

## PAPER DETAILS

TITLE: Bazi Bitkilerin Sekonder Metabolit İçeriklerinin HPLC ile Analizi

AUTHORS: Abdülmelik Aras, Musa Karadag

PAGES: 269-279

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/4421956>

## ARAŞTIRMA MAKALESİ

## Bazı Bitkilerin Sekonder Metabolit İçeriklerinin HPLC ile Analizi

Musa KARADAĞ<sup>1</sup> Abdülmelik ARAS<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Iğdır Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Iğdır, Türkiye

<sup>2</sup> Iğdır Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Iğdır, Türkiye

## Sorumlu Yazar

<sup>2</sup> Iğdır Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Iğdır, Türkiye  
Email: [abadi.49@hotmail.com](mailto:abadi.49@hotmail.com)

**Özet:** Bitkilerin sekonder metabolit bileşik profilinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi, gıda kalitesi ve özgünlük değerlendirmesi için önemli bir araçtır. Bu bağlamda, bu çalışmada, dört bitkinin sekonder metabolit bileşiklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae), *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., *Rubus caesius* L. sekonder metabolit bileşikleri HPLC ile analiz edildi. HPLC ile yapılan analiz için yirmi farklı bileşik standart olarak kullanıldı. Belirlenen bileşiklerden en yoğun bulunan bileşikler Hidroksibenzoik asit, gallik asit, Askorbikaskorbik asit ve alizarin olarak tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Sekonder metabolit, HPLC, *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae), *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., *Rubus caesius* L.

## Analysis of Secondary Metabolite Contents of Some Plants by HPLC

**Abstract:** Identification and quantification of secondary metabolite compound profiles of plants is an important tool for food quality and authenticity assessment. In this context, the aim of this study was to determine secondary metabolite compounds of four plants. *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae), *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., and *Rubus caesius* L. secondary metabolite compounds were analyzed by HPLC. Twenty different compounds were used as standards for the analysis performed by HPLC. The most abundant compounds among the determined compounds were determined as hydroxybenzoic acid, Gallik acid, ascorbic acid and alizarin.

**Key words:** Sekonder metabolit, HPLC, *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae), *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., *Rubus caesius* L.

## GİRİŞ

Bitkilerden elde edilen ilaçlar, yüzyıllardır insanların sağlık sorunlarını gidermede önemli bir rol oynamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarına göre, gelişmekte olan ülkelerdeki nüfusun %80'ine yakını sağlık bakımı için geleneksel tıbbı müracaat etmektedir (Kumar et al., 2021). Günümüzde, bitkilerin yapısındaki fenolik bileşiklerin belirlenmesi ve analizi için çok çeşitli analitik teknikler kullanılmış ve çok sayıda yeni bileşik tanımlanmıştır. Fenolik bileşenlerin çok çeşitli biyolojik aktiviteye sebep oldukları ortaya konmuştur (Das et al., 2018). En basit moleküllerden en karmaşığa kadar on binden fazla fenolik bileşik tanımlandığı rapor edilmiştir (Lopes et al., 2023). Bu bileşiklerden olan metil gallat, kuersetin, ellagik asit, gallik asit, kuersetin, protokatekuik asit metil esteri, kafeik asit (Tran et al., 2017), kaempferol kafeik asit, ve kuersetin (Hossen et al., 2015) kromatografik tekniklerle tanımlanmıştır (Yang et al., 2024). Yoğun fenolik bileşik seviyeleri nedeniyle çeşitli bitkiler oksidatif reaksiyonları azaltmada büyük önem taşımaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROS), üretimi ve atılımı arasında bir dengesizlik olduğunda, proteinler, membran lipitleri ve DNA gibi hücrel bileşenlere ciddi hasar verebilir (Freile-Pelegrín & Robledo, 2013).

*Rubus caesius* L. (Kara üzüm) içerdikleri fenolik bileşikler iki gruba ayrılabilir: flavonoid olmayan ve flavonoid bileşikler. Antosiyaninler, üzümlerde ve şaraplarda renklere neden olan bir polifenol ailesidir (Gawel, 1998). Flavonoller, acılığa neden olduğu kırmızı şarap rengini etkilediği (Schwarz et al., 2005) ve antioksidan aktivite gösterdiği (Plumb et al., 1999) bilinmektedir. Üzümlerdeki fenolik bileşiklerin varlığı olgunluk aşamasına, üzüm çeşidine, üretim alanine, mevsimsel koşullar gibi faktörlere bağlıdır (Gómez-Alonso et al., 2007; Ojeda et al., 2002).

*Tilia tomentosa* Moench. (Ihlamur) Tiliaceae familyasından, Macaristan, Balkanlar, batı Türkiye, güneydoğu Avrupa ve güneybatı Asya'ya özgü bir türdür ve orta rakımlarda görülür. 20-35 m'ye kadar boylan, yuvarlak ila üçgen oval, geniş yapraklara sahip, dalın alt tarafındaki yoğun beyaz tüylü tüylerden tanınabilen yaprak döken bir ağaçtır. (Peev et al., 2009). Balgam söktürücü, idrar söktürücü, terletici, spazm giderici, ve yatıştırıcı etkilere sahip oldukları belirtilmiş olup grip, öksürük, migren, sinirsel gerginlik, yutma sorunları, çeşitli spazm türleri ve karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmıştır. İlaç için iddia edilen tıbbi özellikler flavonoidlerine, uçucu yağ ve musilaj bileşenlerine atfedilmiştir (Toker et al., 2004).

Uşgun olarak da bilinen *Rheum ribes* L., Polygonaceae familyasına aittir. Bu bitki yüksek rakımlardaki kayalık ve engebeli alanlarda yetişir. Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesine özgü olan bu bitki, *Rheum* cinsinin tek türüdür. Yaprakları yeşil ve kırmızı olup çiçekler küçük ve sarıdır. Yaprak sapları ve taze gövdeler çiğ olarak veya pişirilerek tüketilebilir (Öztürk & Özçelik, 1991). *R. ribes*'in atılan kabukları, sağlık, kozmetik, gıda ve ilaç sektörlerinde umut vadeden uygulamalara sahip bileşenler taşır. Şaşırtıcı bir şekilde, potansiyellerine rağmen, bu kabuklardan elde edilen bileşiklerin özellikleriyle ilgili çok az bilimsel kanıt vardır (Yolbaş, 2024).

*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) L. (Sumak) cinsi, Anacardiaceae familyasına ait en büyük cinslerden biridir ve dünyanın ılıman ve tropikal bölgelerine dağılmış 250'den fazla türe sahiptir. *Rhus* türlerinin ilginç biyolojik ve besin değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Birçok *Rhus* türü, farklı kültürlerin geleneksel bitkisel ilaçlarında birçok rahatsızlığı tedavi etmek için reçete edilmiştir (Elagbar et al., 2020).

Çeşitli doğal gıda ürünlerindeki sekonder metabolitleri tanımlamak ve ölçmek HPLC analizi kullanılarak gerçekleştirilir. Bu bileşiklerin analizleri, birçoğu polarite gibi benzer kimyasal özelliklere sahip olan birçok farklı sekonder bileşik içerdiklerinden tüm eluentlerin tamamen ayrılması son derece zordur (Mizzi et al., 2020). Sıvı kromatografisi basit işletim, düşük maliyet, yüksek hassasiyet, ve

mükemmel seçiciliği nedeniyle numunelerdeki elektroaktif oksidatif veya indirgeyici bileşiklerin analizinde tercih edilmektedir (Brooks et al., 2019; Hayes et al., 2020).

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Bitki Nümuneleri

*Rubus caesius* L. (Kara üzüm), Iğdır (Hoşhaber), merkezde (39°54'17.7"N 43°58'03.0"E), *Tilia tomentosa* Moench. (Ihlamur) Iğdır Merkez (Suveren köyü) (39.810599, 44.077754), Uşgun olarak da bilinen *Rheum ribes* L., Iğdır orta Alican köyü Aras nehri (40.016930, 44.167621), *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)L. Adıyaman merkez 37.785636, 38.266298 (Sumak) (37.785636, 38.266298) civarlarından toplanmıştır.

### Ekstraktların hazırlanması

600 ml bolan içine 250 ml metil alkol 250 ml kloroform birebir oranda alındı. 20 gr öğütülmüş nümune ile yaklaşık 72 saat muamele edildi. Daha sonra süzülen ürün rotary evaporatör ile solvenler uzaklaştırıldı. Ede edilen ekstrak +4 °C buzdolabında muhafaza edildi.

### HPLC ile Fenolik İçerik Analizi

Bitkinin 10 mg metanol özütü, dereceli bir şişede 1 mL asetonitril-su (h/h, 50:50) içinde çözüldü. Karışım 3 dakika boyunca vorteksle homojenize edildi ve 5 dakika boyunca 10000 rpm'de santrifüj edildi. Üstteki sıvı, mikro gözenekli bir filtre (0,45 µm) kullanılarak filtrelendikten sonra şişelere aktarıldı. Daha sonra, HPLC analizi ile fenoliklerin kantifikasyonu 1260 infinity II sıvı kromatografi Sistemleri (Agilent, ABD) ile gerçekleştirildi.

Analiz için ters fazlı bir HPLC kolonu (Accegenerix5c18 kolonu (4,6 × 250 mm), 5 µm, agilent 1260 infinity serisi) kullanıldı. Kromatografik ayırma, mobil faz A (su içinde %0,1 fosforik asit) ve mobil faz C: (100% asetonitril içeren) ile gerçekleştirildi. Akış hızı 0,8 mL/dakikaya ayarlandı, kolon 30C'de termostatik olarak kontrol edildi ve enjeksiyon hacmi 10 µL idi. Gradyan elüsyonu zamanı aşağıdaki gibidir.

|    | A  | C  |
|----|----|----|
| 0  | 83 | 17 |
| 7  | 85 | 15 |
| 20 | 80 | 20 |
| 24 | 75 | 25 |
| 28 | 70 | 30 |
| 30 | 60 | 40 |
| 32 | 50 | 50 |
| 36 | 30 | 70 |
| 40 | 83 | 17 |

Çalışmanın kromatogramları, analiz edilen bileşiklerin emilim maksimumlarına göre iki fvd dalga boyunda (300 ve 200 nm) bir fotodiyot dizisi UV dedektörü kullanılarak tespit edildi (Türkan et al., 2020).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

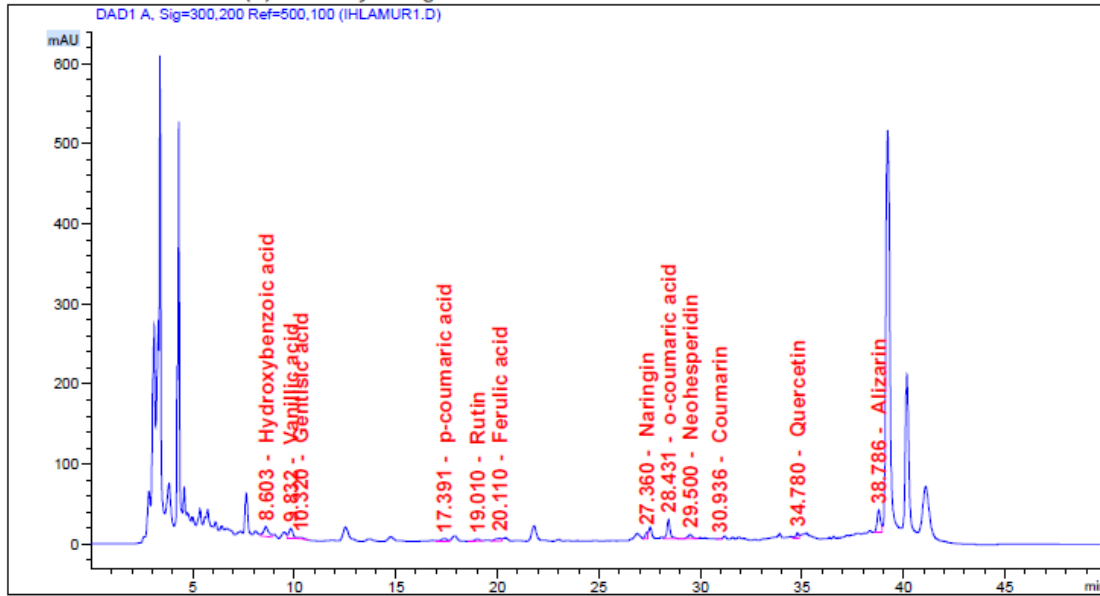
Bitkiler, yeni biyolojik olarak aktif bileşiklerin zengin bir kaynağını sağlar. Biyolojik ve kimyasal taramalar, ilginç yeni bitki bileşenlerini hızla tespit etmek ve izole etmek için tamamlayıcı yaklaşımlardır. Biyolojik aktif bileşik taramaları kütle spektrometrisi (LC/MS), nükleer manyetik rezonans (LC/NMR), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi cihazlar kullanılarak yapılmaktadır (Hostettmann & Wolfender, 1997). Sekonder metabolitlerin karakterizasyonu, özgünlük değerlendirmesi ve gıda kalitesi için oldukça önemli bir araçtır (Karadağ et al., 2021). *Anacardiaceae* *Rhus coriaria* L., *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., *Rubus caesius* L. sekonder metabolit bileşikleri HPLC ile analiz edildi ve Tablo 1-4 ve Şekil 1-4'te sunuldu.

Ihlamur (*Tilia tomentosa*) bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile analizinde Ascorbik asit, gallikasit, protokatekuik asit, kateşin, Hidroksibenzoik asit, vanillik asit, gentisik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, naringin, o-kumarik asit, neohesperidin, kumarin, quersetin ve alizarin bileşiklerinden farklı miktarlarda tespit edildi. En yoğun bulunan seconder metabolitler gallik asit (139.04 ng/ul), alizarin (33.81408 ng/ul) ve askorbik asit (28.26913 ng/ul) olarak tespit edildi tablo 1 ve şekil 1 de gösterilmiştir. Kıvrak ve ark. (Kıvrak et al., 2017) UPLC-ESI-MS/MS ile yaptıkları analizde *Tilia tomentosa* bitkisinde majör fenolik bileşikler olarak 3,4-dihidroksibenzaldehit, 3,4-dihidroksibenzoik asit, ferulik asit, mirisetin ve rutin bulunurken minör bileşikler olarak 4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, kaempferol ve kateşin hidrat tespit etmişlerdir.

**Table 1.** Ihlamur (*Tilia tomentosa*) bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile fenolik içeriklerinin analizi

**Table 1.** Analysis of phenolic contents of methanol extract of linden (*Tilia tomentosa*) by HPLC

| No | RetTime [min] | Area [mAU*s] | Amount [ng/ul] | Standart Bileşikler  |
|----|---------------|--------------|----------------|----------------------|
| 1  | 3.390         | 1986.39722   | 28.26913       | Ascorbik asit        |
| 2  | 4.311         | 2149.25586   | 139.03965      | GallikAsit           |
| 3  | 5.733         | 165.18214    | 5.84547        | Protokatekuik asit   |
| 4  | 6.417         | 56.12614     | 2.79259        | Kateşin              |
| 5  | 8.603         | 213.06624    | 8.87579        | Hidroksibenzoik asit |
| 6  | 9.832         | 162.17264    | 4.03419        | Vanillik asit        |
| 7  | 10.320        | 19.58216     | 5.94548        | Gentisik asit        |
| 8  | 17.391        | 81.93633     | 5.56936        | p-coumaric asit      |
| 9  | 19.010        | 45.09513     | 1.70261        | Rutin                |
| 10 | 20.110        | 73.18573     | 2.17525        | Ferulik asit         |
| 11 | 27.360        | 57.60483     | 2.95112        | Naringin             |
| 12 | 28.431        | 256.04654    | 8.06852        | o-kumarik asit       |
| 13 | 29.500        | 82.51116     | 6.62981        | Neohesperidin        |
| 14 | 30.936        | 4.32998      | 4.92740        | Kumarin              |
| 15 | 32.399        | -            | -              | Resveratrol          |
| 16 | 34.780        | 68.78664     | 1.86050        | Quersetin            |
| 17 | 5.462         | -            | -              | trans-Sinamik asit   |
| 18 | 36.732        | -            | -              | Hesperidin           |
| 19 | 38.786        | 330.88345    | 33.81408       | Alizarin             |
| 20 | 40.769        | -            | -              | Flavon               |



**Şekil 1.** Ihlamur (*Tilia tomentosa*) bitkisine ait metanol ekstraktının standart ve en yoğun sekonder metabolitlerin HPLC ile kromatogramları.

**Figure 1.** Chromatograms of standard and most concentrated secondary metabolites of methanol extract of linden (*Tilia tomentosa*) by HPLC.

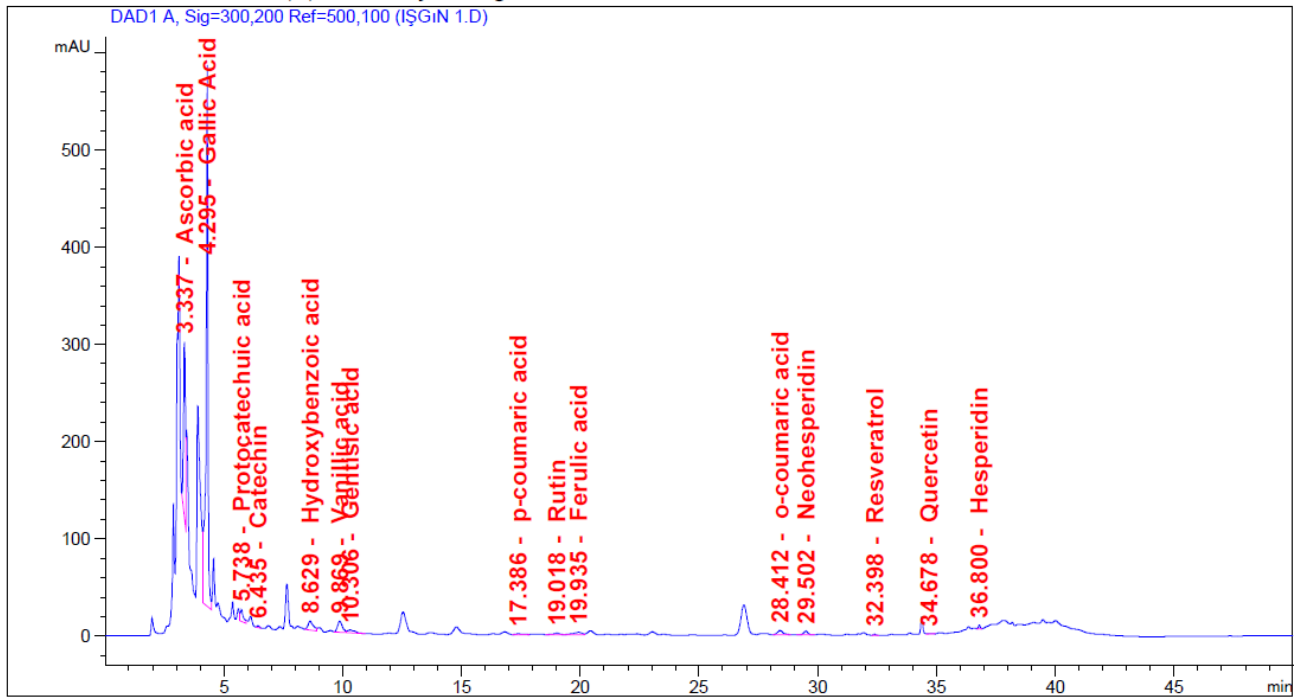
Işgın (*Rheum ribes L.*) bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile analizinde Askorbikaskorbik asit, gallik asit, Protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, vanillic asit, gentisic asit, p-kumarik asit, rutin, ferulic asit, o-kumarik asit, neohesperidin, quercetin, resveratrol, hesperidin ve alizarin bileşiklerinden farklı miktarlarda tespit edildi. En yoğun bulunan sekonder metabolitler gallik asit (206.512 ng/ul), alizarin (13.828 ng/ul) ve askorbik asit (13.828 ng/ul) olarak tespit edildi tablo 2 ve şekil 2 de gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Rheum ribes*'in başlıca aktif bileşikleri arasında özellikle emodin, rhein, krisofanol, alizarin ve sitreorozin yer almaktadır.

**Tablo 2.** Işgın (*Rheum ribes L.*) bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile fenolik içeriklerinin analizi

**Table 2.** Analysis of phenolic contents of the methanol extract of rhubarb (*Rheum ribes L.*) by HPLC

| No | RetTime [min] | Area [mAU*s] | Amount [ng/ul] | Standart Bileşikler  |
|----|---------------|--------------|----------------|----------------------|
| 1  | 3.337         | 1007.33234   | 13.8279        | Askorbik asit        |
| 2  | 4.295         | 3186.03247   | 206.512        | GallikAsit           |
| 3  | 5.738         | 106.64349    | 3.73494        | Protokatekuik asit   |
| 4  | 6.435         | 11.34187     | 4.89425        | Kateşin              |
| 5  | 8.629         | 144.28015    | 5.97973        | Hidroksibenzoik asit |
| 6  | 9.869         | 162.03523    | 4.03069        | Vanillik asit        |
| 7  | 10.306        | 62.64631     | 2.11639        | Gentisic asit        |
| 8  | 17.386        | 15.11113     | 3.28965        | p-coumarik asit      |
| 9  | 19.018        | 23.44482     | 8.57957        | Rutin                |
| 10 | 19.935        | 63.75925     | 1.88070        | Ferulik asit         |
| 11 | 27.374        | -            | -              | Naringin             |
| 12 | 28.412        | 76.49403     | 2.34560        | o-coumarik asit      |
| 13 | 29.502        | 51.04837     | 4.06489        | Neohesperidin        |
| 14 | 30.805        | -            | -              | Kumarin              |
| 15 | 32.398        | 7.12482      | 1.65029        | Resveratrol          |
| 16 | 34.678        | 8.58617      | 1.87717        | Quersetin            |
| 17 | 35.462        | -            | -              | trans-sinnamik asit  |
| 18 | 36.800        | 18.26795     | 6.48604        | Hesperidin           |
| 19 | 38.661        | 1007.332     | 13.8279        | Alizarin             |

*Rheum ribes*, C vitamini, fenolik ve flavonoid bileşenleri, tanenler ve antrakınonlar içerir (Tabin et al., 2016). *Rheum ribes*'in sulu özütünün rutin, kuersetin-3-Galaktozid, kuersetin, fisetin, emodin, krizofanol içerdiğini göstermiştir (Raafat et al., 2021). *Rheum ribes* L. hekzan özütünün ana bileşenlerinin p-Simen, germakren-d, terpinolen, linoleik asit ve oleik asit olduğu gösterilmiştir (Amiri et al., 2015; Mısır et al., 2023).



Şekil 2. Işgın (*Rheum ribes* L.) bitkisine ait metanol ekstraktının standart ve en yoğun sekonder metabolitlerin HPLC ile kromatogramları.

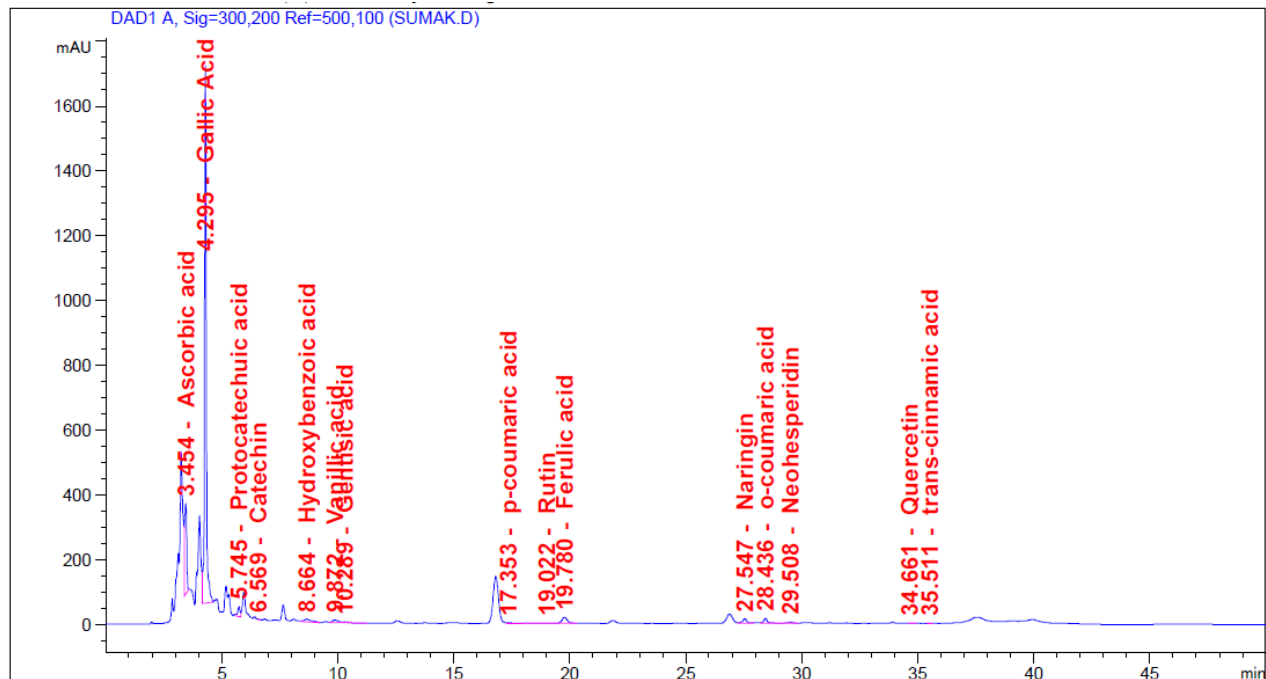
Figure 2. HPLC chromatograms of the standard and most concentrated secondary metabolites of the methanol extract of rhubarb (*Rheum ribes* L.).

Sumak (*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)) bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile analizinde askorbik asit, Gallikasit, Protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, vanillik asit, gentisik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulic asit, o-kumarik asit, neohesperidin, quercetin, bileşiklerinden farklı miktarlarda tespit edildi. En yoğun bulunan seconder metabolitler gallikasit (5719318.0 ng/ul), askorbik asit (25.99437 ng/ul) hidroksibenzoik asit (8.99042 ng/ul) ve olarak tespit edildi tablo 3 ve şekil 3 de gösterilmiştir. HPLC–DAD/QTOF-MS ile profillenen biyoaktif bileşenlerinin yapısı, malik asit, kafeik asit, gallik asit, apigenin, krizoeriol-6-O-asetil-4'-β-D-glukozit ve kaempferol tespit edilmiştir (Abu-Reidah et al., 2015). *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)'ın özellikle taze meyvelerinde Headspace Katı Faz Mikro Ekstraksiyon Gaz Kromatografisi ile yapılan analizde, en bol bulunan uçucu bileşikler α-pinen, (E)-karyofilen, mirsen, limonen, γ-muurolen, α-kopaen, p-simen, metil asetat, α-humulen, γ-terpinen β-pinen, δ-kadinen, ve α-phellandren olup, bunları asitler (etanoik, formik, izovalerik) ve aldehytler (n-nonanal, n-hekzanal, n-oktanal, (E)-2-heptenal), (E)-2-heptenal, ve cembrenin dikkate değer miktarda olduğunu gösterdi (Arena et al., 2022).



**Tablo 3.** Sumak (*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)) bitkisine ait metanol ekstraktının HPLC ile fenolik içeriklerinin analizi**Table 3.** Analysis of phenolic content of methanol extract of sumac (*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)) by HPLC

| No | RetTime [min] | Area [mAU*s] | Amount [ng/ul] | Standart Bileşikler                  |
|----|---------------|--------------|----------------|--------------------------------------|
| 1  | 3.454         | 1832.17603   | 25.99437       | Askorbik asit                        |
| 2  | 4.295         | 8800.98633   | 5719318.0      | GallikAsit                           |
| 3  | 5.745         | 207.34016    | 7.36542        | Protokatekuik asit                   |
| 4  | 6.569         | 4.75136      | 1.50400        | Kateşin                              |
| 5  | 8.664         | 215.78873    | 8.99042        | Hidroksibenzoik asit                 |
| 6  | 9.872         | 158.67329    | 3.94515        | Vanillik asit                        |
| 7  | 10.289        | 64.91466     | 2.19655        | Gentisik asit                        |
| 8  | 17.353        | 63.23394     | 4.10200        | p-kumarik asit                       |
| 9  | 19.022        | 23.61882     | 8.64700        | Rutin                                |
| 10 | 19.780        | 319.64481    | 9.87655        | Ferulik asit                         |
| 11 | 27.547        | 186.38071    | 9.76222        | Naringin                             |
| 12 | 28.436        | 163.95111    | 5.13314        | o-kumarik asit                       |
| 13 | 29.508        | 47.65163     | 3.78798        | Neohesperidin                        |
| 14 | 30.805        | -            | -              | kumarin                              |
| 15 | 32.399        | -            | -              | Resveratrol                          |
| 16 | 34.661        | 10.29839     | 2.35200        | Quersetin                            |
| 17 | 35.511        | 4.74157      | 1.09039        | trans-sinamik asittrans-sinamik asit |
| 18 | 36.732        | -            | -              | Hesperidin                           |
| 19 | 38.661        | -            | -              | Alizarin                             |
| 20 | 40.769        | -            | -              | Flavon                               |

**Figure 3.** Sumak (*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)) bitkisine ait metanol ekstraktının standart ve en yoğun sekonder metabolitlerin HPLC ile kromatogramları.**Figure 3.** HPLC chromatograms of standard and most concentrated secondary metabolites of methanol extract of sumac (*Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae)).

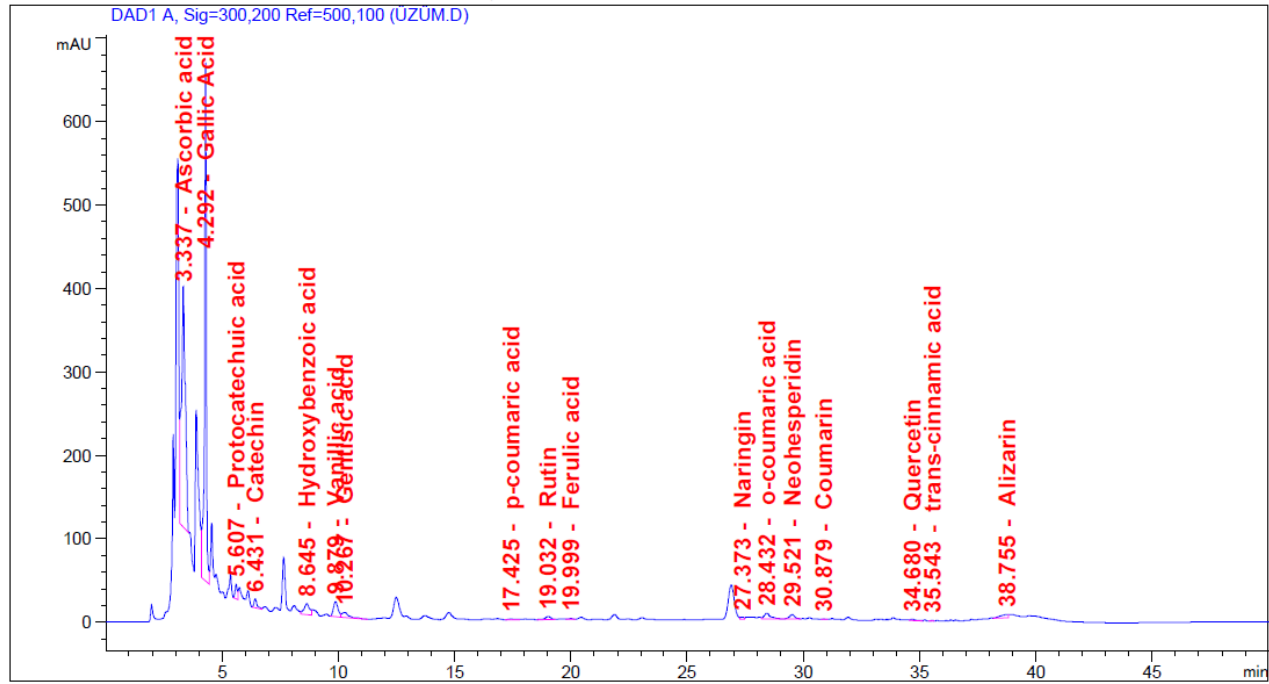


Kara üzüm (*Rubus caesius* L bitkisinin metanol ekstraktının HPLC ile analizinde askorbik asit, Gallik asit, Protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, vanillik asit, gentisik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, o-kumarik asit, neohesperidin, quersetin, alizarin, quercetin ve trans-sinamik asittrans-sinamik asit bileşiklerinden farklı miktarlarda tespit edildi. En yoğun bulunan seconder metabolitler Gallik asit (220.874 ng/ul), askorbik asit (48.0581 ng/ul) alizarin (8.99042 ng/ul) ve olarak tespit edildi tablo 4 ve şekil 4 de gösterilmiştir. *Rubus idaeus* L. meyvelerinde HPLC kullanılarak gerçekleştirilen analizde siyanidin-3-O-sophoroside, siyanidin-3-O-glukozid siyanidin-3-O-rutinosid ve siyanidin-3-O-(2G-O-glukozilrutinosid) ve sanguin H-6 tespit edilmiştir (Sparzak et al., 2010).

**Tablo 4.** Kara üzüm (*Rubus caesius* L.)'a ait metanol ekstraktının HPLC ile fenolik içeriklerinin analizi

**Table 4.** Analysis of phenolic contents of methanol extract of black grape (*Rubus caesius* L.) by HPLC

| No | RetTime<br>[min] | Area<br>[mAU*s] | Amount<br>[ng/ul] | Standart Bileşikler  |
|----|------------------|-----------------|-------------------|----------------------|
| 1  | 3.337            | 3328.02783      | 48.0581           | Asorbik asit         |
| 2  | 4.292            | 3406.71875      | 220.874           | GallikAsit           |
| 3  | 5.607            | 112.19819       | 3.93520           | Protokatekuik asit   |
| 4  | 6.431            | 97.04536        | 4.89699           | Kateşin              |
| 5  | 8.645            | 222.91229       | 9.29034           | Hidroksibenzoik asit |
| 6  | 9.879            | 251.75229       | 6.31361           | Vanillik asit        |
| 7  | 10.267           | 125.18901       | 4.32658           | Gentisik asit        |
| 8  | 17.425           | 16.98471        | 4.75890           | p-kumarik asit       |
| 9  | 19.032           | 55.14059        | 2.09452           | Rutin                |
| 10 | 19.999           | 20.88322        | 5.40916           | Ferulik asit         |
| 11 | 27.373           | 27.35376        | 1.35111           | Naringin             |
| 12 | 28.432           | 129.43063       | 4.03286           | o-kumarik asit       |
| 13 | 29.521           | 83.74371        | 6.73029           | Neohesperidin        |
| 14 | 30.879           | 3.63639         | 3.22227           | Kumarin              |
| 15 | 32.399           | -               | -                 | Resveratrol          |
| 16 | 34.680           | 23.02201        | 5.88845           | Quersetin            |
| 17 | 35.543           | 4.26459         | 8.99544           | trans-sinamik asit   |
| 18 | 36.732           | -               | -                 | Hesperidin           |
| 19 | 38.755           | 96.47638        | 9.78103           | Alizarin             |
| 20 | 40.769           | -               | -                 | Flavon               |



**Figure 4.** Üzüm (*Rubus caesius* L.)’a bitkisine ait metanol ekstraktının standart ve en yoğun sekonder metabolitlerin HPLC ile kromatogramları.

**Figure 4.** Chromatograms of standard and most concentrated secondary metabolites of methanol extract of grape (*Rubus caesius* L.) by HPLC.

## SONUÇ

Mevcut çalışmayla, *Anacardiaceae Rhus coriaria* L., *Tilia tomentosa* Moench., *Rheum ribes* L., *Rubus caesius* L. gibi farklı bitki türlerindeki seconder metabolit profilleri ortaya çıkarıldı. Bu üç bitki türü gıda ve alternative tıpta kullanımlarıyla yoğundur. Bu çalışmada, bileşiklerin profilini çıkarmak için katı faz mikro-ekstraksiyon kromatografik analizini kullanıldı. İlgili bileşiklerin bileşenleri ve miktarları ile ilgili olarak önemli farklılıklar kaydedildi. Kullanılan nünunelerin ileri tekniklerle yapılacak çalışmadan sonra tespit edilen bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu yapılarak gıda ve tıp alanlarında değerlendirilebilir.

## TEŞEKKÜRLER

Makaleyi geliştirmek için yaptıkları katkılardan dolayı isimli hakemlere teşekkür ederiz.

## YAZAR KATKILARI

Yazarlar bu çalışmaya eşit oranda katkıda bulunmuşlardır.

## ÇIKAR ÇATIŞMALARI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

## KAYNAKLAR

- Abu-Reidah, I. M., Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2015). HPLC–DAD–ESI–MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L.(Sumac) fruits. *Food Chemistry*, 166, 179-191.
- Amiri, N., Shafaghat, A., & Salimi, F. (2015). Screening of the Essential Oil, Hexane Extract, Chemical Composition, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Activity of the Flower *Rheum ribes* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(5), 1108-1115.

- Arena, K., Trovato, E., Cacciola, F., Spagnuolo, L., Pannucci, E., Guarnaccia, P., Santi, L., Dugo, P., Mondello, L., & Dugo, L. (2022). Phytochemical characterization of *Rhus coriaria* L. extracts by headspace solid-phase micro extraction gas chromatography, comprehensive two-dimensional liquid chromatography, and antioxidant activity evaluation. *Molecules*, 27(5), 1727.
- Brooks, E. L., Mutengwa, V. S., Abdalla, A., Yeoman, M. S., & Patel, B. A. (2019). Determination of tryptophan metabolism from biological tissues and fluids using high performance liquid chromatography with simultaneous dual electrochemical detection. *Analyst*, 144(20), 6011-6018.
- Das, M., Prakash, H. S., & Nalini, M. S. (2018). Bioactive sesquiterpene, plasticizer, and phenols from the fungal endophytes of *Polygonum chinense* L. *Annals of Microbiology*, 68, 595-609.
- Elagbar, Z. A., Shakya, A. K., Barhoumi, L. M., & Al-Jaber, H. I. (2020). Phytochemical diversity and pharmacological properties of *Rhus coriaria*. *Chemistry & Biodiversity*, 17(4), e1900561.
- Freile-Pelegrín, Y., & Robledo, D. (2013). Bioactive phenolic compounds from algae. *Bioactive compounds from marine foods: plant and animal sources*, 113-129.
- Gawel, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(2), 74-95.
- Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), 618-626.
- Hayes, P. E., Luong, J. H., Gilchrist, E. S., Buzid, A., & Glennon, J. D. (2020). Profiling of phenolic flavorings using core-shell reversed-phase liquid chromatography with electrochemical detection at a boron-doped diamond electrode. *Journal of Chromatography A*, 1612, 460649.
- Hossen, M. J., Baek, K.-S., Kim, E., Yang, W. S., Jeong, D., Kim, J. H., Kweon, D.-H., Yoon, D. H., Kim, T. W., & Kim, J.-H. (2015). In vivo and in vitro anti-inflammatory activities of *Persicaria chinensis* methanolic extract targeting Src/Syk/NF- $\kappa$ B. *Journal of Ethnopharmacology*, 159, 9-16.
- Hostettmann, K., & Wolfender, J. L. (1997). The search for biologically active secondary metabolites. *Pesticide Science*, 51(4), 471-482.
- Karadağ, M., Koyuncu, M., Atalar, M. N., & Aras, A. (2021). SPME/GC-MS analysis of *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa*, *Lavandula angustifolia* Mill., and *Zingiber officinale* volatiles. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Derg.*, 14, 41-49.
- Kıvrak, Ş., Göktürk, T., & Kıvrak, İ. (2017). Determination of phenolic composition of *Tilia tomentosa* flowers using UPLC-ESI-MS/MS. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3, Special Issue 1), 249-256.
- Kumar, B. A., Rao, V., Bindu, K. H., Rohini, M., & Shivakumar. (2021). Development, validation and application of RP-HPLC method for quantitative estimation of wedelolactone in different accessions and plant parts of *Eclipta alba* (L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1-15.
- Lopes, M., Sanches-Silva, A., Castilho, M., Cavaleiro, C., & Ramos, F. (2023). Halophytes as source of bioactive phenolic compounds and their potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(8), 1078-1101.
- Mısır, S., Özbek, M., & Hepokur, C. (2023). Bioactive Composition, Antioxidant, And Cytotoxic Activities of Rheum Ribes Extracts: Rheum ribes ekstraktlarının çeşitli biyolojik aktiviteleri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 11(8), 1345-1350.
- Mizzi, L., Chatzitzika, C., Gatt, R., & Valdramidis, V. (2020). HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids with overlapping peaks. *Food Technology and Biotechnology*, 58(1), 12-19.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., & Deloire, A. (2002). Influence of pre-and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 261-267.
- Öztürk, M., & Özçelik, H. (1991). *Doğu Anadolu'nun faydalı bitkiler*. Siirt İlim, spor, kültür ve Arastırma Vakfı.
- Peev, C., Dehelean, C., Antal, D., Feflea, S., Olariu, L., & Toma, C. (2009). *Tilia tomentosa* foliar bud extract: phytochemical analysis and dermatological testing. *Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 19(1).

- Plumb, G., Price, K., & Williamson, G. (1999). Antioxidant properties of flavonol glycosides from tea. *Redox Report*, 4(1-2), 13-16.
- Raafat, K., Aboul-Ela, M., & El-Lakany, A. (2021). Alloxan-induced diabetic thermal hyperalgesia, prophylaxis and phytotherapeutic effects of *Rheum ribes* L. in mouse model. *Archives of Pharmacal Research*, 44, 1-10.
- Schwarz, M., Picazo-Bacete, J. J., Winterhalter, P., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2005). Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8372-8381.
- Sparzak, B., Merino-Arevalo, M., Vander Heyden, Y., Krauze-Baranowska, M., Majdan, M., Fecka, I., Glód, D., & Bączek, T. (2010). HPLC analysis of polyphenols in the fruits of *Rubus idaeus* L.(Rosaceae). *Natural Product Research*, 24(19), 1811-1822.
- Tabin, S., Gupta, R., Bansal, G., & Kamili, A. N. (2016). Comparative HPLC analysis of emodin, aloe emodin and rhein in *Rheum emodi* of wild and in vitro raised plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(2), 121-130.
- Toker, G., MEMİŞOĞLU, M., YEŞİLADA, E., & Aslan, M. (2004). Main flavonoids of *Tilia argentea* DESF. ex DC. leaves. *Turkish Journal of Chemistry*, 28(6), 745-750.
- Tran, T. T., Kim, M., Jang, Y., Lee, H. W., Nguyen, H. T., Nguyen, T. N., Park, H. W., Le Dang, Q., & Kim, J.-C. (2017). Characterization and mechanisms of anti-influenza virus metabolites isolated from the Vietnamese medicinal plant *Polygonum chinense*. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-11.
- Türkan, F., Atalar, M. N., Aras, A., Gülçin, İ., & Bursal, E. (2020). ICP-MS and HPLC analyses, enzyme inhibition and antioxidant potential of *Achillea schischkinii* Sosn. *Bioorganic Chemistry*, 94, 103333.
- Yang, X., Li, Y., Shao, Q., Li, Z., Chun, Z., Wang, Y., Zhou, Y., & Chen, R. (2024). Screening, fingerprinting, and identification of phenolic antioxidants in *Persicaria chinensis* (L.) H. Gross by liquid chromatography–electrochemical detection and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 124387.
- Yolbaş, İ. (2024). Phenolic Compound Content and Antioxidant Activity of *Rheum ribes* Shells. *Journal of Chemistry*, 2024(1), 9151180.