

T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MUŞ İLİNDEKİ SAPLI MEŞE (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*)
YAPRAK VE PALAMUDU İLE BU AĞAÇTAN ELDE EDİLEN GEZO
PEKMEZİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Remzi BOĞA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ercan BURSAL

MUŞ-2013

T.C.

MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Remzi BOĞA tarafından yapılan “**Muş İlindeki Saplı Meşe (*Quercus robur* subsp. *pedunculiflora*) Yaprak ve Palamudu ile Bu Ağaçtan Elde Edilen Gezo Pekmezinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Ercan BURSAL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ALLAHVERDİ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nevin TURAN

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 28/08/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../.../.....

Yrd. Doç. Dr. Hasan Ali AYGÖR

Enstitü Müdür Yrd.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
TABLolar	iv
ŞEKİLLER	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Saplı Meşe (<i>Quercus robur</i> subsp. <i>pedunculiflora</i>)	2
1.2. Serbest Radikaller	4
1.2.1. Serbest Radikal Kaynakları	6
1.2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Önemi	7
1.2.3. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri	8
1.2.3.1. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi	8
1.2.3.2. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi	9
1.2.3.3. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi	9
1.2.3.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücre Zarına Etkileri	11
1.2.4. Moleküller Oksijen (O ₂) ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	14
1.3. Antioksidanlar	15
1.3.1. Doğal Antioksidanlar	16
1.3.2. Sentetik Antioksidanlar	17
1.3.3. Antioksidan Etki Türleri	17
1.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	18
1.3.4.1. Endojen Antioksidanlar	18
1.3.4.2. Eksojen Antioksidanlar	22
1.4. Oksidatif Stres	25
2. MATERYAL VE METOT	26
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
5. KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	47

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, bu süreçte sabrını ve bilgilerini esirgemeyen, tez çalışmalarımnda her türlü konuda destek olan deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocam sayın Doç. Dr. Ercan BURSAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışma materyali olan bitkinin tetkik ve teşhisinde bana yardımcı olan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE hocama teşekkür ederim. Ayrıca tez yazım aşamasında her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen arkadaşım Muhammet Seyit POLAT'a teşekkür ederim.

Remzi BOĞA

Ağustos, 2013

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde Değer
⁰ C	Santigrat derece
•	Radikal
A	Alfa
dk	Dakika
M	Molar
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mM	Milimolar

Kısaltmalar

ABTS	2,2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit radikali
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
CAT	Katalaz
DPPH•	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türleri
R•	Organik Radikali
ROO•	Peroksit Radikali
RO•	Alkoksi Radikali
RS•	Tiyil Radikali
RSO•	Sülfenil Radikali
OH•	Hidroksi Radikali
PG	Propil Galat
POD	Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
GSSG-Rx	Glutasyon Redüktaz
O ₂ ^{-•}	Süperoksit Radikali
IgG	İmmün globülin G
SOD	Süperoksit Dismutaz
MDA	Malondialdehit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
CuZnSOD	Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz
FADH ₂	İndirgenmiş Flavin Adenin Dinükleotit
Hb	Hemoglobin
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
NAD(H) ⁺	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
TCA	Triklor Asetik Asit
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Saplı meşe (<i>Quercus robur subsp. pedunculiflora</i>) yaprak ve palamudu	2
Şekil 1.2. Şıralı yaprakları sıcak suda bekletme	3
Şekil 1.3. Antioksidan bir maddenin serbest radikale elektron transferi	5
Şekil 1.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu	7
Şekil 1.5. Serbest radikallerin hücreye etkileri	12
Şekil 1.6. E vitamini	23
Şekil 3.1. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ve standart antioksidanların (BHA, BHT ve askorbik asit) farklı konsantrasyonlarındaki (10-30 µg/ml) indirgeme kuvvetlerinin karşılaştırması	32
Şekil 3.2. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ve standart antioksidanların (BHA, BHT ve askorbik asit) farklı konsantrasyonlarındaki (10-30 µg/ml) DPPH• radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırması	33
Şekil 3.3. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ve standart antioksidanların (BHA, BHT ve askorbik asit) farklı konsantrasyonlarındaki (10-30 µg/ml) ABTS ^{•+} giderme aktiviteleri	34
Şekil 3.4. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) liyofilize su ekstresinin 30 µg/ml konsantrasyonunda ABTS ^{•+} giderme aktivite yüzdesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması	35

TABLÖLAR

Tablo 1.1. Serbest radikal kaynakları	6
Tablo 1.2. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar	13
Tablo 1.3. Doğal antioksidanlara bazı örnekler	16
Tablo 1.4. Eksojen antioksidan ilaçların kullanımı	25

ÖZET

Serbest oksijen radikalleri vücutta sürekli olarak oluşturulurlar. Antioksidan mekanizmalar bu radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırırlar. Bu oksijen radikalleri hücre hasarına yol açar, bu olaya “oksidatif stres” adı verilir. Bu çalışmada Muş ve Bitlis yöresindeki meşe ağacının (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*) palamut, yaprak ve yapraklardan elde edilen gezo pekmezinin antioksidan aktivitelerinin miktarının tayini amaçlanmıştır. Bu ağacın palamut, yaprak ve gezo pekmezinin etanol ve su ekstreleri elde edildi. Elde edilen bu ekstrelerin antioksidan aktiviteleri ABTS, DPPH, ferik tiyosiyanat metodları ile belirlendi. Sonuçlar ise standart antioksidan olarak kullanılan BHA, BHT ve askorbik asit ile karşılaştırıldı. Palamut ekstrelerinin diğer ekstrelere göre yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Serbest radikaller, antioksidanlar, gezo pekmezi, meşe palamudu

ABSTRACT

Oxygen free radicals are created continuously in the body. Antioxidant mechanisms eliminate the damage of these radicals. These oxygen radicals lead to cell damage, this event is called "oxidative stress". In this study, it is aimed to determine the amount of antioxidant activities of acorn, leaves and gezo molasses that obtained from the leaves of oak (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*) in Muş and Bitlis province. Ethanol and water extracts of acorn, leaves, and gezo molasses of this tree were obtained. Antioxidant activities of extracts were determined according to the ABTS, DPPH and ferric thiocyanate methods. The results were compared with BHA, BHT and ascorbic acide which are used as standard antioxidants. According to the other extracts, high antioxidant activities of acorn extracts were determined.

Key words: Free Radicals, Antioxidants, Gezo molasses, oak acorn

1. GİRİŞ

Bitkiler besin maddeleri olmalarının yanında tedavi amaçlı da kullanılmaları insanlık tarihi kadar eskidir. Bitkiler içerdikleri maddelerle insan ve hayvan sağlığı yönünden önem taşırlar. Çeşitli hastalıkların varlığı ve bunların tedavi edilmesi amacıyla bu geçen zaman içerisinde bitkilerin kullanımı ve her birisine ait spesifik özellikleri insanlar tarafından keşfedilerek geliştirilmiştir (Baytop 1999). Sentetik olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması, insanları tekrar doğal kaynaklı ilaçları kullanmaya sevk etmiştir. Bitkisel ilaçların tedavide kullanılmasının başka bir üstünlüğü de birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Oysa sentetik ilaçlar sadece tek etkiye sahiptirler. Bu yüzden yeni doğal ilaç ham maddeleri bulmak üzere bitkiler üzerinde yapılan araştırmalar gün geçtikçe önemini artırmaktadır (Baytop 1984).

Günümüzde insan ve hayvanların tedavisinde birçok ilaç sentetik olarak üretilmekte, buna karşılık son 30-40 yılda özellikle endüstrileşmiş ülkelerde, bitkisel ilaçlara doğru büyük bir yöneliş görülmektedir (Özer ve ark. 2001).

Tıbbi bitkiler gelişmekte olan ülkelerde yüzyıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ülkelerde ekonomik şartların zorluğu ve tıbbi tedavilerin yetersizliğinden dolayı insanları bu arayışlara zorlamıştır. Nitekim Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırmalarına göre, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların %80'i tedavi amacıyla yalnızca geleneksel ilaçları kullanmaktadır.

Ekonomik seviyesi yüksek olan ülkelere olan Amerika ve Kanada'da 1984'te bitkilerden elde edilen tıbbi bileşiklerin geleneksel ilaçları da önemli bir rol oynadığı, reçete edilen ilaçların en az %25'inin doğal bitki ürünleri olduğu tespit edilmiştir (Eloff 1998).

Mezopotamya uygarlığı döneminde bilinen bitkisel ilaçların miktarı 250 civarındadır. Tabletlerdeki reçetelerde nane, rezene, safran, kekik, kitre, haşhaş, ağır koku gibi ilaçlara rastlanmaktadır.

1.1. Saplı Meşe (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*)



Şekil 1.1. Saplı Meşe (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*) yaprak ve palamudu

Türkiye'deki ormanlarda sadece meşe ağacı cinsinin 30'dan fazla türüne rastlanmaktadır. Bu ağaçlardan insanlar çeşitli şekillerde faydalanmaktadır (Şen 2001).

Saplı meşe (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*) şiddetli karasal iklimin hüküm sürdüğü, kışların daha soğuk ve uzun, yağış miktarının daha fazla, sıcaklık farklarının yüksek olduğu Doğu Anadolu Bölgesinin doğal bitki örtüsüdür. Doğu Anadolu Bölgesinde meşe ormanları genellikle kurakçıl meşe türlerinden oluşur. Meşe türlerinin yaygın olanları saplı meşe (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*), Doğu Anadolu palamut meşesi (*Quercus brandii*), Lübnan meşesi (*Q. libani*), mazi meşesi (*Q. infectoria*), sapsız meşesi (*Q. petraea subsp. pinnatiloba*) ve İspir meşesi (*Q. macranthera subsp. sypirensis*)'dir. Pülümür (Tunceli), İspir (Erzurum), Bingöl çevrelerinde İspir meşesi; Malatya, Elazığ, Bingöl, Bitlis ve Hakkari çevrelerindeki dağlık sahalarda Doğu Anadolu palamut meşesi; Elazığ, Muş ve Bingöl çevrelerinde saplı ve sapsız meşe; Malatya, Yeşilyurt, Pötürge, Bingöl, Hazar Gölü çevrelerinde mazi meşesi yaygındır (Günel 2013).

Palamudun en çok kullanıldığı yer, deri sanayisidir. Bu sebepten dolayı palamud hakkında bilgi verilirken dericilik tarihine göz atmak gerekir. Dericiliğin tarihi insanlık tarihi ile başlar. İlk insan giyecek olarak önceleri bitkisel liflerden daha sonraları da avladığı hayvanların derilerinden faydalanmıştır. Anadolu’da eskiden beri zengin bir palamud varlığı mevcuttur (İnal 1958). Mezopotamya’nın insanlık tarihindeki yeri deri sanayisi ile de yurt edilmiştir.

Muş ve Bitlis yöresinde saplı meşe ağacının yaprakları üzerinde yaklaşık 10 yılda bir kez koloidal, jelimsi bir madde oluşur. Yöre halkı tarafından bu maddeden gezo pekmezi elde edilir. Bu pekmez eski dönemlerden beri hem besin maddesi hem de alternatif tıpta kullanılmaktadır. Gezo pekmezinin hammaddesi yaprak üzerindeki bu salgı maddesi olup, bal gibi tatlıdır ve hoş bir kokusu vardır. Köylüler, pekmez yapabilmek için bol yapraklı meşe dallarını kesip, şıra yüklü dalları belli bir yerde toplarlar. Dallar su dolu kazanlara batırılır ve kazandaki su şıranın etkisiyle şerbet haline getirilir. Şıralı su buharlaşıp koyulaşmaya kadar (6-7saat) ateşte karıştırılarak kaynatılır ve pekmez halini alır.



Şekil 1.2. Şıralı yaprakları sıcak suda bekletme

Yörede bu pekmezin şifa verdiği inandırılır. Yaprak üzerinde adeta kalın bir tabaka halinde bulunan şıranın yapısı hakkında bugüne kadar yeterince araştırma yapılmamıştır.

1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron içeren maddelere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri de (ROT) denmektedir (Çavdar ve ark. 1997). Serbest radikal, bir veya birden fazla tek elektron içeren yüksek reaktiviteli molekül veya gruplardır (Akpoiraz ve Durak 1995).

Serbest radikal molekülleri, çok kararsız, diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron almaya gereksinim duyan moleküllerdir. Bir moleküle saldırdığında onun elektronunu çalarak okside eder ve bu yeni molekülün kendisi bir serbest radikal haline dönüşür. Bu zincir reaksiyonlar dizisi canlı hücrenin zarar görmesi ile sonuçlanır. Serbest radikallerin yarattığı en büyük zarar hücre zarları üzerinedir. Bunlar hücre zarlarından elektron alarak eşlenir. Hücre zarı ve sonuç olarak hücre yapısını bozar. Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkar. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatır.

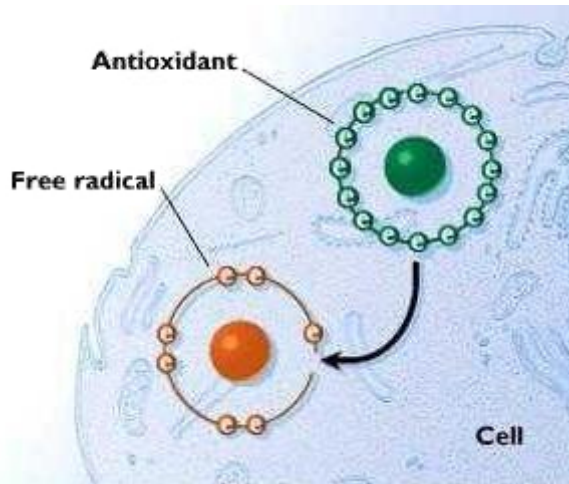
Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelir. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Kararlı bileşiklerin elektronları çift halde bulunur. Eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer. Serbest radikallerdeki çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek ister ve kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Serbest radikallerin başlattığı bu zincirleme reaksiyonlar dizisi, antioksidanlar tarafından durduruluncaya kadar devam eder (Gökpınar ve ark. 2006).

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşurlar. Elektronlar hem partikül, hem de dalga özelliğine sahip olup; çekirdek etrafında ışık hızı ile hareket ederler. Bu nedenle elektronların çekirdek etrafındaki yeri tam olarak tarif edilemez, yalnızca bulunma olasılığının en fazla olduğu yerden bahsedilebilir. Belirli

elektronların bulunma olasılığının en yüksek olduğu yer “orbital” olarak adlandırılır. Her orbital zıt spinli olmak üzere iki elektron içerebilir (Kılınç 2002).

Kuantum kimyasına göre bir bağ yapısına ancak iki elektron girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş doğrultusunda olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi aşağıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır. İnsan vücudunun neredeyse tüm elektronları, elektron çifti halinde bulunur (Bursal 2009).

Radikaller, basit bir atom ya da kompleks yapıya kimyasal bir organik molekül olabilir. Bütün kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü artırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal maddelerdir. Elementlerin bir kısmı, atomik yapılarında paylaşılmamış elektron içerdiklerinden, doğada atomları şeklinde değil; moleküler şekilde bulunurlar. Örneğin hidrojen, karbon, azot, oksijen ve diğer bazı elementler doğada atomları şeklinde serbest bulunmazlar. Soygazlar diye adlandırılan elementler ise bütün orbitalleri elektronlarla dolu olduğu için çok kararlı bir yapıya sahip olup serbest atom şeklinde bulunabilirler ve reaktiviteleri yoktur (Kılınç 2002).



Şekil 1.3. Antioksidan bir maddenin serbest radikale elektron transferi

1.2.1. Serbest Radikal Kaynakları

Vücudumuzda sürekli olarak oksidan maddeler oluşmaktadır. Bu oksidan maddelerin kaynağı, çoğunlukla besinlerden enerji üretimi ve tüketimi (metabolizma) sırasındaki kimyasal olaylardır. Metabolizmadaki serbest radikaller, reaktif oksijen türlerinden oluşmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin oluşma kaynakları ise elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik kaynaklar ve UV ışınları, radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, beslenme, kanserojen maddeler gibi dış kaynaklardır.

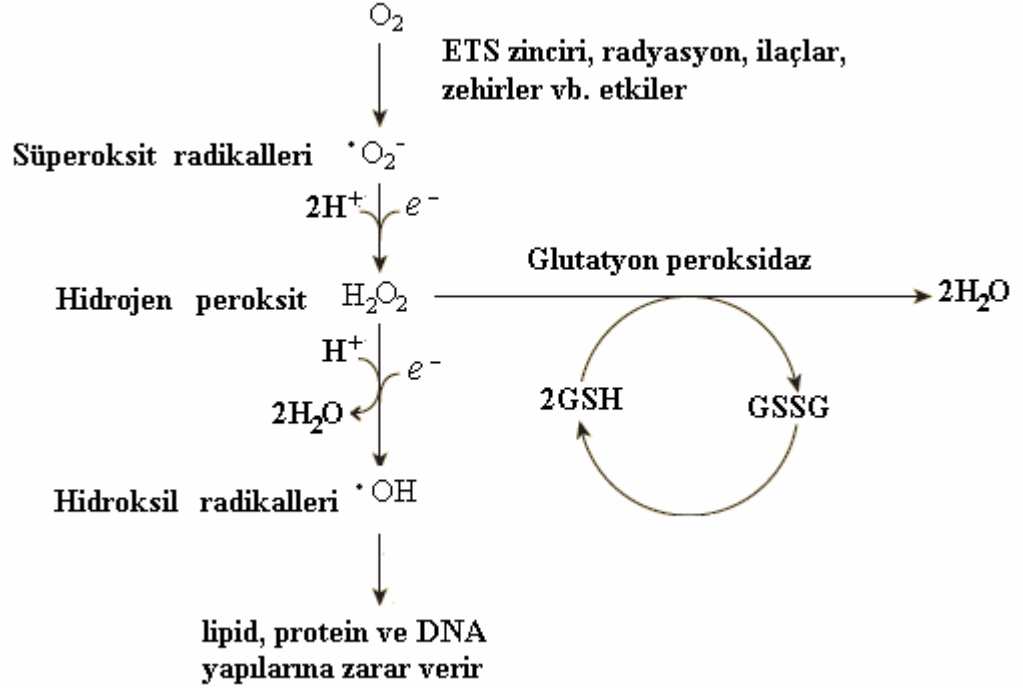
Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle kazara etkileşirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur. Normal hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar (Akkus 1995, Tietz 1995). Serbest radikal ve reaktiflerin bazı endojen ve ekzojen kaynakları Tablo 1.1’de gösterilmiştir (Aksoy 2002, Bursal 2009).

Tablo 1.1. Serbest radikal kaynakları

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Diyet faktörleri
Redoks reaksiyonları	Sigara dumanı
Fagositik ve endotelial hücrelerdeki	Zararlı ışınlar (x-ray, UV)
Oksidatif reaksiyonlar	Ksenobiyotikler
Otooksidasyon reaksiyonları	İlaçlar
Araşidonik asit metabolizması	Organik solventler
Enzimler (Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz)	Pestisitler

Glikoliz, yağ asitleri ve TCA devrinde oluşan NADH ve FADH₂’de bulunan yüksek indirgeme potansiyeline sahip elektronlar, mitokondri iç membranında elektron transport sistemi adı verilen bir yolla moleküler oksijene (O₂) transfer edilir. Mitokondriyal elektron transport sisteminde, elektronların O₂’ye transferi sırasında oksijenin kısmi indirgenmiş ürünleri oluşur. Bu ürünler çok reaktif yapıdadırlar ve biyomoleküllerin yapılarına girerek dönüşümsüz zarar görmelerine sebep olurlar

(Keha ve Küfrevioğlu 2000). Metabolizmada oluşan ve dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin oluşum yolları aşağıdaki Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu (Nelson and Cox 2004).

1.2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Önemi

Serbest radikaller hem zararlı hem faydalı çoğu biyolojik süreçlerde temel rol oynayan yüksek reaktif bileşiklerdir. Bu türlerin niteliği ve belirlenmesi doku ve hücre üzerinde patolojik ve normal fonksiyonların iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı gereklidir (Ercan 2008).

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Bununla beraber eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Bilim adamları 1950'lerden bu yana serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğunu bilmektedirler. Çoğu elektronlar çift halde bulunurken, serbest radikal bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Ama sonuçta serbest radikal kendine bir çift elektron alarak elektron çifti haline geçer, diğer elektron serbest radikal olur (Nelson ve Cox 2004; Gülçin 2007).

1.2.3. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Serbest radikaller biyokimyasal reaktiflikleri nedeniyle proteinler, lipidler, karbohidratlar, nükleik asitler ve biyolojik membranlar gibi yapılar üzerine olumsuz etkiler yaparlar.

1.2.3.1. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

Reaktif oksijen türlerinin bazı amino asit kalıntıları ile reaksiyona girerek modifiye ve fonksiyonel olmayan proteinleri oluşturduğu in vitro olarak gösterilmiştir (Butterfield ve ark. 1998). En kolay etkilenen amino asitler, kükürt veya selenyum içeren rezidülerdir. Genel antioksidan sistemlerinin hepsi proteinleri bu tür modifikasyonlardan korumaya çalışırlar (Nordberg ve Arner 2001).

Proteinler, doymamış yağ asitlerine göre serbest radikallere karşı daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle kükürt radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozular, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri (ROT) üreten reaksiyonlara maruz

kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobinin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (Akkus 1995, Tietz 1995).

1.2.3.2. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi

Reaktif oksijen türlerinin kimyasal modifikasyon dolayısıyla mutajenik etkili oldukları gösterilmiştir. DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, pürinlerin oksidasyonu gibi bazı değişiklikler reaktif oksijen türlerinin ve özellikle bunlar içinde OH^{\cdot} 'in reaksiyonlarından dolayı olmaktadır. Hidroksil radikali (OH^{\cdot}) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar (Akkus 1995). Eğer DNA-onarıcı sistemler tüm DNA'yı hemen yeniden oluşturamazlarsa replikasyon sırasında hatalı eşlemeden dolayı bir mutasyonla sonuçlanacaktır. Bazı durumlarda görülen apoptozisin ROT aracılığıyla gerçekleştiği gerçeği kısmen ROT-aracılı DNA hasarına bağlı olabilir, ayrıca mitokondriyal geçirgenliğin artması, sitokrom C'nin salınması, intrasellüler Ca^{2+} 'nin artması ve diğer etkilere de bağlıdır (Nordberg ve Arner 2001).

Reaktif oksijen türlerinin mitokondriyal hasardan dolayı hücrenin ve tüm organizmanın yaşlanmasında önemli bir faktör oldukları düşünülmektedir (Cortopassi 1999).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır (Tietz 1995).

1.2.3.3. Serbest radikallerin Lipidlere Etkisi

Reaktif oksijen türleriyle ilgili olarak, lipid peroksidasyon çok araştırılan bir konudur. Çoklu doymamış yağ asitleri, birden çok çift bağ içermelerinden dolayı,

serbest radikal ataklarına en uygun hedefler olmaktadır. Bu gibi oksidasyonlar aterosklerotik plakların oluşumunun da nedeni olarak gösterilmektedir. Plak oluşumundan kaynaklanan kardiyovasküler hastalıklar, en azından batı ülkelerinde, total hastalık miktarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Nordberg ve Arner 2001). Bu nedenle, lipid peroksidasyonun önlenmesi veya düşüşü son derece önemlidir.

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipit peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Reaktif oksijen türleri tarafından en fazla etkilenen moleküllerin, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Organizmada yeterli miktarda reaktif atom ya da molekül varlığında lipit peroksidasyonu kolaylıkla başlar. Oksijenin sebep olduğu lipit oksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur. Lipit peroksidasyonu, hücrenin hayati fonksiyonları için de zararlıdır (Şerbetçi 2007).

Biyolojik membranlar ve hücre içi organeller membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır. ROT'leri ile hücre hasarı meydana gelirken lipit-serbest radikaller ve lipit peroksitler de oluşmaktadır. Bu tip reaksiyonlar serbest radikal otooksidasyonu olarak isimlendirilirler ve zincirleme reaksiyonun başlatılması için bir tetikleyici (başlatıcı) faktör gereklidir. Sözü edilen bu faktörün OH• radikali olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar arasında en önemlilerinden olan lipit peroksidasyonu, membran yapısında yer alan çok doymamış yağ asitlerinin oksijen radikallerine maruz kalması sonucunda oluşur.

Lipit peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Malondialdehit (MDA), non-enzimatik oksidatif lipit peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İki'den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır. MDA miktarının ölçümü, lipit peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipit peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır (Gülbayzar 2006).

Lipid hidroperoksidleri ve lipidperoksi radikalleri serbest oksijen radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücresel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler. Bu etkiler:

Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi bazı özelliklerini değiştirebilmektedir.

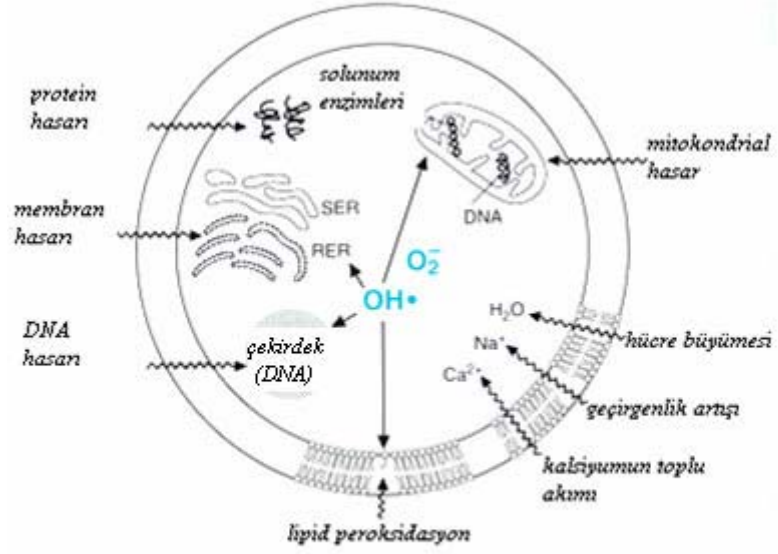
Transmembran iyon gradientini bozarak, Ca^{2+} gibi iyonlara karşı spesifik olmayan geçirgenliği arttırabilmektedirler.

Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Subsellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açabilirler. Ayrıca, DNA ile reaksiyona girebilmektedirler (Ercan 2008).

1.2.3.4. Serbest Oksijen Radikallerin Hücre Zarına Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır.

Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran geçirgenliği artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur (Akkus ve Tietz 1995).



Şekil 1.5. Serbest radikallerin hücreye etkileri (Altınışık 2000)

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROT) ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir (Altınışık 2000).

Tablo 1.2. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar (Çalışkan 2006).

Aterosklerozis (Damar sertliği)	Savunma Sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Beyindeki düzensizlikler	
Anoksia	Kandaki oksijen azlığı
Nöral lipofuskinosis	Hücrelerdeki yapısal bozulmalar
Parkinson hastalığı	Hücrelerdeki yapısal bozulmalar
Alzheimer hastalığı	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $HClO$ üretimi
Down Sendromu	Savunma Sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Multiple selerosis	Hücrelerdeki yapısal bozulmalar
Kronik granüloamatöz hastalık	Antioksidan sistemdeki gen hasarı
Diabetes	Mellitus Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
İnflamatory (ateşli) düzensizlikler	
Astım	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 üretimi
Romatizmal artirit	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 üretimi
Demir yüklenmesi	
İdiyopatik hemokromatosis sonucu	Geçiş metallere oksijene elektron transferi
Talasemia	Geçiş metallere oksijene elektron transferi
Akciğer düzensizlikleri	
Asbestosis	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O üretimi
Yetişkin solunum stresi sendromu	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 üretimi
Zehirlenme (reperfüzyon)	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
Deri bozuklukları	
Solar radyasyon zehirlenmesi	Yüksek veya düşük radyasyon enerjisi ile doku hasarı
Bloom sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Oluşan zararlı (toksik) maddeler	
Zenobiyotikler,	İlaç ve toksin kullanımında
Bloom sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Metal iyonları (Hg, Fe, Cu, etc.)	Geçiş metallerinden oksijene elektron transferi
Sitositotikler (blomyein)	İlaç ve toksin kullanımında
Kanser	Mesane, Bağırsak, Göğüs, Kolorektal, Karaciğer, Akciğer, Lösemi, Deri, Prostat

1.2.4. Moleküler Oksijen (O₂) ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

İnsanlar havasız yerde yaşayamaz ve yaşamını sürdürmek için havanın moleküler oksijenini (O₂) tüketirler. Toplam oksijen tüketiminin %90'ından fazlasını elektron transport sisteminde (solunum zinciri), %5-10'unu da diğer oksijen gerektiren reaksiyonlarda harcar. Elektron transport sisteminde moleküler oksijen, metabolik yakıtlardan (glukoz, yağ asidi ve amino asitlerin karbon iskeleti) türeyen NADH ve FADH₂'den elektronları alarak suya indirgenir. Bu yolda oksijen molekülünün kuvvetli oksitleyici gücü, ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağı haline dönüştürülür.

Moleküler oksijen gerektiren fakat ATP'nin oluşumu reaksiyonu eşleşmeyen diğer reaksiyonlar, aminoasitlerin katabolizması, ilaçların detoksifikasyonu ve steroid hormonların sentezi gibi spesifik metabolik yollar için önemlidirler. Bu reaksiyonlarda diğer oksidazlar (oksijeni suya veya hidrojen peroksida indirgeyen enzimler) ve oksijenazlar (oksijeni okside olan moleküle bağlayan enzimler) görev alırlar (Tietz 1995).

Bilinen bütün canlı türleri, serbest formdaki moleküler oksijen her canlı türü için aynı anlamı ifade etmez. Aerobik canlılar yaşamları için mutlaka moleküler oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlılar büyüme ve çoğalmaları için oksijene bağımlı değildirler. Anaerobik canlılardaki oksijenin toksik etkisinin nedeni, oksijenden kaynaklanan bazı reaktif türlerin biyolojik molekülleri oksitlemeleri ve bu reaktif türlere karşı anaerobik canlılarda savunma sisteminin bulunmamasıdır. Oksijen sadece anaerobik türlerde değil, yaşamları için mutlaka moleküler oksijene bağımlı olan canlılarda da toksik etkilidir.

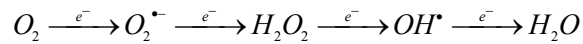
Aerob organizmaların atmosferdekenden yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz kaldıklarında, oksijenin bu organizmalara karşı toksik olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu toksisitenin asıl sebebi ise, oksijenin serbest radikallere indirgenmesidir. İlk kez 1956 yılında Denham Harman tarafından yaşlanmanın serbest radikal hasarının bir sonucu olduğu görüşü ortaya atılmıştır. Bu görüşe göre radyasyona maruz kalan canlılarda yaşam süresini kısaltan serbest radikaller oluşmakta ve yaşlanmaya benzer değişiklikler meydana gelmektedir. Bir serbest radikal, ortaklanmamış veya eksik sayıda elektron içeren herhangi bir atom, iyon veya molekül olarak tanımlanabilir. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin

en yaygın kaynağı ise oksijendir. Moleküler oksijen (O_2), hücrel metabolizma ve enerji üretimi için önemlidir. Ancak oksijenin parçalanması, biyolojik dokulara karşı önemli hasar oluşturacak reaktif ajanları da beraberinde getirmektedir. Serbest radikallerin üretildiği bir takım kaynaklar vardır ve bunların en önemlisi oksijenin suya kadar indirildiği mitokondrilerdir. Bu sırada süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) gibi kısa ömürlü moleküller üretilir (Gürgöze ve ark. 2006).

Moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Ortaklanmamış elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Moleküler oksijene tek elektronların transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijen, biradikal doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturma eğilimindedir (Akkus ve Tietz 1995).

Oksijen radikalleri ya da serbest radikaller, moleküller oksijenden türemiş olan atom ya da atom gruplarıdır. Ancak tüm reaktif oksijen türleri serbest radikal değildir, Bundan dolayı serbest oksijen radikalleri yerine, “reaktif oksijen türleri” tanımı daha çok kullanılmaktadır (Şenses ve ark. 1999).

Bu reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalinin (OH^{\bullet}) oluşum reaksiyonları aşağıda verilmiştir.



1.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere antioksidanlar denir (Elliot 1999). Antioksidanlar gıdalarda veya vücutta, yükseltgenebilen substratlara göre daha düşük konsantrasyonlarda bulunurlar ve oksidatif hasara sebep olan substratın oksidasyonunu büyük ölçüde geciktirir veya engellerler. Vücudun ürettiği serbest radikallere (oksidanlara) karşı savunma mekanizması anlamında bir enzim sistemi vardır. Bu enzimlerin etkinliğini artıran maddelere antioksidan denir. Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi, gıdalarla da alınabilen kimyasal maddelerdir. En iyi antioksidan kaynağı doğal besinlerdir. Gıda katkı maddesi olarak

ilk antioksidanlar 2. dünya savaşında gıdaların korunması için kullanılmıştır (Galip 2007).

1.3.1. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidan kaynakları; baharatlar, şifalı bitkiler, çaylar, yağlar, tohumlar, tahıllar, kakao kabuğu, hububatlar, meyveler, sebzeler, enzimler, proteinlerdir. Araştırmacılar flavonoidler (quercetin, kaemferol, myricetin), kateşinler veya fenoller (karnosol, rosmanol, rosamaridifenol) ve fenolik asit (karnosik asit, rosmarinik asit) gibi çeşitli kişisel antioksidanları kapsayan bitki özleri kadar iyi olan C vitamini tokoferoller ve karotenoitlerde yoğunlaşırlar.

Tablo 1.3. Doğal antioksidanlara bazı örnekler (Galip 2007)

Kaynak	Materyal Örnek	Antioksidan
Sebze Yağları	Soya Yağı	Tokoferoller
Tropikal Yağlar	Hurma Yağı	Tokoferoller
Bitkisel Yağlar	Hurma Yağı	Karotenoitler
Şifalı Bitkiler ve Baharatlar	Biberiye ve Adaçayı	Kompleks fenolikler
Tahıllar	Buğday ve Karabuğday	Flavonoidler
Baklagiller	Soya	İzoflavonlar
Çekirdek yağları	Kanola ve Hardal	Fenolik Asit, Fenilpropanoitler
Çaylar	Yeşil Çay	Kateşinler ve Polifenoller
Meyve Kabukları ve Çekirdekler	Üzüm Çekirdeği ve Kabuğu	Polifenoller ve Taninler

Doğal antioksidanların ana kaynağı olarak bitki özleri ve baharatlar ortaya çıkar, ürün geliştiriciler sentetik antioksidanlara alternatif olarak bitki özlerini değerlendirdiler. Yine de; tohum yağları, fındık/ceviz yağı, tahıl hububat yağları, baklagiller, hayvani ürünler ve mikrobiyal kaynaklar doğal antioksidanların ana

kaynaklarıdır. Buna rağmen anılan doğal ürünler antioksidanların saf kaynakları olarak nitelendirilemezler, ancak üreticiler bu kaynakları doğal antioksidanların elde edilmesi için kullanırlar (Galip 2007).

1.3.2. Sentetik antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar gıda muhafaza, katkı, verim artışı gibi farklı amaçları yapmak üzere üretilen kimyasal maddelerdir. Butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT), propil Gallat (PG), Tersiyer butilhidrokinon (Selen 2008). Nondihidroguairatik asit (NDGH ülkemizde yasak) yapay antioksidanlar sınıfına girerler.

1.3.3. Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar toplayıcı, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etki olmak üzere dört ayrı şekilde etki ederler.

Toplayıcı, süpürücü etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler, flavonoidler, trimetazidin ve antisiyanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

Onarıcı etki (repair etki): Hasara uğramış sistemlerin tekrar tamir edilmesi, eski haline getirilmesini sağlarlar.

Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin ve minareler zincir kırıcı etki gösterirler (Gürsoy 2005).

1.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Bitki ve hayvan hücrelerinde çok sayıda savunma ve korunma mekanizması mevcuttur. Organizmanın normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendisini koruması için bu mekanizmalar gereklidir (Fridovich 1976). Bu bakımdan biyolojik sistemlerde antioksidan savunma mekanizmasının araştırılması ile ilgili çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Çünkü yaşlanmaya sebep olan en önemli faktörlerden biri de oksidatif hasarın radikalik mekanizmaya sahip olmasıdır. Cildin kologen tabakasını tahrip eden serbest radikaller oluşturarak yaşlanma sürecini başlatır (Şerbetçi 2008).

Canlılarda oksidan etkiye karşı iki çeşit savunma sistemi vardır. Bunlar endojen (vücut içerisinde üretilen) ve ekzojen (dış kaynaklı) antioksidan etkilerdir. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (Gülçin 2001; Ercan 2008; Şerbetçi 2008).

1.3.4.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidan sistem, antioksidan enzimler, hasarlı molekülleri uzaklaştıran proteazlar ve fosfolipazlar gibi sistemler, yeni bileşikler sentezleyen sistemler, tamir sistemleri, hemoglobin, miyoglobin, ferritin ve seruloplazmin gibi metal bağlayıcılar gibi alt sistemlerden oluşur. Ayrıca glutatyon ve ürik asit gibi vücut içi küçük molekül kütleli bileşikler de birer antioksidan olarak görev yaparlar. Dış kaynaklı olarak alınan antioksidanlar vücut içi antioksidan sisteme destek olur.

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksit Dismutaz (SOD) süperoksit anyon radikallerinin dismutasyonunu moleküler oksijen ve hidrojen peroksite katalize eden, molekül ağırlığı 17-85 k DA aralığında olan metalloenzimlerdir. SOD enzimi oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunur. Oksijen toksisitesine karşı önemli bir defanstır. SOD'nin fonksiyonu aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkisine karşı korumaktır. Süperoksit radikallerinin, H₂O₂ ve oksijene hızlıca dismutasyonunu katalize eder. SOD katalitik aktivitesi çok yüksek olan bir enzimdir.

SOD



Kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre üç sınıf dismutaz enzimi vardır: Bakır ve Çinko içeren dismutazlar (Cu, Zn SOD) genel olarak ökaryotik hücrelerin sitozolünde ve kloroplastlarda bulunur. Tek disülfid bağı ile birbirine bağlı iki aynı alt birimden oluşur ve alt birim başına birer çinko ile bakır içerirler. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gerekli iken çinko; Co²⁺, Hg²⁺, Ca²⁺ ile yer değiştirebilir. Dismutasyon bakır ile süperoksit radikali arasındaki etkileşimle başlar.

Mangan içeren dismutazlar (Mn SOD) prokaryotlarda ve mitokondri matriksinde bulunur. Birbirinin aynı iki alt birimden oluşan ve her alt birimde bir atom Mn içeren dismutazlardır.

Demir içeren dismutazlar (Fe SOD) prokaryotlarda ve bazı bitkilerde bulunur. Mn süperoksit dismutaza benzer yapıdadır (Özdemir 2011).

Katalaz (CAT): Esas olarak peroksizom denen hücre organellerinde bulunur. Hidrojen peroksidin su ve moleküller oksijene dönüşümünü sağlar. SOD ve katalazın ilk reaktif ürünler olan süperoksit radikal ve hidrojen peroksidi katalize edici etkileri nedeniyle teorik olarak antioksidan etkilerinin diğer antioksidanlara göre avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Yüksek molekül ağırlıklı olan enzimatik antioksidanlar sindirim sisteminden değişmeden emilirlerse etkin olabilirler. SOD ve katalaz hem bitkisel hem hayvansal ürünlerde bulunmaktadır. Bu iki antioksidanın aktivitesini gösteren 30 kadar botanik ekstre çalışılmış ve bu ekstralarla yapılan bazı çalışmalarda antioksidan etkileri (lipit peroksidasyon ürünlerinde azalma), stres azaltıcı etkileri gösterilmiştir (Derviş 2011).

Glutasyon Peroksidaz (GPx): Glutasyon peroksidaz (GPx), pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementi kullanır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (Ercan 2008). Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı etkili antioksidandır. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. Glutasyon peroksidaz yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum glutasyon peroksidaz aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (Memişoğulları 2005).

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Subunitleri bir Se atomu içerdiğinden, hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (Günaldı 2009).

Glutasyon-S-Transferazlar (GST): Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutasyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler. Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (Ercan 2008).

Glutasyon Redüktaz (GR): Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutasyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutasyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (Ercan 2008).

Mitokondrial Sitokrom Oksidaz: Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir.

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutasyon (GSH): Önemli bir intrasellüler antioksidandır ve ekstrasellüler ortamda çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Hücre içerisinde indirgen formda (GSH) bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirger. Glutasyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizler. Glutasyon etkin olarak hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da Glutasyon Redüktaz katalizler. Glutasyonun Glutasyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır. Yapılan çalışmalarda diyabette GSH düzeylerinin sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük olduğu rapor edilmektedir (Memişoğulları 2005)

Seruplazmin: Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.

Transferin: Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler

Laktoferrin: Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.

Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.

Ürik asit Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.

Glikoz: Hidroksil radikali gidericisidir.

Albümin: HOCl radikali toplar. Proteini ve metal iyonlarını bağlar.

Bilirubin: Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır(Aydemir,Karadağ Sarı.,2009).

Melatonin: Melatonin HO• radikalini temizleyen çok güçlü bir antioksidandır. HO• ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür. Bu da ortamdaki O₂•⁻ radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir. Diğer antioksidanlara göre çok güçlü bir antioksidan olmasının nedenleri:

Lipofilik olması nedeniyle hücrenin hemen tüm organellerine, birçok dokuya rahatça girerek geniş bir alanda aktivite gösterir.

Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı oksidatif hasara karşı korur.

Çok yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanımında bile toksik bir etkisi yoktur.

Prooksidan aktiviteye sahip değildir.

Yaşlanma ile birlikte melatonin de azaldığı için yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı bazı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği bildirilmiştir. Melatoninin besin desteği olarak kullanımının birçok yararı olduğunu belirtmişlerdir. Bunlar;

Jet lag sorununu önlemesi ve yeniden normal uyku düzenine dönülmesini kolaylaştırması, ağrı ve stresten kaynaklanan uyku problemlerinin düzeltilmesi, uykusuzluk sorununun çözümünde yardımcı olması, yaşlılığa bağlı belirtileri ertelemesi, antioksidan özellikleri ile katarakt oluşumunu ve kalp damar hastalıklarının gelişimini geciktirmesi, kış aylarında görülen mevsime bağlı depresyonun azaltılması gibi sıralanabilir.

Sonuç olarak, melatoninin klinik açıdan etkili bir antioksidan ve dolayısıyla antikanserojen olduğuna inanılmaktadır (Gök ve ark 2006).

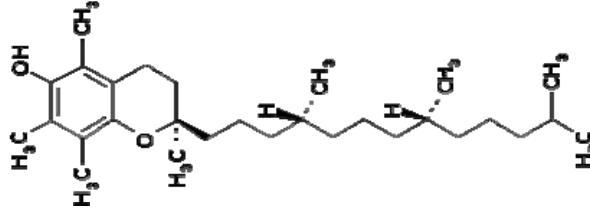
1.3.4.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin Eksojen Antioksidanlar şunlardır:

α -tokoferol (E vitamini): Vitamin E yağda çözünen zincir kırıcı bir antioksidandır. Vitamin E terimi bir grup tokoferol ve tokotrienoller için kullanılmaktadır. Bu grup içine giren tokoferoller (α , β , γ , δ) ve dört tokotrienol (α , β , γ , δ) antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunlardan α tokoferol doğada en bol bulunan Vitamin E'dir ve yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Tokoferoller ROS'nin özellikle singlet oksijen

ve OH• radikalini etkisiz hale getiren detoksifiye etme özelliğine sahip antioksidatif bir fonksiyon taşımaktadırlar. Vitamin E lipid peroksidasyonunu engellemekte ve diğer oksidatif reaksiyonlar sırasında meydana gelen radikallerin etkisini önlemektedir. Bunların yanısıra hücrel sinyal olarak da görev yapmaktadır (Koç ve Üstün 2008).



Şekil 1.6. E vitamini

β -karoten: Karotenoidler, sadece bitkiler aleminde sentezlenir, ama besin zinciri aracılığıyla hayvanlara transfer edilirler. Bazı karotenoidlerin spesifik görevlere sahip oldukları veya önemli pro-vitamin oldukları bilinmektedir.

Bir provitamin A bileşiği olan β karoten, kanser ve ateroskleroz gibi hastalıklar da dahil oksidasyon ile oluşan hastalıkları kontrol etmede önemli bir rolü olması nedeni ile diyetel yağda çözünebilir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Diken 2009). β -karoten yüksek konsantrasyonlarda pro-oksidan olarak davranmakta ve proteazları aktive etmektedir. Ayrıca β -karoten diğer ROT'ları da etkisiz hale getirmektedir. Düşük oksijen basıncında β -karoten peroksil radikali ile direkt reaksiyona girmekte ve bu durum yüksek oksijen basıncında vitamin E'nin aynı etkisi ile sinerji oluşturmaktadır (Çaylak 2011).

Askorbik asit (vitamin C): Kan ve plazmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı sağlar. Lipit peroksidasyonunu engeller. Vitamin E nin rejenerasyonunu sağlar ve antioksidan etkinliğini artırır. Prooksidan özelliklerinden bahsedilse de kanıtlanmamıştır. Yüksek doz C vitamininin (2g) yan etkisi bulunmamakla beraber özel bir faydası saptanmamıştır. İnsan derisinde ultraviyolenin oluşturduğu oksidatif strese karşı önleyici olabileceği düşünülmele beraber kanıtlanmamıştır (Derviş 2011).

Vitamin C bir keto laktondur. Suda eriyen vitaminlerden olan askorbik asit özellikle taze yeşil sebze, meyve ve trunçgillerde bol miktarda bulunur. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan vitamin C süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan minör olarak enzimler, major olarak E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, beta karoten, ürik asit, glukoz, sistein, trakeobronşial mukus ve a -1 antitripsin sorumludur. Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL- kolesterol) peroksidasyonu aterosklerozun progresyonuna neden olduğu için peroksidasyonu engelleyen E vitamini hücre dışı ortamda önemli bir role sahiptir. E ve C vitamininin düşük plasma konsantrasyonları ile birlikte olan artmış myokardial infarktüs sıklığı bunu kanıtlamaktadır. Bununla birlikte C vitamini hidrojen peroksit varlığında demir veya bakır iyonlarıyla birlikte reaksiyona girerek oksidan özellik de gösterebilir. Normalde süperoksit radikali ve hidrojen peroksit hücre dışı ortamda endotel hücreleri, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından oluşturulurlar. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit özellikle serbest demir ve bakır iyonu varlığında hidroksil grubu gibi daha tehlikeli radikallere dönüşebilir. O halde organizmanın hücre dışı ortamda antioksidan savunma aracı demir ve bakır iyonlarının bağlı duruma getirilmesi olmalıdır. Buna transferrin örnek olarak verilebilir. Demir transport proteini olan transferin sağlıklı insanlarda % 20 - 30 oranında demir ile yüklüdür. Böylece plazmadaki serbest iyonik demirin etkinliği sıfıra dek düşer (Çavdar ve ark.1997).

Askorbik asit çok çabuk oksidize olduğu için pişirirken ve hazırlarken bulunan askorbik asitin çoğu işe yaramaz hale geliyor. Bu yüzden C vitamini ihtiva eden besinlerin hafif pişirilmesi, yenilebiliyorsa çiğ yenmesi ve hazırlarken de kesildikten kısa bir süre sonra tüketilmesi öneriliyor (Müftüoğlu 2003).

Folik asit (folat): B₁₂ vitamini ve folik asit metabolizmaları birbiriyle ilişkili olan ve merkezi sinir sistemindeki çeşitli metabolik yollar için gerekli olan vitaminlerdir. Bu vitaminler; yüksek konsantrasyonları nöronlar için toksik olan, nöronal plastisiteyi bozan ve nöronal dejenerasyonu aktive eden homosisteinin metionine dönüşmesinde; dopamin, serotonin, nörepinefrin gibi nörotransmitterlerin sentezinde ve nöral membranlardaki fosfolipidlerin metilasyonunda görev alan SAM (S-Adenozil

metiyonin)'in sentezinde; metil malonik asitten, Süksinil Co A oluşumunda kofaktör olarak kullanılırlar (Şen ve ark. 2009).

Tablo 1.4. Eksojen antioksidan ilaçların kullanımı (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)

Antioksidan madde	Reaksiyonu
Allopurinol, oksipurinol, pterin aldehit, tungsten	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder.
Adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvarlar	NADPH oksidaz inhibitörüdürler
Trolox-C	Vitamin E analogu olarak görev yapar.
Ebselen, asetilsistein	Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) artırır.
Mannitol	Hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterirler.
Desferoksamin	Serbest ferri demiri (Fe^{3+}) bağlar.
Demir şelatörleri	Hücre içine girerek serbest demiri bağlayarak, fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.

1.4. Oksidatif Stres

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluştuğunu biliyoruz. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızmakta, moleküler oksijenle kazara etkileşerek serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadırlar.

Aerobik (oksijen soluyan) organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda mevcut antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar. Bu durum vücudun paslanması diye de tanımlanabilir. Oksidatif stres ile birlikte oluşan ve reaktif oksijen türleri/metabolitleri olarak bilinen moleküller özellikle lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir (Oksante Ar-Ge Laboratuvarı 2012).

Hücrede oluşan reaktif oksijen türleri (ROT), antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar. Ancak bazen hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırıldıktan daha fazla reaktif oksijen türleri (ROT) oluşabilir. Organizmada Hücrel savunma

mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırıldan daha fazla reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres durumunda reaktif türlerin miktarında artış olur ve bu türler başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere vücudumuzun birçok sistemine zarar verirler (Şerbetçi 2008).

Dışarıdan alınan antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki grupta incelenebilir. Doğal antioksidanlar bitkilerin bütün kısımlarında doğal bir şekilde meydana gelmektedir. Bunlar karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitleri içerir. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar singlet ve triplet oksijen kuençeri, serbest radikal gidericisi, peroksit parçalayıcısı, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak fonksiyon görürler. Sebze ve meyveler de birçok antioksidan içerirler. Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Şerbetçi 2008). Bundan dolayı bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi, kanserde ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir (Ames ve ark. 1993). En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve skualen sayılabilir. Askorbik asit, bitkilerde ve bazı memelilerin karaciğerinde glukozdan sentezlenir. Askorbik asit bazı enzimlerde kofaktör olarak görev yapar. Bunlardan en önemlisi, kollagenin biyosentezinde yer alan prolinin hidroksiproline enzimatik hidroksilasyonu gibi hidroksilasyon reaksiyonlarına katılmasıdır.

Sentetik olarak kullanılanlar bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyerbüttilhidrokinon (TBHQ), propil galat (PG), troloks ve diğer sentetik antioksidanlardır (Mavi 2005). En yaygın olarak kullanılan bu sentetik antioksidanların bazı yan etkilere sahip olduğunun bilinmesidir. Bunun sonucu olarak tüketiciler bunların sağlık açısından güvenilirlikleri hakkında ciddi endişeler taşımaktadır (Gülçin ve ark. 2004a; 2004b). Örneğin BHT non-toksik olmakla beraber, karaciğerde sitokrom P-450 sistemine hasar verdiğine dair bazı çalışmalar mevcuttur (Şerbetçi 2008).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan biki materyali:

Çalışmada kullanılan bitki materyali Muş ili Hasköy ilçesi Karaağaç Köyünün 4 km güneyindeki ormanlık alanda toplanmıştır. Bitkinin türünün teşhisi Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE tarafından yapılmıştır.

2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Antioksidan kapasite belirleme için yapılan metotlarda kullanılmak üzere; 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH•) radikali, ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit), Linoleik asit ve Tween-20 Sigma-Aldrich'ten satın alındı. FeCl₂, NH₄SCN, potasyum persülfat (K₂O₈S₂), Na₂HPO₄, K₃Fe(CN)₆, TCA (Triklor asetik asit), FeCl₃, etanol ve saf su Muş Alparslan Üniversitesi Kimya Bölümü Laboratuvarından temin edildi.

2.1.3. Yararlanılan alet ve cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1800
Derin dondurucu	: Arçelik
pH-metre	: Thermo scientific
Hassas terazi	: RADWAG AS220/C/2
Otomatik pipetler	: A.D.R. Group
Vorteks	: Fisons, Whirlimixer
Evaporatör	: IKA-Labotechnik
Saf su cihazı	: Nüve NS103
Magnetik karıştırıcı	: MK350
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm ³ 'lük quartz küvet

2.2. Metot

2.2.1. Numunelerin su ekstralarının hazırlanması

Çalışmamızda kullandığımız meşe yaprağı, meşe palamudu kabuğu ve meşe palamudu çekirdeği kısımlarından 200'er g tartılıp, blender (parçalayıcı) cihazı ile parçalandı.

Meşe yaprağı su ekstresi (MYS), palamut kabuğu su ekstresi (PKS), palamut çekirdeği su ekstresi (PÇS) hazırlanması için blenderda parçalanmış 100'er gram numune üzerlerine 200 ml saf su ilave edildi. 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Daha sonra karışım tülbent bezinden süzülerek ve geriye kalan posa tekrar 100 ml saf su ile aynı şartlarda ekstrakte edilmeye devam edildi ve tülbent bezinden süzüldü. Ekstreler birleştirildikten sonra süzgeç kağıdından süzülerek, süzüntüler balonlara alındı ve derin dondurucuda donduruldu. Dondurulmuş ekstralar 50 mm-Hg basınç altında liyofilizatörde kuruluğa kadar liyofilize edildi. Bu numunelerden stok çözelti hazırlandı. Bu amaçla 20 mg liyofilize edilmiş ekstre 20 ml saf suda çözünerek stok çözelti hazırlandı.

Gezo pekmezi su (GPS) ekstresi hazırlamak için 50 mg pekmez numunesi 50 ml saf su üzerine eklenerek bir gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Hazırlanan ekstre kullanılmaya kadar 4°C'de bekletildi.

2.2.2. Numunelerin etanol ekstralarının hazırlanması

Meşe yaprağı etanol ekstresi (MYE), palamut kabuğu etanol ekstresi (PKS), palamut çekirdeği etanol ekstresi (PÇE) hazırlanması için blenderda parçalanmış 100'er g numune üzerlerine 200 ml etanol ilave edildi. 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Daha sonra karışım tülbent bezinden süzülerek ve geriye kalan posa tekrar 100 ml etanol ile aynı şartlarda ekstrakte edilmeye devam edildi ve tülbent bezinden süzüldü. Ekstreler birleştirildikten sonra süzgeç kağıdından süzülerek, süzüntüler balonlara alındı ve derin dondurucuda donduruldu. Derin dondurucudan çıkarılarak ekstralar

evaporatörde çözücü uzaklaştırıldı. Bu numunelerden stok çözelti hazırlandı. Bu amaçla 20 mg ekstre 20 ml etanolde çözünerek stok çözelti hazırlandı.

Gezo pekmezi etanol ekstresi (GPE) hazırlamak için 50 mg pekmez numunesi 50 ml saf etanol üzerine eklenerek 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Hazırlanan ekstre kullanılıncaya kadar 4°C'de bekletildi.

2.2.3. Toplam indirgeme kapasitesi

Hazırlanan ekstrelerin toplam indirgeme kuvveti Oyaizu (1986) yöntemine göre yapıldı. Bunun için daha önce hazırlanmış olan stok çözelti kullanıldı. Bu stok çözeltinin farklı konsantrasyonları alınarak deney tüplerine aktarıldı ve hacim saf suyla 1 ml'ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2,5 ml 0,2 M fosfat tamponu (pH 6,6) ve 2,5 ml %1'lik potasyum ferrisiyanür [$K_3Fe(CN)_6$] ilave edildi ve karışım 50°C'de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 ml %10'luk triklorasetik asit (TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2,5 ml alındı ve bunun üzerine 2,5 ml destile su ve %0,1'lik 0,5 ml $FeCl_3$ ilave edildikten sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okundu. Köre olarak saf su kullanıldı. Kontrol için ise numune yerine saf su kullanıldı (Bursal 2009).

2.2.4. DPPH^{*} (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) Giderme Aktivitesi

Ekstrelerinin DPPH^{*} serbest radikali giderme aktivitesi Blois metoduna (1958) göre yapıldı. Serbest radikal olarak 1 mM'lık DPPH^{*} çözeltisi kullanıldı. Numune olarak indirgeme kuvvetlerinde kullanılan 1 mg/ml konsantrasyonundaki stok çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla değişik konsantrasyonlarda çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH^{*} çözeltisinden 1 ml ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak 3 ml etanol ve 1 ml DPPH^{*} çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans

geriye kalan DPPH[•] çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir.

2.2.5. ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikali giderme aktivitesi

Ekstrelerinin ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi Re ve ark. (1999) yaptığı çalışmaya göre belirlendi. Öncelikle 2 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiye 2,45 mM'lık persülfat çözeltisi eklenerek ABTS^{•+} radikalleri üretildi. ABTS^{•+} radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 734 nm'de absorbansı 0,1 M ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu ile 0,750±0,025 nm'ye ayarlandı. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesine bakılan ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarına birer ml ABTS^{•+} radikal çözeltisi ilave edilerek ve 30 dakika inkübe edildi. Tampondan oluşan köre karşı 734 nm'de absorbanslar kaydedildi.

2.2.6. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini

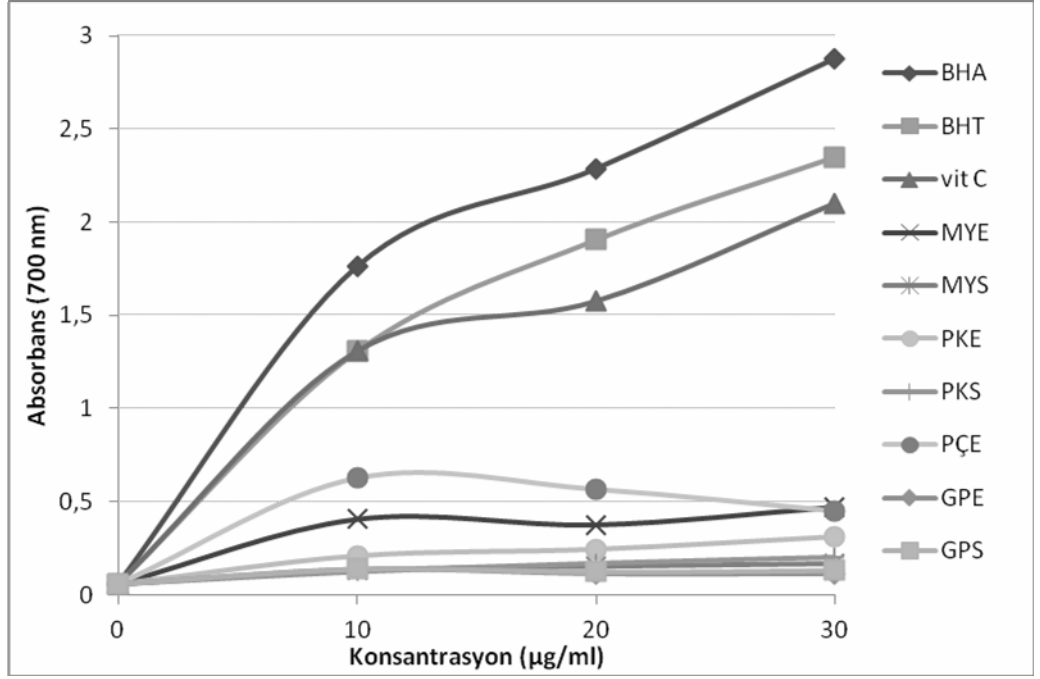
Ekstrelerinin toplam antioksidan aktivite tayini ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Mitsuda ve ark., 1966). Ekstrelerden oluşturulan stok çözeltilerden istenilen konsantrasyonlara karşılık gelen miktarlar vezin kaplarına otomatik pipetlerle pipetlendi ve hacim tampon çözeltiyle 2,5 ml'ye tamamlandı. Daha sonra her bir vezin kabına 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak 2,5 ml tampon çözelti ve 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. İnkübasyon 37 ° C'de gerçekleştirildi. Her 12 saatte bir vezin kaplarından 100'er µl alındı 4,7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu. 100 µl Fe²⁺ çözeltisi daha sonra da 100 µl SCN çözeltisi ilave edildi. Kör olarak 4,8 ml etanol bulunan deney tüpüne 100 µl Fe²⁺ ve 100 µl SCN çözeltilerinin ilavesiyle hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbansları köre karşı okundu.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Antioksidan aktivite tayin metotları; gıda, ilaç veya tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir Şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla DPPH[•], ABTS^{•+} ve O₂^{•-} radikal giderme aktiviteleri, metal Şelatlama kapasitesi, total indirgeme kapasitesinin araştırılması gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Bursal 2009). Bu çalışmada da radikal giderme aktivitesi için bu metotlardan DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesi ile ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi gerçekleştirildi. Ayrıca antioksidan aktivite için total indirgeme kapasite tayini ve ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini metotları kullanıldı. Bulgular BHA, BHT ve askorbik asit gibi antioksidan aktiviteleri bilinen standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

3.1. Total indirgenme kapasitesi

Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil rengine dönüşmektedir (Bursal 2009).



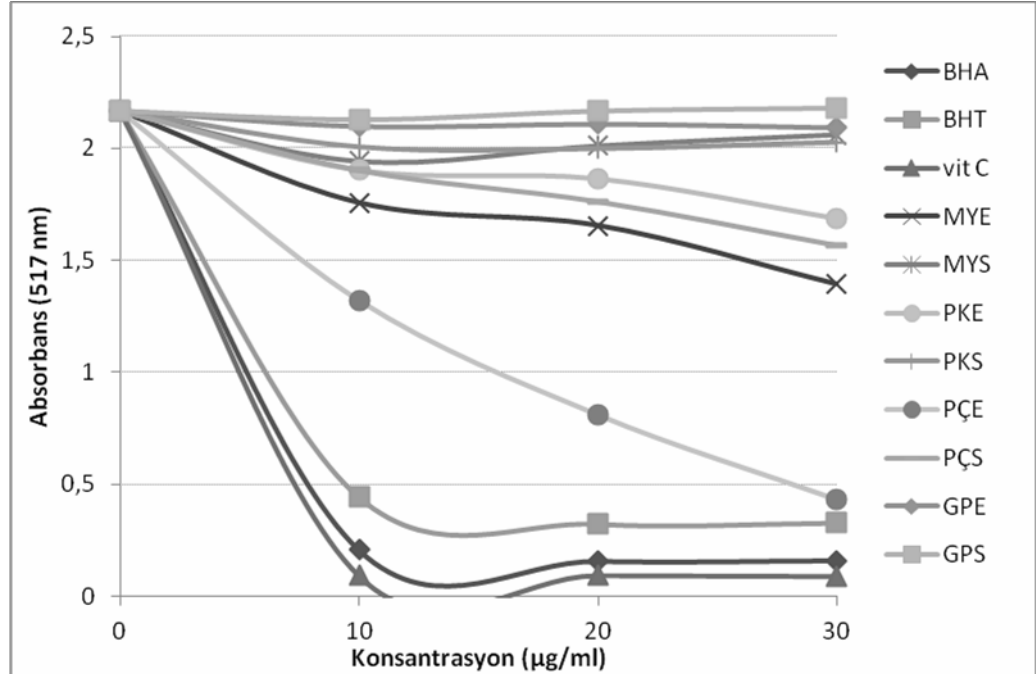
Şekil 3.1. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ve standart antioksidanların (BHA, BHT ve askorbik asit) farklı konsantrasyonlarındaki (10-30 µg/ml) indirgeme kuvvetlerinin karşılaştırması

Çalışmada kullanılan meşe yaprağı etanol (MYE), palamut kabuğu etanol (PKS), palamut çekirdeği etanol (PÇE), gezo pekmezi etanol (GPE), meşe yaprağı su (MYS), palamut kabuğu su (PKS), palamut çekirdeği su (PÇS) ve gezo pekmezi su (GPS) ekstrelerinin indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlar gibi artan ekstre konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Fakat bu artmanın standart antioksidanlar kadar belirgin ve anlamlı olmadığı Şekil 3.1'den anlaşılmaktadır. Ekstrelerin indirgeme potansiyeli farklı konsantrasyonlardaki (10 µg/ml, 20 µg/ml ve 30 µg/ml) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3.1).

3.2. DPPH' serbest radikali giderme aktivitesi ile ilgili çalışma bulguları

DPPH' radikali giderme aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda 517 nm'de azalan absorbans geriye kalan DPPH' çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir. Çalışmada kullanılan bazı ekstrelerin (PÇE) standart antioksidanlar olan BHA, BHT ve askorbik asit gibi etkili bir şekilde DPPH' serbest

radikali giderme aktivitesi sergilediği, bazı ekstrelerin (MYE, PÇS ve PKE) az etki gösterdiği, bazı ekstrelerin (PKS, GPE, MYS ve GPS) ise etki göstermediği Şekil 3.2'deki bulgulardan görülmektedir.



Şekil 3.2. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ve standart antioksidanların (BHA, BHT ve askorbik asit) farklı konsantrasyonlarındaki (10-30 µg/ml) DPPH[•] radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırması

DPPH[•] radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı. Burada A_{Numune} DPPH[•] radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, $A_{Kontrol}$ ise sadece DPPH[•] radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT ve askorbik asit kullanıldı.

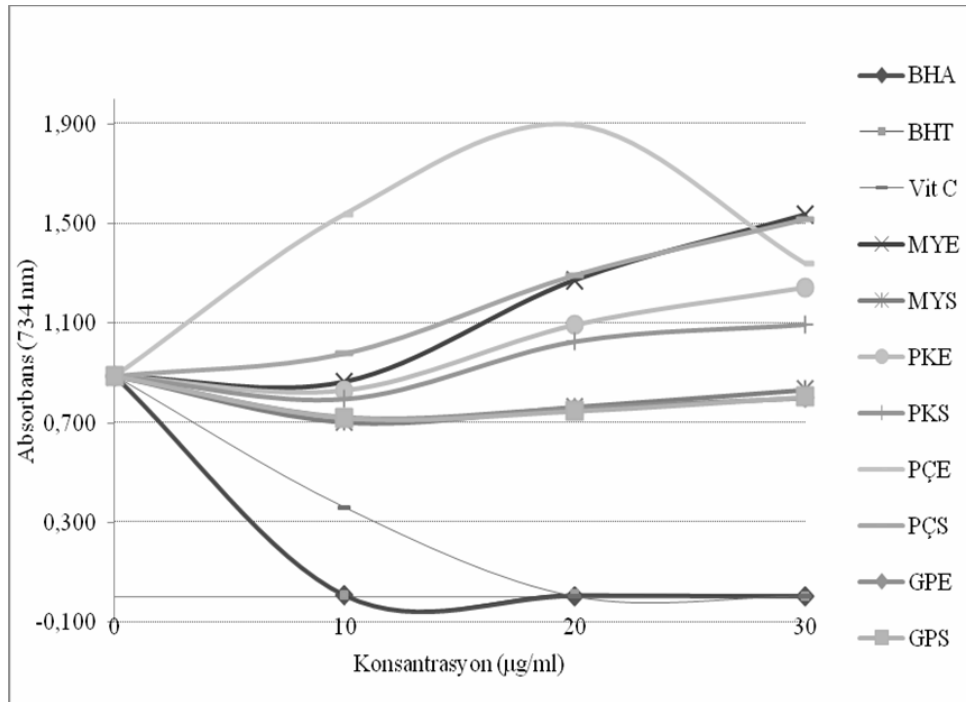
$$DPPH^{\bullet} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{A_{Numune}}{A_{Kontrol}} \right) \times 100$$

Ekstreler ile standart antioksidanlar 30 µg/ml konsantrasyonunda sırasıyla askorbik asit > BHA > BHT > PÇE > MYE > PÇS > PKE > PKS > MYS > GPE > GPS şeklinde DPPH[•] radikali giderme aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Bu değerler yine sırasıyla %95.8 > %93.1 > %84.9 > %80.0 > %35.8 > %27.6 > %22.2 > %6.5 > %4.9 > %3.4 > %0 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre PÇE önemli

miktarda MYE, PÇS ve PKE ise orta derecede serbest radikal gideren doğal antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. PKS, MYS, GPE ve GPS ise çok düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

3.3. ABTS^{•+} giderme aktivitesi bulguları

ABTS^{•+} giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstraların veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Miller ve ark. 1996). Ekstreler (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) ile çalışmada kullanılan askorbik asit, BHA ve BHT gibi standart antioksidan bileşiklerin ABTS^{•+} giderme aktiviteleri çeşitli konsantrasyonlarda (10 µg/ml, 20 µg/ml ve 30 µg/ml) çalışıldı.



Şekil 3.3. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) ABTS^{•+} giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve askorbik asit ile karşılaştırması

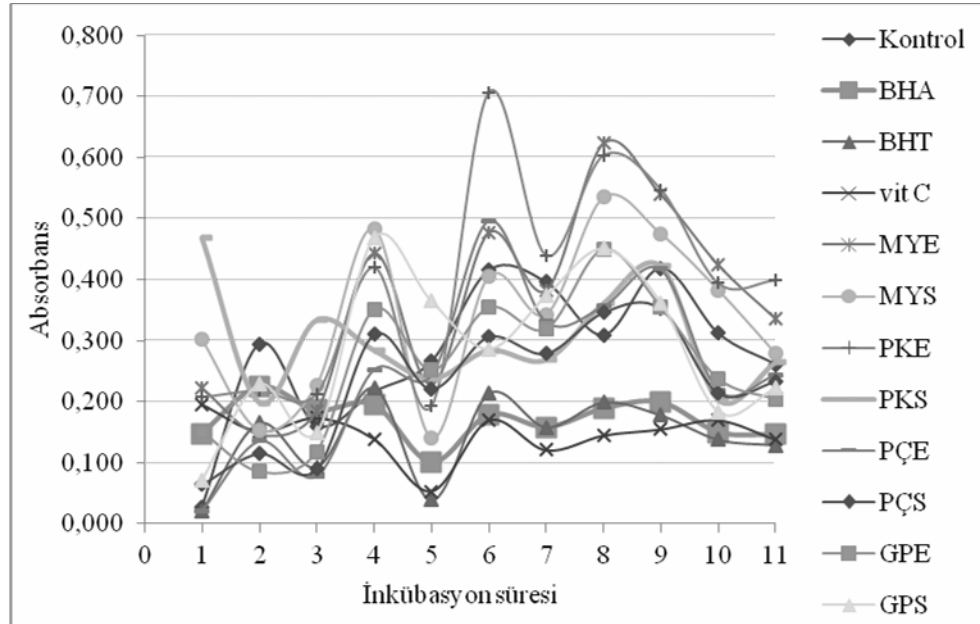
ABTS^{•+} giderme ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{ABTS}^{++} \text{ giderme aktivitesi}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right) \times 100$$

Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS), standart birer antioksidan olan BHA, BHT ve askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmaya göre 30 µg/ml konsantrasyonunda BHA %99.3 oranında, BHT %99.6 oranında, askorbik asit %99.3 oranında, GPE %10, GPS %9,5 ve MYS %6,3 oranında ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi gösterdiler. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) liyofilize su ekstresi ile standart antioksidanların ABTS⁺⁺ giderme aktiviteleri Şekil 3.3'te grafik halinde gösterildi.

3.4. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite bulguları

Çalışmada kullandığımız MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS ekstrelerinin antioksidan aktivitesi ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi. Ekstrelerin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS) toplam antioksidan aktivite tayinleri için 10, 20 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarının sonuçlarının ortalaması kullanıldı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS)'den elde edilen su ekstresinin farklı konsantrasyonlarda (10–30 µg/ml) toplam antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Ekstrelerin ve kullanılan standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunu inhibe etme yüzdeleri, kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon süresi olan 60. saat temel alınarak hesaplanmıştır. Lipit peroksidasyonu inhibisyonu hesaplamaları aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{İnhibisyon Yüzdesi (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right) \times 100$$

Bu denklemde A_{Numune} farklı konsantrasyonlardaki ekstre değerlerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değeri, A_{Kontrol} ise kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak α - tokoferol ve troloks kullanıldı (Şekil 3.4).

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Antioksidanlar düşük derişimlerde organik moleküllerin serbest radikal mekanizmalı oksidasyonunu önleyen bileşiklerdir. Diyetle bulunan antioksidanlar zihinsel performansı geliştirmekte, sinirsel dejeneratif rahatsızlıkların oluşumunu ve aynı zamanda klap hastalığı, kanser gibi hastalıkları önlemektedir. Özellikle beyin yüksek düzeyde O₂ kullanımı nedeniyle oksidatif strese karşı zayıflayıp meyve sebze gibi zengin bir diyetle korunabilir (Koca ve Karadeniz).

Özellikle daha uzun süre etkili olmaları sebebiyle son yüzyılda sentetik antioksidanlar gıda endüstrisinde koruyucu amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ancak yapılan son çalışmalarda sentetik antioksidanların kanserojen etkilerinin var olduğuna dair bulguların rapor edilmesiyle özellikle Avrupa ülkelerinin birçoğunda ve bazı Uzakdoğu ülkeleri ile Amerika'da sentetik antioksidanların kullanımı ile ilgili yasal sınırlamalar getirilmeye başlanmıştır. Bu yüzden son zamanlarda gıda endüstrisi ve farmasotik tıbbın bitkisel kökenli doğal antioksidanlara karşı talebi giderek artmaktadır. Bunun doğal sonucu olarak da doğal antioksidanlara özellikle de bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara olan ilgi artarak devam etmektedir. Bazı bitki fenolikleri son zamanlarda antioksidan olarak kabul edilmekte ve ticari olarak üretilmektedir. Bu açıdan diyetle koruyucu etki sağlayan bu antioksidanların gıdalardaki biyolojik mevcudiyetinin ve alınması gereken düzeylerinin bilinmesi önemli görölmektedir.

Antioksidan kapasite tayinlerinde doğru yöntemi seçmek çok önemlidir. Antioksidanın hidrofilik veya lipofilik olması seçeceğimiz yöntemin belirlenmesinde önemli bir kriterdir. DPPH yalnızca organik ortamda çözülebilir (özellikle alkol ortamında), sulu ortamda çözünmez. Bu hidrofilik antioksidanların rolünün yorumlanmasında önemli bir sınırlamadır (Büyüktuncel 2013).

Yiyeceklerin antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan bileşenlerinin bilinmesi tıp ve beslenme uzmanlarının olduğu kadar sağlık ve besin alanındaki araştırmacılarında ilgi alanıdır. Besinlerin bileşenlerinin kompleksleri nedeniyle her bir antioksidan bileşiğın izole edilmesi ve tek başına tayin edilmesi hem pahalı hem de verimsizdir. Bir karışımdaki antioksidan bileşiklerin muhtemel sinerjik ilişkileri

de dikkate alındığında total antioksidan kapasiteyi ölçen yöntemler önem kazanmaktadır.

Tıp, gıda ve eczacılık sektörlerinde serbest radikallerin sağlığa olan zararlı etkilerini gidermek açısından antioksidan bileşiklerin radikal giderme aktiviteleri çok önemlidir. Çeşitli nedenlerle serbest radikaller meydana gelmekte ve dolayısıyla eczacılık ve gıda sanayinde lipit peroksidasyonunu hızlandırmakta ve ürünün kalitesini düşürmektedir. Son zamanlarda sentetik serbest radikallerin giderilmesi ile ilgili birçok metot geliştirilmiştir. Bunların başında total indirgenme kapasitesi, DPPH radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} giderme aktivitesi, DMPD^{•+} giderme aktivitesi, PMS-NADH-NBT sistemi, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ve riboflavin-metiyonin-ışık sistemi gibi sistemlerde oluşturulan süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi gibi radikal giderme metotları kullanılmaktadır. Bu kromojen radikal giderme metotları uygulama kolaylığı, hassaslıkları ve analizlerin kısa sürede uygulanabilirliği gibi avantajlardan dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Bursal 2009). Bu çalışmamızda yukarıda belirtilen metotlardan DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} kation radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre indirgeme gücü ve ferrik tiyosiyanat metoduna göre linoleik asit peroksidasyon inhibisyonu belirlenmiştir.

Total indirgenme kapasitesi metodu, antioksidan maddelerin indirgeyici özelliklerinin olabilmesi esasına dayanmaktadır. İndirgeyici antioksidanlar, oksidan maddeleri indirgeyerek bunların zararlı etkilerini inhibe ederler. Bu çalışmada ekstrelerin standart antioksidanlar olan BHA, BHT ve askorbik asit kadar yüksek DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesi sergilemediği fakat PÇE önemli miktarda MYE, PÇS ve PKE ise orta derecede serbest radikal gideren doğal antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. PKS, MYS, GPE ve GPS ise çok düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar daha önce yapılmış diğer çalışmalardaki benzer bitki kaynaklarına göre; ısırgan (Gülçin ve ark. 2004c) brokoli (Gülçin ve ark. 2004a) rezene (Oktay ve ark. 2007) karnabahar (Köksal 2007) nane (Elmastaş ve ark. 2005) defne (Elmastaş ve ark. 2006) daha düşük aktiviteler tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, Muş ve çevresinde yetişen saplı meşe (*Quercius robur subsp. pedunculiflora*) türünün yaprak, palamut ve pekmezindeki özütüne farklı testler uygulanarak laboratuvar ortamında bu özütün antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir.

Antioksidan aktivite tayin metotları, bitkilerin veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla DPPH[•], ABTS^{•+} ve O₂^{•-} radikal giderme aktiviteleri, metal şelatlama kapasitesi, total indirgeme kapasitesinin araştırılması gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Mengelloğlu 2011). Bu çalışmada da radikal giderme aktivitesi için bu metotlardan DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesi ile ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi gerçekleştirildi. Farmasotik değerinin ön plana çıkarılması, antioksidan aktivitesinin belirlenerek terapik potansiyelinin tespit edilerek doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu pekmezin günlük diyetle kullanımının insan sağlığı üzerinde önemli yararlı etkileri olduğu yöre halkı tarafından söylenmektedir.

DPPH radikal giderme aktivitesi metodunda kullanılan radikal DPPH[•] (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) 517 nm'de absorbans veren organik yapıda olan bir maddedir. Bu radikal antioksidan maddeler ile kimyasal tepkimeye girerek, radikal olmayan DPPH-H molekülüne dönüşmektedir. DPPH-H molekülü 517 nm'de absorbans vermediği için azalan absorbans miktarından antioksidan aktivite hesaplanabilir.

Ekstreler ile standart antioksidanlar 30 µg/ml konsantrasyonunda sırasıyla askorbik asit > BHA > BHT > PÇE > MYE > PÇS > PKE > PKS > MYS > GPE > GPS şeklinde DPPH[•] radikali giderme aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre PÇE önemli miktarda (%80.0) MYE, PÇS ve PKE ise orta derecede serbest radikal gideren doğal antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. PKS, MYS, GPE ve GPS ise çok düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Ekstrelerinin (MYE, MYS, PKE, PKS, PÇE, PÇS, GPE ve GPS), standart birer antioksidan olan BHA, BHT ve askorbik asit ile karşılaştırılması sonucu; 30 µg/ml konsantrasyonunda BHA %99.3 oranında, BHT %99.6 oranında, askorbik asit %99.3 oranında, GPE % 10, GPS % 9,5 ve MYS %6,3 oranında ABTS^{•+} giderme aktivitesi gösterdikleri görülmüştür.

Sonuç olarak; bu çalışmada Muş ve Bitlis illerinde yetişen saplı meşe (*Quercus robur subsp. pedunculiflora*)'nin yaprakları üzerinde oluşan şıradan elde ilen pekmez ve bu bitkinin yaprak ve palamut kısımlarının antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada incelenen bitki yerel olarak besin ve tedavi amaçlı kullanılmakla beraber, üzerinde yeterince klinik çalışmalar yapılmamıştır.

Literatürde yapılan araştırmalarda bu bitkiden elde edilen pekmezin kimyasal özelliği hakkında daha önce yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışma sonuçları bu anlamda literatüre katkı sunacaktır.

KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları. Konya.
- Akpoyraz, M., Durak İ.,1995. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası*, **48**: 253-262.
- Altınışik, M., 2000. *Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar*. ADÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD. Aydın.
- Ames, B.M., Shigena, M.K., Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences*, **90**: 7915-7922.
- Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet. Journal*, **2** (2): 56-60.
- Baytop, T., 1999. *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*. 2.baskı, Nobel Tıp Kitap Evleri.
- Baytop, T., 1984. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniv. Eczacılık Fakültesi, Yay. No. 3637, No.40, İstanbul, 240-376.
- Beckman, K.B., Ames, B.N., 1997. Oxidative Decay of DNA. *Journal. Biology Chemistry*, **272**: 19633-19636.
- Branen, A.L., 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **52**: 59-63.
- Bursal, E. (2009). *Kivi meyvesinin (Actinidia deliciosa) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Cortopassi, G.A., Wong, A., 1999. Mitochondria in Organismal Aging and Degeneration. *Biochim. Biophys. Acta*, 183-193.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres İle Antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, **9** (1): 73-83.

Çavdar, C., 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology*, **3-4**: 92-95.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, **3-4**: 92-95.

Davies, K.J.A., 2000. Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair And Replacement Systems. *International Union Of Biochemistry and Molecular Biology Life*, **50**: 279-289.

Derviş, E., 2011. Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, **2(1)**: 263-267.

Diken, M.E. (2009). *Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Dündar, Y., Aslan R., 1993. Bir Antioksidan Olarak Vitamin E. *Genel Tıp Dergi*, **9 (3)**: 109-16.

Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, Oxidative Stres and the Biology Of Ageing. *Nature*, **408**: 239-247.

Elmastaş, M., Gülçin, İ., Öztürk, L., Gökçe, İ., 2005. Investigation of antioxidant properties of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Asian Journal of Chemistry*, **17**: 137-148.

Elmastas, M., Türkekul, İ., Öztürk, L., Gülçin, İ., Işıldak, Ö., Aboul-Enein, H.Y., 2006. The Antioxidant Activity of two Wild Edible Mushrooms (*Morchella Vulgaris* and *Morchella Esculanta*). *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, **6**: 443-448.

Ercan, S. (2008). *Doğumsal Kalp Hastalığı Olan Çocuklarda Total Oksidan (Tos) ve Antioksidan Seviye (Tas) ile Oksidatif Stres İndeks (Osi) Düzeyleri*. Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Şanlıurfa.

Galip, F. (2007). *Böğürtlen (Rubus Sp.) Meyvesinin Karbon Dioksit İle Süper Kritik Ekstraksiyonundan Doğal Boyar Madde Eldesi ve Uygulanabilirliği*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Gök, V., Kayacıer A., Telli R., 2006. Hayvansal ve Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antioksidanlar. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **(2)**: 35-40.

Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**: 85-89.

Gülbayzar, S. (2006). *Yenidoğan Bebeklerde Kord Kanında (Oksidatif Stres Gostergesiolarak) Malondialdehit*. Uzmanlık Tezi, İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2004a. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of extracts of broccoli (*Brassica oleracea* L.). ***Italian Journal of Food Sciences*, 16: 17-30.**

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R. 2004b. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: α -Hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside F. ***Planta Medica*, 70: 561-563.**

Gülçin, İ., Köksal E., Elmastas, M., Aboul-Enein H. Y., 2007. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum Oreophilum* C.KOCH var. Joannis. ***Research Journal of Biological Sciences*, 2: 372-382.**

Günel, N., 2013. Türkiye’de İklimin Doğal Bitki Örtüsü Üzerindeki Etkileri. ***Çevrimiçi Tematik Türkoloji Dergisi*, 5 (1): 1-22.**

Günaldı, M. (2009). *Kan Selenyum Düzeyi ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Akut Miyokart Enfarktüsü Gelişimi Üzerine Etkisi*. Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul.

Gürgöze, S.Y., Şahin, T., Durak, M.H., 2007. Memelilerde Ortalama Yaşam Süresi Ve Yaşlanma Sürecinde Serbest Radikallerin Rolü. ***İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 33 (1): 43-49.**

Gürsoy, F. (2005). *Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriksmetalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Heinecke, J.W., 2002. Oxidized amino acids: Culprits in Human Atherosclerosis And indicators of Oxidative Stress. ***Free Radical Biology and Medicine*, 32: 1090-1101.**

İnal, S., 1958. Türkiye’de Tarih Boyunca Palamud Meşesi (*Quercus Aegilops*) ve Sağladığı Faydalar. ***İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 8: 1.**

Karadağ, H. (2007). *Süperoksit Dismutaz Enziminin İnsan Eritrositlerinden Saflaştırılması ve Bazı Pestisitlerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Kılınç, K., Kılınç, A., 2002. Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **33** (2): 110-118.

Koca, N., Karadeniz, F., 2005. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, **16**: 32-37.

Koç, E., Üstün, A.S., 2008. Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **24** (1-2): 82-100.

Köksal, E. (2007). *Purification and Characterisation of Peroxidase From Cauliflower (Brassica oleracea L.) and Determination of Their Antioxidant and Antiradical activities*. PhD Thesis, Atatürk University, Erzurum, Turkey.

Lambeth, J.D., 2004. Nox enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, **4** (3): 181-189.

Meal, J.F., 1976. *In free Radical in Biology; Pryor, W.A., Ed; Academic, New York*, 6, 51-67.

Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M.S., Walker, D.W., Clayton, P.E., Wallace, D.C., Malfroy, B., Doctrow, S.R., Lithgow, G.J., 2000. Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, **289**: 1567-1569.

Memişoğulları, R., 2005. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, **3**: 30-39.

Meydani, M., 2001. Antioxidants and cognitive function. *Nutrition Reviews*, **59** (8): 575-582.

Miller, D.D., 1996. Mineral. *Food Chemistry, Fennema, O.R. (Ed.), Dekker: New York*, 618-649.

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Iwami K., 1966. Antioxidativ action of indol compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo*, **19**: 210-214.

Müftüoğlu, O., 2003. *Yaşasın Hayat*. Doğan Kitapçılık, İstanbul.

Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology Medicine*, **31**: 1287-1312.

Oksante Ar-Ge Laboratuvarı 2012. *Oksidatif Stres ve Antioksidanlar*. www.oksante.com.tr/www.oksantest.oksante.com.tr.

Oktay, M., Yıldırım, A., Bilaloğlu, V., Gülçin, İ., 2007. Antioxidant activity of different parts of ısgın (*Rheum ribes* L.). *Asian Journal of Chemistry*, **19**: 3047-3055.

Özer, Z., Tursun, N., Onen, H., 2001. *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam*. 4 Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık, 253, Ankara.

Özdemir, Ç. (2011). *Superoksit Dismutaz Enziminin Nardan (Punica Granatum L.) Saflaştırılması ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Selen İ, Ş. (2008). *Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Şen, S. (2001). *Bitki Fenollerinin Odun Koruma Etkinliklerinin Birlenmesi*. Doktora Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.

Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y.H., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S.L., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., Levine, M., 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, **22**: 18-35.

Porter, N.A. 1985. *Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation*. In "Chemical Changes in Food During Processing", T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:73-105. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Pratt, D.E., Hudson, B.J.F., 1990. *Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants*. Hudson B.J.F., Ed.; Elsevier; Amsterdam, 17-192.

Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M., Kawakishi, S., 1988. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **36**: 732-737.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**: 1231-1237.

Şenses, S., Vildan, Özyazgan, S., Akkan, A.G., 1999. Serbest Oksijen Radikalleri-I: Vücuttaki Antioksidan Sistemler. *Türk Aile Hekimliği Dergisi*, **3** (1-2): 5-11.

Şen, S., Durat, G., Atasoy, I., 2009. Vitamin B 12 ve Folik Asit Eksikliğinin Psikiyatrik ve Nörolojik Bozukluklarla İlişkisi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 7 (1): 31-36.

Yüksel, N., 1999. *Sitokrom P450 Enzim Sistemi ve İlaç Etkileşmeleri*. 35.Ulusal Psikiyatri Kongresi-Trabzon.

Tietz, N.W., 1995. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.

Walker, B.G., 1983. *The Woman's Encyclopedia of Myths and Secrets*. San Francisco: Harper & Row, 661-663.

ÖZGEÇMİŞ

1983'te Muş/Bulanık ilçesinde doğdu. İlköğretimini Karaağıl İlköğretim okulunda tamamladı. Lise öğrenimini Muş Lisesinde tamamladı. Yükseköğrnimini 2003 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretminliği Bölümü'ne başladı ve aynı fakülteden 2008 yılında mezun oldu.