

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MALATYADA YETİŞEN KAYISI MEYVESİ EKSTRAKTLARININ
ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ VE OKSİDATİF DNA HASARI ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

NİDA TOPAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**MALATYA
OCAK 2012**

Tezin Başlığı: **Malatyada Yetişen Kayısı Meyvesi Ekstraktlarının Antoksidan Kapasitesi ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisi**

Tezi Hazırlayan: **Nida TOPAL**

Sınav Tarihi:

Sınav Jürisi Üyeleri:

Prof. Dr. İsmet YILMAZ

Doç. Dr Burhan ATEŐ

Yrd.Doç.Dr. Türkan KUTLU (Danışman)

Yukarıda adı geçen tez, jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Asım KÜNKÜL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Malatya’da Yetiřen Kayısı Meyvesi Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesi ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden olduğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Nida TOPAL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MALATYADA YETİŞEN KAYISI (*Prunus armeniaca L.*) MEYVESİ EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ VE OKSİDATİF DNA HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Nida TOPAL

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

69+XV sayfa

2012

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Türkan KUTLU

Bu çalışmada, farklı kayısı (*Prunus armeniaca L.*) meyvesi ekstraktlarının (etanol, metanol,) antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır. Bu ekstraktların oksidatif DNA hasarı üzerine koruyucu etkilerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Bu çalışmada antioksidan kapasite ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme aktivitesi, indirgeme gücü, deoksiriboz yöntemi ve β -karoten beyazlatma yöntemi ile belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteus metodu ile belirlenmiş ve Trolox (6-Hidroksil-2,5,7,8-Tetrametil Kroman-2-Karboksilik asit) ve α -tokoferol standart antioksidanlarla karşılaştırılmıştır. Metanol ve etanol ekstraktları yapılan antioksidan kapasite yöntemlerinde yüksek radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Kayısı meyvelerinin etanol ve metanol ekstraktlarında 0.5-2.5 mg/ml içeren örneklerin pBluescript M13+ plazmid DNA üzerine OH \cdot radikali tarafından oluşturulan DNA çift zincirinin kesilmesine karşı önemli bir koruyucu aktivite gösterdiği ortaya kondu. Toplam fenolik madde Kabaş ve Şekerpare kayısı meyvesi metanol, etanol ekstraktlarında sırasıyla 13,78; 22,20. ve 14,50; 10,66 mili eşdeğergram(meg) gallic asit/100 g yaş kayısı olarak bulunmuştur.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Antioksidan aktivite, DNA hasarı, Polifenol, Radikal

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF EXTRACTS OF APRICOT (*Prunus armeniaca L.*) FRUITS GROWN IN MALATYA EFFECT ON ANTIOXIDANT CAPACITY AND OXIDATIVE DNA DAMAGE

Nida TOPAL

Inonu University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

69 + XV pages

2012

Supervisor: : Assist. Prof. Türkan KUTLU

In present study, ethanol, methanol, extracts of Apricot (*Prunus armeniaca L.*) fruits grown in Malatya were investigated. These extracts were studied for antioxidant capacity and examined for its DNA damage protecting activity. The antioxidant capacity of these extracts were evaluated using different antioxidant tests, including reducing power, free radical scavenging, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS radical scavenging, Deoxyribose assay and β -Carotene bleaching assay. The content of total phenolic compounds in the methanol and ethanol, extracts of Apricot (*Prunus armeniaca L.*) fruits were determined using Folin-Ciocalteus reagent and compared with standart antioxidants Trolox and α -tocopherol. Metanol and ethanol extracts of kabaası and şekerpare apricot fruits showed a concentration-dependent free radical scavenging capacity and protective effect on DNA cleavage. Ethanol and methanol extracts of apricot fruits. at 0,5-2,5 mg/mL exhibited significant protecting activity against DNA strand scission by OH• on pBluescript M13+ plazmid DNA (11,16 - 27,94%). Total phenolic compounds in the metanol and ethanol extracts of kabaası and şekerpare apricot fruits were determined as gallic acid equivalent (meq/100 g apricot fruits) 13.78 ; 22.20 and 14.5; 10.66 respectively.

Keywords: DNA damage; Polyphenol; Antioxidant activity; Radical

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmamda bana emeği geçen başta danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Türkan KUTLU olmak üzere tüm İnönü Üniversitesi Kimya Bölümü ğretim üyelerine özellikle Prof. Dr İsmet YILMAZ, Doç. Dr. Burhan ATEŐ ve İdil KARACA hocalarıma, deney aőamasında bana çok yardımı dokunan arkadaőım Merve KARAASLAN ve Sevgi BALCIOğLU'na, laboratuvarlarından ve tecrübelerinden yararlandığım Dicle niversitesi ğretim üyelerinden değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Murat KIZIL ve Bircan ÇEKEN'e, hayatım boyunca destek ve yardımlarını benden esirgemeyen AİLEME sonsuz saygı ve teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezime baőladıđım dönemlerde ve hayatım boyunca bana en büyük güç kaynağı olan ama sonradan bu dünyadan ayrılan biricik kardeőim Yasin TOPAL'a en büyük teőekkürümü sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikal Oluşumunu Arttıran Faktörler	2
1.2. Gıdalarda Oluşan Serbest Radikaller	3
1.3. Serbest Radikallere Karşı Hücrel Savunma Sistemleri	4
1.4. Antioksidan Kaynaklar	4
1.4.1. Doğal Antioksidanlar	4
1.4.1.1. Tokoferoller	4
1.4.1.2. Fenolik Bileşikler	5
1.4.1.2.1 Fenolik Bileşiklerin Kimyası	5
1.4.1.2.2 Fenolik Asitler	6
1.4.1.2.3. Flavonoidler	7
1.4.1.2.4. Fenolik Bileşiklerin Riskleri	8
1.4.1.3. Askorbik Asit	8
1.4.1.4. β Karoten	9
1.4.1.4.1. β Karotenin Kimyasal ve Biyolojik Fonksiyonları	10
1.4.1.4.2. β Karoten Eksikliği	11
1.4.1.4.3. β Karoten Fazlalığı	11

1.4.1.4.4. β Karotenin Antioksidan Özelliği ve Hastalıklarla İlişkisi	11
1.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	12
1.6. DNA Yapı ve Fonksiyonu	13
1.6.1. Oksidatif DNA Hasarı	14
1.7. Beslenmenin İnsan Sağlığı Üzerne Etkisi	15
2. KAYNAK ÖZETİ ve KURAMSAL BİLGİLER	18
2.1. Ülkemizde Yetiştirilen Bazı Önemli Kayısı Çeşitleri	20
2.1.1. Kurutmalık Kayısı Çeşitleri	20
2.1.2. Sofralık Kayısı Çeşitleri	21
2.2. Kayısının Besin Değeri	22
3. ARAÇ, GEREÇ ve YÖNTEMLER	27
3.1. Araç Gereçler	27
3.2. Kimyasallar	27
3.3. Kayısının Toplanması, Depolanması ve Ekstraksiyonu	28
3.4. Antioksidan Aktivite Tayinleri	29
3.4.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini	29
3.4.2. β Karoten Bleaching Metoduyla Antioksidan Aktivite Ölçümü	29
3.4.3. İndirgeme Gücü Tayini	30
3.4.4. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini	31
3.4.5. Toplam Fenolik Bileşik Tayini	31
3.4.6. Kül Tayini	32
3.4.7. Deoksiriboz Yöntemi Tayini	32
3.4.8. DNA Agaroz Jel Elektroforezi	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	41
4.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini Sonuçları	41

4.2. β Karoten Bleaching Metoduyla Antioksidan Aktivite Ölçümü	43
Sonuçları	
4.3. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları	45
4.4. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları	47
4.5. Toplam Fenolik Bileşik Tayini Sonuçları	49
4.6. Kül Tayini Sonuçları	51
4.7. Deoksiriboz Yöntemi Tayini Sonuçları	53
4.8. DNA'da Oksidatif Hasar Oluşturma ve Kayısı Ekstraktlarının	55
Koruyucu Özelliğinin Gözlenmesi Sonuçları	
4.8.1. Optimizasyon Deneyinin Sonuçları	55
5. SONUÇ ve TARTIŞMA	60
6. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Alfa tokoferolün molekül yapısı	5
Şekil 1.2 Flavonoidlerin genel yapısı	6
Şekil 1.3. Sinnamik asitlerin molekül yapısı	6
Şekil 1.4 Benzoik asitlerin molekül yapısı	7
Şekil 1.5. Bazı Flavonoidlerin molekül yapısı	8
Şekil 1.6. Askorbik asitin molekül yapısı	9
Şekil 1.7. β karotenin molekül yapısı	10
Şekil 1.8. β karotenin metabolizmada izleyebileceği yollar	10
Şekil 1.9. DNA'nın kimyasal yapısı	13
Şekil 1.10. 8-OHdG Oluşum Mekanizması	15
Şekil 2.1. Kayısı meyvesinden bir görünüm	19
Şekil 2.2. Kükürtle kurutulmuş ve güneşte kurutulmuş kayısı örneği	25
Şekil 3.1. Agarozun molekül yapısı	33
Şekil 3.2. Agaroz jelde DNA'nın göç yönü	34
Şekil 3.3. DNA'nın farklı formları	35
Şekil 4.1. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktları ile askorbik asit ve α tokoferolün DPPH radikal süpürme gücü karşılaştırılmalı grafiği.	41
Şekil 4.2. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktları ile askorbik asit ve α -tokoferolün DPPH radikal süpürme gücü karşılaştırılmalı grafiği.	42
Şekil 4.3 Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının ve standart olarak α - tokoferol ve troloxun β karoten beyazlatma % inhibisyonlarının antioksidan aktivite ölçümlerinin karşılaştırmalı sütun grafiği.	43
Şekil 4.4. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının ve standart olarak	44

α - tokoferol ve troloxun β karoten beyazlatma % inhibisyonlarının antioksidan aktivite ölçümlerinin karşılaştırmalı sütun grafiği.	
Şekil 4.5. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının indirgeme gücü antioksidan analiz sonuçlarının karşılaştırmalı grafiği.	45
Şekil 4.6. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının indirgeme gücü antioksidan analiz sonuçlarının karşılaştırmalı grafiği.	46
Şekil 4.7. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının ve standartlardan trolox ile α -tokoferolün ABTS süpürme gücü karşılaştırmalı sütun grafiği.	47
Şekil 4.8. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının ve standartlardan trolox ile α -tokoferolün ABTS süpürme gücü karşılaştırmalı sütun grafiği.	48
Şekil 4.9. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin miktarının gallik asite göre karşılaştırılması grafiği.	49
Şekil 4.10. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin miktarının gallik asite göre karşılaştırılması grafiği.	50
Şekil 4.11. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının % kül miktarlarının karşılaştırılması grafiği.	51
Şekil 4.12. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının % kül miktarlarının karşılaştırılması grafiği.	52
Şekil 4.13. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının deoksiriboz yöntemi ile OH^- radikal temizleme gücü antioksidan aktivite ölçümü karşılaştırmalı grafiği.	53
Şekil 4.14. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının deoksiriboz yöntemi ile OH^- radikal temizleme gücü antioksidan aktivite ölçümü karşılaştırmalı grafiği.	54
Şekil 4.15. Supercoiled DNA'nın H_2O_2 fotolizi sonucu oluşan $\cdot\text{OH}$ ile kesiminin agaroz jel elektroforezi görüntüsü.	55
Şekil 4.16. Şekerpare etanol ekstraktı için jel görüntüsü.	56

Şekil 4.17. DNA 'da oksidatif hasar oluşturma ve şekerpare etanol ekstraktlarının koruyucu özelliğinin gözlenmesi sonuçları grafiğı.	57
Şekil 4.18. Kabaası etanol ekstraktı için jel görüntüsü.	58
Şekil 4.19. DNA 'da oksidatif hasar oluşturma ve kabaası etanol ekstraktlarının koruyucu özelliğinin gözlenmesi sonuçları grafiğı.	59

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. 100 gram kayısının enerji ve besin değeri.	24
Tablo 3.1. Sıklıkla kullanılan elektroforez tamponları.	36

SEMBOL VE KISALTMALAR

α : alfa

ABTS: 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit

β : beta

BHA: Bütillenmiş hidroksianisol

BHT: Bütillenmiş hidroksitolüen

DNA: Deoksiribonükleik asit

DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

EDTA: Etilen diamin tetraasetik asit

GAE : Gallik asit eşdeğeri

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

GSSG-Rd: Glutasyon redüktaz

HO. : Hidroksi radikali

H₂O₂: Hidrojen peroksit

HIV: Human immundeficiency virüs

L: litre

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low density lipoprotein)

mg: miligram

mL: mililitre

NAD: Nikotinamid adenin dinükleotit

NADH: Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat(redükte)

γ : gama

μ L: mikrolitre

ng: nanogram

μ g:nikrogram

O₂⁻: Süperoksit radikali

-OH: Hidroksil

OH.: Hidroksil radikali

ROS: Reaktif oksijen türleri

ROO. : Peroksi radikali

RO. : Alkoksi radikali

SOD: Süperoksit dismutaz

SR: Serbest radikal

TAE: Tris-asetat EDTA tamponu

TCA: Trikloro asetik asit

Troloks: 6-Hidroksil-2,5,7,8-Tetrametil Kroman-2-Karboksilik asit

UV: Ultraviyole ışın

1.GİRİŞ

Son yıllarda beslenmenin insan hayatında ki önemi her geçen gün daha çok anlaşılmaktadır. İnsan beslenmesinde antioksidan kapasitesi yüksek olan besinlerin kullanılması giderek özendirilmekte ve bu besinler belirlenerek halka duyurulmaktadır [1]. Bu bağlamda meyve, sebze ve birçok bitki üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Yapılan bu araştırmalar göstermiştir ki kaliteli ve dengeli beslenmeyle birlikte bazı hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesi oldukça fazla önem arz etmektedir [2]. Vücudun antioksidan dengesi diyetten büyük ölçüde etkilenmektedir.

Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik koşullar oluşabilmektedir. Reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma sistemindeki bir yetersizlik vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına ve oksidatif stres koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; E vitamini, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterince alınmasına bağlıdır [3].

Canlılar hayatlarını sürdürüebilmek için oksijene gereksinim duyarlar. Oksijen insan hayatı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir [4]. Bir çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu ROT (reaktif oksijen türleri) normal oksijen molekülüne göre kimyasal reaktivitesi çok daha yüksek olan oksijen formlarıdır. Çünkü serbest radikaller, yapılarında eşlenmemiş elektron içerirler ve bu nedenle de reaktif özellik taşırlar. Bu moleküller ekstra enerjiye sahiptir ve vücutta bu enerjiyi hücrelere boşaltarak onların normal fonksiyonunu değiştirmektedirler. Yani vücutta ROT oluşumu metabolizma için önemli bir tehdittir. Çünkü serbest radikaller elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışacaklardır. Böylece organizmanın yapısal ve fonksiyonel biyomolekülleri oksidatif stres altına girer. Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak ROT oluştuğundan, organizmada sürekli olarak belirli bir ölçüde oksidatif stres vardır. ROT' lar aerobik organizmaların elektron taşıma zinciri ve aktif fagositoz gibi metabolik yollarda sürekli oluşmaktadır. Bu süreçlerde oluşan başlıca ROT' lar süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^\cdot), peroksil radikali (ROO^\cdot), alkoksil radikali (RO^\cdot), hidroklorik asit ($OHCl$) ve peroksinitrit ($ONOO^\cdot$) tir. Tüm bu radikaller DNA, protein ve lipit gibi makromolekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar [5]. Organizmada oksidatif strese yanıt olarak endojen antioksidan sistemini devreye sokar.

[6,7]. Bu endojen antioksidanlar; melatonin, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) gibi sınıflandırılabilirler. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise karoten, vitamin A, vitamin E, vitamin C gibi dışarıdan besin yoluyla aldığımız antioksidanlardır. Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarakta incelenebilirler. SOD, CAT, GSH-Px birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek olarak gösterilebilir [8-10]. Non-enzimatik olanlar ise; Se, Zn mineralleri, vitamin (A, C, K ve E), karotenoidler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), organosülfür bileşikleri (allium, alil sülfid, indoller), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (GSH, ürik asit) antioksidan kofaktörler (ko-enzim Q₁₀) ve polifenoller şeklinde incelenmektedir [9,11]. Vücutta radikal oluşumunun artmasıyla antioksidan sistemler devreye girmektedir. Oksijen radikalının oluşumundaki aşırı artış, antioksidan enzim düzeylerinde veya DNA onarım mekanizmalarında bozukluk olması durumunda oksidatif DNA hasarının artması kaçınılmaz olur [12]. Oksidatif hasara bağlı olarak DNA da mutasyonlar, tek ve çift dal kırıkları, protein-DNA çapraz bağlanmaları ve oksidatif baz hasarı gibi lezyonlar meydana gelir [13]. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analizlenmiştir. Cu²⁺ iyonları DNA'da G-C'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğundan oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz "Guanin" dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı "8OHdG"dir. 8OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir "biomarker"ı olarak kabul edilmektedir [14].

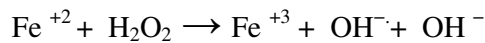
1.1. Serbest Radikal Oluşumunu Arttıran Faktörler

Bu faktörler endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilir.

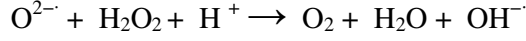
Eksojen Kaynaklar:

UV ışınları, alkol ve uyuşturucular, yanlış beslenme, stres, çevresel ajanlar: (ksenobiyotikler, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, aşırı spor, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestetik maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi) [15]. Ayrıca serbest formdaki demir, bakır ve krom gibi katalitik metaller de serbest radikalleri oluşturabilen Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarının hızlarını artırabilmektedir [16-18].

Fenton Reaksiyonu:



Haber-Weiss reaksiyonu:



Beslenmede enerji içeriği yüksek gıdaların fazla miktarda kullanılmasının ve özellikle içerisinde oksitlenmiş yağ bulunan gıdaların tüketiminin vücutta radikallerin oluşmasına neden olduğu ve hücre bileşenlerine zarar verdiği bilinmektedir [19,20].

Endojen Kaynaklar:

1. Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamıyla karşılaştığında oksido-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen küçük moleküller serbest radikal oluşumuna sebep olurlar. Örneğin; tiyoller, hidrokinnonlar, katekolaminler, flavinler, antibiyotikler flavoproteinler ve tetrahidropiridinler gibi.

2. Enzimler ve proteinler: Bazı enzim ve proteinler de katalitik döngüleri esnasında serbest oksijen radikalleri oluşturabilirler. Bu enzimlerden biri ksantin oksidaz olup, normalde Nikotinamid Adenin Dinükleotit (NAD) bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir radikal oluşumuna neden olmaz. Fakat, invivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşümüne ve süperoksit radikalinin oluşumuna sebep olur.

3. Mitokondrial elektron transportu.

5. Peroksizomlar.

7. Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon gibi.

8. Geçiş metal iyonları: Özellikle demir ve bakır radikal oluştururlar [21].

9. Endoplazmik retikulum.

10. Araşidonik asit metabolizması.

1.2. Gıdalarda Oluşan Serbest Radikaller

Hızla gelişen teknoloji günlük yaşantımızı bir hayli kolaylaştırmaktadır. Gelişen teknolojik yöntemler sayesinde daha güvenli ve kaliteli işlenmiş gıda üretimi sağlanmaktadır. Ancak bu üretim esnasında serbest radikaller (SR) gibi vücutta zararlı etkiler gösteren bazı istenmeyen bileşikler oluşabilmektedir. Gıdaların SR içeriği, canlılık sürecindeki metabolik faaliyetler sırasında oluşana ilave olarak ham maddenin yanlış şekilde veya yanlış zamanda hasadı, kötü veya aşırı işleme, ısıl işlem, boyut küçültme, oksidasyon, mikrodalga, UV ışınları, klorlama, ozonlama ve uygun olmayan şartlarda uzun süre depolanma gibi işlemler sırasında meydana gelen SR

lerden oluşur. Gıda işleme tekniklerine bağlı olarak, gıdalarda bulunan SR miktarı artmaktadır. Yani işlenmiş gıdanın SR içeriği ham maddeninkinden daha yüksek olmaktadır [16,22].

1.3. Serbest Radikallere Karşı Hücresel Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar genel olarak antioksidanlar olarak bilinmektedirler. Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler [23].

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve antioksidan moleküller bu yolla etki etmektedirler.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak onların inaktif hale getirilmesidir. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki etmektedir.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendisine bağlayarak inaktif hale getirmektedirler.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasara uğramış biyomolekülü onararak patojen etkinin ortadan kaldırılması [24].

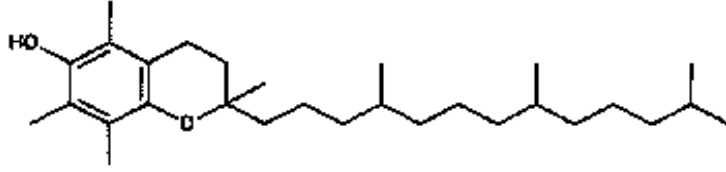
1.4. Antioksidan Kaynakları

1.4.1. Doğal Antioksidanlar

1.4.1.1. Tokoferoller

E vitamini; yağda çözünen önemli bir antioksidandır. Özellikle hücre membranını, serbest radikallerden kaynaklanan lipid peroksidasyonundan korumada büyük işlev görür. Dört tokoferol ve dört tokotrienol olmak üzere sekiz moleküler formu vardır. α -, β -, γ -, δ - tokoferoller antioksidan aktivite için gerekli olan hidroksil gruplarını içermektedirler. Bunlar arasından en aktif olanı α -tokoferoldür. Alfa-tokoferol gibi antioksidanlar, serbest radikalleri ve lipid peroksil radikallerini temizleyerek onların vücutta yaptığı hasarı büyük ölçüde onarırlar. Isıya karşı oldukça dayanıklı moleküllerdir. Pek çok gıdada eser miktarda da olsa

bulunmaktadırlar. Bunlardan bazıları; buğday, pirinç, mısır, darı, çavdar, marul, soya, yer fıstığı, kabak çekirdeği, badem, susam, ceviz, zeytin yağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı, pamuk yağıdır.



Şekil 1.1. Alfa-tokoferolün molekül yapısı.

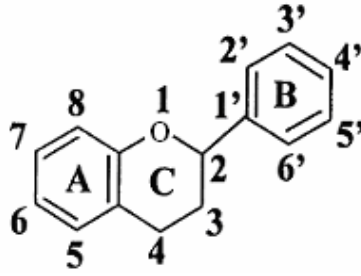
1.4.1.2. Fenolik Bileşikler

En az bir aromatik halka ve buna bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren kimyasal yapılarıdır. Çok sayıda ki hidroksil grubu bileşiğe potansiyel kelatlama özelliği kazandırır ve böylece zararlı bileşenleri yakalayabilir, eksik elektronlarını doyurabilir veya reaksiyon zincirini kırabilir. Yaygın kullanılan ismi polifenollerdir. Bitkilerde fazla miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Bütün bitkiler metabolizmalarında kendilerini zararlılara karşı korumak için çok sayıda fenolik madde oluşturmaktadırlar. Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin kendilerine özgü buruk veya acı tadını verirler. Bitkilerin meyve, sebze, dal, tohum, çiçek, yaprak ve gövdelerinde bulunabilirler. Günümüzde bitkilerde 8000'den fazla fenolik bileşiğin yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir [25]. Polifenollerin yapıları çok basitten çok karmaşığa değişebilmektedir. Örneğin fenolik asit basit bir yapıya sahipken, tanin kompleks yapıya sahip olan bir polimerdir. Polifenollerin sahip oldukları bu çeşitlilik aromatik halkaların yapısal farklılıklarına, OH gruplarının sayısına, çeşitli karbonhidratlar ve organik asitlerle yapmış oldukları bağlardan kaynaklanmaktadır [26].

Meyveler özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedirler [27]. Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle biyoflavonoid adı da verilmektedir. Ayrıca gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; enzim inhibisyonuna neden olmaları ve değişik gıdalarda kalite kontrol olmaları gibi nedenlerle de önem taşımaktadırlar [28,29].

1.4.1.2.1. Fenolik Bileşiklerin Kimyası

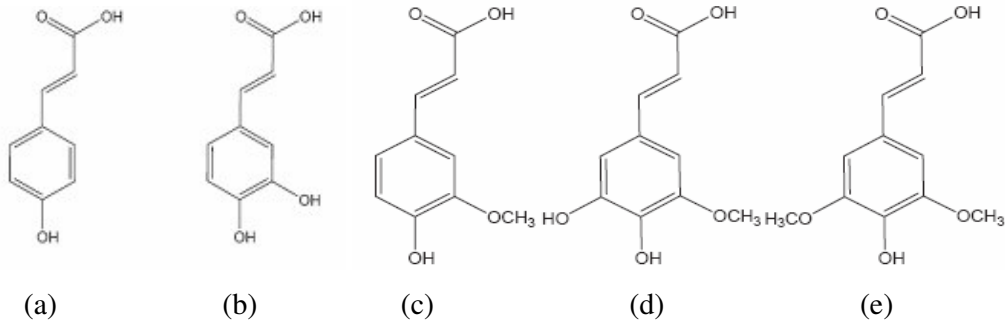
Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi ile kimyasal yapıları arasında önemli bir ilişki vardır. Polifenollerin serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkileri, B halkasındaki orto 4-C pozisyonunda OH gruplarının varlığı, C-halkasındaki 4- oxo ile birlikte C2-C3 arasında çift bağın olması, A ve C halkalarındaki 3-OH ve 5-OH veya 4'-OH ve 3'-OH gruplarının varlığından kaynaklandığı gözlenmiştir [21]. (Şekil 1.2)



Şekil 1.2. Flavonoidlerin genel yapısı

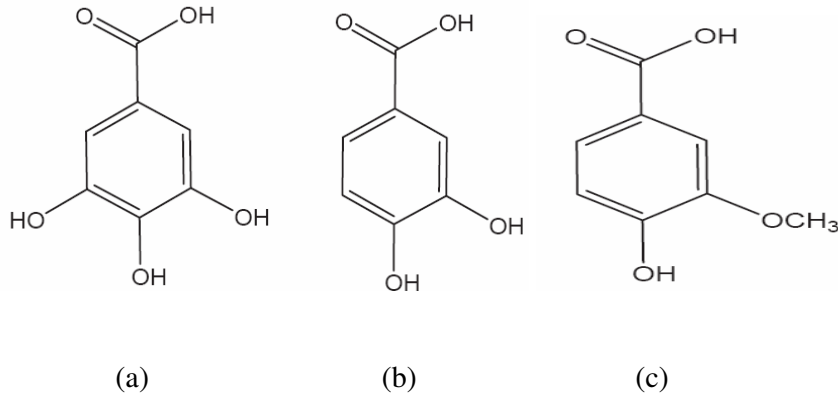
1.4.1.2.2 Fenolik Asitler

Kendi içinde sinnamik asitler ve benzoik asitler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Bunlardan sinnamik asitler C₆-C₃ yapısına sahiptirler. Bitkilerde en fazla bulunan sinnamik asit p-kumarik asit, 5-hidroksiferulik asit, kafeik asit, ferulik asit, ve sinapik asitlerdir (Şekil 1.3). Sinnamik asitler, bitkilerde serbest durumda görülmeyip genellikle tartarik asit, kuinik asit ve şikimik asitin esterleri veya şeker esterleri halinde bulunurlar.



Şekil 1.3. Sinnamik asitler: a) p-kumarik asit b) kafeik asit c) ferulik asit d) 5-hidroksiferulik asit ve e) sinapik asitin molekül yapısı

Benzoik asitler ise, C₆-C₁ karbon yapısına sahiptirler. En yaygın olanlar *p*-hidroksi benzoik asit ve gallik asittir (Şekil 1.4). Renksiz bileşikler olan benzoik asit türevleri, sinnamik asit türevlerine oranla daha nadir bulunmaktadır.

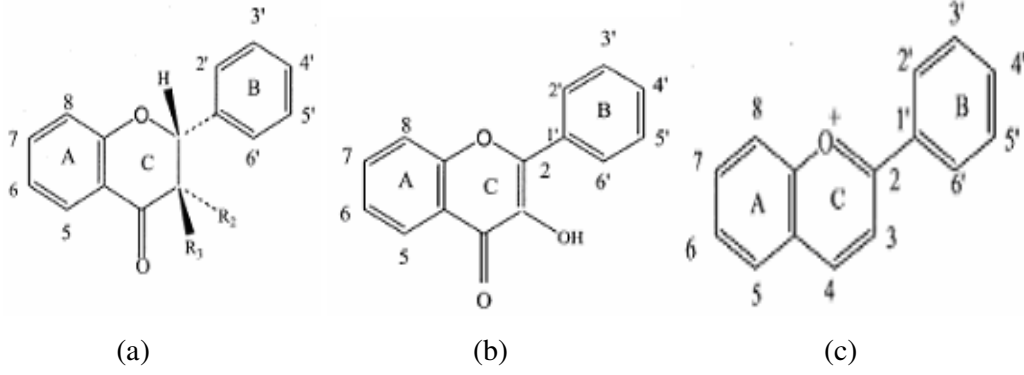


Şekil 1.4. Benzoik asitler: a) gallik asit b) protokateşik asit c) vanilik asit

1.4.1.2.3. Flavonoidler

Flavonoidlerin karbon iskeleti iki fenil halkasının propan zinciriyle birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan yapısındadır. Yapılarındaki OH grupları reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikolizitlenir [30]. Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Büyük çoğunluğu bitkiler tarafından üretilir. Bu bileşikler bitkinin büyüme ve gelişmesini etkiledikleri gibi, hastalık etmenlerine karşı savunma sisteminin de bir parçasını oluştururlar. Ayrıca farmakolojik, antimikrobiyal, antioksidan antikanserojen özelliklerinin olduğu da bilinmektedir [31].

Flavonoidler bir aromatik A halkası, bir oksijen içeren heterosiklik orta halka ve bir de aromatik B halkasından oluşan flavan iskeleti ile tanırlar ve C₆-C₃-C₆ karbon iskeletine sahip bileşiklerdir. Bitkisel fenollerin en büyük ve en önemli grubunu oluşturan flavonoidler, eski zamanlardan bu yana kumaş boyamasında kullanılmaları ve biyokimyasal bitki taksonomisine girişte başlangıç olarak kabul edilmeleri nedeniyle özel bir ilgi çekmişlerdir. Ayrıca, peroksil radikallere karşı yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler [32]. Bazı flavonoidlerin yapısı şekil 1.5' te görülmektedir.



Şekil 1.5. Flavanoidler a) flavon b) flavonol c) antosiyanin

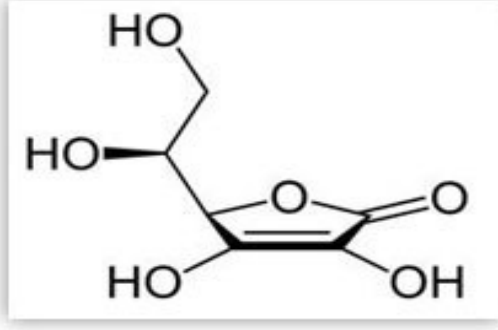
1.4.1.2.4. Fenolik Bileşiklerin Riskleri

Meyve ve sebzelerde bulunan bazı vitaminler, mineraller, diyet posalar, polifenoller ve flavonoidler gibi birçok fitokimyasallar; bazı kanser çeşitleri, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, beyin hastalıkları ve bağışıklık sistemine karşı koruyucu rol oynayan öğelerdir [33,34]. Ancak fenolik bileşiklerin olumlu etkilerinin yanı sıra, fazla miktarda tüketimlerinin ise çeşitli zararları olduğu ve insan sağlığı üzerine bazı riskler taşıdığı belirtilmiştir. Fenolik bileşiklerin riskleri arasında, flavonoidlerin tiroid peroksidaz aktivitesini düşürerek tiroid hormon fonksiyonlarını etkilediği ve guatr oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca polifenoller, Fe^{3+} iyonu ile şelat oluşturduğundan, bağırsaktaki non-heme Fe emilimini etkilemekte ve bireylerde anemi oluşturmaktadır. Bu nedenle çay, kahve, şarap gibi yüksek polifenol içeren sıvıların, besin ile tüketilmemesi tavsiye edilmektedir [35].

Flavonoidlerin günlük ortalama tüketiminin, ortalama kişi başına 50 mg'dan 1 g'a kadar değiştiği tahmin edilmektedir.

1.4.1.3. Askorbik Asit

Erime noktası $189^{\circ}C$ ve molekül ağırlığı 176 olan, renksiz kristallerden oluşan C vitamini, bir antiskorbüt faktörüdür. Hem indirgen gücü olan hem de asidik özellik gösteren bir dienol grubu ihtiva eder (şekil 1.6).



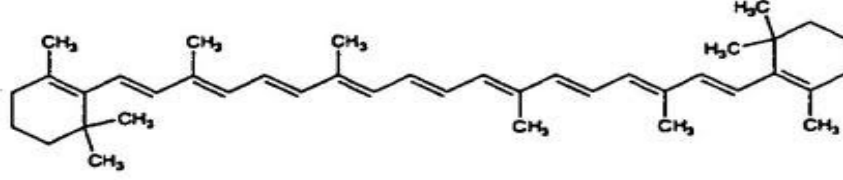
Şekil 1.6. Askorbik asitin molekül yapısı

C vitamini birçok hastalıklara karşı vücut direncini arttırmaktadır. Bitkisel kökenli gıdaların içerdiği temel vitamindir. Vücut askorbik asiti kendisi sentezleyemez ve mutlaka dışarıdan alır. Günlük C vitamini gereksinimi yetişkinlerde 30-40 miligramdır. En zengin kaynakları: Taze meyve ve sebzelerdir. Özellikle portakal, mandalina, kuşburnu, çilek, muz, şeftali, koyu yeşil yapraklı sebzeler, patates, domates, yeşil ve kırmızı biber bol miktarda askorbik asit ihtiva eder [36].

1.4.1.4. β Karoten

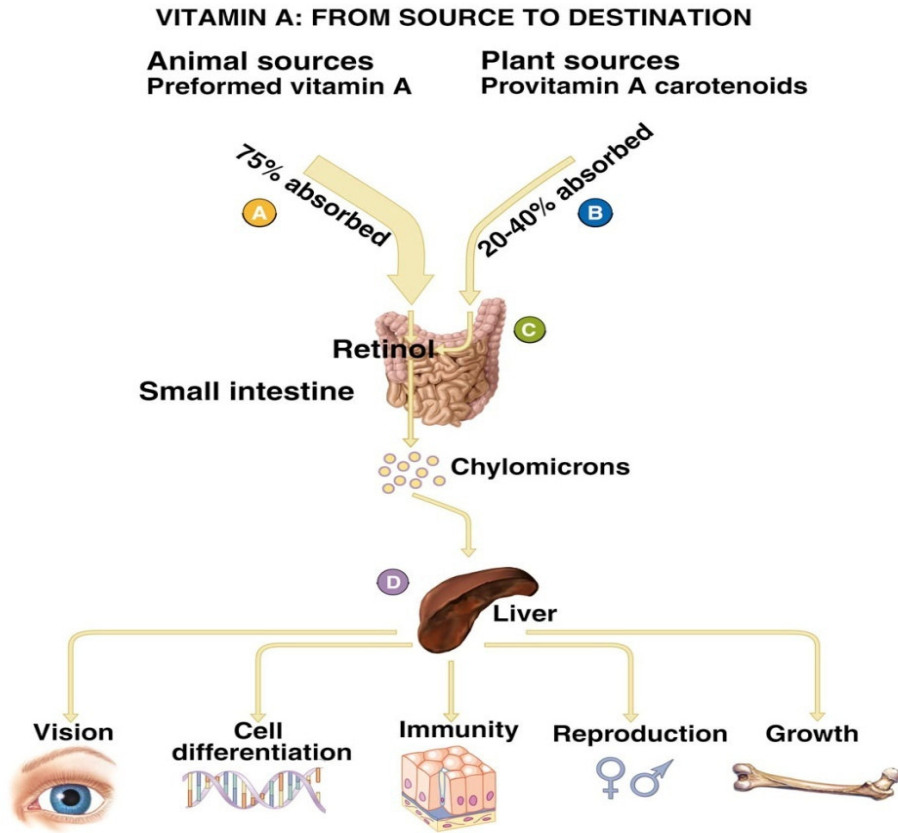
Başta β -karoten olmak üzere, bütün karoten sınıfının yapısı A vitaminine çok yakın olup karaciğerde kolayca bu vitamine çevrildiklerinden, A provitamini olarak tanınmaktadırlar. Suda erimez; alkol, yağ ve diğer çözücülerde çözünürler. İzoprenoit birimlerden oluşan doymamış terpenlerdir. Moleküldeki çifte bağların hepsi transtır. Hepsi bitki dokularında sentezlenir. Doğal fotosentez pigmenti olup yiyeceklerde sarıdan kırmızıya kadar renk tonunu sağlarlar.

Karotenlerin α -, β - ve γ -karoten olmak üzere üç formu vardır. γ -karotende bir halka açık; α -, β -karotenlerde her iki halka da kapalı olup çift bağ pozisyonları farklıdır. Ve bu yapı A vitamini aktivitesi için gereklidir. Bu formlar içinde en fazla β -karoten, provitamin A aktivitesi göstermektedir. (Şekil 1.7)



Şekil 1.7. β karotenin molekül yapısı

1.4.1.4.1. β karotenin kimyasal ve biyolojik fonksiyonları



Şekil 1.8. β karotenin metabolizmada izleyebileceği yollar.

Şekil 1.8 de de görüldüğü gibi β -karoten intestinal mukoza hücrelerinde vitamin A şekline dönüşür ve % 90 nı retinyl palmitate şeklinde karaciğer de depolanır. Karaciğerde depolanan A vitamini hiç vitamin almayan bir kişiye 5-10 ay kadar yetebilir.

β karoten pek çok besinde bulunur. Bunlardan hayvansal kaynaklı olanların bir kısmı; Yumurta, et, süt, balık yağı, peynir, karaciğerken, bitkisel kaynaklı olanların bir kısmı ise; kayısı, havuç, tatlı patates, kavun, brokoli, ıspanak, bal kabağı, pembe greyfurttur.

A vitamini için önerilen günlük alım miktarı yaklaşık olarak 12-50 mg' dır.

1.4.1.4.2. β karoten eksikliği

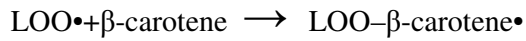
Eksikliğinde enfeksiyon riskinde artış, gece körlüğü, Xeroftalmi, keratinizasyon oluşur. Özellikle cilt ve göz sağlığı için en önemli vitaminlerdendir. Enfeksiyonlardan korunmada da önemli görev yapar. İmmün sistemlerinin büyük oranda zayıflaması nedeniyle enfeksiyonlara yakalanma oranı artar [38].

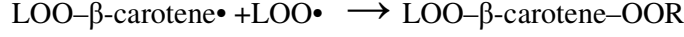
1.4.1.4.3. β karoten fazlalığı

β karoten sadece vücut ihtiyaç duyduğunda retinole dönüşür, dolayısıyla vücudunuz A vitamininde olduğu gibi toksisite riski altında olmayacaktır [39]. Bazı belirgin semptomlar şunlardır: Deride kuruluk ve kaşıntı, bulanık görme, saç kaybı, baş ağrısı ve yorgunluk, karaciğer hasarı, iştah kaybı, deride renklenme.

1.4.1.4.4. β karotenin antioksidan özelliği ve hastalıklarla ilişkisi

Çeşitli nedenler ile hücre içerisinde radikaller meydana gelir ya da dışarıdan hücre içerisine alınabilirler. Bu radikaller eşleşmemiş elektron içeren saldırgan moleküllerdir. (LOO.) β -karoten antioksidan özelliği ile bu saldırgan eşleşmemiş elektrona sahip radikalleri kendisine bağlar ve zararsız bir molekül oluşmasını sağlar [40]. Etkisiz hale getirilmeleri iki basamaklı bir reaksiyon dizisi ile gerçekleşir [41].





Yapılan araştırmalar β karotenin kanser üzerine koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir [42,43]. Amerikan kanser derneğinin açıklamasına göre ağız bölgesinde bulunan kanserleşme odakları, β karoten alanlarda %53 oranında azalmaktadır [44]. Yine İtalya Padua niversitesinde yapılan araştırmaya göre; plazmada ki β karoten seviyesi arttıka ateroskleroz ve atar damar hastalıklarında önemli derece de azalma olmuştur [45]. Ayrıca uzun süreli β karoten kullanımının hafızayıda gclendirdiği yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır [46].

1.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri kimyasal anlamda genel olarak iki sınıfa ayrılabilir.

1.Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)

2.Elektron transferi reaksiyonuna dayananlar (ET)

HAT reaksiyonuna dayanan analizlerin çoğu azo bileşiklerin bozunması sonucu oluşan peroksi radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemler şunlardır:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorbands kapasitesi,
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi,
- d) Crocin bleaching deneyleri.

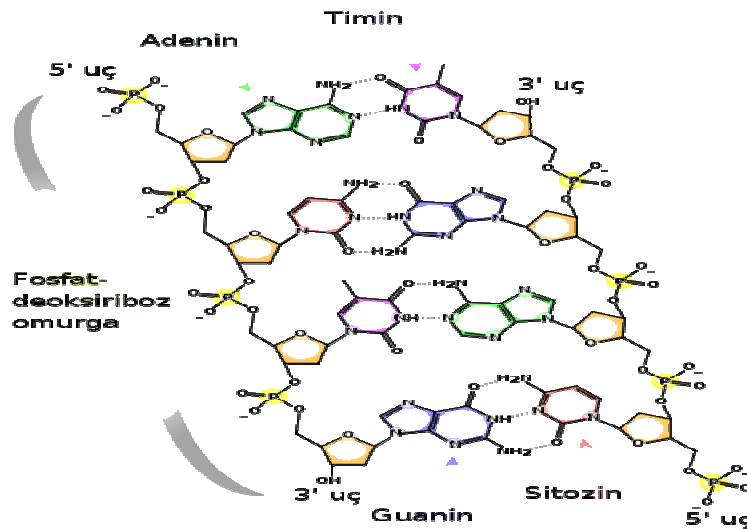
ET temelli analiz yöntemleri antioksidan maddenin, indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölümüne dayanmaktadır. Renk değişiminin derecesi örneğin antioksidan derişimi ile bağlatılandırılır. ET analiz yöntemleri şunlardır:

- a) DPPH kullanarak toplam antioksidan ölüm tayini,
- b) Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik madde analizi,
- c) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite ölümü yapmak,
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanmak,
- e) Ferrik iyonunu indirgeme antioksidan ölümü yapmak.

Bahsedilen tüm bu yöntemlerin bir örneğin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması mümkündür. Ancak örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği bu yöntemlerin arasında her zaman doğrusal ilişki oluşmasını engelleyebilir. Bundan dolayı tek bir yöntem kullanarak bir örneğin antioksidan kapasitesi hakkında karar vermek doğru olmayabilir [47].

1.6. DNA Yapı ve Fonksiyonu

Canlı organizmaların evrensel özelliği, fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli olan tüm genetik bilgiyi depolamak, kullanmak ve bir sonraki kuşaklara aktarmaktır. Kuşaklar arasında genetik bilgi akışını sağlayan genlerdir. Bazı RNA virüsleri hariç genler daima DNA moleküllerindedir. Bir organizmanın DNA'sında saklanan genetik bilgi, o organizmanın genomunu oluşturur. Bir haploid memeli genomu 3×10^9 nükleotid çiftinden oluşmaktadır. Bu genom 24 farklı kromozom halinde hücrenin çekirdeğinde bulunmaktadır [48]. DNA; nükleotit olarak adlandırılan birimlerden oluşan bir polimerdir [49]. DNA zinciri 22 ila 26 Ångström arası (2,2-2,6 nanometre) genişliktedir, bir nükleotit birim $3,3 \text{ \AA}$ (0.33 nm) uzunluğundadır. Herbir birim çok küçük olmasına rağmen, DNA polimerleri milyonlarca nükleotitten oluşan muazzam moleküllerdir. Örneğin, en büyük insan kromozomu olan 1 numaralı kromozom yaklaşık 220 milyon baz çifti uzunluğundadır [50,51].

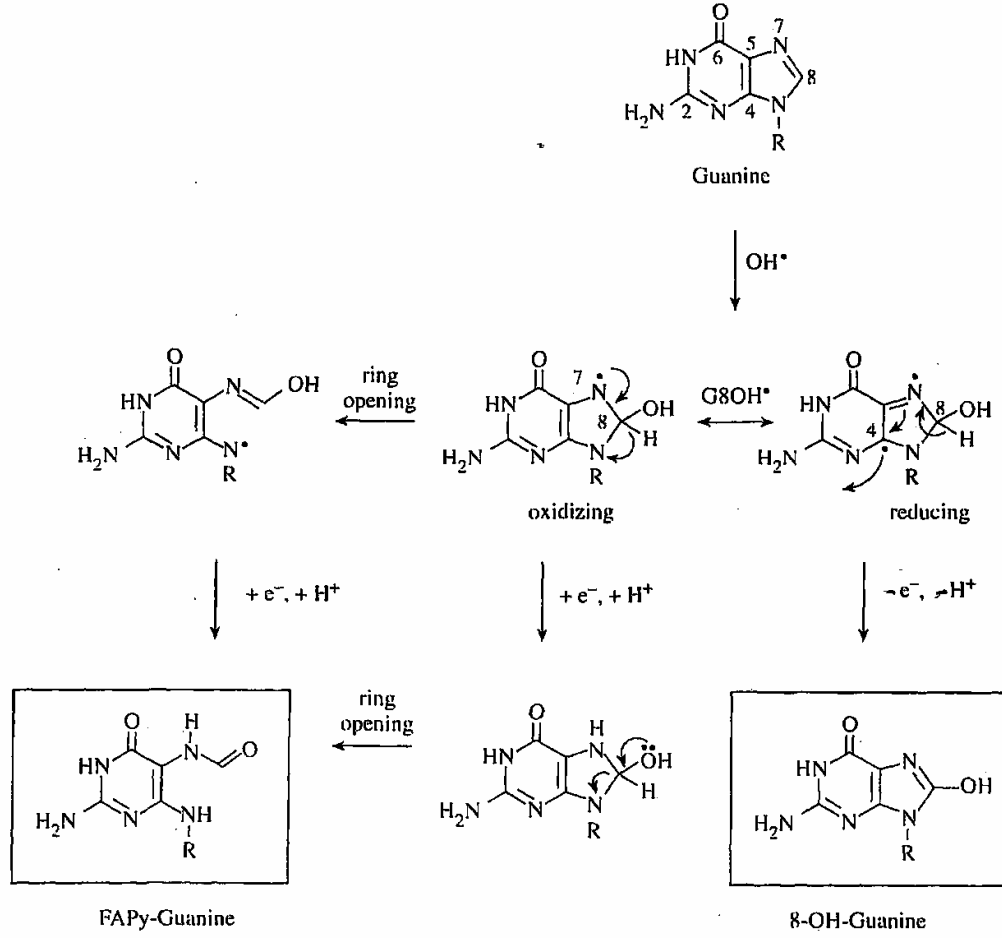


Şekil 1.9. DNA'nın kimyasal yapısı

Şekil 1.9'da görüldüğü gibi DNA ipliğinin omurgası almasıklı şeker ve fosfat artıklarından oluşur. DNA'da bulunan şeker 2-deoksiribozdur, bu bir pentozdur (beş karbonlu şekerdir). Bitişik iki şekerden birinin 3 numaralı karbonu ile öbürünün 5 numaralı karbon atomu arasındaki fosfat grubu, bir fosfodiester bağı oluşturarak şekerleri birbirine bağlar. Fosfodiester bağının asimetrik olması nedeniyle DNA ipliğinin bir yönü vardır. Çifte sarmalda bir iplikteki nükleotitlerin birbirine bağlanma yönü, öbür ipliktekilerin yönünün tersidir. DNA ipliklerinin bu düzenine antiparalel (double helix) denir. DNA ipliklerin asimetrik olan uçları 5' (beş üssü) ve 3' (üç üssü) olarak adlandırılır, 5' uç bir fosfat grubu, 3' uç ise bir hidroksil grubu taşır.

1.6.1. Oksidatif DNA Hasarı

Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-Protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir. DNA'da oluşan bu oksidatif hasar, mutagenезisin, karsinogenезisin ve yaşlanmanın göstergesidir. Guanin DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bir bileşik olup serbest radikallerin etkilerine açıktır. Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoxyguanosine, guanin'in 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. Cu^{2+} iyonları DNA'da G-C'den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğundan oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz "Guanin" dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı "8-OHdG"dir. 8-OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir "biomarker"ı olarak kabul edilmektedir 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, reaktif oksijen türlerinin, DNA'da yaptığı yaklaşık 23 tane oksidatif baz hasar ürününden biridir. GC=AT dönüşümüne neden olup premutajenik özellik göstererek mutasyonlara ve kanser gelişimine sebep olabilir. Bir çok hastalığın etiolojisinde 8-hidroksi-2'-deoxyguanosin'in önemi araştırılmış olmasına rağmen daha araştırılması gereken bir çok hastalık vardır. Ayrıca kanserojen maddelerin etkilerinin araştırılmasında ve günlük diyetle alınması gereken antioksidan miktarlarının belirlenmesinde kullanılabilir. Oksidatif DNA hasarının önemini ve mekanizmasını anlayabilmek için doğru ve kesin ölçümlerin yapılması gereklidir. Bu amaçla, yüksek basınçlı likit kromatografisi, gaz kromatografisi ve immunokimyasal yöntemler gibi farklı analiz teknikleri kullanılmıştır [52].



Şekil 1.10. 8-OHdG Oluşum Mekanizması

1.7. Beslenmenin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Beslenme insan hayatında doğum öncesine kadar dayanan önemli bir süreçtir. İnsan metabolizması; büyüme, gelişme, sağlıklı ve verimli olarak uzun süre yaşamak için gerekli olan enerjiyi besinlerden sağlamaktadır. Vücudun büyümesi, yenilenmesi ve çalışması için gerekli olan besin öğelerinin her birinin yeterli miktarlarda alınması ve vücutta uygun şekilde kullanılması durumu dengeli beslenme olarak açıklanır. Son zamanlarda dengeli beslenmeyle kronik hastalıklardan korunmak, uzun süre sağlıklı yaşamak ve genç kalabilmek insanların ilgisini çekmektedir. Bu nedenle beslenme ve

insan sağlığı arasında ki ilişkiyi inceleyen pek çok araştırma yapılmıştır. Yapılan bu araştırmaların bir çoğu göstermiştir ki tüm kanser türlerinde beslenme yaklaşık olarak %30-40 kadar engelleyicidir. Bol meyve ve sebze tknetimi kanser riskini düşürmektedir [53]. Vitaminlerden B6, B12, folik asit, niacin, vitamin A, vitamin C ve vitamin E'nin kanserden korunmada etkili olabildiklerini kanıtlayan çalışmalar vardır [54,55].

Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümleri içerdiklerinden başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girebilirler. Bu radikaller ayrıca hücredeki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanan oksidatif stresi meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücresel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilirler ve meydana geldikten sonrada; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlerde hasara yol açarlar. Oluşan bu hasarda pek çok hastalığın öncüsüdür. İşte bu noktada besinlerle vücuda alınan antioksidanlar devreye girebilir. Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıllarda, baklagillerde, meyvelerde, şıfalı bitkilerde ve sebzelerde bol miktarlarda bulunurlar. Bu kaynaklarda bulunan antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler gibi fenolik bileşikler, alkaloid, klorofil, protein, amin gibi azotlu bileşikler, polifonksiyonlu organik asitler ve karotenlerdir. Son zamanlarda doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlarda kullanılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar sentetik antioksidanların vücutta yıkıcı etkisinin olduğunu göstermiştir. İngiltere de yapılan bir çalışmada; sigara içen veya asbest soluyan akciğer kanseri hastalarında sentetik β karoten alımının kanserden ölümleri azaltmak yerine ölüm oranlarını arttırdığı gözlenmiştir [56,57]. Bu nedenle doğal antioksidanlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Yapılan yaygın çalışmalar, bol meyve ve sebze tknetiminin kanser ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığını gösterdi [58]. Pek çok fitokimyasal; antioksidatif, antikarsonejik, antimikrobiyal, antialerjik, anti-HIV, antimutajenik ve antiinflamatuvar aktivite göstermektedir [59]. Amerika'da yapılan bir çalışmada ultraviyole ışınlarla maruz kalmış deride oluşan DNA hasarına karşı besinlerin koruyucu etkisinin olduğu gözlenmiştir [60].

Eser elementler özellikle Zn, Se, Mg, Fe ve Cu canlılarda birçok biyolojik olayda rol oynarlar ve insan sağlığı için esansiyel minerallerdir. Mg, hücre duvarı ve membranlarının stabilitesinde, bazı metabolik enzimlerin yapısında, korneal ve retinal fonksiyonların sürdürülmesinde önemli bir elementtir. Bakır ve demir membran lipidlerinde oluşan serbest radikal reaksiyonlarına katılırlar. Bakır, demirin hemoglobin

yapımında kullanılmasına yardımcı olur ve biyolojik sistemlerde hem antioksidan hem de prooksidan olarak etki eder. Demir, oksijen taşınması ve depolanmasında önemli fonksiyona sahiptir. Çinko (Zn), iki yüzden fazla enzimin yapısında bulunmakta ve bu enzimlerin aktivitelerinde önem arz etmektedir [8,61]. Bundan dolayı da Zn, Se ve Cu gibi elementler yaşlanmadan kansere kadar değişen geniş bir spekturumda rol oynayan serbest radikalleri enzim sistemleriyle tahrip ederler.

2. KAYNAK ÖZETİ ve KURAMSAL BİLGİLER

Yüksek miktarda antioksidan içerdiklerinden dolayı düzenli meyve ve sebze tüketimiyle pek çok hastalığın önüne geçilebilmektedir [62]. Ülkemiz sahip olduğu uygun iklim ve toprak şartları nedeniyle meyvecilik açısından çok sayıda tür ve çeşit yetiştirme şansına sahiptir. Türkiye bugün gerek meyve tür ve çeşit sayısı, gerekse üretim miktarı bakımından dünyanın önemli meyve üreticisi ülkeleri arasında yer almaktadır. Ülkemiz kayısı, elma, armut, ayva, erik, kiraz, vişne, kıızılcık, fındık, fıstık, badem, ceviz, kestane, zeytin, incir, nar ve üzümün ana vatanıdır [63].

Bu meyve türleri arasında severek tüketilen meyvelerden birisi de kayısıdır. Kayısı dünya üzerinde Asya'da İran, Afganistan ve Türkistan'da; Avrupa'da özellikle Akdeniz kıyılarında; Güney Amerika'da Arjantin ve Şili'de; Afrika ve Avustralya'da; ABD'de özellikle Kaliforniya'da geniş ölçüde yetiştirilmekte, ülkemizde ise Karadeniz Bölgesinin çok nemli doğu kısımları ile Doğu Anadolu'nun kışları şiddetli yüksek yaylaların dışında kalan hemen her ilde yetişmektedir.

Dünya kayısı üretimi yaklaşık 2,5 milyon ton olup, Türkiye 500 bin ton üretim ile dünyada birinci sırada yer almaktadır. Kuru kayısı dış satımında Türkiye ilk sıralarda yer almakta ve bu pazarın %80'ini elinde tutmaktadır. Ülkemizde, yoğun kayısı yetiştiriciliği başta Malatya olmak üzere, Elazığ, Erzincan, Sivas, İçel (Mut), Antalya, Hatay, Kars, Iğdır yörelerinde yapılmaktadır.

Kayısı, mevsimlerin birbirinden kesin sınırlarla ayrıldığı soğuk ve sürekli bir kış, kurak ilkbahar ve güneşli sıcak yaz mevsimine sahip iklim bölgelerinde, daha kaliteli ürün vermektedir. Düşük nem ve yüksek sıcaklık istemesine karşılık, sıcaklıkların aniden ve fazla yükselmesi durumunda yaprak ve meyvede güneş yanıklığı, meyvelerin küçük kalması, çekirdekte çatlama ve çürüme gibi hasarlar meydana gelebilmektedir. Kayısı üretimini olumsuz etkileyen en önemli iklim faktörü ilkbahar geç donlarıdır. Çiçek ve küçük meyve dönemlerinde meydana gelen bu donlar, büyük ürün kayıplarına sebep olmakta ve hatta bazı yıllar hiç ürün alınmamaktadır. Akdeniz ve Ege Bölgeleri dışında etkili olan ilkbahar geç donlarını tamamen önlemek ne yazık ki mümkün değildir. Dünya sofralık kayısı ticaretinin %80'den fazlası turfanda olarak yapılmaktadır. Bu durumdan Akdeniz ülkeleri çok iyi yararlanmaktadır. İspanya, Yunanistan, İtalya, Fransa ve Macaristan kayısı ihraç eden ülkelerdir. Aynı iklim kuşağına sahip Türkiye'nin ise taze kayısı dış satımı yok denecek kadar azdır, buna karşılık Türkiye dünya piyasalarında kurutulmuş kayısı dış satımı ile tanınmaktadır.

Türkiye’de ilk olarak kayısı Mersin , Antalya, Hatay ve Adana illerimiz de yetiştirilip piyasaya sürülmektedir.



Şekil 2.1. Kayısı meyvesinden bir görünüm

Kayısının sistematığıne bakacak olursak;

Takım: Rosales

Familya: Rosaceae

Alt Familya: Prunoidae

Cins: Prunus

Alt Cins: Prunophora

Tür: Prunus armeniaca L.

Son zamanlarda bazı sistematikçiler Prunus cinsinin birbirine benzemeyen çok sayıda tür içermesi nedeniyle kayısıyı Armeniaca cinsine dahil ederek Armeniaca vulgaris Lam. olarak isimlendirmektedir [63]. Morfolojik özellikleri bakımından kayısı, eriklerle şeftaliler arasında yer almakta ve bu iki türle de hibrit oluşturabilmektedir. Prunus cinsi içerisinde kayısı olarak üç tür bilinmektedir. Bunlar P.armeniaca L., P. Mume Sieb ve P. dasycarpa ehrh’ dir [64].

2.1. Ülkemizde Yetiştirilen Bazı Önemli Kayısı Çeşitleri

2.1.1. Kurutmalık Kayısı Çeşitleri

Hacıhaliloğlu: Malatya'nın en önemli kurutmalık kayısı çeşididir. Bölgede yaygın olarak yetiştirilmekte ve kayısı ağaç varlığının %70-75'ini oluşturmaktadır. Ağaçları yüksek boylu, dik, dalları yayvan, çok kuvvetli ve çabuk büyür. Kuvvetli ve sulanan topraklarda hemen hemen her yıl ürün verir. Verimi orta düzeyde olup, meyve dona, kurağa, monilya ve çil hastalıklarına karşı duyarlıdır. Meyveleri orta irilikte, 25-30 g ağırlıkta, meyve şekli oval, simetrik, meyve kabuk ve et rengi sarı, sert dokulu ve kırmızı yanak oluşturma eğilimindedir. Meyve kabuğu ince, meyvelerin yola dayanımı iyidir. Bu özellikleri nedeniyle son yıllarda Hacıhaliloğlu çeşidi sofralık kayısı olarak da iç ve dış pazarlara gönderilmektedir.

Kabaası: Son yıllarda Malatya ve çevresinde geniş miktarda yetiştirilmeye başlanmış, Malatya'da ağaç sayısı bakımından Hacıhaliloğlu çeşidinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Ağaçları orta büyüklükte, dik ve kuvvetli gelişir. Ağaç verimliliği orta düzeydedir. Meyve orta irilikte, 30-35 g ağırlığında, meyve oval şekilli ve et rengi sarıdır. Çekirdeği tatlı ve meyve etine yapışık değildir. Temmuz ortasında olgunlaşır. Ağaçları çiçek monilyasına hassas olup çil hastalığına dayanımı Hacıhaliloğlu çeşidine göre daha iyidir.

Soğancı: Ağaçları iri, dik-yayvan şekilli olup, orta derecede verimlidir. Meyveleri 28-38 g ağırlığında, yuvarlak şekilli olup meyve kabuk ve et rengi sarıdır. Çekirdek yuvarlak şekilli, tatlı ve meyve etine yarı yapışıktır. Meyveleri parlak ve gösterişli olduğundan son zamanlarda sofralık olarak tüketimi artmıştır. Temmuz ayının ikinci haftası olgunlaşır.

Çataloğlu: Malatya'nın kurutmalık kayısı çeşitlerindedir. Dik-yayvan görünüme sahip Çataloğlu çeşidinin dalları aşağı doğru sarkıktır. Ağaçları verimlidir. Meyvesi orta irilikte, 25-35 g ağırlığında, oval şekilli, meyve et rengi sarıdır. Meyvenin güneş gören kısmında kırmızı yanak oluşturur. Temmuz ayının ikinci haftası olgunlaşır [65].

2.1.2. Sofralık Kayısı Çeşitler

Hasanbey, Şalak (Aprikoz), Şekerpare, Şam, Turfanda İzmir, Tokaloğlu, Alyanak, Ethembey, Karacabey, Mahmudun Eriği, Adilcevaz 5, İri Bitirgen, Precoce de Tyrinthe, Precoce de Colomer, Canino, Luizet, Roxana, Ninfa.

Hasanbey: Malatya'nın en önemli sofralık kayısı çeşididir. Ağaç şekli yayvan olup kuvvetli büyür. Dalları sarkıktır. Ağaçların verimliliği orta düzeydedir. Meyve kalp şeklinde olup iri, 40-55 g ağırlığındadır. Meyve eti sert dokulu ve tatlıdır. Çekirdek uzun-oval, tatlı ve meyve etine yapışık değildir. Meyvesinin iri, gösterişli ve yola dayanımının iyi olması nedeniyle büyük tüketim merkezlerine gönderilmeye uygundur.

Aprikoz: Iğdır ve Kağızman bölgesinin sofralık kayısı çeşididir. Bu çeşidin kökeni tam olarak bilinmemektedir. Ermenistan'da bu çeşide Erevani denmektedir. Yayvan taçlı fakat çok kuvvetli büyüyen ağaçlar meydana getirir. Meyve şekli eliptiktir. Meyve oldukça iri olup, ortalama meyve ağırlığı 50-60 g arasında değişir.

Şekerpare: Ağaç şekli yayvan olup, kuvvetli büyür. Ağaçları yüksek verimlidir. Meyve ufak, 25-30 g ağırlığında, oval şekilli, meyve kabuk ve et rengi sarıdır. Meyve tatlı, et dokusu orta sertlikte olup, meyveler belirgin şekilde kırmızı yanak oluşturur. Meyve kabuğu paslı ve beneklidir. Yuvarlak şekilli, çekirdekleri tatlıdır ve meyve etine yapışık değildir.

Alyanak: İzmir'in erkenci sofralık kayısı çeşididir. Ağaç şekli yayvan olup, kuvvetli büyür. Ağaç verimliliği yüksektir. Meyveler 30-45 g ağırlığında, basık oval şekilli, meyve et rengi turuncu olup, kuvvetli şekilde kırmızı yanak oluşturur. Malatya şartlarında Haziran sonu ile Temmuz ayının birinci haftası gibi olgunlaşmaya başlar.

Tokaloğlu-Erzincan: Erzincan'ın sofralık kayısı çeşididir. Ağaçları dik şekilli olup, kuvvetli gelişir. Çekirdekleri tatlı ve meyve etine yarı yapışık. Meyveleri Temmuz ayının birinci haftası olgunlaşmaya başlar.

Tokaloğlu-Yalova: Yalova'nın sofralık kayısı çeşididir. Dik-yayvan şekilli ağaçları kuvvetli gelişir. Ağaç verimliliği yüksektir. Meyve yuvarlak şekilli ve 35-50 g ağırlığındadır. Meyve et rengi sarı ve meyvelerin yanak oluşturma eğilimi zayıftır. Haziran ayının üçüncü haftası olgunlaşır.

Tokaloğlu-Konya Ereğli: Konya'nın sofralık kayısı çeşididir. Dik şekilli ağaçları orta kuvvette büyür. Ağaç verimliliği ortadır. Meyve kalp şeklinde, karın çizgisi belirgin ve asimetrik olup meyve ağırlığı 32-40 gram arasındadır. Temmuz ayının üçüncü haftası olgunlaşmaya başlamaktadır.

Karacabey: Bursa'nın erkenci sofralık kayısı çeşididir. Ağaçları yayvan şekilli olup, zayıf büyür. Ağaç verimliliği yüksektir. Meyve kalp şeklinde, 35-45 g ağırlığında, meyve karın çizgisi belirgin ve simetriktir. Malatya şartlarında Temmuz başında olgunlaşır.

Precoce de Tyrinthe: Erkenci bir Yunan çeşididir. Sofralık bir çeşit olup, ağaçları kuvvetli ve oldukça verimlidir. Meyveleri iri, uzunca şekilli ve oldukça dayanıklıdır. Meyve kabuğu açık portakal sarısı ve kırmızı yanaklıdır.

Roxana: Ağaç kuvvetli olup, yayvan büyür. Erken meyveye yatar. Soğuklama gereksinimi yüksektir. Geç çiçek açar, soğuklara karşı dayanıklıdır. Verim orta-yüksek olup, meyve çok iridir (80-120 g). Sulanmasına özen gösterilmelidir. Çok güzel kırmızı renklidir. Meyve eti turuncu, çekirdeği tatlı ve iridir.

Ninfa: Zayıfça gelişen bir ağaç yapısına sahip, sofralık bir çeşittir. Verim yüksek ve devamlıdır. Meyve iriliği orta büyüklükte olup P. De Tyrinthe'den 12-15 gün önce olgunlaşır.

Çöloğlu: Malatya'nın hem kurutmalık hem de sofralık kayısı çeşitidir. Hoş kokuya ve güzel aromaya sahiptir. Ağızda güzel bir tat bırakır. Çöloğlu yuvarlak şekilli 25-35 g ağırlığında, karın çizgisi belirgin ve asimetrik iki parçadan oluşmaktadır. Malatya şartlarında temmuz ayının ikinci haftası olgunlaşmaya başlar. Hasat süresi kısa olup zamanında hasat edilmezse fazla döküm yapar [64]. Sofralık olarak tüketilmesinin yanı sıra reçel yapımına ve kabuk olarak kurutulmaya da uygundur.

2.2. Kayısının Besin Değeri

Kayısı zengin lif, mineral, vitamin ve antioksidan bileşenleri açısından insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir [66]. Genellikle meyvelerde lif içeriği düşüktür

ancak kayısı zengin lif içeriğiyle diğerlerinden ayrılır. Yapısında bulunan bol miktarda ki A vitamini sayesinde göz sağlığı ve pek çok kalp hastalığının önleyicisidir. Tablo 2.1' de görüldüğü gibi kayısı meyvesi fitokimyasallar, başlıca polifenoller ve karotenoidler bakımından zengin bir meyvedir [67-69]. İn vitro ve in vivo ortamlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki kayısı bu içeriği sayesinde kardiyovasküler hastalıklar ve pek çok kanser türüne karşı koruyucudur. Kayısıda yüksek miktarda potasyum ve düşük sodyum oranı olması sebebi ile kan basıncının düzenlenmesinde etkilidir. Böylece yüksek tansiyonun kontrolünde önemlidir. Yine bu özelliğinden dolayı kayısı kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, hepatit siroz tedavisinde olumlu etkilere sahiptir. Potasyumun bir diğer özeliği ise sinir sisteminin normal gelişmesi, kalp atışlarının düzenli olması ve vücudun elektrolit dengesi ile beyin hücrelerinin sağlığı ve kas dokusu için gerekli olduğudur. Ayrıca kayısı kan şekerini regüle edici bir özellik taşır [64].Taze kayısının rengiyle içerdiği fenolikler arasında doğru orantılı bir ilişki bulunmazken çeşitiyle içerdiği fenolik bileşikler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir [70].

Kayısıda temel mineral içeriği olarak magnezyum, demir, fosfor, çinko, selenyum gibi esansiyel mineraller bulunmaktadır.

Taze kayısının kimyasal bileşimi incelendiğinde 11 ayrı çeşidin ortalama 71 kcal enerji sağladığı, protein ve yağ düzeylerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ortalama olarak % 17 karbonhidrat, %80 nem içeren kayısı örneklerinin kül ve selüloz değerleri sırasıyla %0.65 ve %1.28 olarak bulunmuştur [71]. Kayısı meyvesi yaş olarak tüketilebildiği gibi kuru olarak da tüketilebilir. Tablo 2.1' de taze kayısı, kuru kayısı ve pestildeki enerji ve besin değerleri verilmiştir.

Tablo 2.1. 100 gr kayısının enerji ve besin değerleri [64].

	Besinler	Taze Kayısı	Kuru Kayısı	Pestil
Ana Bileşenler	Su (g)	85.3	25.0	3.5
	Enerji (kcal)	51	260	332
	Protein(g)	1.0	5.0	5.6
	Yağ(g)	0.2	0.5	1.0
	Karbonhidrat(g)	12.8	66.5	84.6
	Posa(g)	0.6	3.0	2.2
	Kül(g)	0.7	3.0	5.3
Mineraller	Kalsiyum(mg)	16	67	86
	Demir(mg)	0.5	5.5	5.3
	Fosfor(mg)	23	108	130
	Potasyum(mg)	281	979	1260
	Sodyum(mg)	1	26	33
Vitaminler	Vitamin A (IU)	2700	10900	14100
	Tiamin(mg)	0.03	0.01	eser
	Ribofilavin(mg)	0.04	0.16	0.08
	Niasin(mg)	0.6	3.3	3.6
	Vitamin C(mg)	10	12	15

Kuru kayısının beslenme ve sağlık açısından en önemli bileşiklerinden birisi de diyet lifidir. Kuru kayısıda bol miktarda diyet lifi bulunur. Diyet lifi sindirim sisteminde salgılanan enzimler tarafından hidrolizlenemeyen polisakkarit ve lignin gibi bileşiklerden oluşmaktadır. Diyet lifi kabızlık, irritable kolon sendromu, apandisit, hemoroid, diş hastalıkları, şişmanlık, şeker hastalığı, kronik kalp hastalıkları ve kolon kanseri gibi hastalıkların oluşum riskini azaltmakta, bağırsakların düzenli çalışmasını sağlamaktadır [72]. Ayrıca kuru kayısı sağlıklı beslenmede büyük önem taşıyan selüloz açısından da oldukça zengindir. Kuru kayısı B vitaminleri yönünden fakir olup bol miktarda β karoten içermektedir. Yine mineral madde bileşiminin ise çok zengin olduğu dikkat çekmiştir. Düşük sodyum düzeyine karşın yüksek oranlarda potasyum içermektedir. Bu özelliğiyle kuru kayısı sağlıklı beslenmede önemli yer tutmaktadır.

100g kuru kayısıda 1269 mg potasyum bulunmuştur. Ayrıca demir düzeyi 3.88 mg/100g, çinko düzeyi 0.61mg/100g , kalsiyum ve magnezyum düzeyleri sırasıyla 22.87 ve 47.08 mg/10g bulunmuştur [73].

Malatya ilimizin Türkiye'nin en önemli kayısı üretim merkezi olması itibariyle, kuru kayısı ihracatımızda özel bir önemi bulunmaktadır. Türkiye yaş kayısı üretiminin yaklaşık % 50'sinden fazlasını sağlayan bu ilimizde üretim yoğun olarak kuru kayısıcılığa yönelik olup, üretilen kayısının % 90 kadarı kurutulmakta ve kurutulan kayısının yaklaşık % 90-95'i ihraç edilmektedir [63]. Bu açıdan değerlendirildiğinde, gerek ağaç sayısı gerekse yaş ve kuru kayısı üretim miktarları ile Malatya ilimiz sadece ülkemizin değil bütün dünyanın kayısı üretim merkezi konumunda bulunmaktadır. Malatya'nın önemli kurutmalık kayısı çeşitleri Hacihaliloğlu ve Kabaası olup, kayısının % 73'ünü Hacihaliloğlu, % 17'sini ise Kabaası oluşturmaktadır [64]. Türkiye, dünya yaş ve kuru kayısı üretiminde birinci sırada yer almaktadır. . Kuru kayısı, kuru meyve ihracatımızda, kuru üzümünden sonra ikinci sırada yer alan en önemli geleneksel ihraç ürünlerimizden birisidir. Ülkemiz, gerek kayısı çeşitlerinin kalitesi, gerekse sahip olduğu ekolojik üstünlükler nedeniyle rakip ülkelere kıyasla doğal bir rekabet avantajına sahiptir [74].



(a)

(b)

Şekil 2.2. (a) Kükürtle kurutulmuş kayısı örneği, (b) Güneşte kurutulmuş kayısı örneği

Ülkemizde özellikle Malatya ve çevresinde bol miktarda yetiştirilen kayısı meyvesinin ekonomik açıdan yöremize ve ülkemize katkılarını arttırmanın yollarından biride gerek iç ticarete gerekse dış ticarete tanıtımının iyi yapılarak pazar payının arttırılmasıdır. Bu çalışmamızda ki amaç Malatya ilimizde yetiştirilen kayısı

eşitlerinin farklı ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini çeşitli testlerle kıyaslayıp, en iyi aktivite gördüğümüz çeşitlerin oksidatif DNA hasarı üzerine koruyucu etkilerinin belirlinmesine çalışmaktır.

3. ARAÇ GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Araç Gereçler

Deneylerde, Nuaire – 85⁰C Ultralow Freezer buzdolabı, İka (RV 05 Basic 1B) Rotari Evaporatör, Heraeus (Fuktion Line) etüv, Sartorius elektronik terazi, Hana (HI 190M) magnetik karıştırıcı, Hana (pH 211) pH metre, Wise bath (wisd) su banyosu, Shimadzu (UV-1601) Spektrofotometre, Heidolph (Reax Top) vorteks, santrifüj cihazı (Minstral 1000), Hettich (Universal 32R) santrifüj, Nüve NF 800R (santrifüj), Brand (transferpette) otomatik pipetler, teknik (B8) distile su üretme cihazı, 3 ml disposable küvet (Pharmacia LKB Novaspec II), Whatman filtre kağıdı, porselen kroze, parafilm, eppendorf tube (Biorad), Jel görüntüleme sistemi (Bio Rad Gel Doc XR), elektroforez cihazı (Biorad) Otoklav cihazı (Hıyarama), blender (Arçelik), Chiltern hotplate magnetic stirrer HS31 (ısıtıcı) kullanıldı.

3.2. Kimyasallar

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler; pBluescript M13+ plazmid DNA, (Vivantis), Agarose (Vivantis), Ethidium bromide (Vivantis), Tris-Asetat -EDTA Jel tamponu (Vivantis), Bromophenol blue (Vivantis), EDTA (Vivantis), β -Mercaptoethanol (Merck), Iron chloride tetrahydrate (Merck), Sodyum thiosulfate (Merck), Sulfuric acide (Merck), 2-Deoxy-D-Ribose (Alfa Aesar), Aldrich), Sodium nitrite (Sigma Aldrich), Sodium carbonate decahydrate (Sigma Aldrich), trolox (Sigma Aldrich), α -tokopherol (Sigma Aldrich), Etanol (Sigma Aldrich) Metanol (Sigma Aldrich), Etilasetat (Sigma Aldrich), DPPH (2,2-Diphenyl-1-pirilhydrazyl) (Sigma), Tween 20 (Sigma), Trikloroasetik asit (Alfa Aesar), Demir (III) klorür (Merck), Potasyum dihidrojen fosfat (Riedel), Hidrojen peroksit (Sigma Aldrich), Linoleik asit (Sigma), ABTS (2,2'-azinobis-3- ethylbenzothiazoline-6sulphonic acid) (Fluka), K₃Fe(CN)₆ (Fluka), Trans-beta-karoten (Sigma), Kloroform (Merck), Potasyum ferri siyanür (Merck), FeSO₄ (Merck) temin edilmiştir.

3.3. Kayısların Toplanması, Depolanması ve Ekstraksiyonu

Kayıslar 2 Temmuz 2010 tarihinde İnönü Üniversitesinin kültür bahçesinden toplandı. Daha sonra aynı gün hepsi doğranıp poşetlenerek -85°C de depolandı.

1. Metanol Ekstraksiyonu: -85°C de muhafaza edilen örneklerden 200' er gram alınarak 200 ml metanol içinde Waring commercial laboratory blender ile önce düşük hızda 10 dakika sonra yüksek hızda 10 dakika homojenize edildi. Oluşan karışım 1 saat çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra 8000 rpm de santrifüj edildi. Metanol fazı alındı. Kalan kısım bir erlene alınarak 100 ml metanol ilave edildi. 2 saat çalkalayıcıda karıştırıldıktan sonra bir gece 4°C de karanlıkta bekletildi. 24 saatten sonra tekrar 8000 rpm de santrifüj edildi metanol faz ayrıldı. Tekrar kalıntının üzerine 100 ml metanol ilave edilerek 8000 rpm de santrifüj edildi. Metanol fazlar birleştirildi. Birleştirilen metanol fazlarda ki çözgen rotary evaporatör ile 40°C de uzaklaştırıldı. Her bir örnekten yaklaşık olarak 23 gram kadar ekstrakt elde edildi. Elde edilen ekstrakt siyah cam şişelere konulup 4°C de analizler için saklandı.

2. Etanol Ekstraksiyonu: -85°C de muhafaza edilen örneklerden 200' er gram alınarak 200 ml etanol içinde Waring commercial laboratory blender ile önce düşük hızda 10 dakika sonra yüksek hızda 10 dakika homojenize edildi. Oluşan karışım 1 saat çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra 8000 rpm de santrifüj edildi. Etanol fazı alındı. Kalan kısım bir erlene alınarak 100 ml metanol ilave edildi. 2 saat çalkalayıcıda karıştırıldıktan sonra bir gece 4°C de karanlıkta bekletildi. 24 saatten sonra tekrar 8000 rpm de santrifüj edildi etanol faz ayrıldı. Tekrar kalıntının üzerine 100 ml etanol ilave edilerek 8000 rpm de santrifüj edildi. etanol fazlar birleştirildi. Birleştirilen etanol fazlarda ki çözgen rotary evaporatör ile 40°C de uzaklaştırıldı. Her bir örnekten yaklaşık olarak 23 gram kadar ekstrakt elde edildi. Elde edilen ekstrakt siyah cam şişelere konulup 4°C de analizler için saklandı.

3.4 Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.4.1 DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini

Antioksidan aktivite hesaplama yöntemlerinin başında gelenlerinden biri DPPH serbest radikal yakalama yöntemidir. Yöntemde DPPH, hidrojen veren gruplara sahip antioksidan molekülleriyle etkileşerek indirgenir ve böylece absorbansın düşmesine neden olur. Absorbanstaki azalma ne kadar yüksek olursa radikal yakalama aktivitesi o kadar yüksektir [75]. Bu bileşiğin metanol çözeltisinin 517 nm’de sahip olduğu menekşe-mor renk, ortamdaki H⁺ donörlerinin konsantrasyonu ve gücü oranında kaybolmaktadır.

Diphenyl Picryl Hydrazyl (DPPH) sentetik radikali kullanılarak yaptığımız bu analiz, Yen ve ark.,[76]’a göre ve deney şartlarının gerektirdiği bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. DPPH çözeltisi, her deney için günlük hazırlanmış olup, 0.025 g.L⁻¹ lik DPPH çözeltisi için 2,5 mg DPPH radikali 100 ml metanol içinde çözülmüş ve kullanılıncaya kadar ağzı kapalı bir kaptaki derin dondurucuda saklanmıştır. Spektrofotometre küvetlerine (3 ml-disposable) 25µl, 50µl, 100µl günlük hazırlanan stok çözeltiden eklenip metanolla 100µl’ye tamamlanmıştır. Kör numune için küvete 100 µl saf metanol konmuştur. Böylece örneklerin farklı konsantrasyonları elde edilmiştir. Her bir küvete 2,4 ml DPPH çözeltisi pipetlenmiş ve küvetler birkaç kez ters-düz edildikten sonra karanlık bir yerde, oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Standart olarak α tokoferol ve trolox kullanılmıştır. 30 dakika sonra küvetlerin 517 nm’deki absorbansı saf metanole karşı okunmuş, RSG değerleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır;

$$RSG = 1 - [A_{\text{Ö:30}} \div A_{\text{K:30}}] \times 100$$

A_{Ö:30}: Örneğin 30.dakikadaki absorbansı

A_{K:30}: Kontrolün 30. dakikadaki absorbansı

3.4.2. β-Karoten bleaching metoduyla antioksidan aktivite ölçümü

Antioksidan aktivite ölçümü, Moure ve ark.'na [77] göre ve deney şartlarının gerektirdiği bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. 2 mg kristal Trans-beta-karoten (Sigma), 10 ml kloroform içinde çözülerek stok beta-karoten çözeltisi

hazırlanmıştır. 250 ml' lik yuvarlak tabanlı bir balona; 40 µl linoleik asit (Sigma) ve emülgatör olarak 500 µl tween-20 (Merck) konularak üzerine beta-karoten çözeltisinden 1 ml konulmuş ve hızla karıştırılarak balon içeriğinin homojen bir şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Kloroform rotary evaporatörde 40⁰ C'de vakum altında 5 dakikada uzaklaştırılmıştır. Balona 100 ml destile su, yavaşça konularak ve kuvvetlice çalkalanarak tam bir emülsiyon oluşması sağlanmıştır. Bu emülsiyon ışıktan ve havadan etkilenmeyeceği soğuk bir yerde kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Deney tüplerine günlük hazırlanan stok çözeltiden 50µl ilave edildi. Kontrol için saf su kullanıldı. Standart olarak α tokoferol ve trolox kullanıldı. Her bir tüpe 2,5 ml β-karoten emülsiyonu konulup , tüpler 50⁰ C'de su banyosuna konulmuş, 90 dakika sonunda emülsiyonların 470 nm'de absorbans değerleri ölçülerek antioksidan aktivite aşağıdaki formülle hesaplanmıştır;

$$AA=[(A_{\text{Ö:90}}-A_{\text{K:90}})/(A_{\text{K:0}}-A_{\text{K:90}})] \times 100$$

$A_{\text{Ö:90}}$: Örneğin 90. Dakikadaki absorbansı

$A_{\text{K:90}}$: Kontrolün 90. Dakikadaki absorbansı

$A_{\text{K:0}}$: Kontrolün 0. Dakikadaki absorbansı

3.4.3. İndirgeme Gücü Tayini

İndirgeme gücü ölçümünde Hwang ve ark.'nın [78] kullandığı yöntem deney şartlarının gerektirdiği bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır.

Cam tüplere 50µl maddelerimiz konularak saf suyla ile 500µl'ye tamamlanmış, kontrolde örnek yerine saf su kullanılmıştır. Her tüpe 1,25 ml 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6) ve 1,25 ml %1'lik potasyum ferri siyanür (Sigma) ilave edilerek karışım su banyosunda 50⁰ C'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Su banyosundan alınan tüplerin üzerine 1,25 ml %10' luk Trikloro asetik asit (Merck) eklenip tüpler çalkalanmış daha sonra santrifüj cihazının tüplerine alınan örnekler, 3000 dev/dak'da 10 dk santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Santrifüj sonucu ayrılan serumdan 1,25 ml alınarak üzerine 1,25 ml destile su ve 0,25 ml %0,1' lik FeCl₃.6H₂O (Sigma) çözeltisi ilave edilmiş renklenmiş çözeltinin 700 nm'deki absorbansı köre karşı okunmuştur. İndirgeme gücü absorbansa göre karşılaştırılmıştır.

3.4.4. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

ABTS radikali giderme aktivitesi Re [79] vd. yaptığı çalışmaya uygun olarak yapıldı. Nispi antioksidan kapasitesini ABTS radikalini kullanarak ölçen bu metot hidrojen verici ve serbest radikal zincirlerini kırıcı antioksidan maddelerin aktivitelerini belirlemede etkilidir. Örneklere uygulanan ABTS yöntemi sonuçları % radikal yakalama şeklinde değerlendirildi. ABTS radikali; potasyum peroksidisülfat (6,6 mg) ve ABTS (30 mg)'nin 7,8 mL sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilmesiyle elde edildi. Elde edilen renkli çözelti etanol ile absorbansı 734 nm'de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde seyreltilerek deney için gerekli ABTS çözeltisi elde edildi. 3 ml'lik küvetlere hazırlanan stok çözeltiden 25µl eklenip saf suyla 100µl'ye tamamlanmıştır. Kör numune için saf su kullanılmıştır. Böylece örneklerin farklı konsantrasyonları elde edilmiştir. Standart olarak α tokoferol ve trolox kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki çözeltilere 2,3 ml ABTS radikal çözeltisi ilave edildikten sonra köre karşı 737 nm'de absorbansları ölçülerek antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır;

$$AA = 1 - [A\ddot{O}:30 \div AK:30] * 100$$

AÖ:30: Örneğin 30.dakikadaki absorbansı

AK:30: Kontrolün 30. dakikadaki absorbansı

3.4.5. Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında genellikle tercih edilen Folin-Ciocalteu metodu, yöntem adı veren reaktif vasıtasıyla oluşan renk yoğunluğunu göre absorbans ölçümüne dayanmaktadır. Ancak metot ortamda bulunan ekstrakte edilebilir proteinleri de ekstrakte ettiği için gıdaların yapısında bulunan bütün fenolik grupları ortaya çıkarır. Bu nedenle spesifik bir metot kabul edilmemektedir. Ayrıca metodun en önemli dezavantajı analiz sırasında ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramasıdır [80]. Analiz sonucunda yüksek absorbans değeri yüksek fenolik madde miktarının göstergesidir. Bitkisel ürünlerin, toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında genellikle Folin-Ciocalteu

metodu tercih edilmektedir [75]. 250 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ile 250 µl distile su karıştırıldı. Taze hazırlanan stok örnek çözeltilerinden 150 µl ilave edilip karıştırılarak 5 dakika beklendi. Daha sonra 2 ml %2 lik Na₂CO₃ konulup oda sıcaklığında 30 dakika beklendi ve 755 nm' de ölçüm alındı. Kör olarak saf su standart olarakta gallik asit kullanıldı.

3.4.6. Kül Tayini

Kül, gıdalarda mineral ve tuz içeriğinin bir göstergesidir. Belli bir miktar numunenin yakılıp küllendirilerek kül miktarının saptanması ilkesine dayanır. Öncelikle porselen krozeler sabit tartıma getirilir. Daha sonra her bir numuneden 3-5 gram örnek krozeye tartılarak konur. 525⁰C' deki kül fırınında açık gri-beyaz renk alıncaya kadar yakıldıktan sonra tartılarak kül miktarı tespit edilmiştir [81].

$$\%Kül = [(M_2 - M_1)] \times 100$$

M₂ = Yakmadan sonraki kroze + kül ağırlığı

M₁ = Sabit tartıma getirilen krozenin ağırlığı

m = Alınan örnek ağırlığı

3.4.7. Deoksiriboz Yöntemi Tayini

Bu deney küçük değişikliklerle beraber Halliwell at al. yöntemine göre yapıldı [82]. Reaksiyon karışımı; 500 µg/ml olacak şekilde örnekler hazırlandı. Daha sonra bu örneklerden 20, 60,100 µg/ml olacak şekilde farklı konsantrasyonlar elde edildi. 50 mM pH 7.4 potasyum fosfat tamponu içinde 10 mM deoksiriboz 50 mM H₂O₂ , 10 mM FeCl₃ 1 mM EDTA 10 mM askorbik asit ile 37⁰ C' de inkübe edildi, reaksiyona 1 ml %1' lik TBA ve 1 ml %2' lik TCA ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra tüpler kaynar sıcak su banyosunda 15 dk ısıtıldı. Tüpler oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutuldu ve karışımın absorbansı 532 nm' de köre karşı ölçüldü. Karışımın absorbans miktarındaki azalma deoksiribozun oksidasyonunun azaldığını gösterir. % İnhibisyon aşağıdaki formülden hesaplanır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{Ac-As}) / \text{Ac} * 100$$

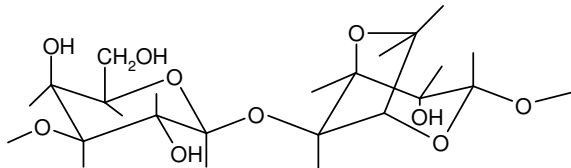
Ac= Kontrolün absorbansı

As= Ekstaktların veya standartların varlığında ölçülen absorbans

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır. Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli radikaller parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. Hidroksil radikal yakalama aktivitesinin ölçümü deoksiriboz metoduyla yapılmaktadır. Bu yöntemle göre; düşük absorbans değeri; yüksek deoksiriboz parçalanmasının inhibisyonu anlamına gelmektedir. Yüksek oranda reaktif hidroksil, DNA, yağlar ve proteinler üzerinde oksidatif zararlara neden olabilmektedir. Hidroksil yakalama aktivitesi yüksek olan ürünler, OH grubunu nötralize edip hidrojen atomuna dönüştürerek inaktif hale getirdikleri için önemlidir [75].

3.4.8. DNA Agaroz Jel Elektrofrez

DNA moleküllerinin analizinde sık kullanılan yöntemlerden bir tanesi de agaroz jel elektrofrezidir. Moleküllerin sahip oldukları net elektrik yükleri bu moleküllerin elektriksel alan içindeki hareketlerini etkiler. Elektrofrez tekniği de bu prensibe dayandırılarak kullanılır. Agaroz, bir kırmızı alg türü olan *Agar agar*'dan izole edilen doğrusal bir polisakarittir (Şekil 3.1). Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür.

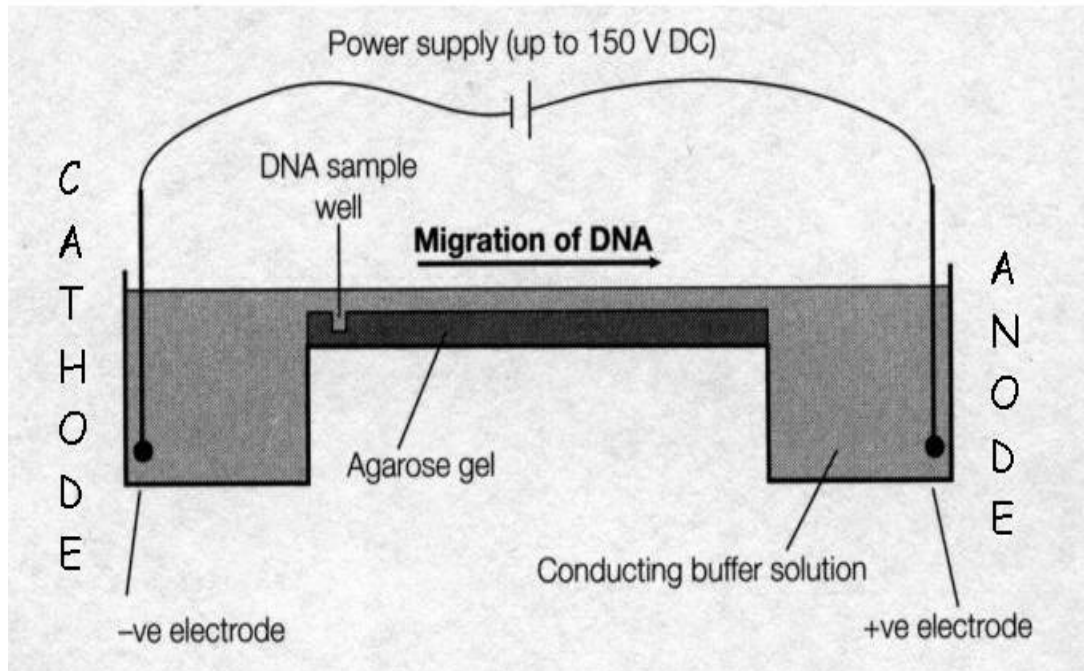


Şekil 3.1. Agarozun molekül yapısı

Nükleik asit fragmentlerinin tanımlanması, saflaştırılması, ve ayrılması için sık kullanılan yöntem agaroz jel elektrofrezidir. Bu nedenle çeşitli amaçlar için izole

edilen DNA ve RNA'ların tanımlanabilmesi, hangi formda olduğunun belirlenebilmesi, büyüklüğünün saptanabilmesi ve özellikle genetik mühendisliği teknikleri ile DNA yapısında oluşturulan değişikliklerden sonra elde edilen yeni formların incelenmesi yönünden agaroz jel elektroforezi tekniği, moleküler genetik alanında önemli bir deneysel sistem oluşturmaktadır.

Agaroz jelde örnekler yatay pozisyonda, sabit güç ve yöndeki elektriksel alanda yürütülmektedir. DNA şeker fosfat omurgasından dolayı negatif yüklüdür ve bir elektriksel alana konulduğu zaman bu negatif yükünden dolayı anottan katoda doğru hareket eder.



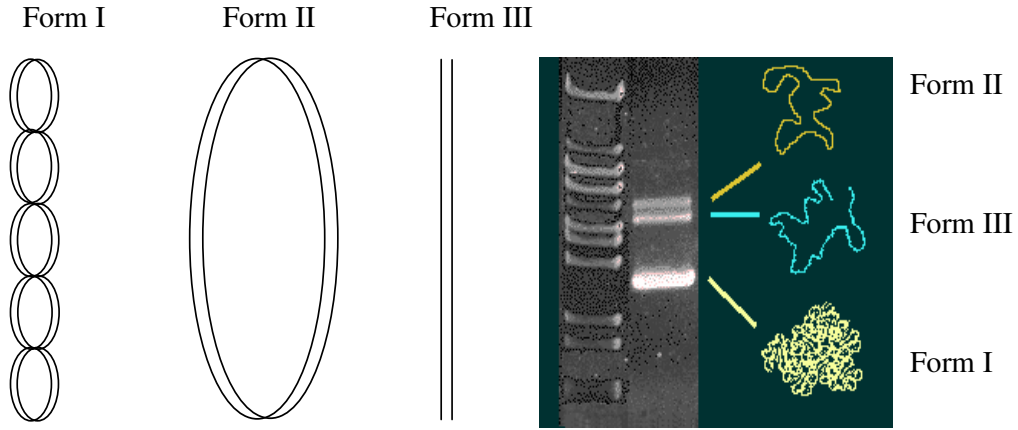
Şekil 3.2. Agaroz jelde DNA'nın göç yönü

Agaroz jellerde DNA'nın hareket hızını; DNA molekülünün büyüklüğü, agaroz konsantrasyonu, DNA'nın konformasyonu, uygulanan voltaj, baz bileşimi ve sıcaklık, interkalasyon yapan ajanların varlığı, elektroforez tamponunun bileşimi gibi etmenler etkiler.

DNA molekülünün büyüklüğü; Çift zincirli doğrusal DNA moleküllerinin jeldeki hızı, baz çifti sayısının logaritması ile ters orantılıdır. Büyük moleküller, sürtünmenin büyük olması ve jeldeki porlar arasından yol bularak ilerlediklerinden dolayı daha yavaş hareket ederler.

Agaroz konsantrasyonu; Belirli büyüklükteki doğrusal DNA molekülü, değişik agaroz konsantrasyonlarındaki jellerde farklı hızlarda ilerler. DNA'nın elektroforez hareketliliğinin logaritması ile jel konsantrasyonu arasında bir ilişki vardır. Dolayısıyla değişik konsantrasyonlarda jeller kullanılarak farklı boyutlardaki DNA moleküllerini ayırmak mümkündür.

DNA'nın konformasyonu; Plazmid DNA'nın üç formu vardır. **i**) Supercoiled (süper kıvrımlı çembersel DNA; kırık yok, Form I); **ii**) open circular (tek zincir kırığı içeren çembersel DNA; DNA zincirlerinden birinde kırık var, Form II); **iii**) linear (doğrusal DNA, iki zincirde de bir veya birden fazla kırık, Form III) Agaroz Jel Elektroforezinde bu formlar farklı hızlarla hareket ederler. Form I, yük yoğunluğu fazla hacmi de düşük olduğu için jelde en hızlı hareket eder. Form II'nin yoğunluğu daha az olduğu için daha yavaş hareket eder. Form III ise Form I ve Form II'nin arasında bir hıza sahiptir. Bu formlar şekil 3.3. 'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. DNA'nın farklı formları

Uygulanan voltaj; Düşük voltajlarda doğrusal DNA parçalarının hareket hızları uygulanan voltaj ile doğru orantılıdır.

Baz bileşimi ve sıcaklık; DNA moleküllerinin agaroz jellerdeki davranışları, baz bileşimlerinden ve jelin yürütüldüğü sıcaklık derecesinden çok fazla etkilenmez.

Değişik boylardaki DNA moleküllerinin agaroz jeldeki bağıl hareketleri 4-30 °C arasında değişmez. Jeller genellikle oda sıcaklığında yürütülür.

İnterkalasyon yapan ajanların varlığı; Agaroz ve poliakrilamid jellerde DNA'nın gözlenmesi için kullanılan floresan karekterdeki Etidyum bromür doğrusal DNA moleküllerinin elektroforetik hareketini %15 oranında azaltır.

Elektroforez tamponunun bileşimi; DNA'nın elektroforetik hareketi elektroforez tamponunun bileşimi ve iyonik gücü tarafından etkilenir. İyonların yokluğunda elektriksel iletkenlik minimum düzeyde olduğu için DNA'nın hareketi çok yavaştır. Çok yüksek iyonik güçteki tamponun kullanılması halinde elektriksel iletkenlik çok fazladır ve çok miktarda ısı açığa çıkar. Bu durumda jel eriyebilir veya DNA denatüre olabilir. Doğal çift zincirli DNA'lar için değişik tamponlar kullanılabilir. Bunlar arasında EDTA (pH 8.0), pH'sı 7.5-8.5 olan 50 mM konsantrasyondaki Tris-asetat (TAE), Tris-borat (TBE) ya da Tris-fosfat tamponları sayılabilir. Elektroforez tamponları genellikle konsantre çözeltiler halinde hazırlanır ve oda sıcaklığında saklanırlar.

Tablo 3.1 Sıklıkla kullanılan elektroforez tamponları.

Tampon	Çalışılan çözelti	Konsantre stok çözelti (litrede)
<i>Tris-asetat</i> (TAE)	1x: 0.04 M Tris-asetat 0.001 M EDTA	50x: 242 g trizma base 57.1 mL Glasiyel asetik asit 100 mL 0.5 M EDTA (pH 8.0)
<i>Tris-fosfat</i> (TBE)	1x: 0.09 M tris-fosfat 0.002 M EDTA	50x: 540 g trizma base 77.5 mL %85 fosforik asit (1.679 g/mL) 40 mL 0.5 M EDTA (pH 8.0)
<i>Tris-borat</i> (TBE)	1x: 0.09 M tris-borat 0.002 M EDTA	50x: 540 g trizma base 55 g borik asit 40 mL 0.5 M EDTA (pH 8.0)

Biz deneyimizde tampon olarak TAE tamponunu kullandık.

Deney için gerekli malzemeler;

1. Mikropipet ve pipet ucu (1-20 μ L)
2. Otoklav bandı
3. Elektroforez aygıtı
4. Güç kaynağı
5. Agaroz
6. Elektroforez tamponu (TAE 50x stok pH 8.0: 242 g trizma base, 57.1 mL Glasiyel asetik asit, 100 mL 0.5 M EDTA son hacim 1000 ml olacak şekilde su ilave edilir.)
7. Etidyum Bromür (10 mg/mL)
8. Yükleme tamponu [Bromfenol blue (BFB) 6x stok: % 0.25 bromfenol mavisi, %40 (w/v) sukroz(su içerisinde)]
9. Plazmid DNA örnekleri

DENEYİN YAPILIŞI

Bu deneyde TENS (Tris-EDTA-NaCl-SDS) yöntemi ile saflaştırılan pBluescript M13+ plazmid DNA'sı agaroz jelde yürütülecektir.

Agaroz Jel'in Hazırlanması

1. Elektroforez aygıtı ile sağlanan plastik tepsinin kenarları otoklav bandı ile sarılarak bir kalıp oluşturulur ve plaka yatay konumda, düzgün bir yere yerleştirilir. Jelin taşmaması için bandın sıkılaştırılmasına özen gösterilmelidir.
2. Agaroz (1 g), 250 mL'lik bir erlen içerisinde bulunan 100 mL Tris asetat tamponuna (40 mM tris asetat, 1mM EDTA, pH 8.2) ilave edilir ve erlen agaroz eriyene kadar kaynar su banyosunda ya da mikrodalga fırında tutulur. (Agaroz taneciklerinin mümkün olan en kısa sürede erimesi sağlanmalıdır.)
3. Agaroz çözeltisi 60 °C'ye kadar soğutulur. Daha sonra 1.5 μ l etidyum bromür (10 mg/mL) ilave edilir ve karıştırılır.

4. Çözelti kenarları otoklav bandı ile sarılmış ve tarak yerleştirilmiş cam tabakaya dökülür. Dökülürken hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilir.
5. Jel donması için oda sıcaklığında 40-45 dakika bekletilir. Jel donduktan sonra tarak ve otoklav bandı dikkatle çıkarılır. Etidyum bromür kuvvetli bir mutajen ve toksik olduğundan dikkatle ve eldivenle çalışılmalıdır.

Örneklerin Yüklenmesi ve Yürütülmesi

1. Total hacim 10 µl olacak şekilde örneklerden ve tampondan ependorf tüplere ilave edilir. Jelin kuyucukları elektroforez tamponu ile doldurulur ve hazırlanan DNA örnekleri uygun bir pipet ile tampon dolu kuyucuklara dikkatlice yüklenir.
2. Jel elektroforez tankına yerleştirilir ve tank maksimuma kadar Tris asetat tomponu (40 mM tris asetat, 1mM EDTA, pH 8.2) ile doldurulur. Tankın kapağı kapatılır ve elektrik bağlantıları yapılır. DNA katottan (siyah uçtan) anoda (kırmızı uca) doğru hareket eder. Elektroforez 40V'ta 500 mA akım uygulanarak 180 dakika süreyle yürütülür.
3. Elektrik akımı kesilir, tel bağlantıları ve kapak çıkarılır.
 - ✓ Jel yükleme tamponları üç amaç için kullanılırlar: i) Örneğin yoğunluğunu arttırarak DNA'nın kuyucuğa düzgün olarak yüklenmesini sağlarlar, ii) Örneği renklendirerek yükleme işlemini basitleştirirler, iii) Elektriksel alanda anoda doğru hareket ederler.
 - ✓ Jel yükleme tamponları genellikle 6x konsantre çözeltiler halinde hazırlanırlar.

Fotoğraf Çekimi

Jellerin fotoğrafını çekmek için jeli, alttan ya da üstten aydınlatan ultraviyole ışık kaynağı kullanılır.

Bu deneyde fotoğraflar Bio Rad Gel Doc XR görüntüleme sistemi ile çekilecektir.

Deney öncesinde ön hazırlık amaçlı optimizasyon deneyi yapılmıştır.

OPTİMİZASYON DENEYİNİN YAPILIŞI

Kuyucuklara sırasıyla aşağıdaki gibi yükleme yapıldı.

1. DNA
2. DNA + H₂O₂
3. DNA + UV (3 dakika)
4. DNA + H₂O₂ + UV (3 dakika)
5. DNA + UV (5 dakika)
6. DNA + H₂O₂ + UV (5 dakika)
7. DNA + UV (7 dakika)
8. DNA + H₂O₂ + UV (7 dakika)
9. DNA + UV (10 dakika)
10. DNA + H₂O₂ + UV (10 dakika)
11. DNA + örnek + UV (5 dakika) (örnek = 300µg/ml şekerpare etanol ekstraktı)
12. DNA + H₂O₂ + UV (5 dakika) + örnek
(örnek = 300µg/ml şekerpare etanol ekstraktı)
13. DNA + örnek + UV (5 dakika) (örnek = 300µg/ml kabaş etanol ekstraktı)
14. DNA + H₂O₂ + UV (5 dakika) + örnek
(örnek = 300µg/ml kabaş etanol ekstraktı)

Bu deneyden yola çıkarak örneklerin hangi derişim aralıklarının çalışılması gerektiğine ve kaçar dakika UV ışığına maruz bırakmak gerektiğine karar verilecektir. Deneyde UV ile gösterilen tüplerin hepsi yatay konumda ve aynı açıda olacak şekilde yanlarında belirtilen dakikalar boyunca UV ışığına maruz bırakılarak ortamda bulunan H₂O₂'nin hidroksil radikaline parçalanarak plasmid DNA'da hasar oluşturması ve kayısı ekstraktlarının koruyucu özelliğinin ortaya çıkması sağlandı.

DNA 'da Oksidatif Hasar Oluşturma ve Kayısı Ekstraktlarının Koruyucu Özelliğinin Gözlenmesi İçin Deneyin Yapılışı :

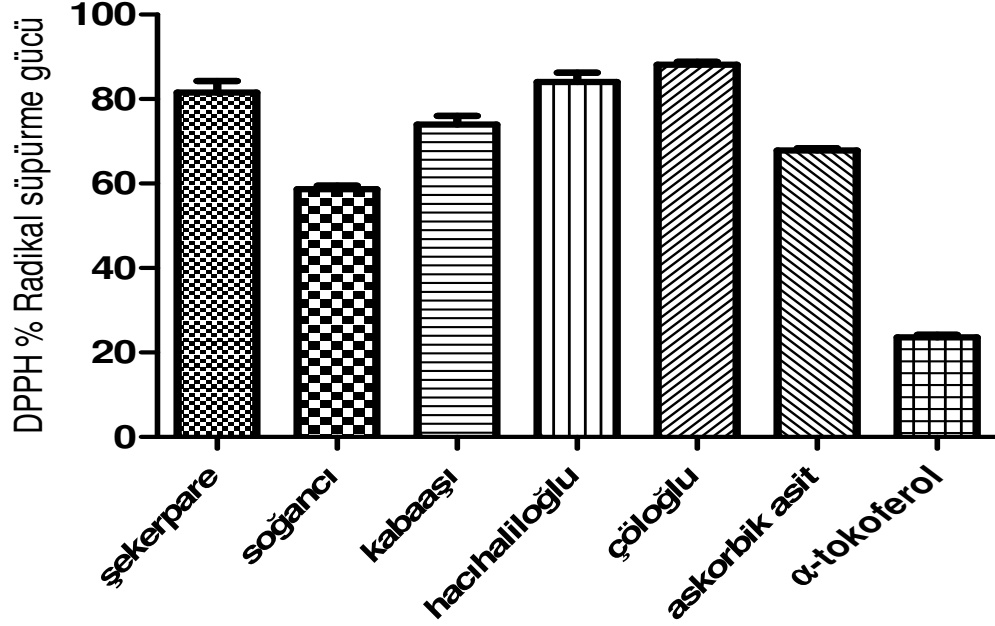
1. DNA
2. DNA + H₂O₂
3. DNA + UV
4. DNA + H₂O₂ + UV

5. DNA + şekerpare etanol ekstraktı (ŞEE) 500 µg/ml + UV
6. DNA + ŞEE 250 µg/ml + H₂O₂ + UV
7. DNA + ŞEE 500 µg/ml + H₂O₂ + UV
8. DNA + ŞEE 1000 µg/ml + H₂O₂ + UV
9. DNA + ŞEE 1500 µg/ml + H₂O₂ + UV
10. DNA + ŞEE 2000 µg/ml + H₂O₂ + UV
11. DNA + kabaşığı etanol ekstraktı (KEE) 500 µg/ml + UV
12. DNA + KEE 250 µg/ml + H₂O₂ + UV
13. DNA + KEE 500 µg/ml + H₂O₂ + UV
14. DNA + KEE 1000 µg/ml + H₂O₂ + UV
15. DNA + KEE 1500 µg/ml + H₂O₂ + UV
16. DNA + KEE 2000 µg/ml + H₂O₂ + UV

16 tane küçük ependorf tüplere, 4 µl 7,14 mmol fosfat tamponu, 3 µl DNA, 2 µl yukarıda belirtilen derişimlerde örnek, 1 µl H₂O₂ olacak şekilde ilave edildi. Yine optimizasyon deneyinde olduğu gibi burada da UV ile gösterilen tüplerin hepsi yatay konumda ve aynı açıda olacak şekilde yanlarında 3 dakika boyunca UV ışığına maruz bırakılarak ortamda bulunan H₂O₂'nin hidroksil radikaline parçalanarak plasmid DNA'da hasar oluşturması ve kayısı ekstraktlarının koruyucu özelliğinin ortaya çıkması sağlandı.

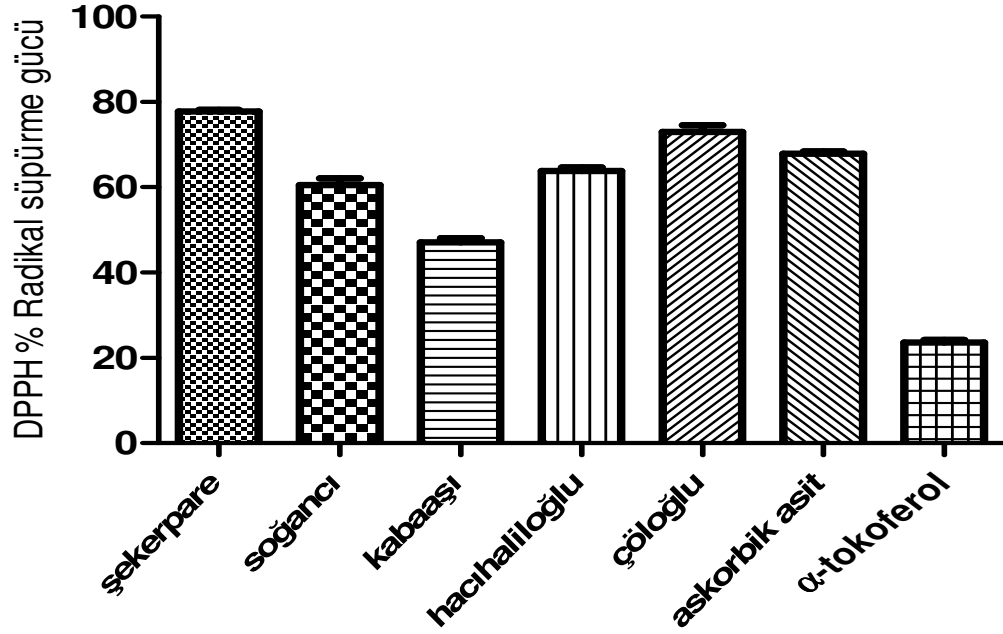
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini Sonuçları



Şekil 4.1. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktları ile askorbik asit ve α tokoferolün DPPH radikal süpürme gücü karşılaştırılmalı grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Metanol ekstraktı kayısı örneklerinin derişimi 200 $\mu\text{g/ml}$ iken standart olarak kullanılan askorbik asit ve α -tokoferolün derişimi 5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Bu durumu göz önüne alarak baktığımızda en yüksek aktiviteyi standartlardan askorbik asit sonra α - tokoferol gösterirken, örneklerden ise en yüksek aktiviteyi çöloğlu göstermiştir. Şekerpare ve Hacıhaliloğlu arasında anlamlı bir fark yokken kabaş diğerlerine göre düşük çıkmıştır.

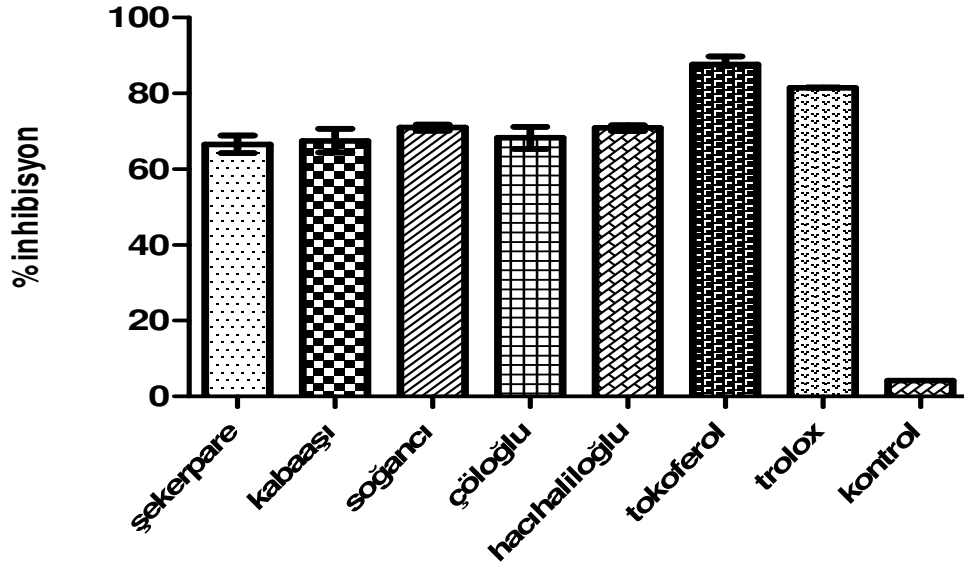


Şekil 4.2. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktları ile askorbik asit ve α -tokoferolün DPPH radikal süpürme gücü karşılaştırılmalı grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

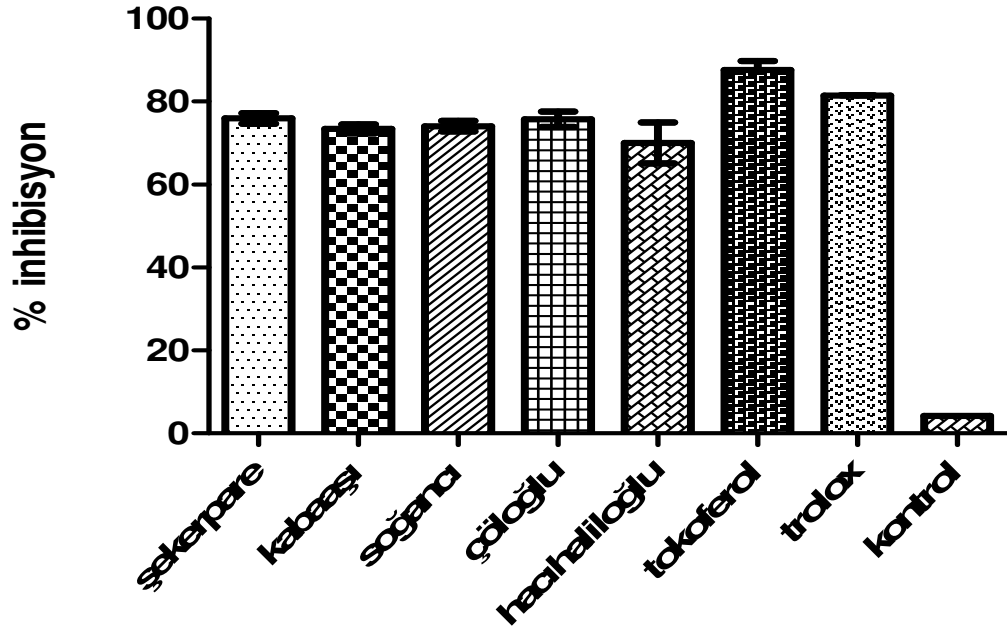
Etanol ekstraktı kayısı örneklerinin derişimi 200 $\mu\text{g/ml}$ iken standart olarak kullanılan askorbik asit ve α -tokoferolün derişimi 5 $\mu\text{g/ml}$ ' dir. Bu durumu göz önüne alarak baktığımızda en yüksek aktiviteyi standartlardan askorbik asit sonra α - tokoferol gösterirken, örneklerden ise en yüksek aktiviteyi çöloğlu ve şekerpare göstermiştir. Hacihaliloğlu ve Soğancı birbirlerine yakın aktivite gösterirken kabaası yine düşük aktivite göstermiştir.

4.2. β -Karoten Bleaching Metoduyla Antioksidan Aktivite Ölçümü Sonuçları

Analizde kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarından 200 $\mu\text{g/ml}$ kullanıldı. Standart olarak ise α -tokoferolün 1000 ppm'lik çözeltisinden troloxun ise 100 ppm'lik çözeltisinden kullanıldı. Grafiğe bakılırsa örnekler birbirine yakın aktivite göstermiştir. En iyi aktivite ise standartlardan troloxda daha sonra ise α - tokoferolde gözlenmiştir.



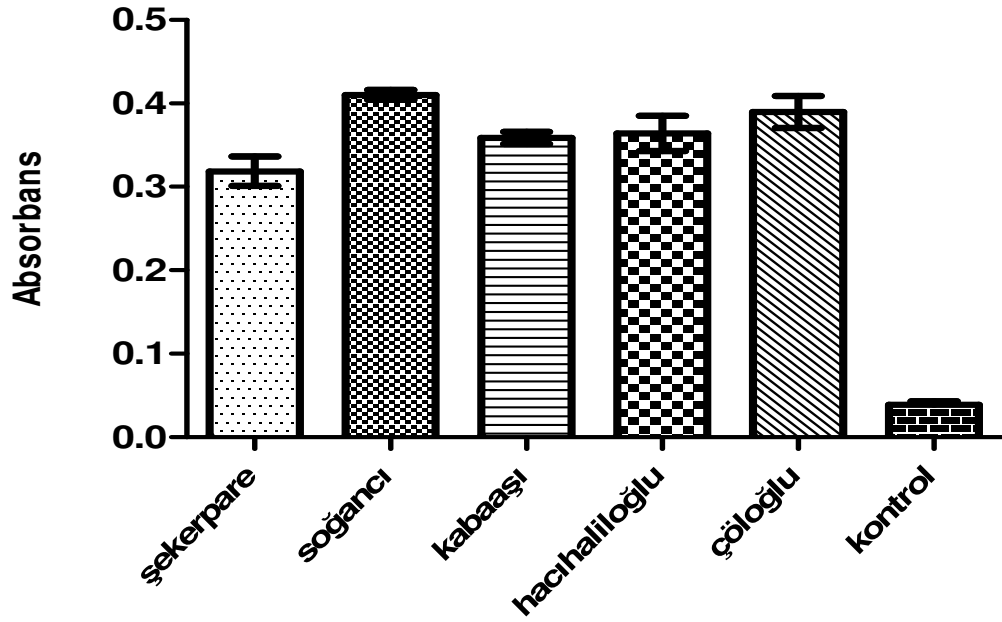
Şekil 4.3. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının ve standart olarak α - tokoferol ve troloxun β karoten beyazlatma % inhibisyonlarının antioksidan aktivite ölçümlerinin karşılaştırmalı sütun grafiği.



Şekil 4.4. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının ve standart olarak α - tokoferol ve troloxun β karoten beyazlatma % inhibisyonlarının antioksidan aktivite ölçümlerinin karşılaştırmalı sütun grafiği.

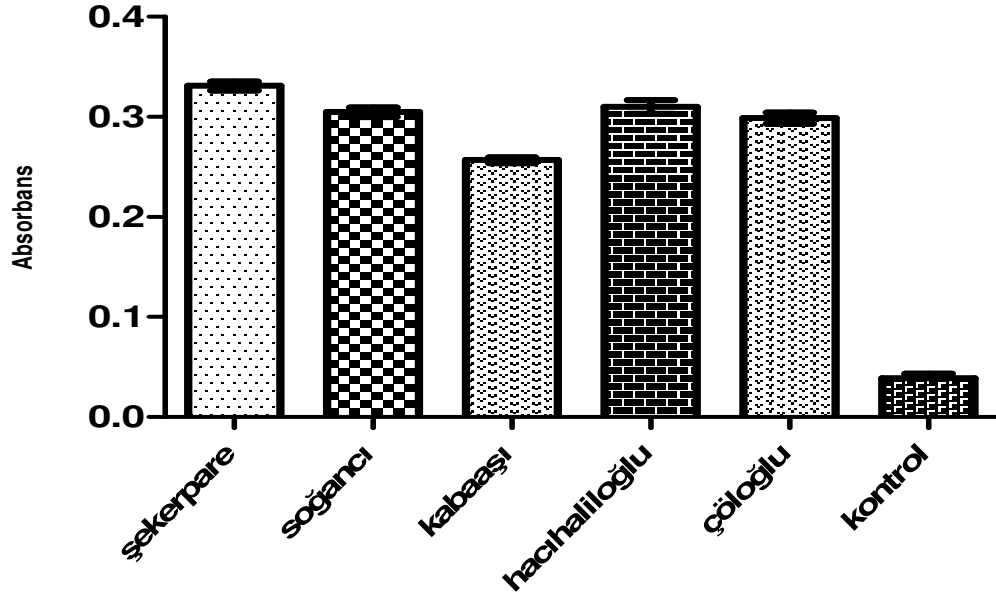
Analizde kayısı örneklerinin etanol ekstraktları için hazırlanan stok çözültiden (200 $\mu\text{g/ml}$) kullanıldı. Standart olarak ise α -tokoferolün 1000 ppm'lik çözültisinden, troloxun ise 100 ppm'lik çözültisinden kullanıldı. Grafiğe bakılırsa örnekler birbirine yakın aktivite göstermiştir. En iyi aktivite ise standartlardan troloxda daha sonra ise α - tokoferolde gözlenmiştir. Metanol ve etanol ekstraktlarını karşılaştıracak olursak ise etanol ekstraktlarında metanole oranla çok daha yüksek aktivite gözlenmiştir.

4.3 İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları



Şekil 4.5. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının indirgeme gücü antioksidan analiz sonuçlarının karşılaştırmalı grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

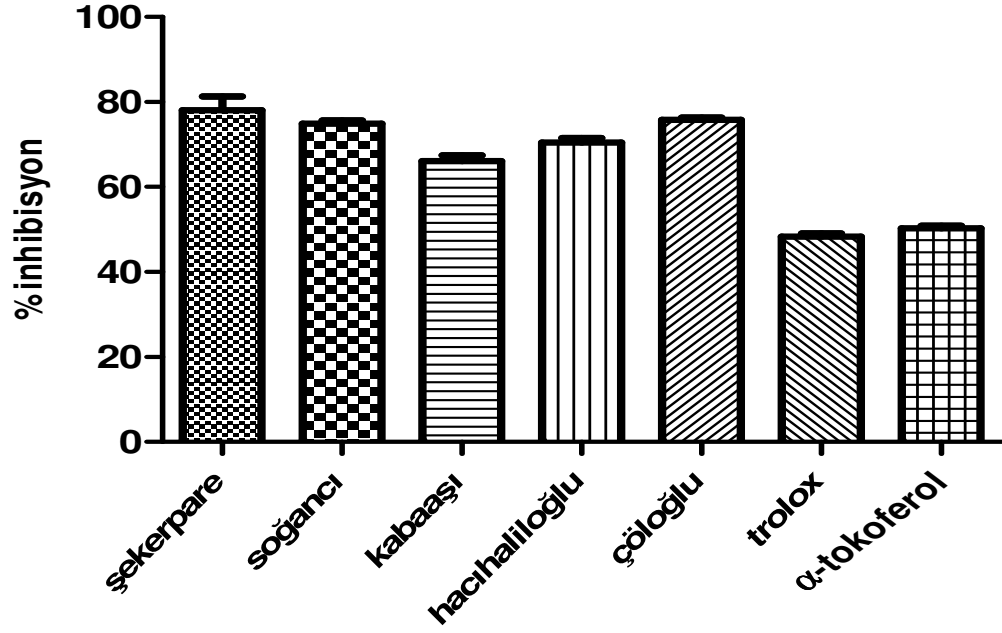
Analizde düşük absorbans yüksek aktiviteye işaret etmektedir. Bu anlamda grafik incelendiğinde en iyi aktivite metanol ekstraktlarından Şekerparede ve onu takip eden Kabaşta gözlenmiştir. Onları Hacıhaliloğlu, Çöloğlu ve Soğancı takip etmiştir.



Şekil 4.6. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının indirgeme gücü antioksidan analiz sonuçlarının karşılaştırmalı grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Analizde düşük absorbans yüksek aktiviteye işaret etmektedir. Bu anlamda grafik incelendiğinde en iyi aktivite etanol ekstraktlarından Kabaasıda gözlenmiştir. Onu Çöloğlu, Soğancı, Hacıhaliloğlu ve Şekerpare takip etmiştir. Metanol ve etanol ekstraktlarını kıyaslayacak olursak yine etanol ekstaktlarında daha yüksek aktivite gözlenmiştir.

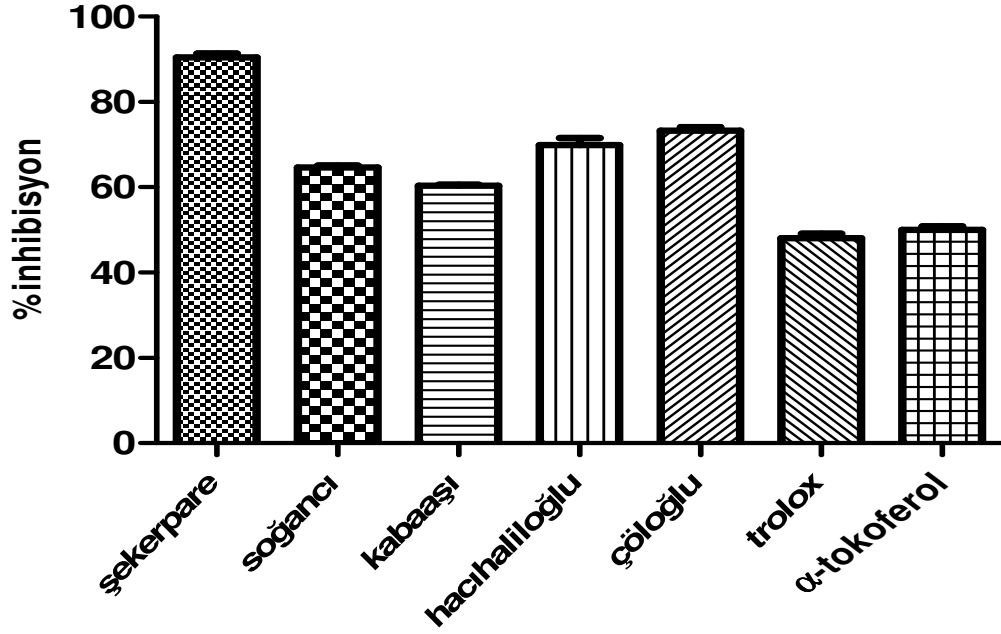
4.4 ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları



Şekil 4.7. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının ve standartlardan trolox ile α -tokoferolün ABTS süpürme gücü karşılaştırmalı sütun grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Analiz için hazırlanan örneklerin metanol ekstraktlarının stok çözeltilerinden (250 μ g/ml) alındı. Standartlardan α tokoferolün 1000 ppm'lik, troloxun ise 100 ppm'lik çözeltilerinden kullanıldı.

Grafikte en yüksek aktivite standartlardan troloxda, sonra α -tokoferolde gözlenmiştir. Örneklerde ise en yüksek aktivite sırasıyla; Şekerpare, Çöloğlu, Soğançı, Hacıhaliloğlu ve Kabaşasıda gözlenmiştir.

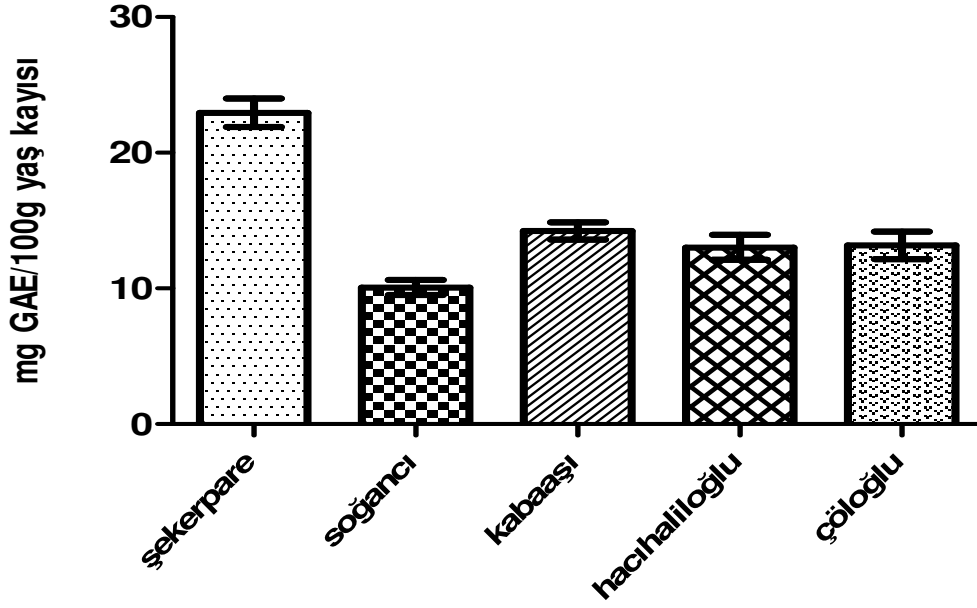


Şekil 4.8. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının ve standartlardan trolox ile α -tokoferolün ABTS süpürme gücü karşılaştırmalı sütun grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Analiz için hazırlanan örneklerin etanol ekstraktlarının stok çözeltilerinden (250 μ g/ml) alındı. Standartlardan α tokoferolün 1000 ppm'lik, troloxun ise 100 ppm'lik çözeltilerinden kullanıldı.

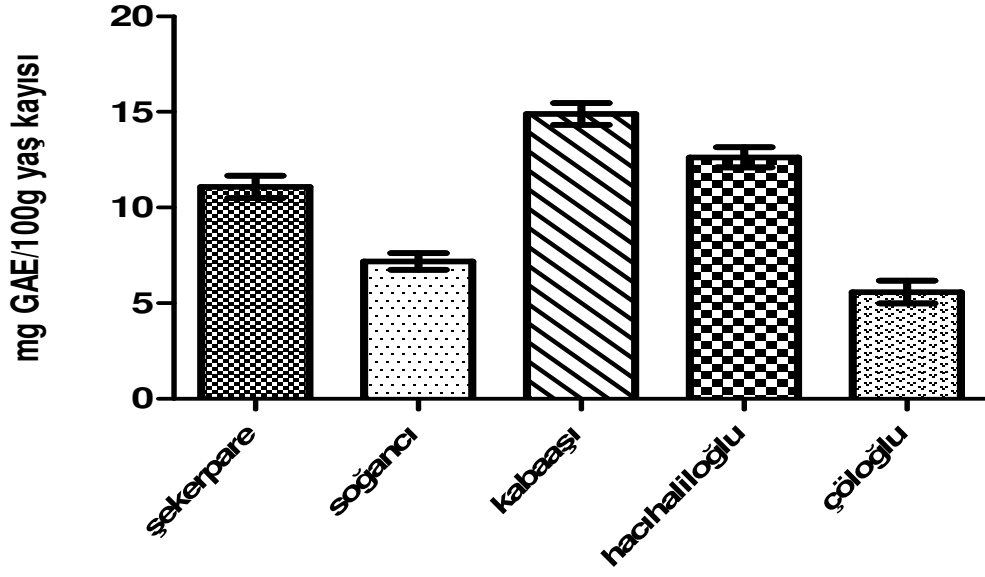
Grafikte en yüksek aktivite standartlardan troloxda, sonra α -tokoferolde gözlenmiştir. Örneklerde ise en yüksek aktivite sırasıyla; Şekerpare, Çöloğlu, Hacihaliloğlu, Soğancı ve Kabaasıda gözlenmiştir. Bu analizde de diğerlerinde olduğu gibi etanol ekstraktlarında daha yüksek aktivite gözlenmiştir.

4.5 Toplam Fenolik Bileşik Tayini Sonuçları



Şekil 4.9. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin miktarının gallik asite göre karşılaştırılması grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

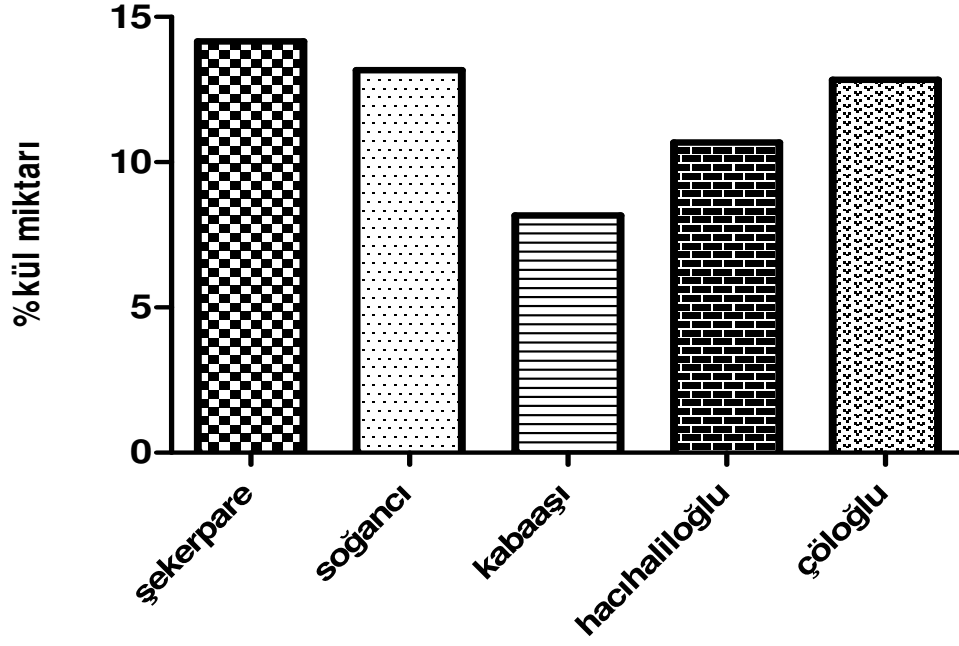
Grafikte en yüksek değeri metanol ekstraktlarından 22,196 mg GAE/ 100 g yaş kayısı ile Şekerpare göstermiştir. Onu, Kabaş 13,778 mg GAE/ 100 g yaş kayısı, Çöloğlu 12,455 mg GAE/ 100 g yaş kayısı, Hacıhaliloğlu 12,373 mg GAE/ 100 g yaş kayısı, Soğancı mg GAE/ 100 g yaş kayısı, örnekleri izlemiştir.



Şekil 4.10. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin miktarının gallik asite göre karşılaştırılması grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

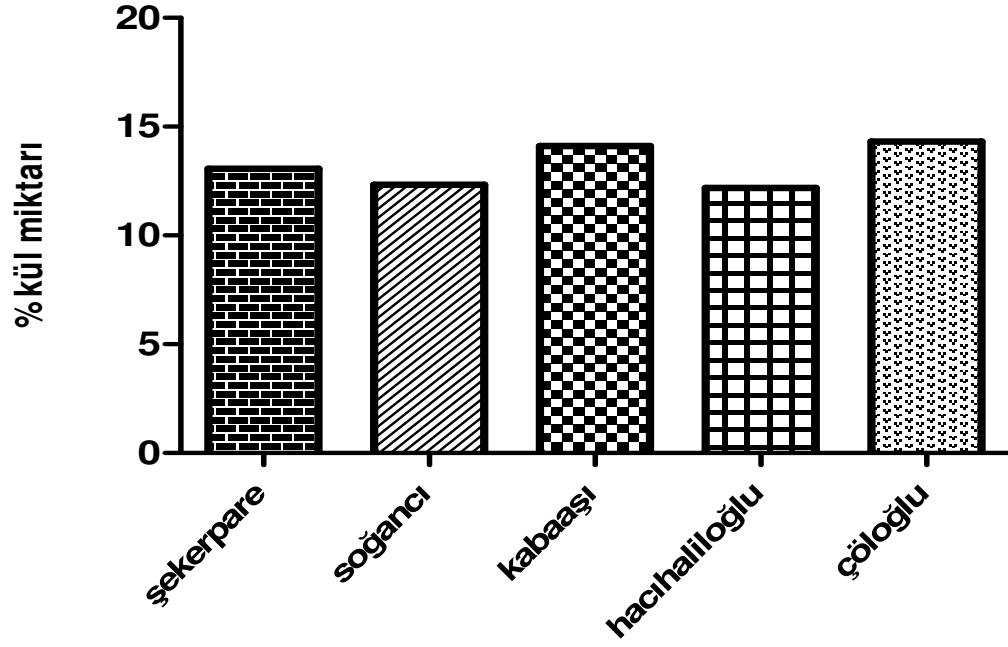
Grafikte en yüksek değeri etanol ekstraktlarından 14,492 mg GAE/ 100 g yaş kayısı ile Kabaş göstermiştir. Onu, Hacıhaliloğlu 12,266 mg GAE/ 100 g yaş kayısı, Şekerpare 10,659 mg GAE/ 100 g yaş kayısı, Soğancı 6,865 mg GAE/ 100 g yaş kayısı ve Çöloğlu 5,158 mg GAE/ 100 g yaş kayısı örnekleri izlemiştir.

4.6 Kül Tayini Sonuçları



Şekil 4.11. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının % kül miktarlarının karşılaştırılmalı grafiği.

Grafiğe baktığımızda en yüksek kuru madde miktarı metanol ekstraktlarından % 14,15 ile Şekerparede gözlenmiştir. Onu, Soğancı % 13,17, Çöloğlu %12,82, Hacıhaliloğlu %10,68 ve Kabaası %8,16 takip etmiştir.

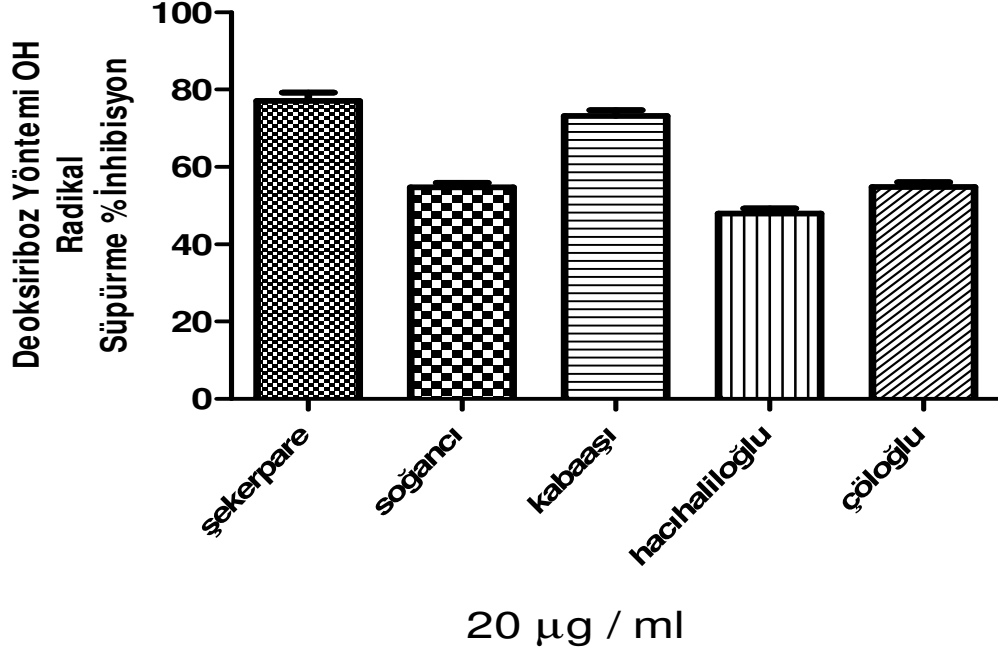


Şekil 4.12. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının % kül miktarlarının karşılaştırılmalı grafiği.

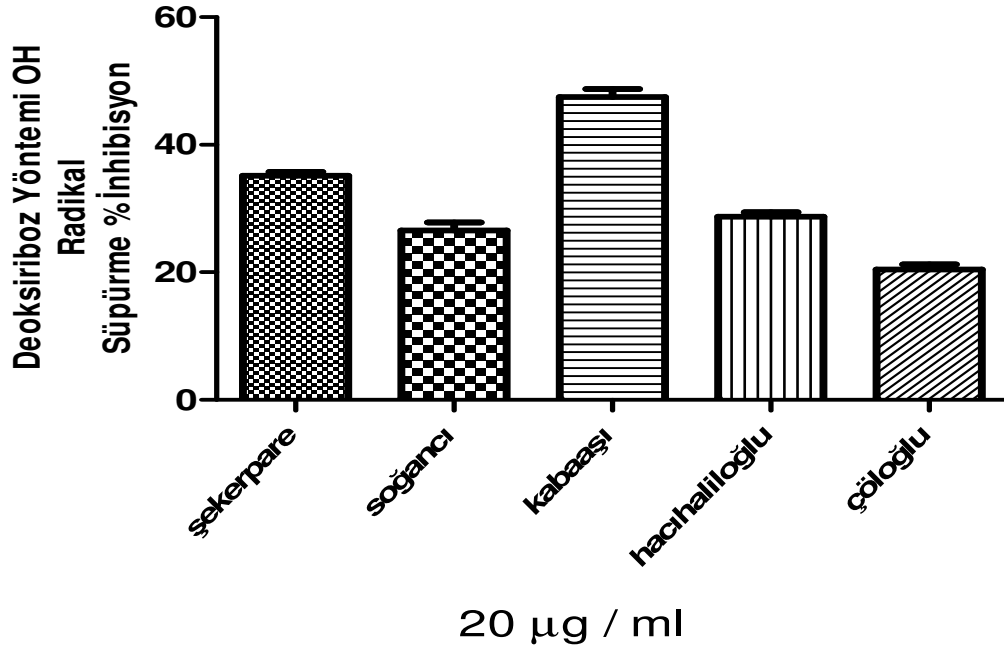
Grafikte en yüksek kuru madde miktarı etanol ekstraktlarından %14,30 değeri ile Çöloğlunda gözlenmiştir. Onu, %14,10 ile Kabaası, %13,06 ile Şekerpare, %12,32 ile Soğancı, %12,18 ile Hacıhaliloğlu izlemiştir. Etanol ekstraktında kuru madde miktarları tüm örneklerde birbirine yakın çıkmıştır.

4.7 Deoksiriboz Yöntemi Tayini Sonuçları

Analizde her bir kayısı örneğinin metanol ekstraktından 20 µg/ml, 60 µg/ml ve 100 µg/ml alınarak deoksiriboz % süpürme gücüne bakılmıştır. Ve görülmüştür ki belli bir noktaya kadar derişimin artması aktiviteyi arttırmıştır. En yüksek aktivite Şekerpare ve Kabaşaıda görülmüştür. Onları sırasıyla Çöloğlu, Soğancı ve Hacıhaliloğlu izlemiştir.



Şekil 4.13. Kayısı örneklerinin metanol ekstraktlarının deoksiriboz yöntemi ile OH· radikal temizleme gücü antioksidan aktivite ölçümü karşılaştırmalı grafiğı. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.



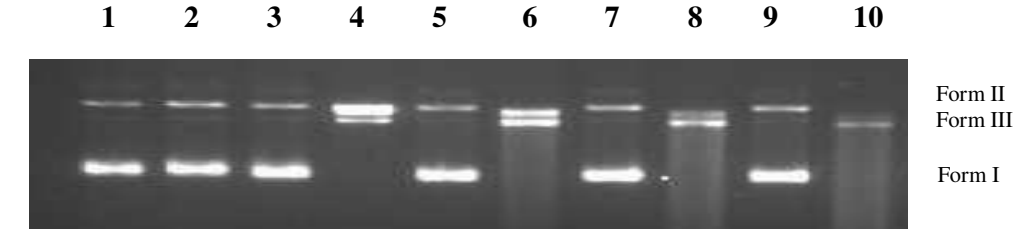
Şekil 4.14. Kayısı örneklerinin etanol ekstraktlarının deoksiriboz yöntemi ile OH[·] radikal temizleme gücü antioksidan aktivite ölçümü karşılaştırmalı grafiği. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Analizde her bir kayısı örneğinin etanol ekstraktından 20 µg/ml, 60 µg/ml ve 100 µg/ml alınarak deoksiriboz % süpürme gücüne bakılmıştır. Ve görülmüştür ki belli bir noktaya kadar derişimin artması aktiviteyi arttırmıştır. Ortalama olarak bakıldığında en yüksek aktivite Şekerpare ve Kabaacıda, onları Soğanacı, Hacıhaliloğlu ve Çöloğlu izlemiştir.

4.8. DNA 'da Oksidatif Hasar Oluşturma ve Kayısı Ekstraktlarının Koruyucu

Özelliğinin Gözlenmesi Sonuçları

4.8.1 Optimizasyon Deneyinin Sonucu

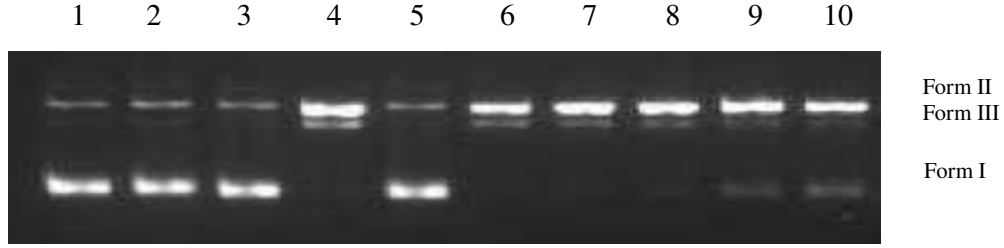


+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	DNA
-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	H₂O₂
-	-	3dk	3dk	5dk	5dk	7dk	7dk	10dk	10dk	UV

Şekil 4.15. Supercoiled DNA'nın H₂O₂ fotolizi sonucu oluşan ·OH ile kesiminin agaroz jel elektroforezi görüntüsü.

Her kuyucuk 200 ng DNA (31.53nM) ve 50 mmol/L H₂O₂ içerir. Elektroforez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 3 saat 40 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektroforez tamponu: TAE (40 mM Tris asetat, 1 mM EDTA, pH 8.2). Jellerin fotoğrafı Bio Rad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA). görüntüleme sistemi ile çekildi.

Bu deneyin amacı DNA'da en iyi kesimin UV ile kaç dakika etkileşim sonucu oluştuğuna karar vermektir. Kesim sonucu supercoiled form, lineer ve open circular forma dönüştü. Bu dönüşümün en iyi UV ile 3 dakika etkileşim sonucu olduğuna karar verildi.



Şekil 4.16. Şekerpare etanol ekstraktı için jel görüntüsü

Her kuyucuk 200 ng DNA (31.53nM) ve 50 mmol/L H₂O₂ içerir. Kuyucuk 1; kontrol DNA, Kuyucuk 2; DNA+H₂O₂ (2.5mM), Kuyucuk 3; DNA+UV, Kuyucuk 4; DNA+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 5; DNA+Örnek (1,0 mg/mL)+UV, Kuyucuk 6; DNA+Örnek (0,5 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 7; DNA+ Örnek (1 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 8; DNA+Örnek(1,5 µg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 9; DNA+ Örnek (2,0 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 10; DNA+ Örnek (2,5 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV ile yüklenmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki şekerpare etanol ekstraktlarının supercoiled DNA'yı H₂O₂ fotolizi sonucu oluşan ·OH'ne karşı koruyucu etkileri Agaroz Jel Elektrofrezisi ile incelendi. Elektrofrez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 3 saat 40 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektrofrez tamponu: TAE (40 mM Tris asetat, 1 mM EDTA, pH 8.2). Jellerin fotoğrafı Bio Rad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA) görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları Quantity One programıyla (4.5.2 versiyonu, BioRad Co.) hesaplandı.

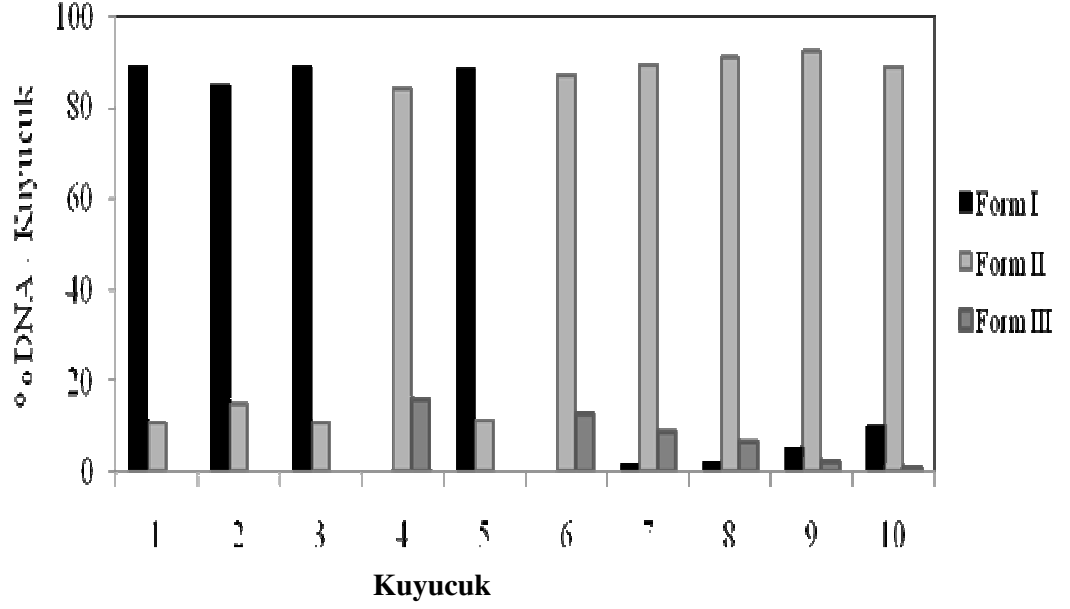
Ayrıca %inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\% I = 1 - [(Sk+m - Sc) / (Sk - Sc)]$$

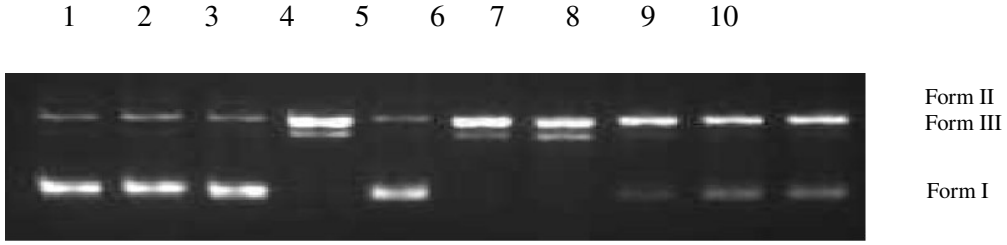
Sk+m = DNA'nın kesimini önleyen madde ile etkileştirilmesinden sonra geriye kalan supercoiled formun yüzdesi

Sc = Kontrol DNA'nın supercoiled formunun yüzdesi

Sk = DNA'nın kesimi önleyen madde dışındaki reaksiyon karışımıyla etkileştirilmesi sonucu geriye kalan supercoiled formun yüzdesi



Şekil 4.17. DNA 'da oksidatif hasar oluşturma ve Şekerpare etanol ekstraktlarının koruyucu özelliğinin gözlenmesi sonuçları grafiği.



Şekil 4.18. Kabaası etanol ekstraktı için jel görüntüsü

Her kuyucuk 200 ng DNA (31.53nM) ve 50 mmol/L H₂O₂ içerir. Kuyucuk 1; kontrol DNA, Kuyucuk 2; DNA+H₂O₂ (2.5mM), Kuyucuk 3; DNA+UV, Kuyucuk 4; DNA+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 5; DNA+Örnek (1,0 mg/mL)+UV, Kuyucuk 6; DNA+Örnek (0,5 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 7; DNA+ Örnek (1 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 8; DNA+Örnek(1,5 µg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 9; DNA+ Örnek (2,0 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV, Kuyucuk 10; DNA+ Örnek (2,5 mg/mL)+H₂O₂ (2.5mM)+UV ile yüklenmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki kabaası etanol ekstraktlarının supercoiled DNA'yı H₂O₂ fotolizi sonucu oluşan ·OH'ne karşı koruyucu etkileri Agaroz Jel Elektrofrez ile incelendi. Elektrofrez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 3 saat 40 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektrofrez tamponu: TAE (40 mM Tris asetat, 1 mM EDTA, pH 8.2). Jellerin fotoğrafı Bio Rad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA). görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları Quantity One programıyla (4.5.2 versiyonu, BioRad Co.) hesaplandı.

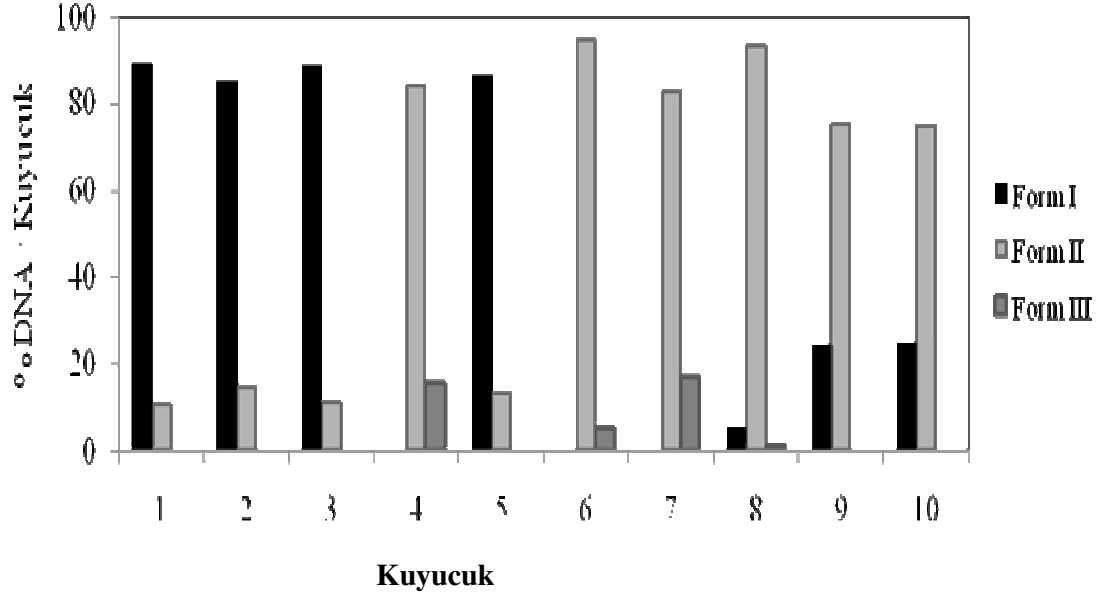
Ayrıca %inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% I = 1 - [(Sk+m - Sc) / (Sk - Sc)]$$

Sk+m = DNA'nın kesimini önleyen madde ile etkileştirilmesinden sonra geriye kalan supercoiled formun yüzdesi

Sc = Kontrol DNA'nın supercoiled formunun yüzdesi

Sk = DNA'nın kesimi önleyen madde dışındaki reaksiyon karışımıyla etkileştirilmesi sonucu geriye kalan supercoiled formun yüzdesi



Şekil 4.19. DNA ‘da oksidatif hasar oluşturma ve kabaası etanol ekstraktlarının koruyucu özelliğinin gözlenmesi sonuçları grafiği.

DNA hasarı için yapılan bu iki jel elektroforezi deneyini yorumlayacak olursak; Şekerpare ve Kabaası ekstraktlarının DNA’yı serbest radikallerden koruma etkisi DNA Agaroz Jel Elektroforeziyle incelendi. Şekil 4.16 ve Şekil 4.18 H₂O₂ fotolizinden sonra ekstraktlar varlığında (0,5-2,5 mg/mL) ve yokluğunda elektroforetik alanda yürüyüşünü göstermektedir. pBluescript M13+plazmid DNA agaroz jelde çift bant gösterdi. (1.kuyucuk). Hızlı yürüyen bant supercoiled DNA ve yavaş yürüyen open circular DNA’dır. DNA’nın H₂O₂ varlığında UV ile etkileştirilmesi (4.kuyucuk) ile supercoiled DNA’da kesimi meydana geldi ve supercoiled formun tamamı, liner ve opencircular forma dönüştü. Şekerpare ve kabaası ekstraktlarının (kuyucuk 6-10) OH radikalleri sonucu oluşan DNA kesimini engellediği gözlemlendi. Şekerpare ve kabaası ekstraktlarının kesim önleme aktivitesi sırasıyla (2,5 mg/mL) % 11,16 ve 27,94 olarak elde edildi.

% inhibisyon değerleri

(mg/ml)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
Şekerpare	0	1,81	2,37	5,71	11,16
Kabaası	0	0	5,71	27,33	27,94

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Ülkemizde özellikle Malatya ve çevresinde bol miktarda yetiştirilen bir meyve olan kayısının, gerek ülkemize ve gerekse ilimize ekonomik açıdan yararlılığını arttırmanın bir yolu da kayısı meyvesinin antioksidan içeriğinin iyi bilinmesi; fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılmasıdır.

Bu çalışmayla, kayısı türünün beş çeşidinin metanol ve etanol ekstraktlarının radikal süpürme aktivitesinin incelenmesine ve bunların oksidatif DNA hasarı üzerine koruyucu etkilerinin belirlenmesine çalışılmıştır.

Yapılan analizlerden; gerek indirgeme gücü analizinde gerekse β karoten beyazlatma yönteminde, ekstraksiyon esnasında kullanılan çözgen sisteminin önemi açıkça görülmüştür. Bu iki analiz için elde edilen sonuçlarda, etanol ekstraktında daha yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle ardışık çözgen isteminin önemi üzerinde durulmaktadır [84].

Yine son zamanlarda depolama sürecinin meyvelerin antioksidan özellikleri üzerine etkisinin olup olmadığı merak uyandırmaktadır. İtalya da yapılan bir çalışmada depolama koşullarının kayısının antioksidan özellikleri üzerine etkisi bulunmamıştır [85]. Aynı zamanda Aydın'da kuru kayısının çeşit ve saklama yöntemine bağlı olarak antioksidan özellikleri araştırılmış; Hacıhaliloğlu çeşidinin kükürtlü ve kükürtsüz örneklerinde total antioksidan ve toplam fenolik bileşik miktarları arasında fark gözlenmezken, Kabaası çeşidinin kükürtlü örneğinin total antioksidan aktivitesi kükürtsüz örneğe göre anlamlı ($p < 0,01$) bir şekilde düşük bulundu [86].

Yaptığımız çalışmada toplam fenolik madde miktarına bakıldı. Toplam fenolik madde en yüksek Şekerpare metanol ekstraktında (22,196 mg GAE / 100 g yaş kayısı) gözlendi. En düşük fenolik madde miktarı ise Çöloğlunun etanol ekstraktında (5,158 mg GAE / 100 g yaş kayısı) gözlendi. Aydın Üniversitesinde yapılan bir çalışmada Hacıhaliloğlunun etanol ekstraktında toplam fenolik madde miktarı Kabaası etanol ekstraktına göre daha düşük çıkmıştır. Bu çalışma bizim çalışmamızla paralellik göstermiştir [86]. Metanol ekstraktları için yapılan toplam fenolik madde analiz sonuçları yine metanol ekstraktlarının indirgeme gücü analizi sonuçlarıyla paralel çıkmıştır. Fakat bazı çalışmalarımızla paralel olmayan sonuçlarda elde edilmiştir. Böylelikle tek bir yöntemle antioksidan aktivite hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı anlaşılmaktadır.

Yaptığımız çalışmalarda ABTS ve DPPH radikal süpürme aktivitesine de bakıldı. Bu iki analiz kıyaslandığında etanol ekstraktlarının sonuçlarının paralel çıktığı, ancak metanol ekstraktlarının sonuçlarının paralel çıkmadığı gözlemlendi. Bunun sebebi olarak, meyvelerdeki şeker ve nem miktarının ölçüm sonuçlarını etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. ABTS analiz sonuçlarına göre; Çöloğlu kayısı çeşiti Hacıhaliloğlu ve Kabaşidan daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar yapılan diğer antioksidan aktivitesi çalışmaları ile çoğunlukla paralel çıktı [87]. Yine Malatya kayısı ile yapılan bir çalışmada Malatya'da yetişen kayısıların diğer yörelerde yetişen kayıslara göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [87].

DPPH analiz sonuçlarına göre de; malatyada yetişen kayısı ekstraktlarında ki antioksidan aktivite standartlardan çok daha düşüktür. Yapılan çalışmalara baktığımızda Japon kayısı ekstraktları üzerinde DPPH yöntemi ile analiz yapılmış, sonuçlar standart antioksidanlar olan BHA ve α -tokoferol ile karşılaştırılmış ve kayısı örneklerinde yaklaşık olarak 2-6 kat daha düşük antioksidan aktivite saptanmıştır [88].

Yine antioksidan aktivite tayini için örnekler β -karoten beyazlatma yöntemi de uygulandı. Sürenin artmasıyla % inhibisyonun azaldığı görüldü. Etanol ekstraktlarında metanole oranla daha yüksek aktivite görülmekle beraber, ekstraktlar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde örnekler arasında gözlenebilir önemli bir fark olmadığı da anlaşıldı.

Yaptığımız çalışmalar da, kayısı örneklerinde kül miktarlarına da bakıldı. Toplam mineral maddelerden oluşan kül, her meyvede farklı ve az miktarlarda bulunmaktadır. Meyvede bulunan mineral maddelerin büyük bir kısmı organik ve inorganik asitler ile suda çözünür özellikte tuz yapmış durumdadırlar. Bundan dolayı meyvelerin işlenmesi sırasında bunların önemli bir kısmı meyve suyuna geçer [83]. Analiz sonunda en yüksek % kül miktarı %14,30 değeri ile etanol ekstraktlarından çöloğlunda gözlenmiştir. Onu yine etanol ekstraktlarından Kabaş (% 14,10) ve metanol ekstraktlarından Şekerpare (%14,15) takip etmiştir. En düşük % kül miktarı da % 8,16 değeri ile metanol ekstraktlarından Kabaşıda gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmalardan bir tanesi de hidroksil radikal yakalama aktivitesinin bir ölçümü olan deoksiriboz yöntemidir. Hidroksil yakalama aktivitesi yüksek olan ürünler, -OH grubunu inaktif forma dönüştürdükleri için önemlidirler. Yapılan deneyde örneklerin konsantrasyonlarının artması ile aktivitenin arttığı görülmüştür. Deoksiriboz sonuçları toplam fenolik madde analizinin (özellikle metanol ekstraktlarında)

sonuçlarıyla paralel çıkmıştır. En yüksek aktivite % 83,67 ve % 83,18 değerleriyle metanol ekstraktlarından Şekerpare ve Kabaasıda gözlenmiştir.

Ve son olarak; DNA'da oksidatif hasar oluşturma ve örneklerin DNA hasarını önleyici özelliğinin gözlenmesi deneyi yapıldı. Şekerpare ve Kabaası etanol ekstraktlarının (2,5 mg/ml) kesim önleme aktivitesi sırasıyla % 11,16 ve % 27,94 olarak elde edildi. Kore'de de Japon kayısısıyla (Prunus nume) yapılan başka bir araştırmada metanol ekstraktının lenfositlerde H₂O₂ ile indüklenmiş DNA hasarı üzerine etkisi incelenmiş ve metanol ekstraktında oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etki saptanmıştır [89].

Elde edilen bulgulardan aşağıdaki sonuçlar çıkartılmıştır.

- Örnekler içerisindeki antioksidan aktiviteye ulaşılması esnasında kullanılan ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözen sisteminin önemi açıkça görülmüştür.
- Yüksek fenolik madde içeriğinin tüm antioksidan aktivite çalışmalarında yüksek sonuç vermediği açıkça görülmüştür. Böylelikle tek bir yöntemle antioksidan aktivite hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı ve antioksidan aktivite belirlenirken bir çok parametre ile bakmanın kesinlikle gerekli olduğu anlaşılmıştır.
- Fenolik bileşenlerin metanol çözenine daha çok geçtiği kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- [1]. B. Halliwell, *Food derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and in vivo*. **Handbook of Antioxidants**, Los Angeles . (2001); 690 p.
- [2]. İ. Yılmaz, *Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres*, **İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, Malatya, (2010).
- [3]. G. Duthie, G. Wahle, K. W. J and James, *Antioxidants and cardiovascular disease*. **Nutr. Res. Rev.** (1989) 2; 51- 62.
- [4]. A. Diplock, *Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients*. *ILSI Europe concise monograph series*, **Belgium** (1998);59 p.
- [5]. R. A. Jacob and B. J Burri; *Oxidative Damage and Defense*, **The American Journal of Clin Nutr**, (1996);63:985S.
- [6]. A.R Collins, M. Dusinska “et al” ; *Oxidative damage to DNA: Do we have a reliable biomarker?* **Environmental Health Perspectives**, (1996);104: 465-469.
- [7]. K. Randerath, G. Zhou “et al”; *Enhanced levels in neonatal rat liver of 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidatif DNA lesion*, **Carcinogenesis**, (1997);18:7 1419-1421.
- [8]. Z. Fang, G. Zhang “et al”; *Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices*. **Food Chemistry**, (2009);113:884-888.
- [9]. N. Pellegrini, C. Miglio, Del Rio D, et al; *Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables*. **Int J Food Sci Nutr**, (2009); 60 (Suppl 2): 12–22.
- [10]. DV. Ratnam, DD. Ankola, V. Bhardwaj, et al; *Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective*. **J Control Release**, (2006);113: 189–207.
- [11]. E. Cemeli, A. Baumgartner and D. Anderson; *Antioxidants and the Comet assay*. **Mutat Res**, (2009); 681: 51–67.
- [12]. M. Pflaum, O. Will, B. Epe. *Determination of steady-state levels of oxidative DNA base modifications in mammalian cells by means of repair endonucleases*. **Carcinogenesis**, (1997);18: 2225-2231.
- [13]. P. Mecocci, M.C. Polidori, T. Ingegni “et al”. *Oxidative damage to DNA in lymphocytes from AD patients*, **Neurology**, (1998);51:1014-1017.

- [14]. M.S. Cooke, M.D. Evans, M. Dizdaroğlu, J. Lunec; *Oxidative DNA damage: Mechanisms mutation and disease*. **Faseb Journal**, (2003);17: 1195-1214.
- [15]. İ. Akkuş; *Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri*, **Mimoza Yayınları**, Konya, 1995.
- [16]. V. Bercu, CD. Negut, OG. Dului. *EPR studies of the free radical kinetics in γ -rays irradiated Pleurotus ostreatus oyster mushrooms*. **Food Res Int**, (2011);44: 139-145.
- [17]. C. Rice Evans, B. Halliwell, GG. Lunt; *Free radicals and food additives*. **Biochemical Society Symposium**, (1995); 61: 247-258.
- [18]. S. Velioğlu; *Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri*. **Gıda Dergisi**, (2000);25: 167-176.
- [19]. C. Henry, WS. Chan. *Oxygen free radicals in food*. **Proc Nutr Soc**, (1987) 46: 35-41
- [20]. AJ. Baublis, C. Lu “et al”. *Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants*. **J Am Coll Nutr**, (2000);19: 308-311.
- [21]. K. Takım. *Kiraz yaprağı ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin ve oksidatif DNA hasarı üzerine etkisinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya (2010).
- [22]. V. Rohan, RU. Tikekar, A. Johson, N. Nitin. *Fluorescence imaging and spectroscopy for real-time, in-situ characterization of interactions of free radicals with oil-in-water emulsions*. **Food Res Int**, (2011);44:139-145.
- [23]. M. K. Gümüştaş, P. Atukeren: *Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi; Türkiyede Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi*. (2008);S: 329-340.
- [24]. ř. Gökpınar, T. Koray, E. Akçiçek, T. Göksan, ve Y. Durmaz, *Antioksidanlar*. **E.Ü. Su Ürünleri Dergisi**, (2006);23: 85-89.
- [25]. A. King, G. Young. *Charecteristics and occurence of phenolic phytochemicals*. **J.A.D.A.** (1999); 99: 213-218.
- [26]. L. Bravo, *Polyphenols: Chemistry dietary sources, metabolism and nutritional Significance*. **Nutrition Reviews**, (1998);56:11, 317-333.
- [27]. M. Pehlivan, M. Güler yüz. *Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi*. **Bahçe**. (2004);33 (1-2): 51-57.

- [28]. İ. Saldamlı, Gıda Kimyası Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, (2007) 463-492.
- [29]. Anonim. *Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler*. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara (2006).
- [30]. G. Bilaloğlu, V. M. Harmandar. *Flavonoidler*. **Aktif Yayınevi**, İstanbul, (1999);334-354.
- [31]. B.T. Havsteen. *The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids, Pharmacology & Therapeutics*, (2002);96, 67–202.
- [32]. G. Cao, E. Sofic, R.L. Prior. *Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships*. **Free Radical Biology and Medicine**, (1997); 22, 5, 749–760.
- [33]. J. Sochor, O. Zitka “et al”. *Content of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity in Fruits of Apricot Genotypes*, **Molecules**, (2010);15, 6285-6305io.
- [34]. A. Ruiz, I. Hermosin-Gutierrez, C.Mardones. *Polyphenols and Antioxidant Activity of Calafate (Berberis microphylla) Fruits and Other Native Berries from Southern Chile*. **J. Agric. Food Chem.** (2010);58,6081-6089.
- [35]. A. Scalbert, C. Manach, C. Morand. *Dietary polyphenols and prevention of diseases*, **Critical Rev. Food Sci. Nutr.**, 45: (2005) 287-306.
- [36]. MEGEP Gıda Teknolojisi. Ankara MEB (2007).
- [37]. A. Borazan, N. Sekitmez, S.Aydemir. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* (2003); 12 (4) 221-224
- [38]. Dr Gül Öz. Onuncu Ulusal İç Hastalıkları Kongresi Antalya (2008).
- [39]. By John N.Hathcock, Ph.D.(CRN) Vitamin and Mineral Safety (2004).
- [40]. A. Bardia. **Mayo Clin Proc.** January 2008;83(1):23-24.
- [41]. Ch. Bayerl *Acta Dermatoven APA Vol 17*, (2008);No 4
- [42]. A. Engle, J. E. Muscat, R. E. Harris. **Nutr. Cancer.** (1991);15, 239
- [43]. M. S. Donaldson. *Nutrition and cancer: A review of evidence for an anti-cancer diet*. **Nutrition Journal.** (2004);3:19.
- [44]. T. Byers, J. Marshall, S. Graham, C. Mettlin, M. A. Swanson. *J. Natl. Cancer Inst.* (1983);71, 681.
- [45]. A. D’Odorico et al. : *Atherosclerosis* 153 (2000) 231–239.
- [46]. F. Grodstein, JH. Kang “et al”. **JM.Arch Intern Med.** (2007 Nov); 12;167(20):2184-90

- [47]. Ö. Görünmezoğlu. *Kayısı ve incir meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın (2008).
- [48]. E.Yılmaz, *Nükleik asitlerin yapısı, fonksiyonu ve genom organizasyonu*. Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Türk Hematoloji Derneği, Ankara.
- [49]. A. Bruce, A. Johnson, J. Lewis “et al”. *Molecular Biology of the Cell; Fourth Edition New York and London: Garland Science*. (2002);ISBN 0-8153-3218-1.
- [50]. M. Mandelkern, J. Elias “et al”. *The dimensions of DNA in solution*. **J Mol Biol** 152 (1): 153–61. (1981):doi:10.1016/0022-2836(81)90099-1 PMID 7338906.
- [51]. S. Gregory “et al”. *The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1*. *Nature* 441 (7091): (2006); 315–21. doi: 10.1038/nature
- [52]. B. Yokuş, D. Ü. Çakır, **Türkiye Klinikleri J Med Sci** (2002);22:535-543, Diyarbakır.
- [53]. M.S. Donaldson, *Nutrition and Cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet*, **Nutrition Journal** (2004); 3:19 doi:10.1186/1475-2891-3-19.
- [54]. V. Sgarbieri, *The role of dietary energy and of macro componenets of foods in modulating carcinogenetics*, **Ciencia e Cultura**, (1999);51: 104-121.
- [55]. S. Chan, B. Person, S. Subramanian. *The role of copper, selenium, zinc and molybdenium in Nutrition and Health*. **Clin Lab. Med**, (1998);8: 673-85.
- [56]. C.L. Rock. **Pure Appl. Chem.**, Vol. 74, No. 8, pp. 2002 IUPAC; 1451-1459.
- [57]. H.H. Charles. **The New England Journal of Medicine**. (May 2,1996);(334)18
- [58]. H. Ning, T. Zon, *Protective Effects of a Freze-Dried Extract of Vegetables and Fruits on the Hydroxyl Radical-Mediated Oxidative Damage of DNA and Decrease of Erythrocytes Deformability*, **Applied Biochemistry and Biotechnology**, (2007);Vol. 141.
- [59]. D.O. Kim, S. Jeong, C.Y. Lee, *Antioxidatif Capacity of Phenolic Phytochemicals from Various Cultivars of Plums*, **Food Chemistry**. (2003);81 321-326.
- [60]. B. J. Baechler, F. Nita, L. Jones, **Plant Foods Hum Nutr**. (2009) 64:81-85.
- [61]. EB. Akin, I. Karabulut, A. Topcu, *Some Compositional Properties of Main Malatya Apricot Varieties*. **Food Chem**. (2008);107:939-48.
- [62]. V. Di Matteo, E. Esposito, *Curr Drug Target Neurol Disord* (2003); 2:95-107
- [63]. B. M. Asma, *Kayısı Yetiştiriciliği*, Evin yayıncılık, Malatya, 2000.

- [64]. Tuncay Kan, *Kayısıda (Prunus armeniaca L.) Kükürtleme Uygulamasının Bazı Antioksidant Madde İçerikleri Üzerine Etkileri*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 2007.
- [65]. Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Tarım Köy İşleri Bakanlığı
- [66]. I. E. Orhan, M. Kartal, **Food Research International**, (2010);doi: 10.1016, 11.014.
- [67]. JJ Macheix, A. Fleuriet, J. Billot. *Fruit phenolics*; CRC Pres, Boca Raton (1990).
- [68]. M. Radi, M. Mahrouz, A. Jaouad “et al”. **Hort Science**, (1997);32:1087-1091
- [69]. V. Dragovic-Uzelac, B. Levaj “et al”. **Food Chem** (2007);102:966-975
- [70]. D. Ruiz, J. Egea “et al”. *Characterization and quantitation of phenolic compounds in new apricot (Prunus armeniaca L.) varieties*. **J Agric Food Chem** (2005); 53: 9544–52.
- [71]. Kayısı Yetiştiriciliği Sorunları ve Çözüm yolları. Kayısı Araştırma Geliştirme ve Tanıtma vakfı Malatya Ticaret Borsası 1. Kayısı sempozyumu Paneli, 8-9 Aralık 1989, Malatya.
- [72]. T. Sobutay. Kayısı sektör araştırması. İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Araştırma Servisi (2003).
- [73]. R. Gülcan, A. Mısırlı, N. Eryüce, T. Demir ve H. Sağlam, Kayısı Yetiştiriciliği, İzmir, (2001);212.
- [74]. Dış Ticaret İstatistikleri, EBİM, Dış Ticaret Müsteşarlığı.
- [75]. S. Mathew, T.E. Abraham, *In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extracts assayed by different methodologies*. **Food and Chemical Toxicology**, (2006);44: 198-206.
- [76]. N. Smirnoff, Q.J. Cumbes, *Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes*, **Phytochemistry**, (1989); 28: 1057–1060.
- [77]. A. Moure, D.Franco, J. Sineiro “et al”. *Antioxidant Activity of Extracts From Gvuina avella and Rosa rubiginoza Defatted Seeds*, **Food Res.Int.**, (2001);34 103-109.
- [78]. J.Y. Hwang, *Antioxidative Activity of Roasted and Defatted Peanut Kernels*, **Food Research International**, (2001);34:7 639-647.

- [79]. G.C.Yen, H. Chien, *Effects of Alkaline and Heat Treatment on Antioxidative Activity and Total Phenolics of Extracts from Hsian-Tsao (Mesona Procumbens Hemsl.)*, **Food Research International**. (2000);33:487-497
- [80]. D. Huang, B. Ou and R.L. Prior. *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. Reviews. **Journal of Medicine Food Chemistry**. (2005);53,1841-1856
- [81]. Anonim, Official Methods of Analysis Association of Chemists, Washington DC (1975).
- [82]. K. Fukuhara, N. Miyata, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (1998);8:3187-3192.
- [83]. B. Cemeroglu Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. Teknik Basım Sanayii Matbaası, Ankara (1982).
- [84]. Patricia Garcia-Salas , Aranzazu Morales-Soto, Antonio Segura-Carretero, *Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples*, **Molecules**, (2010), 15, 8813-8826.
- [85]. A. Leccese, S. Bureau “et al”, *Pomological and Nutraceutical Properties in Apricot Fruit: Cultivation Systems and Cold Storage Fruit Management*, **Plant Food Hum Nutr**, (2010) 65:112-120
- [86]. A. A. Karagözler, Ö. Görünmezoğlu, *Kuru kayısının çeşit ve saklama yöntemine bağlı olarak antioksidan özelliklerinin araştırılması*, 21. Ulusal Kimya Kongresi 2007.
- [87]. K. Güçlü, M. Altun “et al”. *Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (Prunus armeniaca) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods*, **International journal of Food Science and Techonology**, (2006); 41,76-85.
- [88]. J. H Yoon., D. C. Yang and W. S Song. *Antioxidative activity of the extracts of apanes apricot (Prunus Mume Sieb. Et. Zucc) Korean*. **Journal of Plant Research**, (2005); 8(3): 188-193.
- [89]. T. K. Kim, Mi-Ran Cha “et al”. *Antioxidative Activity of Methanol Extract from Prunus mume Byproduct*, **Cancer Prevention Research**, (2005);10, 251-256.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Malatya' da doğdu. İlk ve orta eğitimini Malatya'da tamamladı. 2007 yılında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünden mezun oldu. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Tezsiz Yüksek Lisans mezun oldu. 2009 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans başladı.