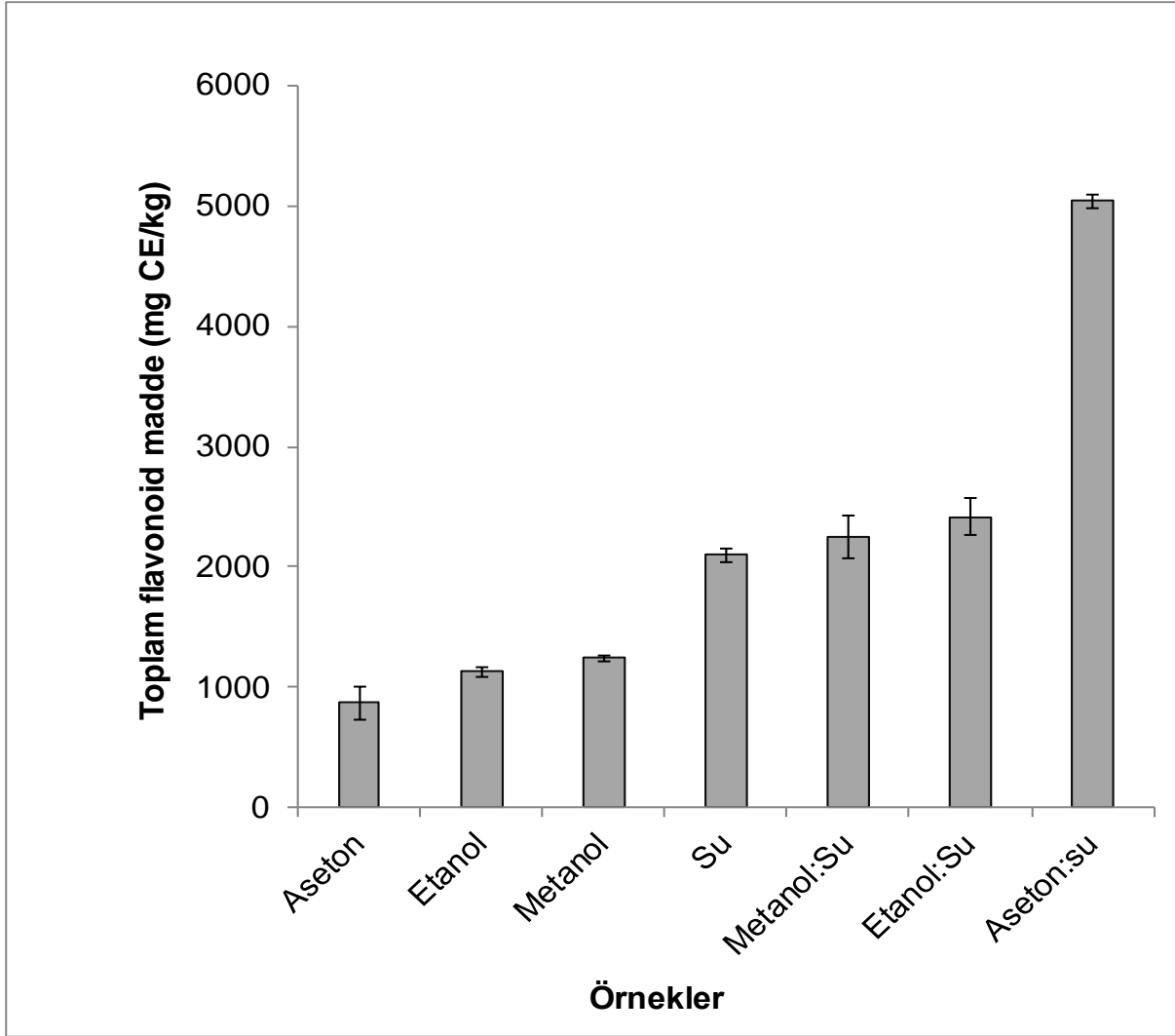
Örneklerin toplam fenolik madde miktarlarındaki değişim Şekil 2’de gösterilmiştir. Şekilden de net olarak görüldüğü üzere hünnap meyvesinin farklı solventler ile yapılan ekstraksiyonu sonrasında elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları, solvent tipine bağlı olarak oldukça büyük farklılıklar sergilemiş (p<0.05), toplam fenolik madde miktarının en düşük olduğu örnek sadece aseton ile ekstrakte edilen örnek olurken (198.6 mg GAE/kg), bu örneği sırasıyla etanol (3766.7 mg GAE/kg), metanol (6750.5 mg GAE/kg) ve su (8695.2 mg GAE/kg)

ekstreleri takip etmiştir. Tüm solventlerin su ile yapılan karışımları ile elde edilen ekstraların toplam fenolik madde miktarları solventlerin tek başlarına kullanılmaları ile edilen ekstraların toplam fenolik madde miktarlarından daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Etanol:su karışımı ile elde edilen ekstrenin toplam fenolik madde miktarı 9034 mg GAE/kg olarak bulunmuşken bu değer metanol:su ve aseton:su örnekleri için 9115.4 ve 9504 mg GAE/kg olarak kaydedilmiştir (Şekil 2). Solvent tipine bağlı olarak örnekler arasında gözlenen toplam fenolik madde miktarlarındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Doğan ve ark. (2014) farklı solvent kullanımının ceviz dış kabuğunun biyoaktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar ve en düşük toplam fenolik madde miktarını su ekstresinde (44.34-48.91 mg GAE/g örnek), en yüksek toplam fenolik madde miktarını ise sırasıyla etanol (63.81-67.12 mg GAE/g örnek) ve metanol (69.18-73.16 mg GAE/g örnek) ekstralarında gözlemişlerdir. Bir başka çalışmada Alothman ve ark. (2009), farklı tropikal meyve pulplarının biyoaktivite performanslarını kıyaslamak amacıyla farklı organik solvent ve bu solventlerin sulu karışımlarının örneklerin biyoaktivitesi üzerine etkisini incelemiş ve solvent tipinin biyoaktif performans üzerinde

son derece önemli olduğunu vurgulamıştır. Aynı çalışmada etanol ve metanol solventlerinin farklı oranlardaki sulu karışımları ile elde edilen ekstre örnekleri, sadece su ile elde edilen ekstraların toplam fenolik madde değerleri ile kıyaslanmış ve en yüksek değer tüm meyve örnekleri içinde aseton:su karışımı ile alınan ekstre örneklerinde tespit edilmiştir. Maisuthisakul ve ark. (2007) yağı alınmış buğday rüşeyminde toplam fenolik ekstraksiyonunda %50'lik etanolün, sadece su ve etanole göre daha iyi sonuç verdiğini bildirmiştir. Boeing ve ark. (2014) yapmış oldukları bir çalışmada etanol, metanol ve asetonu hem sulu hem de asitlendirilmiş sulu karışımları olarak hazırlamış ve örnekler içerisinde en yüksek toplam fenolik madde miktarının aseton:su karışımı ile (70:30) elde edilen örneklerde olduğu sonucuna varmıştır. Bosso ve ark. (2016) solventlerin fenolik izole etme kapasitelerinin sahip oldukları dielektrik sabiti ile alakalı olduğunu ve bu sabitin büyüklüğüne göre solventin polaritesinin değiştiğini, normal şartlarda bu sabitin büyümesi ile örneğin polaritesinin arttığı ve çözme gücünün de yükseldiğini, bu durumda saf metanolün etanole göre daha iyi ekstraksiyon verimi sağladığını bildirilmiştir.



Şekil 2. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri.



Şekil 3. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının toplam flavonoid madde içerikleri.

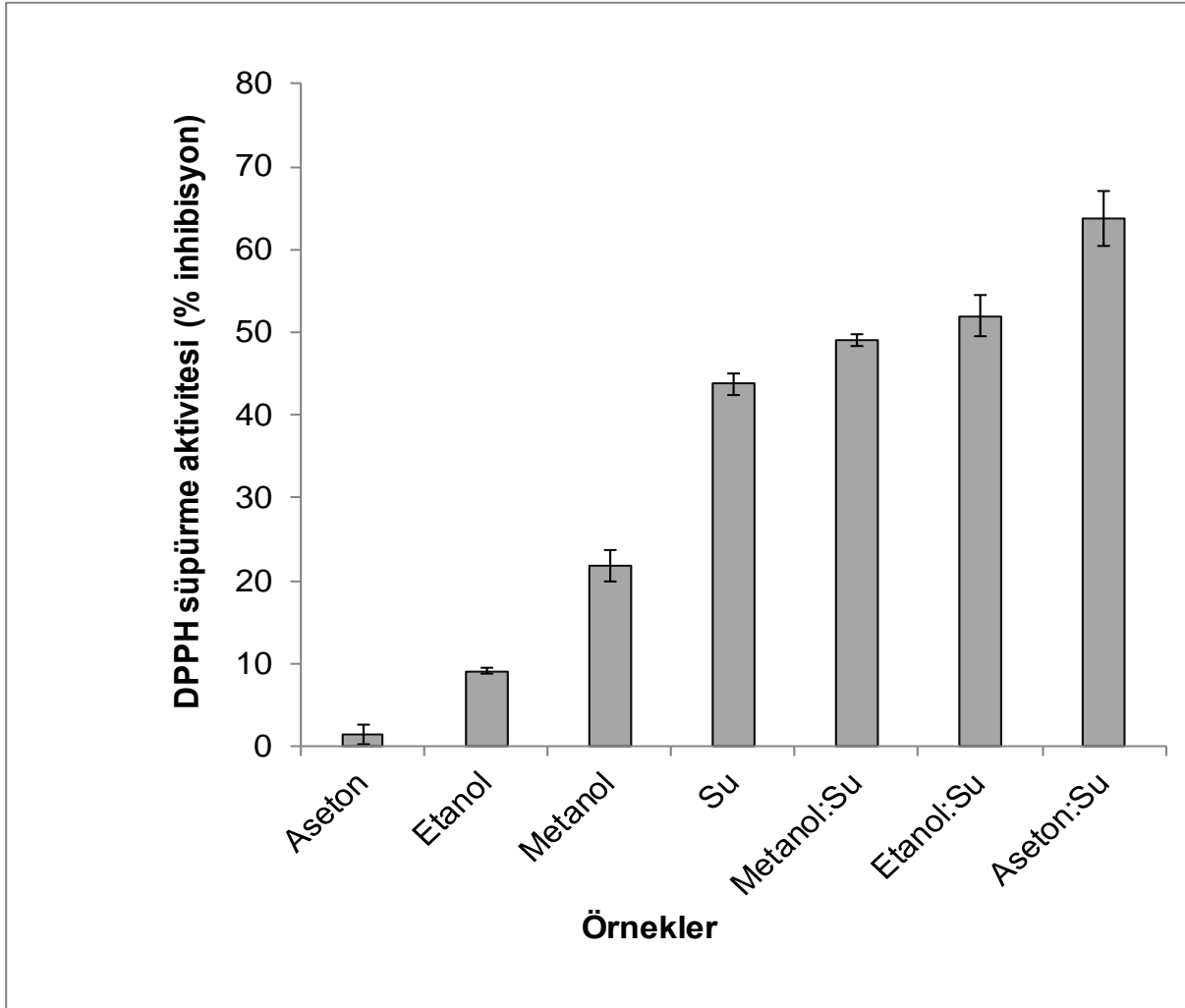
Hünnap örneklerinin solvent tipine göre toplam flavonoid madde miktarlarındaki değişim ise Şekil 3'te gösterilmiştir. Toplam fenolik madde miktarlarına benzer şekilde örneklerin toplam flavonoid madde içerikleri arasında da solvent tipine bağlı olarak önemli farklılıklar kaydedilmiş ve gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). En küçük toplam flavonoid madde miktarı aseton ekstresinde (872.5 mg CE/kg), en yüksek toplam flavonoid madde miktarı ise aseton:su ile elde edilen ekstre örneğinde belirlenmiştir (5037.5 mg CE/kg). Sadece aseton yerine eşit oranda aseton:su içeren karışım ile yapılan ekstraksiyon ile yaklaşık 6 kat daha fazla flavonoid ekstraksiyonu sağlanmıştır. Benzer şekilde etanol ve metanol yerine bunların sulu karışımları ile yapılan ekstraksiyonda daha yüksek oranda flavonoid oranı tespit edilmiş ve bu farklılık da istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Sulu solventler içerisinde etanol:su ve metanol:su karışımlarının toplam flavonoid içerikleri birbirine yakın bulunurken aseton:su karışımı ile alınan

ekstrelerin toplam flavonoid madde içerikleri yaklaşık 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, farklı solvent kullanımının *Carissa opaca* meyvesinin toplam flavonoid madde içeriği bakımından farklı sonuçlar ortaya koyduğu belirlenmiş, en düşük değer n-hekzan ile elde edilen fraksiyonda gözlenirken, en yüksek değer kloroform ekstresinde gözlenmiştir (Sahreen ve ak., 2010). Bir başka çalışmada ise etanol, metanol ve aseton solventleri ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid içerikleri kıyaslanmış ve en yüksek değer aseton:su karışımı ile elde edilen ekstre örneğinde belirlenmiş, etanol:su ve metanol:su karışımı ile elde edilen ekstraktlar, yaklaşık %50 daha düşük toplam flavonoid içeriği sergilemiştir (Allothman ve ark., 2009).

Bitkisel materyallerden polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, fenolik yapıya sahip bileşiğin ekstraksiyon sürecinde kullanılan solvent içerisindeki çözünürlüğü, son ürünün biyoaktivitesini ortaya koyan en önemli parametre olarak ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda kullanılan

solventin polaritesi fenolik maddelerin çözünürlüğü üzerindeki en etkili faktörlerden biridir ve bu şekilde kullanılan solvent tipi, göstereceği polariteye bağlı olarak elde edilen ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarını doğrudan ve önemli bir şekilde etkilemektedir (Naczki ve Shahidi, 2006). Bundan dolayı tüm bitki fenoliklerini izole edebilmeye yönelik standart bir ekstraksiyon prosedürü geliştirmek oldukça zordur. Genel olarak

lipofilik karakterli polifenoller polaritesi düşük olan solventler ile daha iyi ekstrakte edilebilmektedir. Genel olarak aseton:su karışımı solventler, polar yapılı polifenollerin özütlenmesinde oldukça iyi sonuçlar vermekte olup (Lu ve Foo, 1999; Luximon-Ramma ve ark., 2003; Sun ve ark., 2002), insan tüketimi açısından çoğunlukla hidroalkolik (etanol:su) ekstraksiyon daha çok ve yaygın bir şekilde tercih edilmektedir.



Şekil 4. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi.

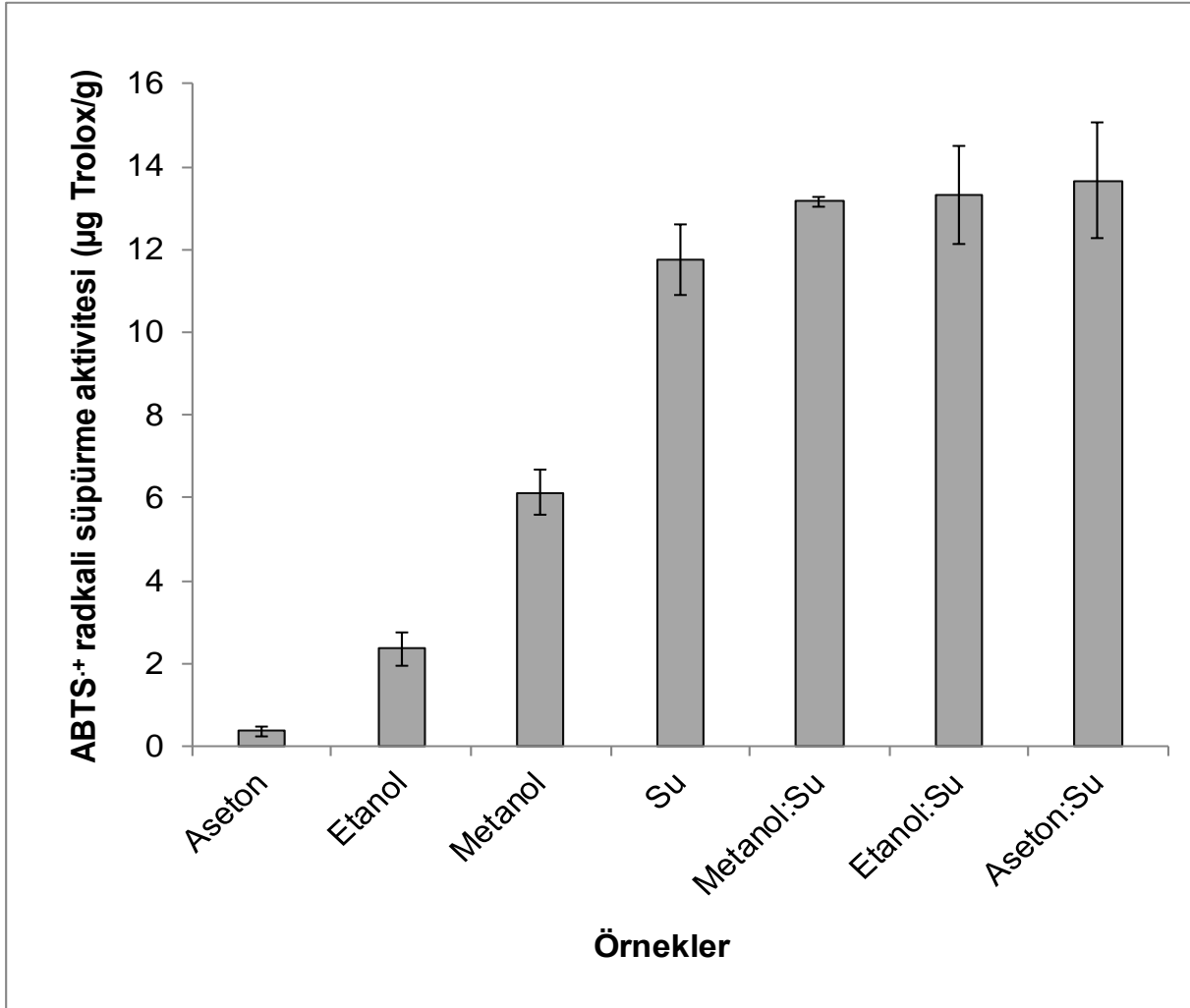
#### Hünnap meyvesinin antiradikal aktivitesi

Örneklerin antiradikal aktivitelerini ortaya koymak amacıyla DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ve ABTS<sup>+</sup> (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radikallerini süpürme performansları test edilmiştir. Farklı solventler ile elde edilen hünnap meyvesi ekstraktlarına ait DPPH radikali süpürme aktiviteleri Şekil 4'te gösterilmiştir. Örnekler içerisinde en düşük antiradikal aktivite değeri neredeyse hiç inhibisyon değeri olmayan (%1.49) asetonlu ekstrede gözlenmiştir. Bu örneği %9.09 ve 21.92 inhibisyon oranları ile etanol ve metanollü

ekstreler takip etmiştir. Aseton ile elde edilen ekstrenin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerlerinin diğer örnekler ile kıyaslandığında en düşük seviyede olması sebebiyle aseton ile alınan ekstre örneğinde radikal süpürme aktivitesi oldukça düşük bulunmuştur. DPPH radikalini en yüksek oranda inhibe edebilen örnek ise aseton-su karışımı ile elde edilen ekstre olmuş ve bu değer de %63.7 olarak ölçülmüştür. Etanol-su ve metanol-su ile elde edilen ekstraktların DPPH radikali süpürme aktiviteleri aseton-su karışımına nazaran yaklaşık %20 daha düşük bulunmuştur. Kullanılan solvent tipine bağlı olarak elde edilen

ekstrelerin DPPH radikali süpürme performansları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yaşa (2019), hünnap meyvesinin su ile elde edilen ekstralarının 1 mg/mL konsantrasyondaki bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT)'e göre daha yüksek DPPH radikali süpürme etkisi gösterdiğini bildirmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise, Alothman ve ark. (2009), ananas püresinin farklı solventler ile elde edilen

ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktivitesinin solvent tipine göre farklı sonuçlar sergilediğini ( $p<0.05$ ) bildirmiş ve araştırmamızda elde edilen bulgulara benzer şekilde, sadece su ile alınan ekstrenin % inhibisyon değerini %12.7, metanol:su, etanol:su ve aseton:su ile alınan ekstralarda ise bu değerlerin sırasıyla %67.7, 78.9 ve 87.8 olduğunu ifade etmiştir.



Şekil 5. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstralarının ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktivitesi.

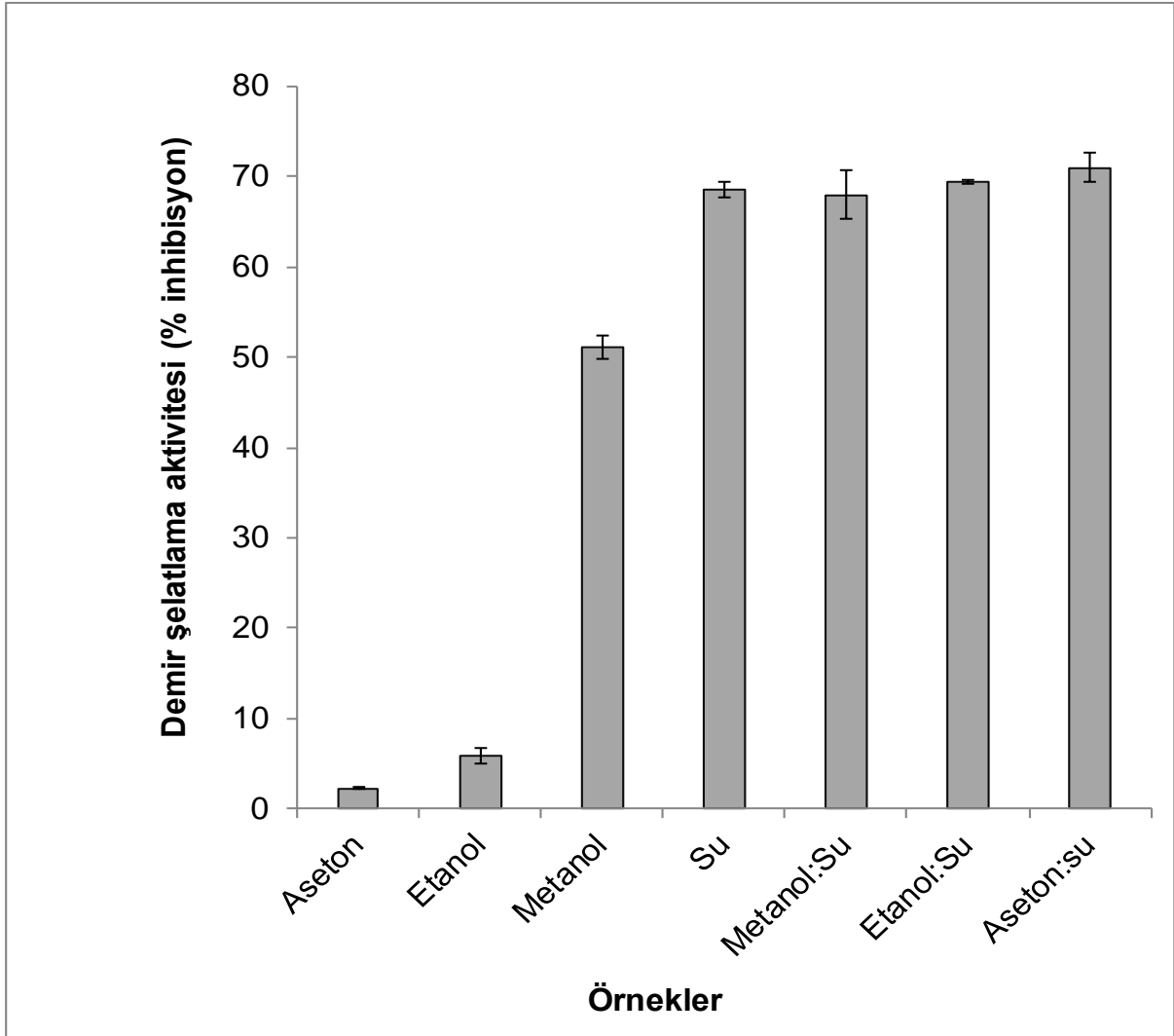
Hünnap ekstralarına ait ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktivitesi değerleri ise Şekil 5'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar DPPH radikaline paralellik göstermiş, benzer şekilde en yüksek antiradikal aktivite 0.38 µg Troloks/g örnek olarak aseton ile elde edilen ekstre örneğinde belirlenmiş, bu örneği yine etanolü (2.36 µg Troloks/g) ve metanolü (6.14 µg Troloks/g) ekstre örnekleri takip etmiştir. En yüksek antiradikal aktivite ise yine DPPH radikali süpürme aktivitesinde olduğu gibi aseton-su karışımı ile elde edilen ekstre örneğinde gözlenmiştir (13.65 µg Troloks/g). Bununla birlikte etanol-su ve metanol-su

karışımları ile elde edilen ekstraların ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktiviteleri birbirine yakın bulunmuş olup aseton-su karışımı ile elde edilen ekstrenin antiradikal aktivitesi ile bu örneklerin aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı da belirlenmiştir ( $p>0.05$ ). Yine DPPH radikali süpürme aktivitesi değerlerinde olduğu gibi, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları bakımından zayıf olan örneklerin ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme aktiviteleri de oldukça zayıf bulunmuştur. Jan ve ark. (2013) su ile elde edilen ekstraların oldukça iyi ABTS<sup>+</sup> radikal süpürme aktivitesi sergilediğini bildirmiş ve bu radikalın



süpürülmesinde ekstredeki fenolik madde yoğunluğunun oldukça önemli olduğunu ifade edilmiştir (Pietta ve ark., 1998). Örneklerin radikal süpürme aktivitesi ile sahip olduğu toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içerikleri arasında bir ilişki olup olmadığı Pearson korelasyon analizi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 1’de gösterilmiştir. Görüldüğü üzere örneklerin toplam fenolik madde içerikleri doğrudan antiradikal performans üzerinde etkili olmuş, toplam fenolik madde ile DPPH ( $r=0.934$ ,  $p<0.05$ ) ve ABTS<sup>+</sup>

( $r=0.960$ ,  $p<0.05$ ) radikali süpürme aktivitesi arasında pozitif ve oldukça önemli bir korelasyon belirlenmiştir. Jan ve ark. (2013) da yaptıkları bir çalışmada örneklerin toplam fenolik madde ile DPPH radikali süpürme aktiviteleri arasında pozitif ve oldukça önemli bir korelasyon gözlemişlerdir ( $r=0.929$ ,  $p<0.05$ ). Genel olarak fitokimyasalların DPPH ve ABTS<sup>+</sup> radikal süpürme aktiviteleri arasında güçlü ve pozitif bir ilişki varlığı bazı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Leong ve Shui, 2001; Maisuthisakul ve ark., 2007).



Şekil 6. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.

#### **Hünnap meyvesinin antioksidan kapasitesi**

Hünnap meyvesinden farklı solventler ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerini ortaya koymak amacıyla, demir şelatlama, indirgeme gücü (redüktif potansiyel) ve fosfomolibden yöntemi ile antioksidan kapasite tayin yöntemlerinden faydalanılmıştır. Örnekler için demir şelatlama aktivitesi değerleri % inhibisyon şeklinde Şekil 6’da gösterilmiştir. Görüldüğü üzere en düşük şelatlama etkisi (%2.20) biyoaktivitenin de daha önceden en

düşük olarak belirlendiği aseton ile elde edilen ekstrede belirlenmiştir. Bu örneği, etanol (%5.80) ve metanol (%51) ile elde edilen ekstraktlar takip etmiştir. En yüksek şelatlama aktivitesi ise aseton:su karışımında (%71) ölçülmüştür. Örneklerin şelatlama aktiviteleri bakımından solvent tipine bağlı olarak gözlemlenen farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Antiradikal kapasite değerlerinde olduğu gibi, örneklerin biyoaktif bileşen konsantrasyonu

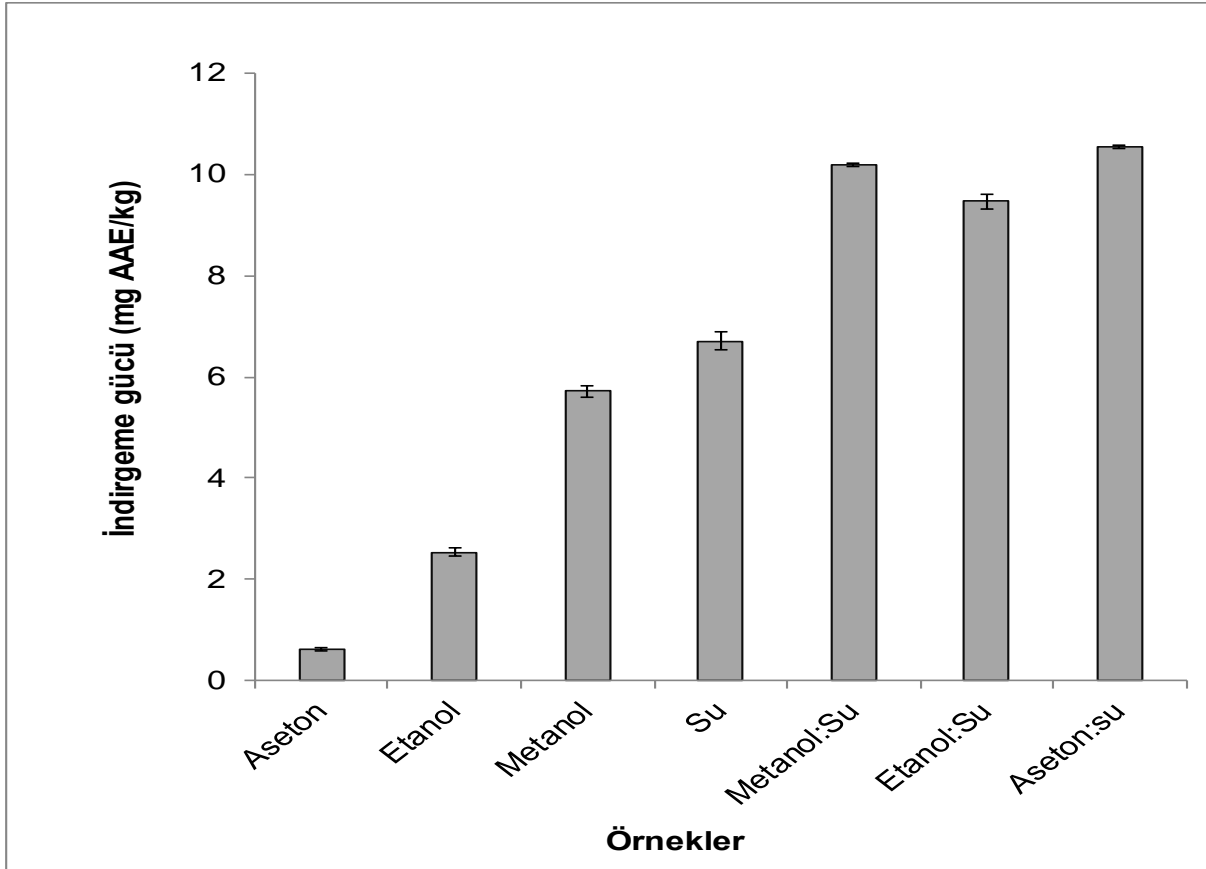
şelatlama aktivitesi üzerinde önemli etki göstermiştir ( $p<0.05$ ). Demir şelatlama aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarı arasında önemli ve pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir

( $r=0.964$ ,  $p<0.05$ , Tablo 1). Benzer şekilde örneklerin demir şelatlama aktivitesi antiradikal kapasitesi ile de pozitif ve önemli bir korelasyon sergilemiştir ( $p<0.05$ , Tablo 1).

**Tablo 1.** Hünnap meyvesine ait biyoaktivite parametreleri arasındaki ilişkiyi gösteren Pearson korelasyon katsayıları

Parametreler	TFnM	TFvM	ARA <sub>(DPPH)</sub>	ARA <sub>(ABTS.+)</sub>	DŞA	İG	AA
TFnM	1						
TFvM	0.677	1					
ARA <sub>(DPPH)</sub>	0.934	0.848	1				
ARA <sub>(ABTS.+)</sub>	0.960	0.739	0.983	1			
DŞA	0.964	0.661	0.933	0.964	1		
İG	0.950	0.768	0.971	0.971	0.939	1	
AA	0.987	0.644	0.888	0.911	0.927	0.932	1

TFnM: Toplam fenolik madde, TFvM: Toplam flavonoid madde, ARA<sub>(DPPH)</sub>: DPPH radikali süpürme aktivitesi, ARA<sub>(ABTS.+)</sub>: ABTS<sup>•+</sup> radikali süpürme aktivitesi, DŞA: Demir şelatlama aktivitesi, İG: İndirgeme gücü (redüktif potansiyeli), AA: Antioksidan aktivite (fosfomolibden).



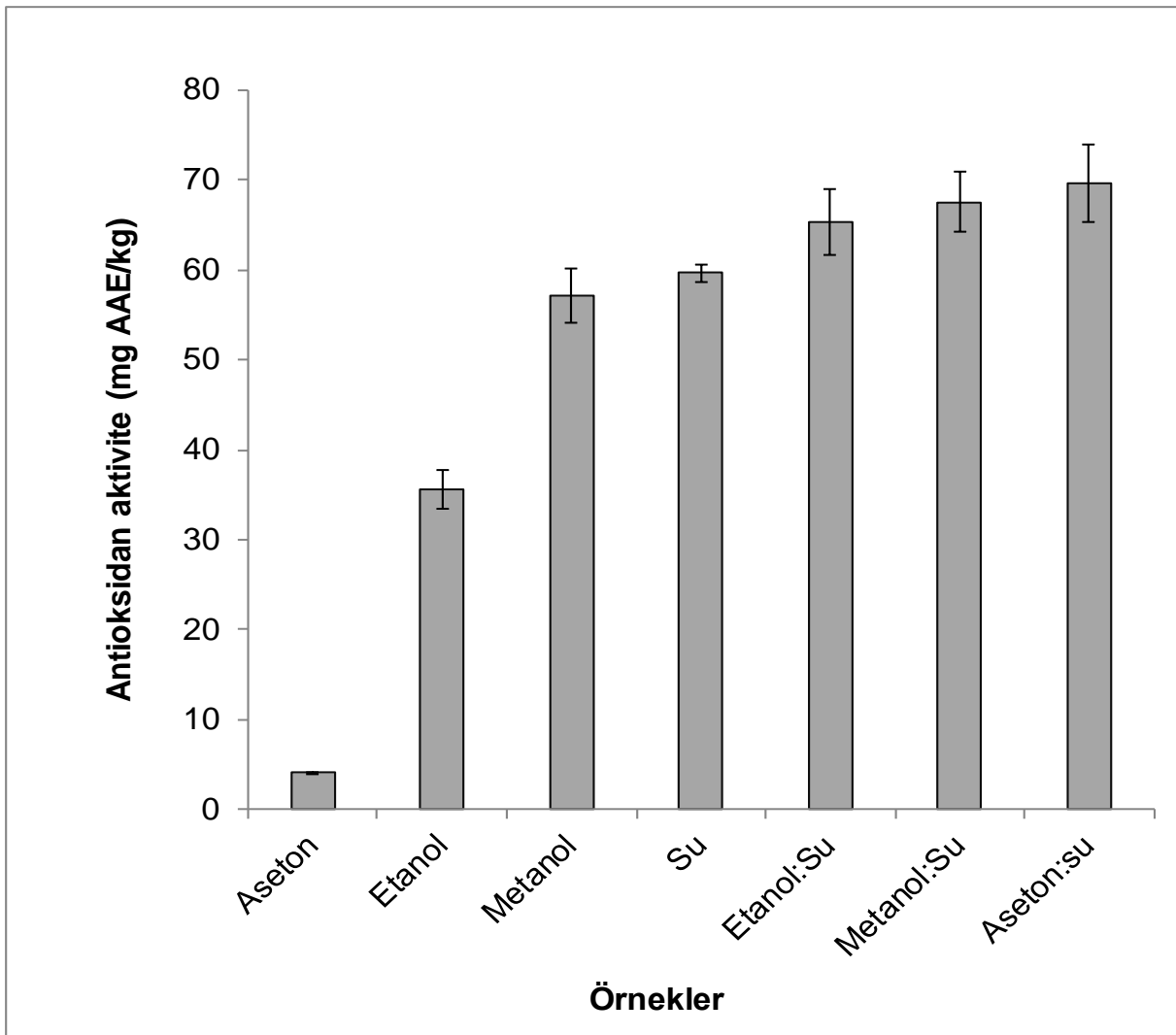
**Şekil 7.** Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının indirgeme gücü (redüktif potansiyeli).

Örneklerin antioksidan kapasitesi değerleri indirgeme potansiyeli olarak Şekil 7'de gösterilmiştir. Örneklerin indirgeme potansiyeli

değerleri açısından en düşük aktivite aseton ile elde edilen ekstre örneğinde ölçülürken (0.6 mg AAE/kg) en yüksek aktivite asetonun sulu karışımı

(1:1) ile elde edilen ekstre örneğinde tespit edilmiştir (10.5 mg AAE/kg). Tekli solventler içerisinde en yüksek aktivite sadece su ile elde edilen ekstre örneğinde belirlenmiş olup, diğer çözücülerin sulu karışımları tekli kullanımlarına nazaran daha yüksek indirgeme gücü değeri sergilemiştir. Solvent tipine bağlı olarak örneklerin redüktif potansiyel aktiviteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Genel olarak bakıldığında örneklerin antioksidan kapasitesinin tek başına organik solvent kullanımı ile elde edilen ekstrelerde net olarak ortaya çıkmadığı, organik çözücülerin sulu karışımları ile elde edilen ekstrelerin daha fazla biyoaktif madde transferi sağlaması sebebiyle, daha yüksek bir

antioksidan etki ortaya koyabildiği gözlenmiştir. Tablo 1’de de görüldüğü üzere, örneklerin indirgeme gücü (redüktif potansiyeli) örneğin yapısında yer alan toplam fenolik madde miktarı arttıkça yükselmiş ve bu etki de önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). İndirgeme gücü aynı zamanda toplam flavonoid içeriği ile de pozitif ve önemli bir korelasyon sergilemiştir ( $r=0.768$ ,  $p<0.05$ ). Jan ve ark. (2013) farklı solvent tiplerini *Monotheca buxifolia* meyvesinin biyoaktivitesi üzerinde denemiş ve sadece su ile alınan ekstrelerin indirgeme gücünün metanol, n-hekzan, etil asetat ve bütanol ile alınan ekstrelerin indirgeme gücü değerinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir ( $p<0.05$ ).



Şekil 8. Farklı solvent kullanımı ile üretilmiş *Z. jujube* ekstraktlarının antioksidan aktivitesi.

Hünnap ekstralarının antioksidan kapasite değerleri fosfomolibden yöntemi ile de test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 8’de gösterilmiştir. Görüldüğü üzere elde edilen antioksidan aktivite değerleri redüktif potansiyel değerlerine paralellik sergilemiş, en düşük antioksidan aktivite değeri

aseton ile elde edilen ekstre örneğinde (4.1 mg AAE/kg) tespit edilmişken, bu örneği etanol (35.6 mg AAE/kg) ve metanol ekstraları (57.1 mg AAE/kg) takip etmiştir. Redüktif potansiyeli değerlerinde olduğu gibi, organik solventlerin sulu karışımları tekli kullanımlarına göre oldukça yüksek

antioksidan aktivite değeri sergilemiş ve en yüksek antioksidan aktivite değeri de diğer parametrelerde olduğu gibi aseton:su karışımı (1:1) ile elde edilen ekstre örneğinde gözlenmiştir. Örneklerin antioksidan kapasite değerleri bakımından sergilemiş oldukları farklılık istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Diğer antioksidan ve antiradikal kapasite değerlerinde olduğu gibi, fosfomolibden tayini ile ortaya konan antioksidan aktivite değeri, örneklerin toplam fenolik madde miktarları ile pozitif ve önemli bir korelasyon sergilemiş, artan fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitenin de önemli ölçüde artışı sağlamıştır ( $p < 0.05$ , Tablo 1). Yapılan bir çalışmada örneklerin sulu ekstralarının metanol ve hekzan ile alınan ekstralarına göre fosfomolibdat iyonunu daha kuvvetli indirgediği ve bu şekilde daha güçlü bir antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Jan ve ark., 2013).

### Sonuç ve Öneriler

Hünnap meyvesinin farklı organik solvent ve bu solventlerin sulu karışımlarının elde edilen ekstre biyoaktivitesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, solvent tipinin hünnap biyoaktivitesi üzerinde son derece önemli olduğu ve başta meyvenin toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği olmak üzere, tüm antiradikal ve antioksidan etkilerinin organik solvent:su karışımı ile elde edilen ekstralarda daha yüksek bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır. Tüm biyoaktif parametreler göz önüne alındığında hünnap meyvesinin en düşük biyoaktivitesi sadece aseton kullanılarak elde edilen ekstralarda gözlenmişken, en yüksek biyoaktif performans aseton ve suyun eşit oranda karıştırılması ile elde edilen solvent kullanılarak üretilen ekstre örneklerinde tespit edilmiştir. Hünnap meyvesinin yapısında yer alan fenolik yapıları bileşenlerin tek solvent tipi ile değil ilgili solventin sulu çözeltisinin kullanımı ile daha iyi özütlenilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu bağlamda hünnap meyvesinden biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda en etkili solvent aseton:su olarak tespit edilmiştir.

### Kaynaklar

Alothman, M., Bhat, R., Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3): 785-788.

Aravindaram, K., Yang, N.S. 2010. Anti-inflammatory plant natural products for cancer therapy. *Planta Medica*, 76(11): 1103-1117.

Boeing, J.S., Barizão, É.O., e Silva, B.C., Montanher, P.F., de Cinque Almeida, V., Visentainer, J.V.

2014. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: Application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8(1): 48.

Bosso, A., Guaita, M., Petrozziello, M. (2016). Influence of solvents on the composition of condensed tannins in grape pomace seed extracts. *Food Chemistry*, 207: 162-169.

Doğan, C., Doğan, N. Çelik, Ş. 2014. Farklı solventlerle ekstrakte edilen ceviz dış kabuklarının bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18(3): 41-47.

Du, L.J., Gao, Q.H., Ji, X.L., Ma, Y.J., Xu, F.Y., Wang, M. 2013. Comparison of flavonoids, phenolic acids, and antioxidant activity of explosion-puffed and sun-dried jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(48): 11840-11847.

Faller, A. L. K., Fialho, E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*, 42(1): 210-215.

Gao, Q.H., Wu, C.S., Yu, J.G., Wang, M., Ma, Y.J., Li, C.L. 2012. Textural characteristic, antioxidant activity, sugar, organic acid, and phenolic profiles of 10 promising jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) selections. *Journal of Food Science*, 77(11): C1218-C1225.

Gao, Q. H., Wu, C. S., Wang, M. 2013. The jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(14): 3351-3363.

Ghobadi, A., Amini Behbahani, F., Yousefi, A., Taghavi Shirazi, M., Behnoud, N. 2019. Medicinal and nutritional properties of *Ziziphus jujuba* Mill. in traditional persian medicine and modern phytotherapy. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 6(2): 146-50.

Jan, S., Khan, M. R., Rashid, U., Bokhari, J. 2013. Assessment of antioxidant potential, total phenolics and flavonoids of different solvent fractions of *Monothecha buxifolia* fruit. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 4(5): 246-254.

Leong, L.P, Shui, G. 2001. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69-75.

Lu, Y., Foo, L.Y. 1999. Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 51: 91-94.

- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Crozier, A. 2003. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 496-502.
- Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R., Gordon, M.H. 2007. Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *Food Chemistry*, 100(4): 1620-1629.
- Mathew, S. and Abraham, T.E. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, 94: 520-528.
- Mokrani, A., Madani, K. 2016. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162: 68-76.
- Naczki, M., Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- Pietta, P., Simonetti, P., Mauri, P. 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11): 4487-90.
- Plastina, P., Bonofiglio, D., Vizza, D., Fazio, A., Rovito, D., Giordano, C., Gabriele, B. 2012. Identification of bioactive constituents of *Ziziphus jujube* fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2): 325-332.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337-341.
- Rival, S. G., Boeriu, C. G., Wichers, H. J. 2001. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1): 295-302.
- Sahreem, S., Khan, M.R., Khan, R.A. 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122(4): 1205-1211.
- SAS Institute. 2000. JMP: Statistics and Graphics Guide. Sas Inst.
- 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.
- Sun, J., Chu, Y., Wu, X., Liu, R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 7449-7454.
- Thoo, Y.Y., Ho, S.K., Liang, J.Y., Ho, C.W., Tan, C.P. 2010. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chemistry*, 120(1): 290-295.
- Tosetti, F., Noonan, D. M., Albin, A. 2009. Metabolic regulation and redox activity as mechanisms for angio prevention by dietary phytochemicals. *International Journal of Cancer*, 125(9): 1997-2003.
- Wettasinghe, M., Bolling, B., Pihak, L., Xiao, H., Parkin, K., 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6704-6709.
- XLSTAT. 2013. Data analysis and statistics software for Microsoft Excel. New York, NY: Addinsoft.
- Xue, Z., Feng, W., Cao, J., Cao, D., Jiang, W. 2009. Antioxidant activity and total phenolic contents in peel and pulp of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 33(5): 613-629.
- Yaşa, H. 2019. Türkiye Çanakkale'den hünnap meyvesinin (*Zizyphus jujuba*) sulu ekstrelerinin toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 158-165.
- Zhishen J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.