



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FINDIKTAKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK TAYİNİ**

**Fatih ÖZTÜRK
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı**

**Danışman
Doç.Dr. Mehmet ALTUN**

Kasım, 2012

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FINDIKTAKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK TAYİNİ**

**Fatih ÖZTÜRK
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı**

**Danışman
Doç.Dr. Mehmet ALTUN**

Kasım, 2012

İSTANBUL

Bu çalışma 03/12/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Doç.Dr. Mehmet ALTUN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof.Dr. Cemil İBİŞ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof.Dr. Muhammed ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi
Kimya-Metalurji Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü



Doç.Dr. Mustafa ÖZYÜREK
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç.Dr. Kubilay GÜÇLÜ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 6504 numaralı projesi ile desteklenmiştir. Fındık numunelerinin temininde Giresun Fındık Araştırma Enstitüsü'nün desteği için teşekkür ederiz.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen rahmetli hocam Prof. Dr. Hacı ORAK, tez danışmanım Doç Dr. Mehmet ALTUN'a, aynı süre boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı sayın Doç. Dr. Kubilay GÜÇLÜ, Doç. Dr. Mustafa ÖZYÜREK, Ar. Gör. Dr. Esin ÇELİK, Ar. Gör. Dr. Burcu BEKTAŞOĞLU, Ar. Gör. Mustafa BENER, Ar. Gör. Esin KONDAKÇI, Nilay GÜNGÖR ve Sefa BAKI'ye en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olup desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme, çalışmalarım süresince her türlü katkı sağlayan hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tezimle aynı adı taşıyan 6504 sayılı projeme maddi destek sağlayan İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve fındık numunelerinin temininde yardımlarını gördüğüm Giresun Fındık Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

KASIM, 2012

Fatih ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	x
1 GİRİŞ	1
2 GENEL KISIMLAR.....	5
2.1 TÜRKİYE’DE FINDIK ÜRETİMİ VE ÖNEMİ	5
2.2 KALİTELERİNE GÖRE FINDIK ÇEŞİTLERİ.....	7
2.2.1 Giresun Kalite	7
2.2.2 Levant Kalite.....	7
2.3 KABUKLU FINDIKLAR.....	7
2.3.1 Yuvarlak Fındıklar (Tombul Fındıklar)	7
2.3.2 Sivri Fındıklar	8
2.3.3 Badem Fındıklar.....	8
2.4 İŞLENMİŞ FINDIK ÜRÜNLERİ.....	8
2.4.1 Beyazlatılmış iç fındık	8
2.4.2 Kavrulmuş iç fındık.....	8
2.4.3 Kıyılmış iç fındık	11
2.4.4 Dilinmiş iç fındık	11

2.4.5	Öğütülmüş fındık	11
2.4.6	Fındık Ezmesi	11
2.4.7	Fındık Füresi	11
2.4.8	Yağda kavrulmuş veya tuzlanmış bütün fındık.....	11
2.4.9	Kavrulmuş kabuklu fındık	12
2.5	FINDIĞIN BİLEŞİMİ	12
2.6	ANTİOKSİDANLAR.....	13
2.7	ANTİOKSİDANLARIN YAPILARINA GÖRE SINIFLANDIRILMASI	16
2.7.1	Fenolik Antioksidanlar	16
2.7.2	Aromatik Antioksidanlar.....	16
2.7.3	Organik Kükürtlü Bileşikler.....	17
2.8	ANTİOKSİDANLARIN ETKİ MEKANİZMALARINA GÖRE SINIFLANDIRILMASI.....	17
2.8.1	Primer Antioksidanlar	17
2.8.2	Sekonder Antioksidanlar.....	17
2.9	DOĞAL ANTİOKSİDANLAR VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ	18
2.9.1	C-Vitamini	18
2.9.2	E-Vitaminleri (tokoferoller).....	18
2.9.3	Polifenolik Bileşikler	19
2.9.4	Karotenoidler.....	31
2.10	SENTETİK ANTİOKSİDANLAR	32
2.10.1	Butillenmiş Hidroksi Anizol (BHA)	32
2.10.2	Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT).....	32
2.10.3	Gallatlar.....	33
2.10.4	Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)	33
2.10.5	Nordihidroguareyetik asid (NDGA)	34
2.11	SPEKTROSKOPİK ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ.	34

2.11.1	FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Metodu	35
2.11.2	TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi)/ABTS Yöntemi.....	36
2.11.3	DPPH Yöntemi	37
2.11.4	Folin Ciocalteu Yöntemi	38
2.11.5	TRAP (Toplam Radikal Tutma Potansiyeli) Yöntemi.....	38
2.11.6	Luminol Yöntemi	39
2.11.7	Diklorofloresein-diasetat (DCFH-DA)	39
2.11.8	TOSC (Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi) Yöntemi.....	40
2.11.9	Krosin Esaslı Yöntemler	40
2.11.10	Fikoeritrin (PE) Esaslı Yöntemler.....	41
2.11.11	ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) Yöntemi	42
3	MALZEME VE YÖNTEM	44
3.1	FINDIK ÖRNEKLERİ	44
3.2	KULLANILAN CİHAZLAR.....	44
3.3	KİMYASAL MADDELER.....	45
3.3.1	Çözeltilerin Hazırlanması	45
3.3.2	Fındık içlerinin ekstraksiyonu.....	46
3.4	UYGULANAN YÖNTEMLER.....	46
3.4.1	CUPRAC Yöntemi (Bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini) spektrofotometrik inceleme	46
3.4.2	Fındık yağı örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde CUPRAC-DCM yöntemi	47
3.4.3	ABTS/persülfat toplam antioksidan kapasitesi ölçümü	47
3.4.4	DPPH radikal süpürme aktivitesinin tayini.....	48
3.4.5	Folin-Ciocalteu toplam fenolik içerik	48
3.4.6	Fındık içi ekstralarında fenollü antioksidanların HPLC analizi.....	48
4	BULGULAR	50

4.1	CUPRAC VE ABTS/PERSÜLFAT TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (TAC)	50
4.2	DPPH RADİKAL SÜPÜRME AKTİVİTESİ.....	51
4.3	FOLİN-CIOCALTEAU TOPLAM FENOLİK İÇERİĞİ.....	52
4.4	SERBEST FENOLİK VE HİDROKSİSİNNAMİK ASİTLERİN TESPİTİ VE MİKTARLANDIRILMASI.....	53
5	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	57
	KAYNAKLAR	58
	ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1: Fındık içi ve fındık yan ürünleri.	2
Şekil 2.1: Türkiye’de yetişen fındık çeşitlerinin resimleri.....	9
Şekil 2.2: Türkiye’de yetişen fındık çeşitlerinin resimleri (Devamı)	10
Şekil 2.3: Sesamol.....	16
Şekil 2.4: 2,2’-Dilauril ditiyopropiyonat.....	17
Şekil 2.5: C-vitamini	18
Şekil 2.6: α -tokoferolün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.7: Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı.	20
Şekil 2.8: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları (R = H veya OH olabilir).	21
Şekil 2.9: Rutin, apigenin, krisin ve luteolin’in kimyasal yapısı	22
Şekil 2.10: Kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferolün moleküler yapısı.....	23
Şekil 2.11: Naringenin, naringin, hesperetin ve hesperidin kimyasal yapıları	24
Şekil 2.12: Genistein ve daidzeinin kimyasal yapıları.....	24
Şekil 2.13: Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallatın kimyasal yapıları	25
Şekil 2.14: Siyanidin, malvidin, apigenidin, delfinidin kimyasal yapıları.....	26
Şekil 2.15: Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı.....	28
Şekil 2.16: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları.....	30
Şekil 2.17: Fenolik polimerlerin yapısı.....	31
Şekil 2.18: β -karotenin yapısı	31
Şekil 2.19: Butillenmiş hidroksi anizolün (BHA) kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.20: Butillenmiş hidroksi toluenin (BHT) kimyasal yapısı.....	33
Şekil 2.21: Propil, dodesil ve oktil gallatların kimyasal yapıları	33
Şekil 2.22: Nordihidroguayaretik asidin (NDGA) kimyasal yapısı.	34
Şekil 2.23: ABTS ⁺ katyonunun yapısı.....	36
Şekil 2.24: ABTS radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu.	37
Şekil 4.1: Yağı giderilmiş Sivri isimli Türk fındığı örneğinden ekstrakte edilen serbest fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı	56

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. 2001-2009 Türkiye Fındık Üretim, Tüketim ve İhracatı.....	5
Tablo 2.2. Dünya fındık üretim ve tüketimi yıllara göre dağılımı.....	5
Tablo 2.3. 01.01.2010–31.12.2010 tarihleri arasında kayda alınan Türkiye fındık ihracatı.....	6
Tablo 2.4. Flavonoidlerin sınıflandırılması, adları, temsili formülleri, süstitüsyon modelleri ve besin kaynakları	29
Tablo 4.1. 15 Farklı fındık yağı örneğinin toplam antioksidan kapasiteleri (trolloks ekivalenti olarak) ve radikal süpürme aktivitesi	51
Tablo 4.2. Yağı giderilmiş, zarı alınmış 15 farklı kuru Türk fındık içi çeşidinin sulu metanollü ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi, radikal süpürme aktivitesi ve toplam fenolik içerikleri (trolloks eşdeğerleri olarak).....	52
Tablo 4.3. HPLC-DAD analizleri kullanılarak Türk fındık çeşitlerinde tespit edilen serbest fenolik asitler.....	54
Tablo 4.4. Zarsız fındık içlerinin metanollü ekstratlarında serbest fenolik ve hidroksisinnamik asitlerin içeriği ($\mu\text{g/g}$ olarak).....	55

SEMBOL LİSTESİ

CUPRAC	: bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
Cu(II)-Nc	: bakır(II)-neokuproin
Cu(I)-Nc	: bakır(I)-neokuproin
HPLC	: yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ROS	: reaktif oksijen türleri
RNS	: reaktif azot türleri
UV	: ultraviyole
ϵ	: molar absorblama katsayısı
TAC	: toplam antioksidan kapasitesi
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin)-6-sülfanik asit diamonyum tuzu
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
LDL	: düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	: yüksek yoğunluklu lipoprotein
MDA	: malonodialdehit
AOP	: antioksidan potansiyelleri
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç Yönetimi Dairesi
DCM	: diklorometan
ROS	: reaktif oksijen türleri
NDGA	: nordihidroguayaretik asid
BHA	: butillenmiş hidroksi anisol
BHT	: butillenmiş hidroksi toluen
TBHQ	: tersiyer butil hidrokinon
RNS	: reaktif azot
TRAP	: toplam radikal antioksidan potansiyeli
FRAP	: demir (III) indirgeme antioksidan gücü
TEAC	: troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
ABAP	: 2,2'-azobis-(2-amidinopropan)HCl
HRP	: horse radish peroxidase
AAPH	: 2,2'-azobis (2-amido propan) hidroklorürden
DCFH-DA	: diklorofloresein-diasetat
DCF	: diklorofloresein
TOSC	: toplam oksiradikal uzaklaştırma kapasitesi
KMBA	: α -keto- γ metiolbutirik asitin
PE	: Fikoeritrin
ORAC	: oksijen radikal absorbans kapasitesi
Cu(II)-Nc	: bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)
Nc	: neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)
CT	: kateşin
GA	: gallik asit
VA	: vanilik asit
SA	: sinapik asit
EC	: epikateşin
CFA	: kafeik asit
FRA	: ferulik asit
COU	: p-kumarik asit
TE	: troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)
PA	: protokatekuik asit
SYA	: sirinjik asit

ÖZET

FINDIKTAKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK TAYİNİ

Fındık, besleyici değerleri (yağ, protein, karbohidrat, diyet lifi, vitaminler, mineraller ve fenolikler) açısından insan hayatında önemli bir rol oynar. Bu çalışmanın amaçları, Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinde, Giresun ilinde hasat edilen 15 farklı kuru Türk fındık çeşidinin (*Corylus avellana* L.) kabuksuz iç kısmının fenolik bileşimi ve içeriğinin toplam antioksidan kapasitesi (TAC) ve serbest radikal süpürme aktivitesini HPLC; Folin, CUPRAC, ABTS ve DPPH denemeleri ile bulmaktır.

Fındık içleri ve yağ örneklerinin sulu metanollü ekstraktları ayrı ayrı analiz edilmiştir. Türk fındık içlerinde bulunan serbest fenolik bileşenler ayrı ayrı analiz edilmiş ve HPLC ile tanımlanıp miktarlandırılmıştır. Kuru fındık numuneleri arasında Mincane en yüksek TAC_{CUPRAC} değerini göstermiştir ($2,98 \pm 0,37$ mmol TE/g) (n=3). Acı, Sivri, Mincane, Palaz ve Yassı Badem numunelerinin fenolik içeriği diğerlerine oranla daha yüksek bulunmuştur. Fındık yağı örnekleri için, TAC_{CUPRAC} sonuçları TAC_{ABTS} sonuçlarına göre daha yüksektir. Yağ numuneleri arasında, Tombul en yüksek DPPH radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (%84±3). Kuru fındık içlerinin metanollü sulu ekstraktları arasında, Yuvarlak Badem türünün radikal süpürme aktivitesi en yüksektir (%59±4). Bu çalışma CUPRAC yönteminin Türk fındık antioksidan karakterizasyonuna uygulandığı ilk örnektir. Ayrıca fındık yağlarına CUPRAC ve DPPH analizi ilk kez uygulanmıştır.

SUMMARY

COMPARATIVE EVALUATION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF HAZELNUT BY SPECTROPHOTOMETRIC METHODS

Hazelnut plays a major role in human health because of its nutritional values, i.e. fat, protein, carbohydrate, dietary fibre, vitamins, minerals and phenolics. The objectives of this study were to determine the phenolic composition and content, total antioxidant capacity (TAC), and free radical scavenging activity – using HPLC, Folin, CUPRAC, ABTS and DPPH assays – of 15 different dry Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels without skin, cultivated in Giresun province (in the Black Sea region) of Turkey.

The aqueous methanolic extracts of hazelnut kernels and of oil samples were separately analyzed. The free phenolic constituents found in Turkish hazelnut kernels were individually identified and quantified by HPLC. Among the dry hazelnut cultivars, Mincane showed the highest TAC_{CUPRAC} as 2.98±0.37 mmol TE/g (n=3). The phenolic content of Aci, Sivri, Mincane, Palaz and Yassı Badem cultivars were found to be higher than those of other cultivars. For hazelnut oil samples, TAC_{CUPRAC} results were higher than TAC_{ABTS} values. Among oil samples, Tombul showed the highest percentage of DPPH radical scavenging activity (84±3 %). Among methanolic aqueous extracts of dry hazelnut kernels, radical scavenging activity of Yuvarlak Badem (59±4 %) was the highest. This work is the first application of the CUPRAC method to Turkish hazelnut antioxidant characterization, and of the CUPRAC and DPPH assays to hazelnut oils.

1 GİRİŞ

Türkiye fındığın en büyük üreticisi olup dünya üretiminin %65'ini karşılamaktadır. 2009-2010 döneminde, Türkiye 90 ülkeye 213 milyon ton fındık ihraç etmiş ve yaklaşık 1,34 milyar dolar kazanmıştır. Türk fındığı kalitesine göre iki kısma ayrılır: "Giresun" ve "Levant"; bunun dışında biçimine ve aromatik özelliklerine göre "yuvarlak" ve "sivri" şeklinde bir sınıflandırma da vardır. Giresun kalite fındıklar Giresun'un her tarafında ve Trabzon'un belli bölgelerinde yetişmektedir. Bu türler arasında Tombul dünya çapında tanınmaktadır. Türk Levant çeşitlerinin yağ içeriği Giresun'dakilerden daha az olmakla beraber muhtemelen diğer ülkelerde yetişen benzer türlere göre daha yüksektir. Türkiye'de hasadı yapılan on yedi fındık türü Aç, Cavcava, Çakıldak, Foça, İncekara, Kalıncara, Kan, Karafındık, Kuş, Mincane, Palaz, Sivri, Tombul, Uzunmusa, Yassı Badem, Yuvarlak Badem olarak isimlendirilmektedir [1-2].

Fındık insan beslenmesinde ve sağlıkta yağ, protein, karbohidrat, diyet lifi, vitaminler, mineraller ve fenolik içerik açısından önemli bir rol oynamaktadır. Doğal antioksidanları içeren gıdaların tüketilmesi (örneğin bitkiler, meyveler ve sebzelerden) doku hasarları ile, istenmeyen dönüşümlerle ve sağlık riskleriyle başetmek için en etkili yöntem olarak kabul edilmektedir. Oksidatif stres koşulları, organizmanın antioksidan savunması ile reaktif türler arasındaki bir dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Fındıklarda, fenolik ve hidrokisinnamik asitler gibi pek çok fenollü antioksidanın varlığı (gallik, kafeik, protokatekuik, vanilik, *p*-kumarik, ferolik, sinapik asitler), flavonoidler (kateşin, kuersetin, mirisetin, kampferol), vitaminler (vitamin E, α - tokoferol) bildirilmiştir. Fındık yağı E vitamini açısından çok zengindir; 25-30 g fındık tüketildiğinde günlük E vitamini gereksiniminin %100'ü karşılanmaktadır. Son zamanlarda, taze ve kuru fındıkta tohum kabuğu, fındığın yeşil, yaprağımsı kabuğu, kabuk atığı, derisi ve yaprağında, bunlar varken veya yokken antioksidan/antiradikal aktivite ve fenolik içerik araştırılmıştır [2].

Fındığın yüksek bir yağ içeriği vardır. Fındıkta tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri temel yağ asidi bileşikleridir. Bu bileşikler, düşük yoğunluklu lipoprotein'in (LDL) yükseltgenmeye karşı dayanıksızlığını, plazmada yükseltgenmiş LDL seviyelerini azaltarak ve büyük/küçük LDL oranını artırarak sağlığa faydalı etkiler gösterebilir. Fındık alımından sonra plazma örneklerinin malonodialdehit (MDA) seviyeleri ciddi ölçüde daha düşük ve antioksidan potansiyelleri (AOP) daha yüksektir, bu da peroksidasyon reaksiyonlarının fındıktaki antioksidan bileşenleri tarafından giderildiğini ortaya koymaktadır [2].

Türk fındık içi ve yan ürünlerinin antioksidan aktivitesi ve fenolik içeriği hakkında bazı çalışmalar yayınlanmış olsa da (Şekil 1), bu çalışmalar yalnızca az sayıda fındık türüyle ilgilenmiştir. Bu çalışmada, Karadeniz bölgesinde toplanan 15 farklı türde kuru Türk fındığı (*Coryllus avellana* L) içinin fenolik içeriği, toplam antioksidan kapasitesi ve serbest radikal süpürme aktivitesi ilk kez tayin edilmiştir. Bildiğimiz kadarı ile, bir bitki yağına daha önce TAC ölçümü CUPRAC yöntemi ile uygulanmamıştır. Serbest fenolik içerik (temelde fenolik ve hidroksisinnamik asitler) HPLC ile tanımlanmış ve miktarlandırılmıştır.



Şekil 1.1. Fındık içi ve fındık yan ürünleri.

Bu çalışmada özellikle ekonomik öneme sahip farklı fındık çeşitlerinde bulunan fenolik bileşiklerin ekstraksiyon işleminden sonra spektrofotometrik yöntemlerle karşılaştırmalı tayin edilmiştir. Fındık üretim ve ihracatında Türkiye dünya üzerinde lider ülke konumundadır. Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç Yönetimi Dairesi (FDA) tarafından onaylanan tebliğe göre kabuklu yemişlerin kalp damar hastalıkları riskini azalttığı açıklanmıştır. Bu açıdan bakıldığında fındığın da içerisinde yer aldığı tüm

kabuklu yemişlere duyulan ilgi her geçen gün büyüyerek artmaktadır. Fındık, Türkiye’de üretilen ve dünyanın diğer ülkelerine ihraç edilen bir ürün olmasına rağmen fenolik içerikleriyle ilgili araştırmalar yeteri kadar yaygın olmayıp son yıllarda önem kazanmaya başlamıştır [3].

Fenolik bileşikler antioksidan etkiye sahip olup fonksiyonel gıda bileşenleri arasına girmektedirler. Bu nedenle fenolik bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar son yıllarda artmıştır. Bu bileşenler metabolizmada göstermiş oldukları etkiler nedeniyle tavinleri önem kazanmaktadır. Çünkü antioksidan özellik gösteren bu bileşikler serbest radikalleri süpürme özelliğine sahip olup insanları kötü huylu kolesterole (LDL), DNA hasarlarına, kalp ve damar hastalıkları, yaşlanma vb. etkilere karşı koruyucu etki göstermektedir. Fındık kullanım alanının genişletilmesi, çeşitli endüstriyel ürünlerde daha fazla kullanılabilmesi özel öneme sahiptir [4-11].

Fındık, gıda üretimine hem doğrudan girmekte hem de fındık yağı olarak kullanılmaktadır. Her iki durumda da içerdiği fenolik maddeler (α -tokoferol, gallik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, epikateşin, sinapik asit, kuersetin vb.) nedeniyle beslenme, sağlık ve gıdaların raf ömrünün uzamasında önemli bir yere sahiptir [4,13-14].

Bu tez çalışmasında Giresun Fındık Araştırma Enstitüsünden temin edilen 15 fındık çeşidinde hidrofilik ve lipofilik özelliğe sahip fenolik maddeler spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilmiştir.

Deneysel çalışmalar sırasında fındık örnekleri Soxhlet ekstraksiyon sistemiyle fındık yağı elde edilmiştir. Elde edilen fındık yağlarının vakum altında solvent (hekzan) içeriğinden kurtarılması ve bunların diklorometan (DCM) içerisinde çözünmesi, DCM’li yağ örneklerinin lipofilik toplam antioksidan kapasitelerinin spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmesi, yağsız fındık bakiyesinin (et kısmı) %80’lik metanolle ekstraksiyonu ve bu metanolik ekstraktların toplam antioksidan kapasitelerinin (hidrofilik antioksidan kapasite) tayini gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidan kapasite ölçümünde esas olarak spektrofotometrik CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) toplam antioksidan kapasite tayini yöntemi uygulanmış ve bu yöntem bulguları diğer bir elektron transfer esaslı (ET-esaslı) yöntem olan ABTS referans yöntemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Bunun yanısıra HPLC fındık çeşitlerindeki antioksidan içerikleri de tayin edilmiştir. Ayrıca bu çeşitli fındık örneklerinin serbest radikal süpürme aktiviteleri DPPH yöntemiyle, toplam fenolik içerikleri ise Folin yöntemiyle belirlenmiştir.

Bu çalışmanın amaçları, Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinde, Giresun ilinde hasat edilen 15 farklı kuru Türk fındık çeşidinin (*Corylus avellana* L.) kabuksuz iç kısmının fenolik bileşimi ve içeriğinin toplam antioksidan kapasitesi (TAC) ve serbest radikal süpürme aktivitesini HPLC; Folin, CUPRAC, ABTS ve DPPH denemeleri ile bulmaktır.

2 GENEL KISIMLAR

2.1 TÜRKİYE'DE FINDIK ÜRETİMİ VE ÖNEMİ

2008-2009 fındık üretimi verilerine göre (Tablo.2.1) Türkiye fındık üretimi 801,000 ton olarak gerçekleşmiş olup dünyanın en büyük fındık üreticisidir. Fındık üretiminde Türkiye'yi sırasıyla İtalya, Amerika Birleşik Devletleri ve İspanya izlemektedir [24].

Tablo 2.1. 2001-2009 Türkiye Fındık Üretim, Tüketim ve İhracatı.

Dönem	Üretim Miktarı (Kabuklu/Ton)	Tüketim Miktarı (İç/Ton)	İhracat Miktarı	İhracat Bedeli (\$)
2000-01	470.000	183.657	204.253	682.451.341
2001-02	625.000	183.000	255.893	636.027.664
2002-03	600.000	190.000	255.918	593.690.721
2003-04	480.000	128.000	223.363	878.754.034
2004-05	350.000	47.813	194.594	1.554.156.298
2005-06	530.000	60.000	239.366	1.952.767.268
2006-07	661.000	80.000	248.664	1.262.427.04
2007-08	530.000	80.000	207.287	1.589.547.748
2008- 09	801.000	150.000	167.601	808.708.136

Dünya fındık tüketiminin %91'lik kısmı Avrupa ülkeleri tarafından gerçekleştirilmekte ve bunun %80'i çikolata ve şekerleme sanayinde ham madde olarak kullanılmaktadır. %10'luk kısmı ise çerez olarak tüketilmektedir (Tablo.2.2; [24]).

Tablo 2.2. Dünya fındık üretim ve tüketimi yıllara göre dağılımı.

2001-2008 Dünya Fındık Üretim ve Tüketimi (Ton/Kabuklu)							
Fındık	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Üretim	925.906	784.690	611.380	581.010	659.940	1.010.092	713.780
Tüketim	866.108	844.993	731.810	642.790	581.770	758.280	709.620

Dünya fındık ihracatının yaklaşık %80'ini Türkiye gerçekleştirmektedir. Türkiye fındık ihracatı, ülkeler itibari ile incelendiğinde 90 civarında ülkeye fındık ihracatı gerçekleştirildiği görülmektedir. 2010 yılı Türkiye fındık ihracatında en büyük payı başta Almanya, İtalya, Fransa, Belçika, Avusturya ve diğer Avrupa ülkeleri yer almaktadır (Tablo.2.3; [1]).

Tablo 2.3. 01.01.2010–31.12.2010 tarihleri arasında kayda alınan Türkiye fındık ihracatı.

AB Ülkeleri	Miktar (Ton)	Değer (\$)
Almanya	56.547	341.291.434
İtalya	43.393	262.313.459
Fransa	31.626	195.577.394
Belçika	10.729	62.649.277
Avusturya	9.386	56.133.741
Diğer	34.421	218.258.965
Toplam	186.103	1.136.224.269
Diğer Avrupa Ülkeleri		
İsviçre	8.967	52.936.509
Rusya Fed.	7.459	48.052.817
Ukrayna	6.430	39.866.831
Norveç	997	6.185.118
Hırvatistan	755	5.207.758
Diğer	1.877	11.289.719
Toplam	26.485	163.538.752
Deniz Aşırı Ülkeler		
Kanada	7.506	47.925.418
A.B.D.	4.508	28.644.043
Avustralya	2.653	16.836.029
Brezilya	2.072	13.212.031
Çin	1.970	11.231.842
Diğer	2.700	17.154.135
Toplam	21.408	135.003.499
Diğer Ülkeler		
Mısır	4.700	28.221.899
Irak	2.203	12.456.201
Tunus	1.900	11.784.656
İsrail	1.666	10.399.904
Suriye	1.633	8.602.767
Diğer	6.207	38.553.761
Toplam	18.309	110.019.188
Genel Toplam	252.305	1.544.785.708

Karadeniz Bölgesinde yaklaşık olarak 550.000-600.000 hektar alanda fındık üretimi yapılmaktadır. Takriben 8 milyon insan fındık tarımı, işleme, pazarlaması ve ihracatı ile uğraşmaktadır. Bu yüzden fındık Türkiye ekonomisi için büyük öneme sahiptir [1].

2.2 KALİTELERİNE GÖRE FINDIK ÇEŞİTLERİ

Türk fındığı kalite açısından Giresun ve Levant olmak üzere ikiye ayrılır.

2.2.1 Giresun Kalite

Giresun ilinin tamamında yetiştirilen tombul fındıklar ile az çok Giresun kalitesi özelliği taşıyan Trabzon ilinin Beşikdüzü, Vakfıkebir, Çarşıbaşı ve Akçaabat ilçelerinde yetiştirilen tombul fındıklardır. Dünyanın en üstün özellikli fındıklarıdır. Dünyadaki fındık çeşitleri içinde en yüksek oranda zar bırakan fındıktır [25].

2.2.2 Levant Kalite

Giresun kalite fındığın üretim bölgesi dışında kalan bölgelerde üretilen tüm fındıklara verilen ortak isimdir. Yetiştirildiği yere göre Levant Akçakoca, Levant Ordu, Levant Trabzon ve Levant Samsun olarak isimlendirilen bu fındıklar Giresun kalite fındıklardan daha az yağ oranı içermesine rağmen diğer ülkelerde yetiştirilen fındıklardan genellikle daha yüksek yağ oranına sahip olup, tat bakımından da üstün niteliktedirler [25].

2.3 KABUKLU FINDIKLAR

2.3.1 Yuvarlak Fındıklar (Tombul Fındıklar)

Uzunluk, genişlik ve kalınlıkları hemen hemen aynı olan küresel biçimli fındıklardır. Genellikle orta irilikte yüksek kaliteli çeşitlerdir [25].

İç verimleri (randıman), yağ ve protein oranları yüksektir. Kolay zar atan ve beyazlatılabilen çeşitlerin tümü bu gruptandır. Yuvarlak şekilleri nedeniyle kırmaya elverişlidirler. Bu gruba giren Giresun Tombul Fındığı, dünyanın en üstün nitelikli çeşididir. Ayrıca Palaz, Mincane, Foşa, Kan, Çakıldak, Kara bu gruba girmektedir [25].

2.3.2 Sivri Fındıklar

Uzunlukları genişlik ve kalınlıklarından biraz daha fazla olan çeşitlerdir. Bu cins fındıklar kırılma esnasında daha fazla zayıt verir. Bu nedenle daha çok kabuklu olarak pazarlanırlar. Sivri ve İncekara gibi çeşitleri vardır [25].

2.3.3 Badem Fındıklar

Uzunlukları kalınlık ve genişliklerinden oldukça fazla olan çeşitlerdir. Genellikle iri ve gösterişlidirler, fakat düşük kaliteli çeşitlerdir. Kırmaya ve işlemeye elverişli değildir. Kabuklu olarak, daha çok kurutulmadan, çerez olarak tüketilirler. Yuvarlak Badem ve Yassı Badem olarak iki çeşidi vardır [25].

Türkiye’de yetişen fındık çeşitlerinin resimleri Şekil.2.1 ve Şekil.2.2.’de verilmiştir.

2.4 İŞLENMİŞ FINDIK ÜRÜNLERİ


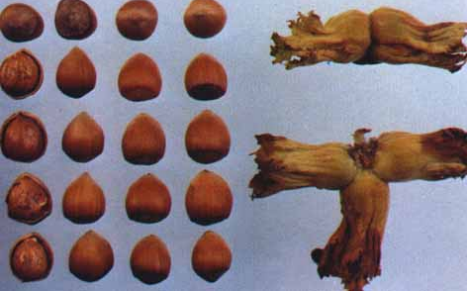

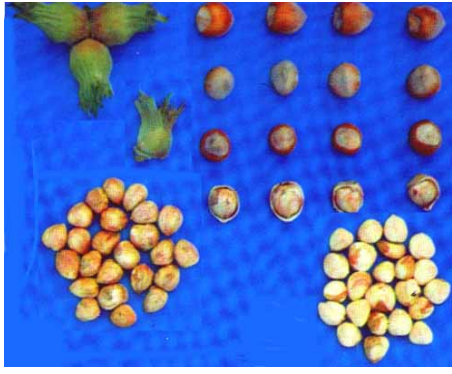

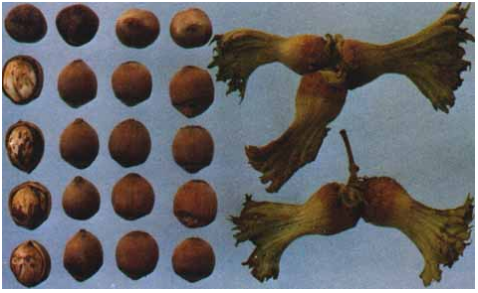


İşlenmiş Fındık ürünlerinin başında iç fındık gelir ve sırasıyla standart-1, standart-2 ve standart-3 olmak üzere 13-15; 11-13 ve 9-11 mm çap büyüklüklerine göre kabuklu fındıkların sert meyve kabuğundan çıkarılıp sınıflandırılmaktadır. Çaplarına göre tasnif edilen bu işlenmiş ve ileri derecede işlenmiş fındık ürünleri için hammadde olarak kullanılmaktadır [25].

2.4.1 Beyazlatılmış iç fındık


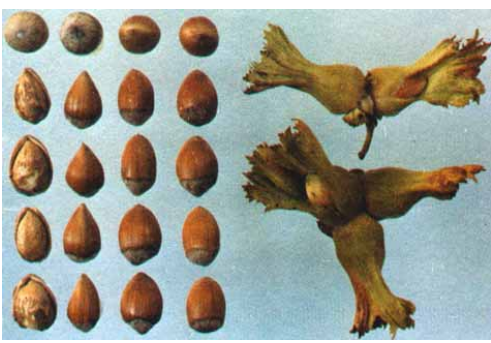

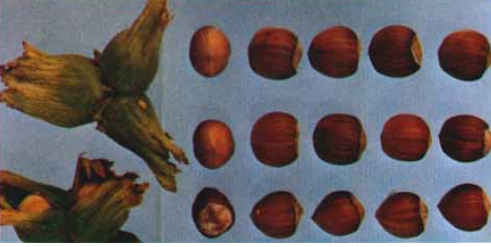

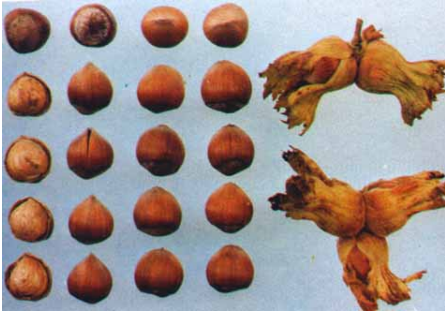
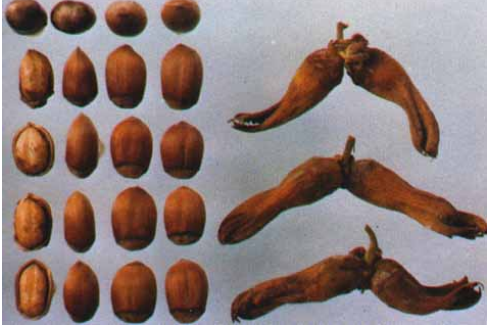
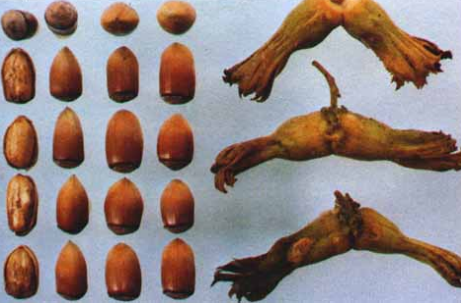
İç fındığın zarının attırılarak beyazlatılması ve kısmen beyazlatılmış tanelerinden ayrılmasıyla hazırlanmış mamuldür. Çikolata sanayi ve tuzlu fındık imalatında kullanılmaktadır [25].

2.4.2 Kavrulmuş iç fındık

İç fındığın kavrulmasıyla hazırlanmış mamuldür. Arzu edilen kavurma dereceleri ile isteğe bağlı olarak hafif, orta veya çok kavrulmuş şekilde, yine isteğe bağlı olarak tamamen zarsız veya kısmen zarlı hazırlanabilir. Çikolata sanayisinde ve kuruyemiş olarak tüketilir [25].

	
Foşa	Çakıldak
	
Cavcava	Acı
	
İncekara	Kalınkara
	
Kan	Kargalak

Şekil 2.1: Türkiye’de yetişen fındık çeşitlerinin resimleri

	
<p style="text-align: center;">Kuş</p>	<p style="text-align: center;">Sivri</p>
	
<p style="text-align: center;">Palaz</p>	<p style="text-align: center;">Mincane</p>
	
<p style="text-align: center;">Tombul</p>	<p style="text-align: center;">Uzunmusa</p>
	
<p style="text-align: center;">Yassıbadem</p>	<p style="text-align: center;">Yuvarlakbadem</p>

Şekil 2.2: Türkiye’de yetişen fındık çeşitlerinin resimleri (Devamı)

2.4.3 Kıyılmış iç fındık

Naturel veya kavrulmuş iç fındığın tekniğine uygun olarak milimetrik boylarda (2-4 mm, 3-5 mm vs) parçalar halinde kesilmesi suretiyle hazırlanmış mamuldür. Dondurma, bisküvi, çikolata, pastacılıkta kullanılır [25].

2.4.4 Dilinmiş iç fındık

İç fındığın tekniğine uygun olarak kesilerek yaprak haline getirilmesi suretiyle hazırlanmış mamuldür. Pastacılıkta kullanılır [25].

2.4.5 Öğütülmüş fındık

Natürel veya kavrulmuş iç fındığın tekniğine uygun olarak öğütülmesi suretiyle elde edilen mamuldür. Pastacılık, bisküvi, dondurmacılıkta kullanılır [25].

2.4.6 Fındık Ezmesi

Fındık ezmesi üretiminde iç fındık kavrulurken zarlarından kısmen veya tamamen ayrılmaktadır. Kavrulmuş veya kısmen kavrulmuş iç fındığın tiplerine göre gereken teknoloji uygulanılarak içine muhtelif lezzet ve çeşni verici maddelerle gerektiğinde katkı maddelerinden bir veya bir kaçının katılarak küçük parçacıklar halinde ezilmiş veya tamamen ezilmiş ve homojen hale getirilmiş olarak üretilen mamuldür. Doğrudan tüketildiği gibi çikolata sanayisinde ve pastacılıkta kullanılır [25].

2.4.7 Fındık Füresi

Kavrulmuş iç fındığın (hafif, orta veya çok kavrulmuş) tekniğine uygun olarak ezilmesi ile elde edilen fındık ezmesi vb. mamullerin yapımında kullanılan kıvamlı bir yarı mamuldür. Dondurma ve çikolatacılıkta kullanılır [25].

2.4.8 Yağda kavrulmuş veya tuzlanmış bütün fındık

İç fındığın tuza bulanarak kavrulması veya yemeklik yağlarda kızartılması suretiyle hazırlanması ile elde edilen bir mamuldür. Doğrudan tüketiciye sunulan bir mamuldür [25].

2.4.9 Kavrulmuş kabuklu fındık

Kabuklu fındıkların çıtlatılarak kavrulması ile elde edilen bir mamuldür. Tuza bulanarak da kavrulabilir. Doğrudan tüketiciye sunulan bir mamuldür [25].

2.5 FINDIĞIN BİLEŞİMİ

İnsan sağlığına olan faydalarından dolayı, fındığın önemi dünyada gittikçe daha iyi bilinmekte ve her geçen gün önem kazanmaktadır. Fındığın bu özelliği yapısında bulunan özel yağ bileşimi (genel olarak oleik asit), protein, karbonhidrat, lif, vitaminler (vitamin E), mineraller, fitosteroller (β -sitositerol) ve antioksidan fenolik bileşiklerinden dolayıdır. Fındığın kendine has tat, aroması ve besleyici özelliğinden dolayı, fındık özellikle fonksiyonel bileşik olarak birçok gıda mamullerine ilave edilebilir [25].

Fındık diğer kabuklu yemişler gibi içermiş olduğu yüksek orandaki (%60) yağdan dolayı iyi bir enerji kaynağıdır. Bir çok araştırmacı kabuklu yemiş tüketiminin önemini vurgulamıştır. Özellikle fındık yağı tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir. Doymuş yağ asidi miktarı düşük ve tekli doymamış yağ asidi miktarı yüksek olan yiyeceklerin kolesterol düzeylerini düşürdükleri ve dengeledikleri önceden yapılmış bilimsel çalışmalar tarafından ispat edilmiştir ve aynı zamanda kalp damar hastalıkları riskini azalttığı vurgulanmıştır. Buna ilaveten, tekli doymuş yağ asidi ilave edilmiş diyet (fındık yağında yüksek miktarda) aynı şekilde etki yapmaktadır. Örneğin, kalp damar hastalıkları riskini azaltmakta, tansiyonu düşürmekte, kolesterolü düşürmekte, kötü huylu LDL kolesterolü düşürmekte ve iyi huylu HDL kolesterolü yükseltmekte ve triaçilgliserid miktarını ise düşürmektedir. Bunlara rağmen, yağ ve yağda çözülebilen bileşikler haricinde, fındığın sağlık üzerine etkileri ve fitokimyasal maddeler hakkında çok az araştırma yapılmıştır [17-18].

Fındık mükemmel bir vitamin E kaynağıdır ve iyi bir doğal antioksidan içeriğine sahiptir, ki bunlar vücutta serbest radikallerin oluşmasını önler. Serbest radikaller kanser, damar tıkanıklığı ve diyabetik gibi bir çok hastalığın oluşmasına neden olur. Vitamin E'in antioksidan özelliğine sahip olmasından ve bunun kalp damar hastalıkları ve kanser karşı olan yararlı etkilerinden dolayı, fındık tüketici ve sağlık kuruluşları

tarafından büyük bir ilgiyle takip edilmektedir. Günlük 40 g fındık tavsiye edilen vitamin E ihtiyacını karşılamaktadır [16, 19-23, 25].

Kısa bir süre önce, β -sitosterol'un sağlık üzerine etkileri ve bu maddelerinde fındık yağında yüksek miktarda olduğu Alasalvar ve arkadaşları tarafından ispat edilmiştir. Bu madde kolesterol düşürücü etkisinin yanında birçok kanser türlerinin (kolon, prostat ve göğüs kanseri) önlenmesinde koruyucu etki yapmaktadır. Ayrıca tümörün gelişmesini önler ve apoptosisin oluşmasını engeller [25].

Fındık iyi bir mineral kaynağıdır, özellikle yüksek miktarda kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum bulunmaktadır. Ayrıca antioksidan özelliğine sahip olan iyi bir selenyum kaynağıdır. Az miktarda tuz içerir. Bu minerallerin kemik gelişiminde ve sağlık üzerine etkileri çok iyi bilinmektedir. Fındık tüm elzem aminoasitlerle beraber çoğu elzem mineralleri içermektedir. Bu nedenle fındık aynı zamanda iyi bir protein kaynağı olarak et ve süt yerine alternatif olabilecek potansiyel taşımaktadır [25].

Sonuç olarak, fındık, günlük dengeli beslenmede hayati bir besin ve katkı maddesidir ve kalp sağlığı açısından da en faydalı besleyici maddedir. Günde bir avuç fındık yemek, yukarıda bahsi geçen birçok hastalıktan koruyabilir [25].

2.6 ANTIOKSİDANLAR

Oksijen, insan vücudunda solunum zinciri içinde süperoksit, singlet oksijen, hidroksil vb. reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmaktadır. Reaktif oksijen birikimi organizmada mevcut olan veya gıdayla alınan antioksidanlarla dengelenmediği takdirde; oluşan 'oksidatif stres' koşulları altında kanser, koroner kalp rahatsızlığı, hücresel yıpranma ve yaşlanma, mutajenizm, bağışıklık sistemi hastalıkları ve lipoprotein (LDL) oksidasyonu ile sonuçlanan, DNA ve hücre membranları gibi duyarlı biyolojik yapıların oksidatif hasarına neden olabilen radikalik zincir reaksiyonları meydana gelmektedir. Antioksidan ve prooksidan özelliği gösteren maddeler biyolojik sistemlerde serbest radikallerin olumsuz etkilerini önemli ölçüde azaltabilen bileşiklerdir [26].

Antioksidanlar, yükseltgenebilen substratlara göre daha düşük konsantrasyonlarda, substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu ciddi derecede engelleyen ya da geciktiren maddelerdir. Prooksidanlar ise lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara yol açan toksik maddelerdir. Reaktif türler için kullanılan bir terimdir. Antioksidanlar, hücelere zarar veren bu prooksidanları (reaktif oksijen ve azot türleri, serbest radikaller) etkin bir şekilde indirgeyerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürürler. Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidanları önemli kılmaktadır [27].

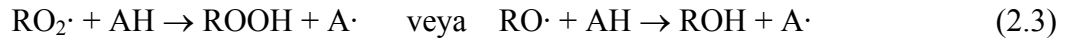
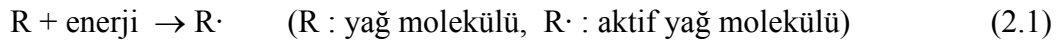
Antioksidanlar; vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır [28].

Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen bitkisel maddelerdir [29]. Bu bileşikler oksidatif düzende farklı şekillerde davranırlar. Örneğin oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler veya singlet oksijeni durdururlar. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yutucu özelliğini kullanarak zincir reaksiyonların başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar [30].

Gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan eklenirler. Besinlerin acılaşmasını, çürümesini geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların, tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır [29].

Zincirleme reaksiyon teorisine göre, oksijen ile otookside olabilen madde, oksijenle birleşmekte ve bu şekilde meydana gelen etkinleşmiş peroksit radikal ve molekülleri, enerjilerini maddenin yükseltgenebilen diğer moleküllerine aktarmakta ve bu suretle besinlerdeki otooksidasyon devam etmektedir. Antioksidanlar bu zincir reaksiyonunu koparıcı rolü oynarlar. Yani bu bileşikler aktivasyon enerjisini kabul ederler, ancak bu enerjiyi başka moleküllere aktaramazlar. Bu şekilde, bir antioksidan molekülünün araya girmesiyle otookside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulur [29].

Antioksidanların etki mekanizmasını şematik olarak göstermek gerekirse;



(AH : Antioksidan molekülü, A· : antioksidan etkin molekülü)

Antioksidanlar yükseltgenebilen maddeler olduğundan zincirleme reaksiyonu koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder [29].

Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri onların serbest radikal yutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir. Bir antioksidanın aktivitesi şu esaslara bağlıdır;

- Radikal süpürme yeteneği
- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak göstermiş olduğu reaktivite (redüksiyon potansiyeline bağlı olan)
- Metal kelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidanlarla olan etkileşim [28]

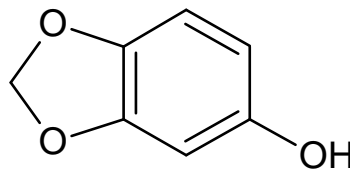
Bu bileşiklerin sağlık açısından yararlı etkileri olduğundan, polifenollerin antioksidan aktiviteleri hakkında kullanışlı, hızlı, duyarlı ve basit yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.7 ANTİOKSİDANLARIN YAPILARINA GÖRE SINIFLANDIRILMASI

2.7.1 Fenolik Antioksidanlar

Antioksidanların en önemlileri fenol grubu içerenler ve bunlardan dihidroksi türevleridir. Bunların temel örneği hidrokinon olup tersinir olarak kinona yükseltgenir. Yalnız orto ve para polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değilken yerdeğişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları orto ve para hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler. Örneğin, susam yağında bulunan sesamol bir tek serbest hidroksi grubuna sahip olduğu halde, bu grup oksijenlerden birine göre para pozisyonunda olduğundan, antioksidandır (Şekil 2.3) [29].

Bazı flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanlardan bir diğer grubu, tokoferoller yani E vitaminleri oluşturur. Antioksidan özelliği en fazla olanı δ -tokoferoldür. Sentetik antioksidanlardan fenolik yapıda olanlar propil gallat, oktil gallat, dodesil gallat, nordihidroguayaretik asid (NDGA), butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve tersiyer butil hidrokinon'dur (TBHQ) [29].



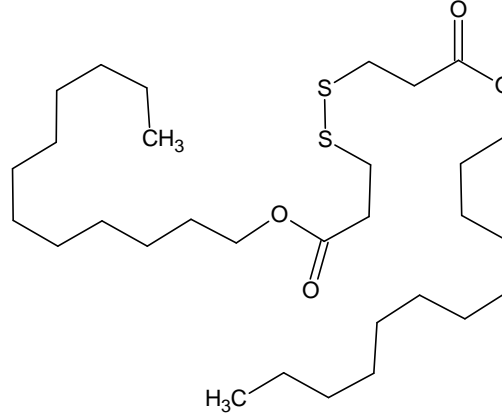
Şekil 2.3: Sesamol

2.7.2 Aromatik Antioksidanlar

Aromatik amino antioksidanlar da genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino grupları ile yer değiştirmişlerdir. Bunlardan biri para izo butil amino fenol'dur [29].

2.7.3 Organik Kükürtlü Bileşikler

Kuvvetli antioksidanlardan bir grubu da kükürtlü organik bileşikler oluşturur. β , β' -ditiyo propiyonik asid ve esterleri, özellikle dilauril ve distearil ditiyopropiyonatlar çok etkili antioksidanlardır (Şekil 2.4). Özellikle yağlarda % 0,01 oranında kullanılırlar [29].



Şekil 2.4: 2,2'-Dilauril ditiyopropiyonat

2.8 ANTIOKSİDANLARIN ETKİ MEKANİZMALARINA GÖRE SINIFLANDIRILMASI

2.8.1 Primer Antioksidanlar

Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlar; elektron vererek serbest radikal zincir reaksiyonunu kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksit oluşumunu engellerler. Sentetik veya doğal yapıda olabilirler. Tokoferoller, flavonoidler, alkali gallatlar, BHA, BHT ve TBHQ en önemlileridir [29].

2.8.2 Sekonder Antioksidanlar

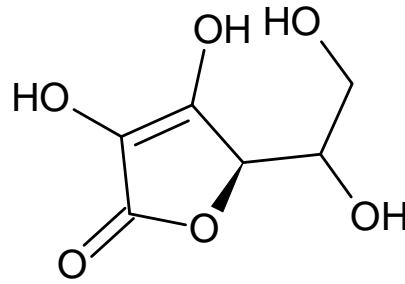
Oksidasyon hızını azaltabilen bileşiklerdir. Etki mekanizmaları; metal iyonlarını yakalamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, ultraviyole ışınlarını absorblamak veya oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklinde olabilir. Bu antioksidanlar 'antioksidan sinerjistler'dir. Tek başlarına buldukları ortamlarda antioksidan etkileri çok düşüktür veya hiç göstermezler. Ancak ortamda iki antioksidan madde bulunursa yalnız olarak gösterdikleri etkiden daha çok etkili olurlar. Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran maddelere *sinerjist* denir. Askorbik

asid, limon asidi, birçok aminoasid, polifosfatlar ve tartarik asid gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırmaları [29].

2.9 DOĞAL ANTIOKSİDANLAR VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

2.9.1 C-Vitamini

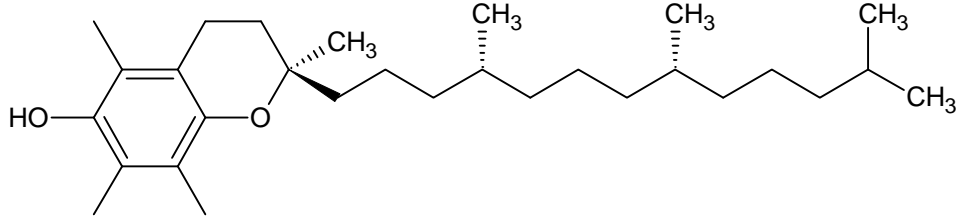
Organizmanın en çok gereksinim duyduğu C-vitamini (Şekil 2.5), diğer adıyla askorbik asid, meyve ve sebzelerde bulunup, suda çözünebilen ve serbest radikalleri doğrudan söndürebilen güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Ayrıca çeşitli besin maddelerinde acılaşıma ve ekşimeyi, meyvelerde renk değişimini önler. Doğal kaynaklardan elde edilebildiği gibi kimyasal olarak da sentezlenebilirler [31].



Şekil 2.5: C-vitamini

2.9.2 E-Vitaminleri (tokoferoller)

Doğada 7 farklı izomer yapısında bulunan tokoferoller, başlıca bitkisel ürünlerde mevcuttur. Hayvan organizması pek az miktarda içerir. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt, yumurtada bulunurlar. Tokoferollerin kimyasal yapıları birbirine benzese de, bunların biyolojik etkileri oldukça farklıdır. 3 metil grubu taşıyan α -tokoferol (Şekil 2.6) vitamin olarak en etkili olanıdır ve sadece 'E-vitamini' dendiğinde α -tokoferol anlaşılır. β ve γ tokoferoller, α izomerinin yarısı kadar, δ izomeri ise ancak yüzde biri kadar etkilidir. Tokoferoller, monofenolik yapıdaki doğal antioksidanlardır. Antioksidan etkileri vitamin etkilerinin tersine olarak α 'dan γ 'ya doğru artar [29].



Şekil 2.6: α -tokoferolün kimyasal yapısı

2.9.3 Polifenolik Bileşikler

Polifenoller; bitki dünyasının büyük bir kısmında mevcut olan, fitokimyasalların en geniş kategorilerinden birini oluşturan ve insan yaşamında gerekli olan bileşiklerdir. Besin fenolikleri; flavonoidleri, fenolik asitleri ve fenolik polimerleri içerir [29].

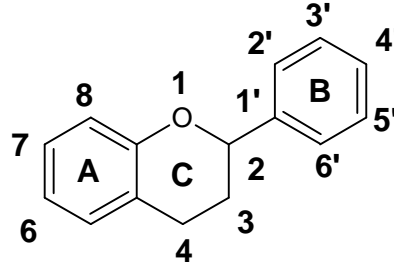
Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Bitki polifenollerini multifonksiyonel bileşikler olup, indirgeme aracı, hidrojen atom-donör antioksidanlar ve singlet oksijen söndürücü olarak, bazıları metal iyonu kelatlama özelliklerine sahip antioksidanlar olarak davranırlar. Bir polifenolün antioksidan olarak tarif edilebilmesi için iki temel şartı sağlaması gerekir [32]:

- Okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya önleyebilmelidir [33].
- Süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır [34].

2.9.3.1 Flavonoidler

Flavonoidler; önemli antioksidan ve kelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlayarak, B halkasındaki karbon atomları ise üssü (') rakamlarla numaralandırılır (Şekil 2.7). Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi mevcuttur. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grupları içerirler. Metal kelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer prosesleri azaltma özellikleri vardır.

Gıdalarda genellikle 3-orto glikozidleri ve polimerleri şeklinde bulunurlar. Glikozit birimi genellikle glukozdur ancak glukoramnoz, galaktoz, arabinoz ve rannoz da bulunabilmektedir. Bu bileşikler yapılarına bağlanan grupların çeşidi, pozisyonu ve sayısına göre farklı radikal yutma ve kelatlama aktivitesine sahiptirler [35].



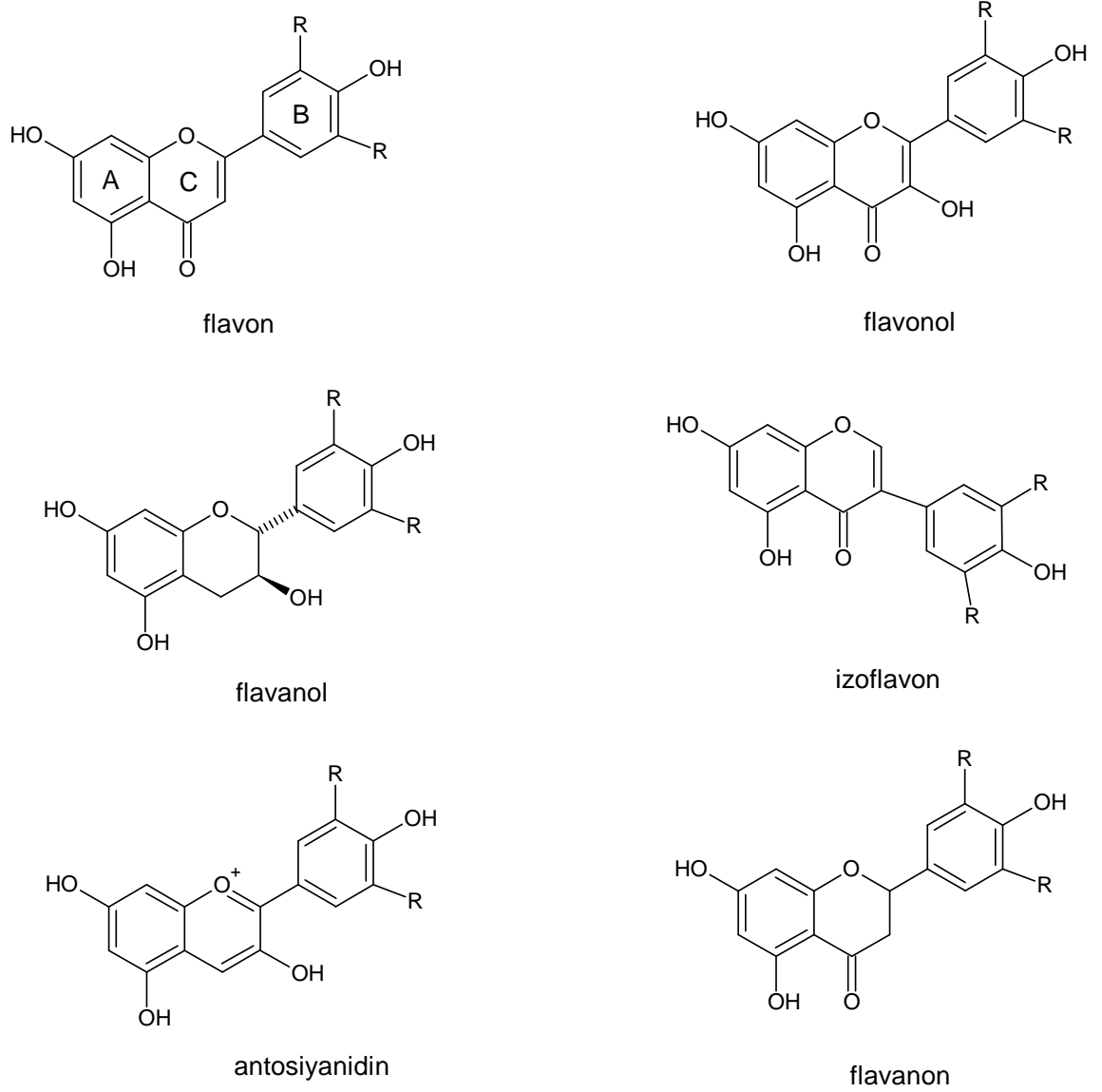
Şekil 2.7: Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı.

Flavonoidler, fenolik ve furan halkalarından oluşan benzo- γ -furan türevleridir. Bu bileşikler; A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler [35]. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır. Bu sınıflardan biri antoksaninler diğeri antosiyaninlerdir. Antoksaninler kendi arasında 5 farklı sınıfa ayrılmaktadır [28]:

1. Antoksaninler

- Flavanoller
- Flavonlar
- Flavonoller
- Flavanonlar
- İzoflavonlar

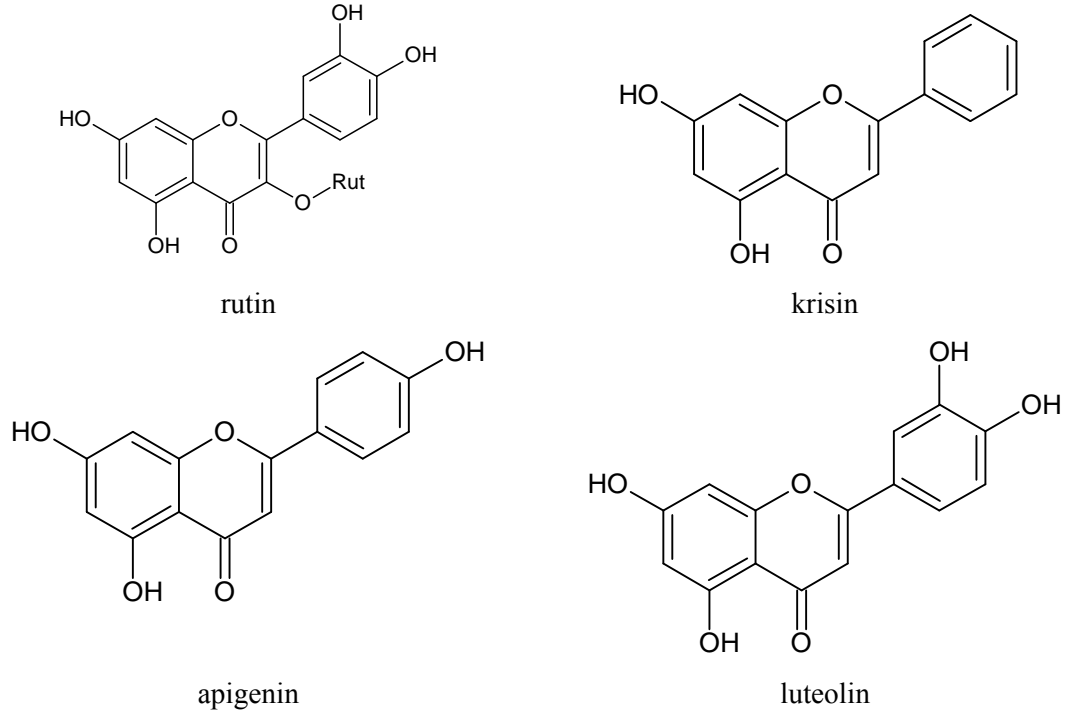
2. Antosiyanin ve antosiyanidinler (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları (R = H veya OH olabilir).

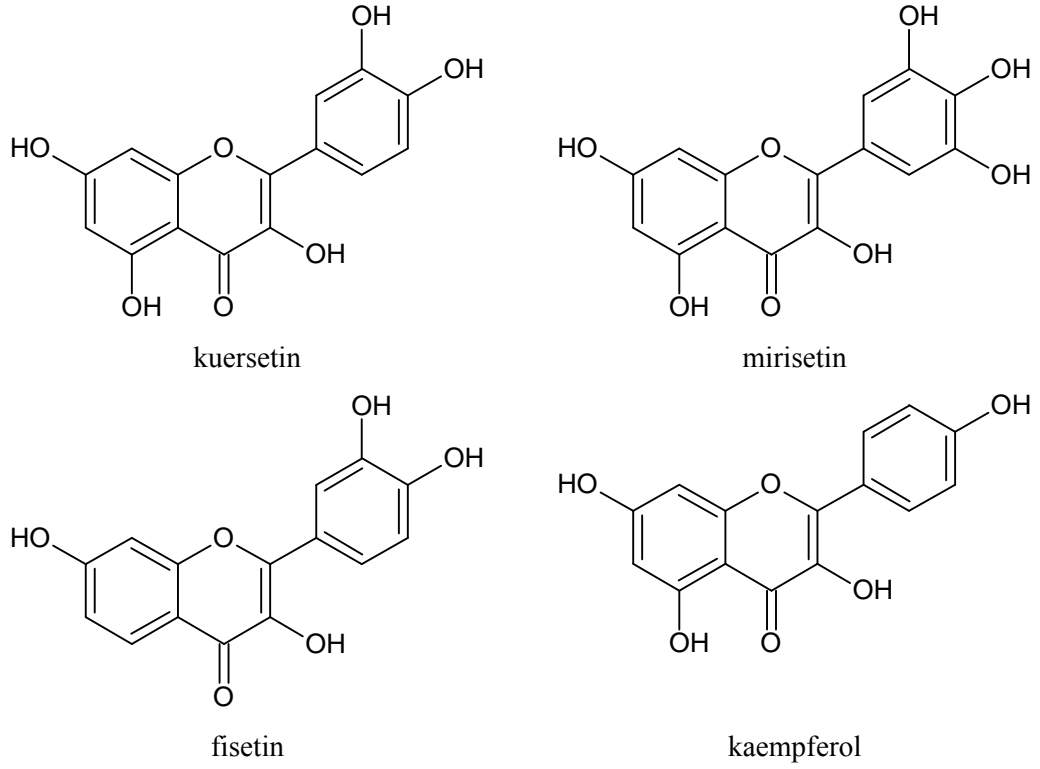
Not: B halkasında OH grubuna orto pozisyonunda bulunan süstitüentler H veya OH olabilir.

Flavonoidler sınıfının temel maddesi *2-fenil kromon* olan *flavon*'dur. En önemli flavonlar; rutin, apigenin, krisin ve luteolin'dir (Şekil 2.9). Rutin kuersetinin glikozidi olup kırmızı şarap ve domateste mevcuttur. Apigenin; maydanoz ve kereviz sapında, krisin; meyve kabuğunda, luteolin ise acı biberde bulunmaktadır [29].



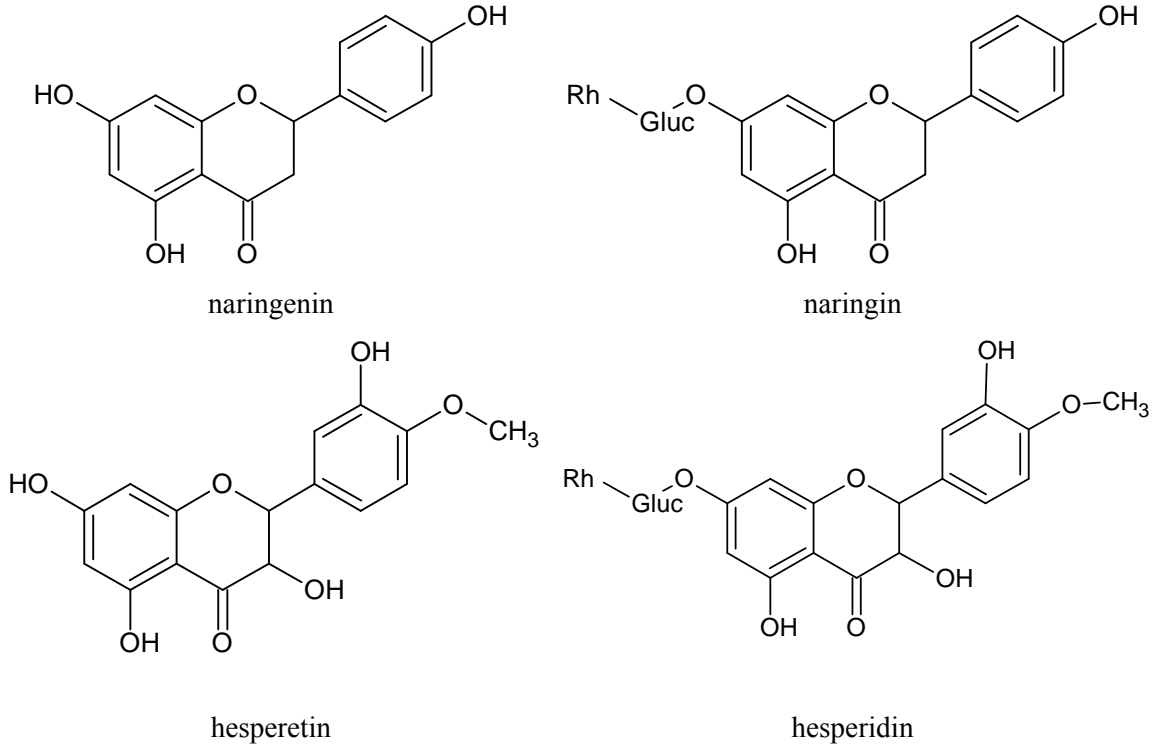
Şekil 2.9: Rutin, apigenin, krisin ve luteolin'in kimyasal yapısı

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3. karbon atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar. Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonoller kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferol'dur (Şekil 2.10). Kuersetin flavonoidlerin en önemli bileşiği ve bitkilerin temel fenolik bileşenidir. Soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur [32].



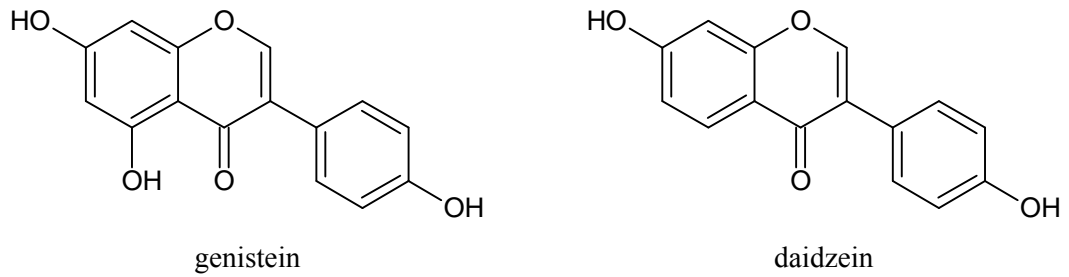
Şekil 2.10: Kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferolün moleküler yapısı

Flavonun dihidroksi türevi *flavanon*'dur. En önemlileri naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetin'dir (Şekil 2.11). Naringenin 3-hidroksi flavanon'dur. Greyfurtun karakteristik acılığını veren bileşik naringenin glikozidi olan naringin'dir. Turunçgillerden ekşi portakalda bulunur ve son derece acıdır. Naringenin aglikonu olan naringenin ise acı değildir. Hesperidin ve hesperetin limon ve portakalda bolca bulunur. Hesperidin, hesperetin glikozididir [29].



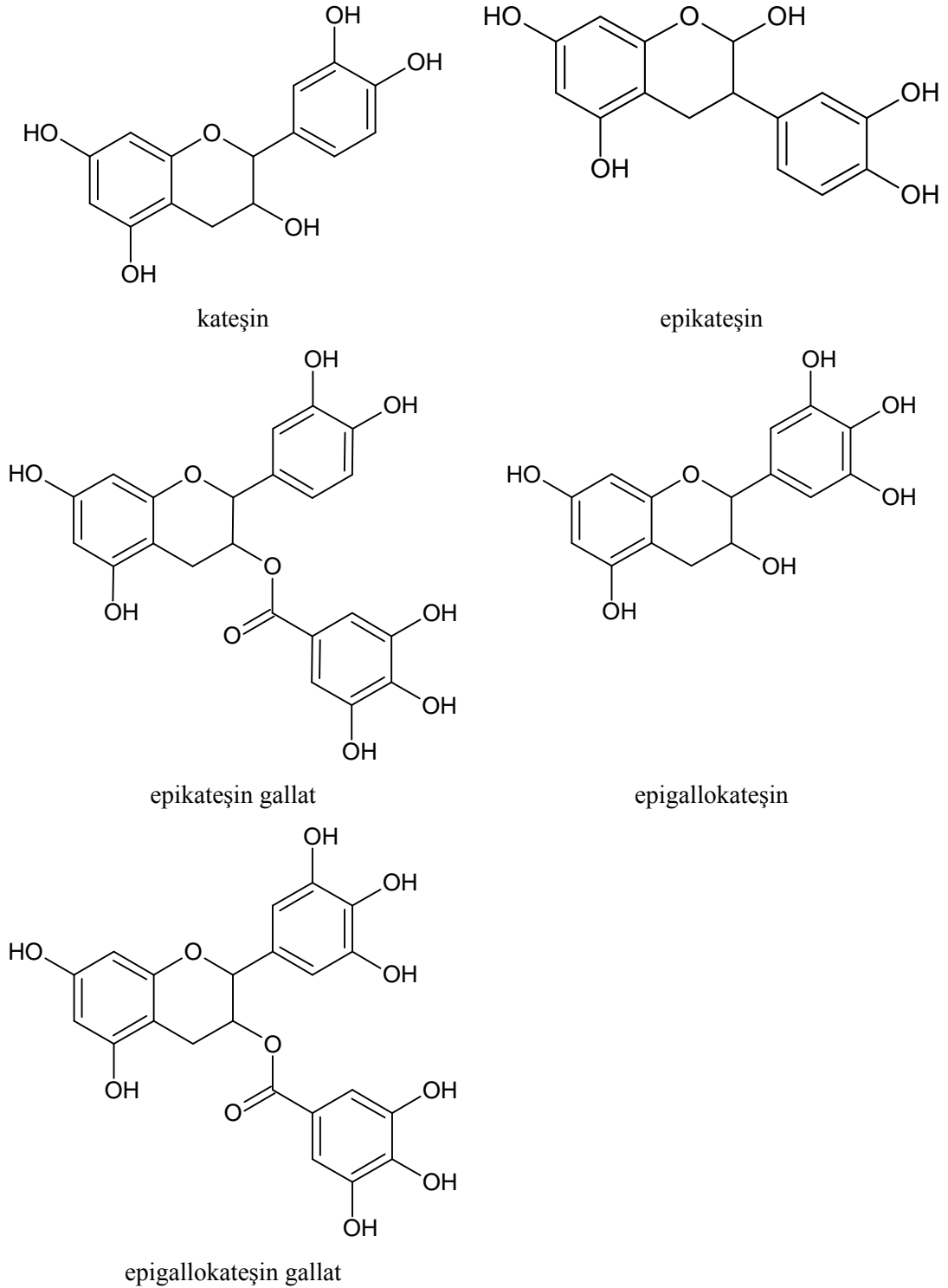
Şekil 2.11: Naringenin, naringin, hesperetin ve hesperidin kimyasal yapıları

Flavonların izomeri olan *izoflavonlar* ise aromatik B halkasının, C halkasının 3. karbon atomuna bağlanmasıyla oluşur. Genistein, daidzein ve bunların glikozidleri olan genistin ve daidzin başlıca izoflavonlar olup soya fasulyesi ve soya fıstığında mevcuttur (Şekil 2.12) [32].



Şekil 2.12: Genistein ve daidzeinin kimyasal yapıları

Flavonollerin C halkasında bulunan çifte bağlı oksijen atomunun yerine $-CH_2$ grubu geldiğinde *flavanol* oluşur. Flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin' dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir (Şekil 2.13). Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide ve elmada bol miktarda bulunurlar [29, 32, 36].

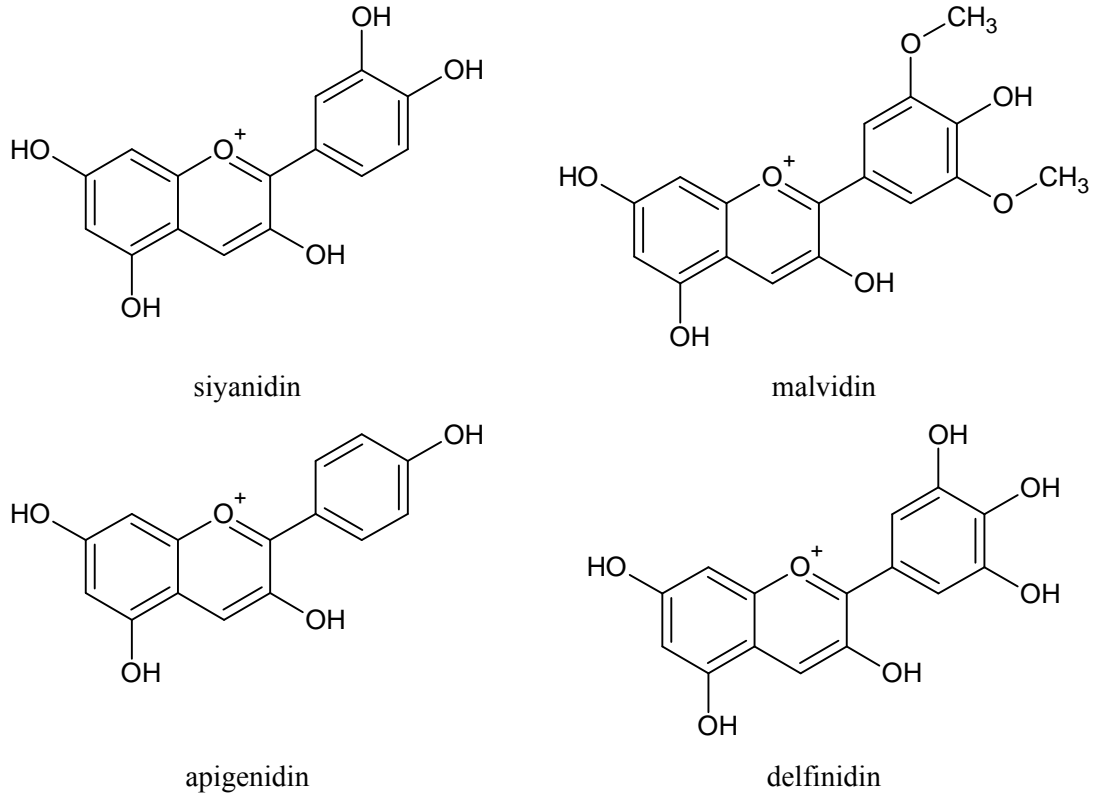


Şekil 2.13: Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallatın kimyasal yapıları

Antosiyaninler, flavanollerin B aromatik halkasına bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelir. Aglikonları *antosiyanidinler*'dir. En önemlileri;

apigenidin, siyanidin, malvidin ve delphinidin'dir (Şekil 2.14). Renkli meyvelerde özellikle kırmızı ve mor renkli meyvelerde bol miktarda bulunur [29].

Flavonoidlerin ve metabolitlerinin antioksidan aktivitesi halkalı çekirdeksel yapılarındaki fonksiyonel grupların yerleşmesine bağlıdır. Flavonoidlerin yapılarındaki sübstitüentlerin yerleşimi flavan iskeletinin tek başına göstermiş olduğu antioksidan aktivitesinden daha yüksek olabilmektedir. Birçok polifenolik antioksidan birbirleriyle karşılaştırıldığında, hem konfigürasyonun hem de toplam hidroksil gruplarının antioksidan aktivitesini büyük oranda etkilediği görülmüştür [37-39].



Şekil 2.14: Siyanidin, malvidin, apigenidin, delphinidin kimyasal yapıları

Serbest radikal süpürme kapasitesinin hidroksil sübstitüentlerinin yüksek reaktivitesine bağlı olduğu aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir:



Flavonoidlerin yapılarına bağlı olarak antioksidan kapasitelerinin farklılaşmasında kapasite değerlerini belirleyen birkaç husus vardır:

- B halkasındaki o-dihidroksi yapısı (radikal formun yüksek kararlılığını sağlayan ve elektron delokalizasyonuna katılan)
- 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çifte bağ (C halkasında 4. karbon atomunda keto grubu oluşturan ve radikalın B halkasından elektron delokalizasyonunu arttıran)
- C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları (maksimum radikal-süpürme potansiyeli için gerekli olan)

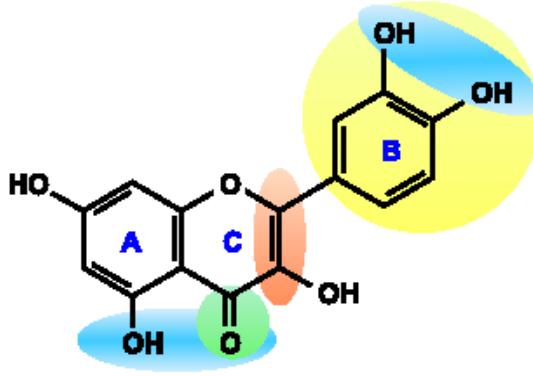
Flavonoidlerin antioksidan etkileri hidroksillenme derecesine göre artarken, yapıya bağlanan şekere ve cinsine göre de azalır [34].

B halkası hidroksil konfigürasyonu; reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot (RNS) türlerinin süpürülmesinde en önemli öğedir. B halkasındaki hidroksil grupları; hidroksil, peroksil ve peroksinitrit radikallerine hidrojen ve elektron vererek onları kararlı hale getirirler [37].

B halkasındaki 3',4'-kateşol yapısı lipid peroksidasyonunu çok kuvvetli şekilde azaltır [40]. Bu yerleşim çoğu antioksidanın en göze çarpan özellikleridir. Örneğin luteolin kaempferol'den daha güçlü antioksidan kapasitesine sahiptir. Her ikisi de benzer hidroksil konfigürasyonuna sahip olmalarına rağmen kaempferol B halkasındaki kateşol yapısından yoksundur (Şekil 2.9, 2.10). Kateşinin radikal süpürme yeteneği çoğunlukla bu kateşol yapısına sahip olmasından kaynaklanır (Şekil 2.13). Kateşol veya pirogallol sistemlerinden yoksun flavonlar kararsız radikaller oluşturur ve zayıf süpürücülerdir [38-39].

Flavonoidler tarafından serbest radikallerin süpürülme yeteneği, en çok serbest 3-OH grubunun varlığına bağlıdır. 3-OH ve 3',4' kateşol yapısına sahip olan flavonoidler radikallere karşı daha etkilidirler. Örneğin kuersetin, siyanidin ve kateşinin antioksidan kapasiteleri bu özelliklerinden dolayı yüksektir [35]. Şekil 2.15 de, çok güçlü bir antioksidan olan kuersetinin kimyasal yapısı üzerinde antioksidan kapasitesini belirleyen özellikleri incelediğimizde, bu özelliklerden en önemlisi daha önce belirtildiği gibi sarı renkle gösterilen kateşol veya orto-dihidroksillenmiş B halkasıdır. Diğer önemli özellikler; C halkasında kırmızı renkle gösterilmiş olan doymamış yapı,

yeşil renkle gösterilen 4-okso fonksiyonunun varlığıdır. Kateşol grubu ve diğer fonksiyonlar (mavi renkli) demir ve bakır gibi transizyon metallerini kelatlama yeteneği sağlar [41].



Şekil 2.15: Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı

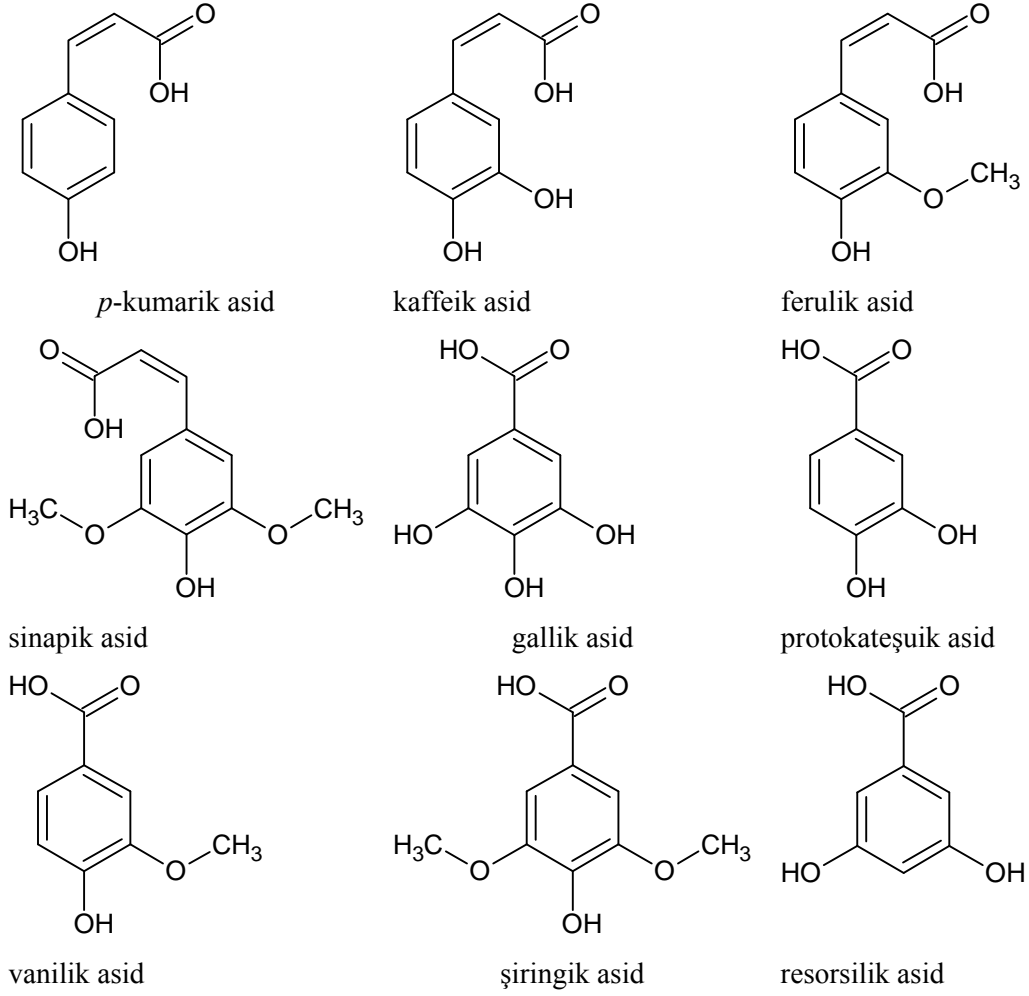
Tablo 2.4'te flavonoidlerin sınıflandırılması, genel yapıları, adları, süstitüsyon modelleri ve bazı besin kaynakları verilmiştir [35].

2.9.3.2 Fenolik asitler

Bitkilerde çok miktarda bulunan fenolik asitler, diğer ismiyle fenil propanoidler, hidroksi sinnamik ve hidroksi benzoik asitleri içeren iki gruptan oluşur. Fenolik asitlerin çoğunu hidroksi sinnamik asitler oluşturur [36]. L- fenil alanin veya L- tirosinden *p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asit meydana gelir (Şekil 2.16). Yapılarındaki $-CH=CH-COOH$ gruplarının varlığı, hidrojen verebilme yeteneklerini arttırmakla birlikte benzoik asitlere göre radikalleri daha kararlı hale getirebilirler. Benzoatlardan daha etkilidirler. Hidroksi benzoik asitler yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler. Bunlardan birkaçı; gallik asit, vanilik asit, şiringik asit, resorsilik, protokateşuik asit'dir. Mono hidroksi benzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallere yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidirler. Fenolik halka ile karboksilat grubu arasında metilen grubu girmesiyle oluşan fenil asetik asitlerde orto ve meta hidroksi türevleri 1 mM'a yakın antioksidan aktivite gösterirler. Dihidroksi benzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağlı olup, *o-p* pozisyonlarında aktivite yüksek olurken, *m-p* pozisyonlarına sahip olanlarda aktivite düşer [32].

Tablo 2.4. Flavonoidlerin sınıflandırılması, adları, temsili formülleri, süstitüsyon modelleri ve besin kaynakları

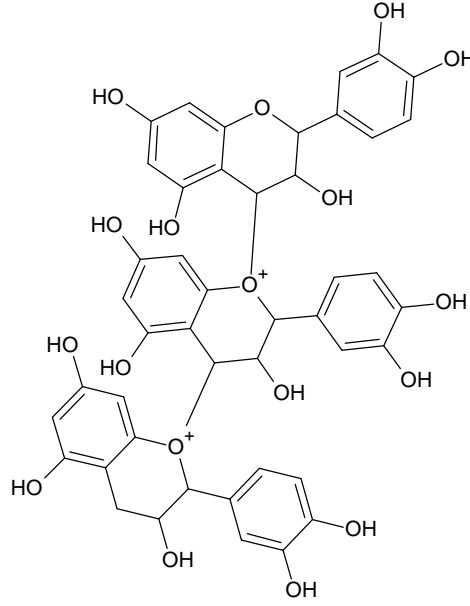
SINIFI	ADLARI	TEMSİLİ FORMÜL	SÜBSTİTÜSYON MODELLERİ	BESİN KAYNAKLARI
Flavanol	(+)-Kateşin (-)-Epikateşin Epigallokateşin Epikateşin gallsat Epigallokateşin gallsat		3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3',4'-OH,3-gallsat 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallsat	Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay Yeşil ve siyah çay
Flavon	Krisin Apigenin Rutin Luteolin		5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoz 5,7,3',4'-OH	Meyve kabuğu Maydonoz, kereviz sapı K.şarap, domates kabuğu, turunçgiller Kırmızı biber
Flavonol	Kaempferol Kuersetin Mirisetin Morin Fisetin		3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH 3,7,3',4'-OH	Brokoli, greyfurt, çay Soğan, brokoli, domates, çay, k. şarap, mor meyveler, zeytinyağı, elma Üzüm, böğürtlen, K.şarap K.şarap, mor meyveler
Flavanon	Naringin Naringenin Taksifolin Hesperidin Hesperetin		5,4'-OH, 7-ramnoglukoz 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe,7-rutinoz 3,5,3'-OH,4'-OMe	Turunçgiller, greyfurt Turunçgiller Turunçgiller Portakal Portakal
Izoflavon	Genistin Genistein Daidzin daidzein		5,4'-OH,7-glukoz 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glukoz 7,4'-OH	Soya fasulyesi ve fıstığı Soya fasulyesi ve fıstığı Soya fasulyesi ve fıstığı Soya fasulyesi ve fıstığı
Antosiyanidin	Apigenidin Siyanidin Malvidin		5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,4'-OH, 3',5'-OMe	Renkli meyveler Vişne, çilek, böğürtlen Kırmızı üzüm ve şarap



Şekil 2.16: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları

2.9.3.3 Fenolik Polimerler (Tanenler)

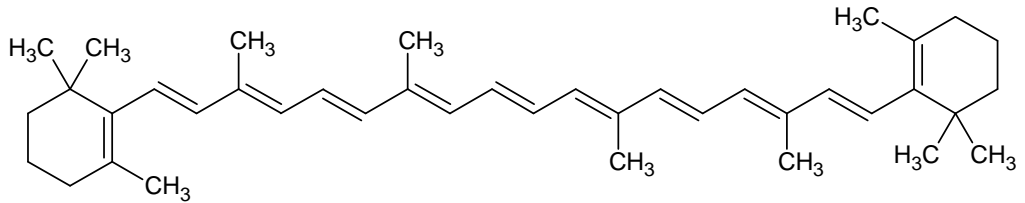
Fenolik polimerler, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Yoğunlaşmış tanenler bu gruba girerler. Bugün besin tanenleri denilince genellikle kateşin ve epikateşinin polimerleri anlaşılmalıdır (Şekil 2.17). Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Kırmızı ve beyaz şarapta, elma ve nar suyunda mevcuttur [36].



Şekil 2.17: Fenolik polimerlerin yapısı

2.9.4 Karotenoidler

Karotenoidler; bitkilerde sentezlenirler, fakat hayvanlar için önemlidirler. Yüksek derecede doymamış izoprenidlerdendir. Çifte bağların konjuge oluşundan kuvvetli renklidirler. Açık sarıdan kırmızıya kadar renkli, birçok bitki ve hayvanlarda bulunan, azot içermeyen, suda çözünmeyen fakat yağlarda ve organik çözücülerde çözünen pigmentlerdir. Birçok sebze, meyve ve çiçeklerin karakteristik renkleri bunlardan ileri gelir. Havuç, mısır, domates, tereyağı, süt, yumurta sarısı ve birçok meyvede bolca bulunur. En yaygın kullanılanı A-provitamini olarak da bilinen β -karoten'dir (Şekil 2.18). A-vitamininin kendiliğinden antioksidan özelliği bulunmazken, β -karoten antioksidan aktiviteye sahiptir [29].

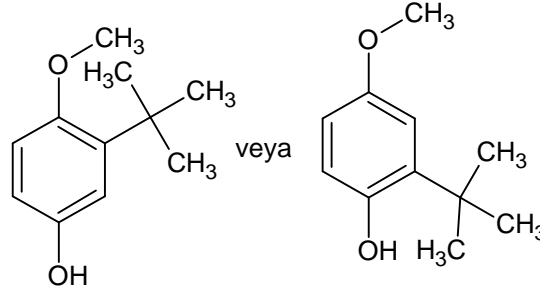


Şekil 2.18: β -karotenin yapısı

2.10 SENTETİK ANTİOKSİDANLAR

2.10.1 Butillenmiş Hidroksi Anizol (BHA)

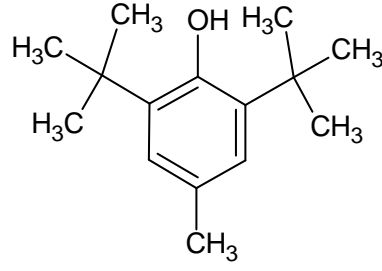
Butillenmiş hidroksi anizol (BHA) (Şekil 2.19), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilen etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer olan 3-tertiyer butil-4-hidroksi anizol ve 2-tertiyer butil 4-hidroksi anizol karışımıdır. Zehirli değildir ve katıldığı maddeye hiçbir koku aşamaz. Anizolde benzen halkasındaki yerdeğiştirenlerin, maddenin antioksidan etkisi bakımından rolü büyüktür. Hidroksi grubunu 5. veya 6. karbon atomunda taşıyan bileşikler antioksidan değilken 4 üzerinde taşıyanlar antioksidan özellik gösterir. Bunun haricinde diğer yerdeğişenlerin yer ve yapısı da rol oynar. Örneğin; 3-tertiyer butil 4-hidroksi anizol, 3-metil veya 3 n-butil türevlerinden daha etkilidir. Yerdeğişenin 3 no'lu karbon atomuna bağlı olması da etkiyi artırır. BHA, gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlar, bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar [29].



Şekil 2.19: Butillenmiş hidroksi anizolün (BHA) kimyasal yapısı

2.10.2 Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)

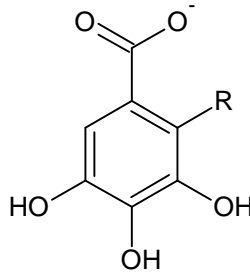
Butillenmiş hidroksi toluen (Şekil 2.20) hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. BHA ile benzer özelliklere sahiptir. Gıdalara ilave edilme işlemleri sırasında uygulanan çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir. % 0,01 oranında kullanılır [29].



Şekil 2.20: Butillenmiş hidroksi toluenin (BHT) kimyasal yapısı

2.10.3 Gallatlar

Gallatlardan özellikle kullanım alanına sahip olanlar; propil, oktil, dodesil gallatlardır. Yağlar için etkili antioksidanlar olup gallik asitten esterleşme suretiyle (katalizör olarak anorganik asitleri kullanarak) elde edilirler. FDA tarafından yalnız propil gallatın et yağları için kullanılmasına müsaade edilmiştir. Bununla birlikte diğer esterlerin farklı fizyolojik etkiye sahip olacağı pek kesin olarak gösterilmiş değildir. Gallik asid esterleri % 0,01 oranında çok etkilidirler. Yalnız demirle yağa hafif bir menekşe renk verdirtir. Onun için bunun kullanıldığı yağda demir bulunmaması gerekir [29].



Şekil 2.21: Propil, dodesil ve oktil gallatların kimyasal yapıları

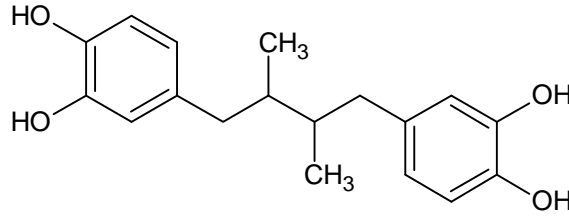
(R: propil, dodesil, stearil).

2.10.4 Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidan tersiyer butil hidrokinon (TBHQ)'dur. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Avrupa'da kullanımı yasaklanmıştır. Gıdalara % 0,02 oranında katılır [29].

2.10.5 Nordihidroguareyetik asid (NDGA)

Nordihidroguayaretik asid (NDGA) toksik etkisi yüksek, yağdaki çözünürlüğü az olan bir sentetik antioksidandır. Özellikle domuz yağı için etkili bir antioksidandır. Gıdalara % 0,01 oranında katılır, pişirilmiş besinlerde bile etkisini korur [29].



Şekil 2.22: Nordihidroguayaretik asidin (NDGA) kimyasal yapısı.

2.11 SPEKTROSKOPİK ANTIOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

Biyolojik sıvıların, saf bileşiklerin, besin ekstralarının ve komponentlerinin toplam antioksidan aktivitesini ölçmek için çok sayıda metod geliştirilmiştir. Literatürde var olan toplam antioksidan aktivite yöntemleri kapsamlı bir literatür çalışmasında ele alınmıştır [42].

Bu yöntemleri birkaç sınıf altında toplayabiliriz:

1. Bir örnekte bulunan tüm antioksidanların tükenmesi için gerekli zamanın ölçümüne dayanan yöntemler. Bu yöntemler, Wayner ve arkadaşları tarafından geliştirilen orjinal TRAP (Toplam Radikal Antioksidan Potansiyeli) yönteminin [43] modifikasyonu sonucu geliştirilmiştir.
2. Tayin edilecek antioksidan bileşiğin serbest radikal bulunan bir ortama ilave edilmesi sonucu radikalın tüketiminin ölçümüne dayanan yöntemler.
3. Verilen bir serbest radikal prosesinin hızının gözlenip analiz edilecek örneğin ilavesinden sonra bu hızın nasıl azaldığının değerlendirilmesine dayalı yöntemler.
4. Toplam antioksidan miktarını örneklerin indirgeme kapasitesiyle bağlantılı kılan yöntemler.

2.11.1 FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Metodu

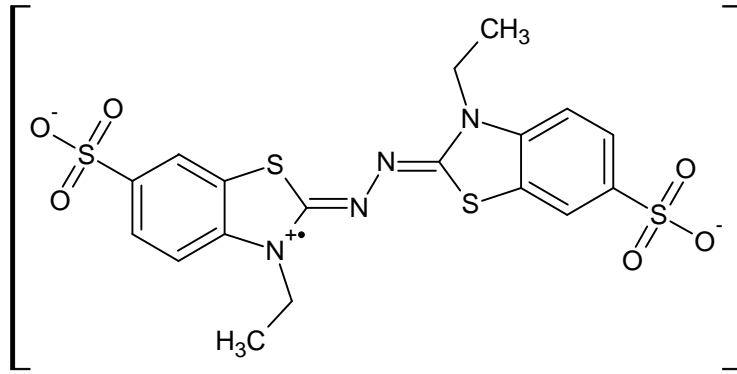
İlk olarak Benzie ve Strain tarafından plazmanın demir (III)'ü indirgeme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan gücünü ölçmek için geliştirilen bu methoda, demir(III)tripridilriazin (Fe(III)-TPTZ) kompleksi antioksidan (indirgen) vasıtasıyla düşük pH ortamında demir(II)tripridilriazin (Fe(II)-TPTZ) kompleksine indirgenir. Meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi şiddetli mavidir ve 593 nm'de maksimum absorbands vermektedir [44].

Basit ve ucuz bir yöntem olan FRAP metodu renkli bir bileşik oluşturmak üzere antioksidanların indirgeyebilme yeteneğini ölçmektedir. Fe(III) bir oksidandır ancak bir prooksidan değildir. Fe(II) ise H₂O₂ ile etkileşmesinden dolayı bir prooksidan olabilir. Çünkü etkileşim sonucunda vücutta bulunan en zararlı serbest radikal olan hidroksil radikalleri oluşur. Bu durumda bu yöntemde bir bileşiğin Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirgeme yeteneğinin 'antioksidan gücü' olarak ifade edilmesi nasıl olabilir sorusu akla gelmektedir. Bu sorunun cevabı şudur: askorbik asit ve ürik asit gibi bazı antioksidanlar hem reaktif türleri hem de Fe(III)'ü indirgeyebilmektedir ve Fe(III)'ü indirgeme yetenekleri reaktif türleri indirgeme yeteneklerine yansımaktadır. Ancak Fe(III)'ü indirgeyebilen her redüktan antioksidan olamaz. Kısaca, prooksidanları kuvvetli bir şekilde indirgeyebilen bir antioksidan Fe(III)'ü de aynı şiddette indirgemeyebilir.

Bu yöntemin diğer bir özelliği de biyolojik bir örnekte bulunan antioksidanların hem Fe(III)-TPTZ kompleksini Fe(II)-TPTZ kompleksine indirgemesi hem de Fe(II) iyonlarının ortamdaki H₂O₂ ile reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikalleri ile etkileşmesinden dolayı antioksidan kapasitesinin direkt olarak ölçülememesidir. Diğer bir deyişle, FRAP metodu toplam antioksidan gücü tayin edebilen dolaylı bir methoddur [45]. pH=3,6'da uygulanan FRAP yöntemi fizyolojik pH'larda çalışmadığından bulunan sonuçların insan vücudundaki redoks reaksiyonlarına uyarlanması beklenmemelidir. Yöntemin asidik pH'larda çalışması, protonlarını vermemiş bazı antioksidanların kolay yükseltgenememesine ve dolayısıyla toplam antioksidan kapasitesinin olduğundan düşük bulunmasına yol açabilmektedir. Ayrıca bu yöntemin diğer bir eksikliği, plazma antioksidanlarını dolaylı olarak ölçerken 'in vivo' koşullarda önemli bir tiyol (-SH) grubu antioksidanı olan glutatyon ile reaksiyon vermemesidir.

2.11.2 TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi)/ABTS Yöntemi

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi olarak ifade edilen **TEAC/ABTS** yöntemi, ilk olarak Miller ve diğ. tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem; 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun absorbanasının hidrojen verici antioksidanlar tarafından inhibe edilmesine dayanan bir metoddur. Absorbanadaki azalmadan yararlanılarak toplam antioksidan kapasitesi troloks (E vitamini analogu) cinsinden verilmektedir. Aktivitesi ölçülecek bileşiğin 1 mM'lık çözeltisinin aktivitesine eşdeğer olan troloksun milimolar konsantrasyonu (TEAC) aktiviteyi ifade eder. Orijinal metotta ABTS^{•+} katyonu (Şekil 2.23) metmiyoglobinin H₂O₂ ile aktivasyonu sonucu meydana gelen ferrilmiyoglobin radikal türlerinin ABTS ile etkileşiminden meydana gelmektedir. ABTS^{•+} radikal katyonunun karakteristik uzun dalgaboylu absorpsiyon spektrumu 660, 734 ve 820 nm'de maksimum vermektedir (Şekil 2.24) [46-47].

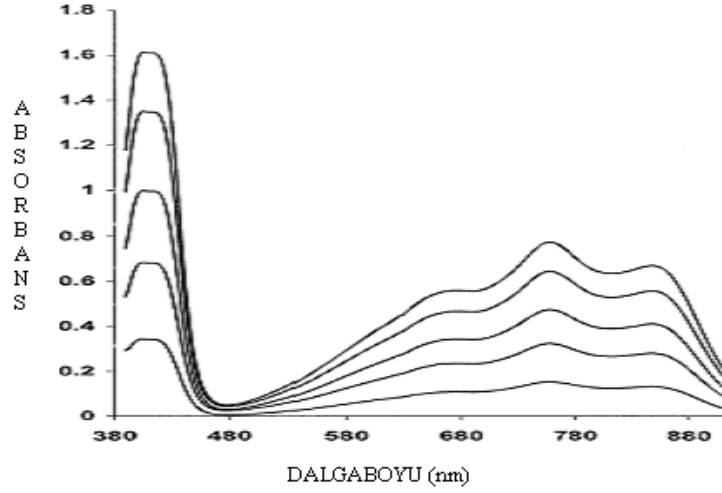


Şekil 2.23: ABTS^{•+} katyonunun yapısı

Re ve diğ. tarafından modifiye edilen TEAC yönteminde ise ABTS^{•+} radikal katyonu ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Oluşan radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 gün dayanıklıdır. Geliştirilen metodun orijinal metoddan farkı hem lipofilik hem hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolizasyon (renk giderimi) yöntemi olmasıdır. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşmaktadır. Orijinal metotta ise antioksidan varlığında radikal meydana gelmektedir [48].

Üçüncü grupta bulunan yöntemlerde kullanılan kromojen radikallerin kararlılığı pek çok etkene bağlıdır ve bu sistemlerde verilen bir bileşik tarafından gerçekleştirilen

indirgeme olayının, radikal süpürme yeteneğinden mi yoksa radikal oluşumunun başlangıç hızını azaltmasından mı kaynaklandığı tam olarak belli değildir [42].



Şekil 2.24: ABTS radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu.

TEAC metodunun diğer bir modifikasyonu van den Berg ve diğ. (1999) tarafından geliştirilmiştir [49]. Bu çalışmada bir azo bileşiği olan 2,2'-azobis-(2-amidinopropan)HCl (ABAP) kullanılarak ABTS⁻ radikal anyonu oluşturulmuştur. Yöntemde antioksidanlar radikalın oluşmasından önce eklenmektedir. Böylece radikal oluşumuna etki edecek olan bileşiklerin enterferansını önlemektedir. Bu yöntemde de hem hidrofilik hem lipofilik antioksidan kapasitesi ölçülebilmektedir. Diğer bir yenilik Arnao ve diğ. tarafından ortaya konulmuştur. Burada ABTS radikalının oluşumunda HRP (horse radish peroxidase) kullanılmıştır. ABTS/H₂O₂/HRP enzimatik sistem kullanılarak hidrofilik ve lipofilik antioksidan aktivitesi ölçülebilmektedir [50].

2.11.3 DPPH Yöntemi

Bu yöntem; antioksidanların kararlı bir serbest radikal olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 517 nm'de maksimum absorbanans verir. Etanol veya metanollü DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal

süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir [51]. Ancak doğaldır ki DPPH radikalini süpürme yeteneği, fizyolojik koşullarda etkin olan ROS ve RNS radikallerini süpürme yeteneği ile bire bir bağdaştırılmaz.

2.11.4 Folin Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem Singleton ve diğ. [52,53] tarafından antioksidanların toplam fenolik içeriğini ölçmek için geliştirilmiştir. Yöntemde kullanılan CuSO_4 (bakır(II) sülfat) alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfo-molibdik-fosfotungstik reaktif) eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II) 'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) olasılıkla molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbansları ölçülür.

2.11.5 TRAP (Toplam Radikal Tutma Potansiyeli) Yöntemi

Wayner ve diğ. tarafından geliştirilen toplam radikal tutma parametre (TRAP) yöntemi son 10 yıldır plazma veya serumdaki toplam antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılan başlıca yöntemlerden biridir [43].

Bu metotta; plazma ve diğer biyolojik sıvılarda bulunan peroksitelebilen maddelerden ve 2,2'-azobis (2-amido propan) hidroklorürden (AAPH) meydana gelen peroksil radikalleri kullanılır. Plazmaya AAPH'ün ilavesinin ardından reaksiyon sırasında tüketilen oksijenin ölçülmesiyle yükseltgenen maddelerin oksidasyonu gözlenmektedir. Bu oksidasyon indüksiyon periyodu boyunca plazmadaki antioksidanlar tarafından engellenmektedir. İndüksiyon periyodu ölçülerek plazmadaki toplam antioksidan kapasitesi, iç standart olarak kullanılan troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanmaktadır [43]. Wayner ve diğ. orijinal TRAP yöntemini modifiye etmişlerdir. Bu yeni yöntemde, peroksil radikalleri tarafından oksidasyon başlatılmadan önce, plazma örneğine linoleik asit ilavesi yapılmıştır [54]. TRAP yönteminin en önemli dezavantajı, oksijen elektrodu ile ilgilidir. Oksijen elektrodu, gereken zaman periyodunda kararlılığını sağlayamamaktadır [47]. Ayrıca TRAP indeksine C ve E vitamini gibi antioksidanların az katkı sağlaması önemli bir sakıncadır.

2.11.6 Luminol Yöntemi

İlk olarak Metsä-Ketelä ve diğ. tarafından 1991’de geliştirilen ve yayınlanan kemiluminesans bazlı TRAP yöntemi, daha sonra Alho ve Leinonen tarafından detaylı şekilde tanımlanmıştır [55]. AAPH bileşiğinden meydana gelen peroksil radikallerinin yükseltgenebilir substratı (luminol) oksidasyonu sonucu ışık yayan luminol radikalleri oluşmaktadır. Oluşan ışık luminolmetre denilen cihazlarla ölçülmektedir. Antioksidan özelliği olan bir madde, kemiluminesans ışımalarının oluşumunu belli bir zaman (gecikme zamanı) için engeller. Gecikme zamanı bir örnekteki toplam antioksidan potansiyeli ile doğrudan orantılıdır. Elde edilen sonuçlar troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanmaktadır.

Whitehead ve diğ. tarafından orijinal luminol yöntemine bazı ilaveler yapılmıştır. Luminol maddesinin hidrojen peroksit veya perborat ile yükseltgenmesinden yararlanır. Reaksiyonun daha hızlı gerçekleşebilmesi için katalizör olarak HRP kullanılmış ve ışık yayılması daha çabuk olmuştur. Normal şartlar altında bu reaksiyon hızla azalan düşük şiddetli bir ışık yayılması olarak gerçekleşir. Reaksiyon ortamına *p*-iyodofenol ilave edildiği zaman ışık emisyonu daha şiddetli, uzun süreli ve kararlı hale gelir. Işığın luminol radikalleri tarafından yayılması için ortamdaki bütün antioksidanların tüketilmesi gerekmektedir. Bu nedenle bu yöntem antioksidan girişimine karşı duyarlıdır. Bu yöntemin en önemli dezavantajı, incelenen antioksidanların yalnızca AAPH’dan oluşan radikalleri değil luminol radikallerini de indirgemesidir [56].

2.11.7 Diklorofloresein-diasetat (DCFH-DA)

Temelini TRAP yönteminin oluşturduğu bu yöntem, Valkonen ve Kuusi tarafından geliştirilmiştir. Yöntemde AAPH peroksil radikali oluşturmak için, DCFH-DA ise yükseltgenebilir substrat olarak kullanılmıştır. Peroksil radikali ile DCFH-DA arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan diklorofloresein (DCF) yüksek floresans özelliğe sahiptir. 480 nm’de uyarılıp 526 nm’de emisyon yapmaktadır. 504 nm’de de maksimum absorpsiyon göstermektedir. Yöntemin uygulanması sonucunda DCF miktarı ve buna bağlı olarak toplam antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Toplam antioksidan kapasitesi iki aşamada hesaplanmaktadır. İlk aşamada, numune

içindeki antioksidanların kapasitesi gecikme zamanı cinsinden hesaplanıp ardından aynı numune üzerine miktarı bilinen troloks çözeltisi ilave edilir. Troloks çözeltisi serbest radikaller tarafından tüketildikten sonra ikinci gecikme zamanı hesaplanır. Bu iki gecikme zamanı arasındaki farktan yararlanılarak troloks cinsinden toplam antioksidan kapasitesi hesaplanır [57].

2.11.8 TOSC (Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi) Yöntemi

Winston ve diğ. tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem; AAPH bileşiğinden meydana gelen peroksil radikalleri tarafından α -keto- γ metiolbutirik asitin (KMBA) etilene okside olmasına dayanır [58].

Kısmen antioksidanlar tarafından engellenen etilen oksidasyonu gaz kromatografisi ile ölçülmektedir. Toplam kapasiteyi elde etmek için kullanılan denklem aşağıda verilmiştir:

$$TOSC = 100 - \left(\frac{SA}{CA} \times 100 \right) \quad (2.6)$$

SA: örnek reaksiyon eğrisi

CA: kontrol reaksiyon eğrisi

Antioksidan veya TOSC değerleri 0-100 arasında verilmiştir. Bu yöntemde kullanılan alan integralleri açık bir sistemdir, çünkü KMBA tarafından oluşan etilen üretimi antioksidanların tüketilmesiyle artar. Uygun değerlerde kullanılan KMBA sınırlayıcı bir faktör değildir. Bu yöntemin plazma antioksidanlarını değerlendiren bir uygulaması mevcut değildir [45].

2.11.9 Krosin Esaslı Yöntemler

Plazma antioksidanlarının antioksidan kapasitelerini ölçmek için Tubaro ve diğ. tarafından geliştirilmiş olan yöntemde kinetik parametreler kullanılmıştır. Bu yöntem; AAPH tarafından meydana gelen peroksil radikalleri sayesinde krosinin yükseltgenmesi (renginin giderilmesi) esasına dayanmaktadır. Krosinin peroksil radikalleri tarafından oksidasyon yani renk giderim hızı, ortamda antioksidan bileşiklerin bulunmadığı haldeki hızı (V_0) ve bulunduğu haldeki hızı (V), 10 dakikalık süre içinde ölçülüp kaydedilir. $\left[\frac{A}{C} \right]$ (antioksidan konsantrasyonu)/C(krosin konsantrasyonu) ile V_0/V

arasında çizilen grafiğin eğimi, teorik olarak k_a (antioksidan ve peroksil radikalleri arasındaki reaksiyon hız sabiti) ile k_c (krosin ile peroksil radikalleri arasındaki reaksiyon hız sabiti) arasındaki oranı (k_a/k_c) verir, yani peroksil radikalleri ile etkileşen bileşiğin rölatif kapasitesini belirtir. İncelenen antioksidanın k_a/k_c değeri troloksun k_a/k_c değerine bölünüp sonuçlar troloks eşdeğeri cinsinden ifade edilmektedir [59].

Tubaro ve diğ., bu kinetik yaklaşım sayesinde antioksidan koruma etkinliğinin kesin olarak değerlendirilebileceğine inanmaktadırlar. Ancak bu metod bir antioksidanın diğer bir antioksidana karşı mücadele etme yeteneğini ölçmektedir. Ayrıca kullanılan krosinin konsantrasyonu sabittir fakat analizlenecek olan bileşiğin farklı konsantrasyonlarının kullanılması için farklı krosin konsantrasyonları gerekmektedir. Bu yöntemin diğer bir eksikliği, askorbik asid için bulunan troloks cinsinden antioksidan kapasitesinin 7,7 mmol troloks/g olması ve bu sonucun diğer metodlarla bulunanlardan çok daha yüksek olmasıdır [45].

2.11.10 Fikoeritrin (PE) Esaslı Yöntemler

Ghiselli ve diğ. [60] tarafından 1995 yılında yayınlanan bu yöntemin bir kısmı daha önce Glazer [61] tarafından 1990 yılında ifade edilmiştir. Glazer, peroksil radikallerini oluşturmak için AAPH, hidroksil radikallerini oluşturmak için Cu(II)-askorbat, yükseltgenebilir substrat olarak B- veya R-PE kullanmıştır. B- veya R-PE substratının peroksil veya hidroksil radikalleri varlığında gösterdiği floresansın zamanla lineer olarak azaldığı belirtilmiştir. Bir numunedeki antioksidanların, peroksil veya hidroksil radikallerine karşı sağladığı tam koruma süresi troloksun sağladığı tam koruma süresine oranlanarak troloks eşdeğeri cinsinden verilmiştir.

Yeni bir yöntem olarak yayınlanan Ghiselli'nin yönteminde Glazer'ın geliştirmiş olduğu yönteme atıf yapılmamıştır. Ayrıca yapılan çalışmada R-PE floresansındaki azalmanın floresansın %80 tamamlanana kadar zamanla lineer olarak azaldığı belirtilmiştir. Ancak bu çalışma Cao ve diğ. tarafından tekrar yapıldığında aynı sonuçlar alınamamıştır [62-63].

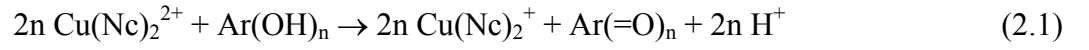
2.11.11 ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) Yöntemi

ORAC yöntemi [62-63]; büyük oranda Glazer [61] tarafından geliştirilip yayınlanan çalışmaya dayalı bir yöntemdir. Diğer yöntemden farkı hidroksil radikallerinin oluşturulmasında Cu(II)-H₂O₂ kullanılmasıdır. Oluşturulan serbest radikaller ile yükseltgenir substrat olan β-PE arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucunda fikoeritrinin (phycoerythrin) floresansındaki düşüş ölçülerek toplam antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Serbest radikal etkisini inceleyen ve eğri altında kalan alan tekniğini miktar tayininde kullanan bu yöntem, antioksidanların serbest radikalleri hem inhibe etme yüzdesini ve hem de süresini tek bir değer olarak ifade edebilen bir yöntemdir [45]. Çeşitli biyolojik örneklerden saf bileşiklere kadar birçok maddeye ORAC yöntemi uygulanıp antioksidan kapasiteleri tayin edilmiştir [64-66].

ORAC yönteminde prooksidan olarak peroksil ve hidroksil radikalleri kullanılması, yöntemi prooksidan olmayan yükseltgenler içeren yöntemlerden ayırmaktadır. Yöntemde oksidasyon için bir protein substrat (PE) kullanılması da substrat olarak luminol [55-56] veya krosin [59, 67] kullanılan yöntemlerden ayıran önemli bir farktır [45].

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı tarafından geliştirilen spektrofotometrik bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifi (Cu(II)-Nc) kullanılarak spektrofotometrik yolla polifenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin tayin edilmesi ve genel adı 'bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite tayini' olarak ifade edilen, CUPRAC [68] metodu referans metod olarak kullanılmıştır.

CUPRAC metodu, pH 7 ve üzerinde güvenilir sonuçlar veren Cu(II)-Nc reaktifi ile antioksidan kapasite tayininin optimum deney koşulları (reaktif konsantrasyonu, pH, reaksiyon süresi vb.) belirlenerek ve polifenolik bileşiklerin Cu(II)-Nc kompleksini 450 nm'de maksimum ışık soğurması gösteren Cu(I)-Nc kompleksine indirgeme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır. Aşağıda verilen polifenollerin yükseltgenmesi reaksiyonunda antioksidan polifenoller aynı zamanda indirgen maddeler olduklarından, kromojen bir oksidasyon aracı olan Cu(II)-Nc reaktifini indirgemektedirler:



Elde edilen kapasite değerleri troloks eşdeğeri (TEAC) cinsinden verilmiştir. Bu amaçla fındık eőtilerine ait %80 metanol/su ekstreleri incelenmiştir. Sonuçlar antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve troloks tayininde kullanılan diğer referans yöntemlerin sonuçlarıyla istatistiksel olarak karőtılaőtırılmıőtir.

3 MALZEME VE YÖNTEM

3.1 FINDIK ÖRNEKLERİ

Bu çalışmada kullanılan fındık çeşitleri (Karafındık, Uzunmusa, Kargalak, Yuvarlakbadem, Kalıncara, Foşa, Kuş, Mincane, Palaz, Çakıldak, İncekara, Sivri, Yassı Badem, Acı, Tombul) Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinde bulunan Giresun Fındık Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

3.2 KULLANILAN CİHAZLAR

Spektrumlar ve soğurma ölçümleri, eşleştirilen kuvars küvetlerde Varian CARY Bio 100 UV-Vis spektrofotometre kullanılarak alınmıştır (Mulgrave, Victoria, Avustralya). Kromatografik ölçümler için Waters Breeze™ 2 Model HPLC sistemi (Milford, MA, ABD) ve 1525 ikili pompa, kolon termostat, 2998 foto-diyot dizi dedektörü (Chelmsford, MA, ABD) ve Hamilton 25 µL şırınga (Reno, NV, ABD) kullanılmıştır. Verilerin alınması Empower PRO (Waters Associates, Milford, ABD) ile yapılmıştır. İlgili diğer cihazlar Velp Scientifica SER148 model soxhlet ekstraksiyon sistemi (Milano, İtalya), Ultra-Turrax CAT X-620 model homojenizatör cihazı (Staufen, Almanya), Büchi R-210/215 model döner buharlaştırıcı (Flavoil, İsviçre) ve Clay-Adams Dynac santrifüj cihazıdır (Sparta, NJ, ABD).

Kimyasal maddelerin tartılmasında AX200 SHIMADZU markalı hassas terazi, hazırlanan çözeltilerin karıştırılmasında girdap karıştırıcı, çözeltilerin pH'sının belirlenmesinde E512 Metrohm Herisau pH-metre, inkübasyon işlemi için IKA HB4 basic su banyosu, Varian Cary 1E model UV-görünür alan spektrofotometresi ve ölçüm yapmak için HELLMARCA marka 10 mm ışık yollu bir çift kuartz küvet, Perkin Elmer HPLC cihazı: Perkin Elmer Series 200 pompa, Perkin Elmer Series 200 UV/Vis dedektör, enjeksiyon valfi (Model 7725i, Rheodyne, USA), Hamilton Hx Sil C18 kolon

(250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), Hamilton (Reno, NV, USA) marka 25 μ L şırınga kullanılmıştır.

3.3 KİMYASAL MADDELER

Analitik reaktif saflığında olmak üzere, aşağıdaki kimyasallar ilgili kaynaklardan temin edilmiştir: Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Nc), Folin-Ciocalteau fenol reaktifi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), kateşin (CT), gallik asit (GA), vanilik asit (VA), sinapik asit (SA), epikateşin (EC), etanol (EtOH): Sigma Chemical Co (St Louis, MO, ABD); kafeik asit (CFA), ferulik asit (FRA), p-kumarik asit (COU); troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (TR): Aldrich (Steinheim, Almanya); bakır(II) klorür dihidrat, amonyum asetat (NH₄Ac), bakır(II) sülfat, sodyum karbonat, sodyum potasyum tartarat (NaKC₄H₄O₆), potasyum persülfat (K₂S₂O₈), glasiyal asetik asit, metanol (MeOH): Merck (Darmstadt, Almanya); ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin)-6-sülfanik asit diamonyum tuzu, 4°C'de tutuldu), protokatekuik asit (PA), sirinjik asit (SYA): Fluka (Buchs, İsviçre). Aksi belirtilmedikçe, reaktifler "analitik saflıkta"dır. HPLC analizi için, su Simpapak 1 Synergy 185 system (Millipore, Milford, MA, ABD) kullanılarak saflaştırılmıştır.

3.3.1 Çözeltilerin Hazırlanması

Toplam antioksidan kapasitesi (TAC) için CUPRAC testi amacıyla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı: CuCl₂ çözeltisi (10 mM) ve amonyum asetat tampon çözeltisi (1 M, pH 7) suda hazırlanmıştır. 7,5 mM neokuproin çözeltisi için mutlak etanol kullanılmıştır. TAC'nin ABTS testi için, 7,0 mM derişimde, kromojen radikal reaktifi olan ABTS bileşiği suda çözülmüş ve son persülfat derişimi 2,45 mM olacak şekilde K₂S₂O₈ ilave edilmiştir. Oluşan ABTS radikal katyon (ABTS⁺) çözeltisi 12-16 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında olgunlaşmaya bırakılmış ve sonra ABTS/TEAC denemesi için kullanılmıştır. Reaktif çözeltisi etanol ile kullanımdan önce 1:10 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Radikal süpürme aktivitesi testi için, 0,1 M DPPH radikali (DPPH⁺) çözeltisi etanolde hazırlanmıştır. Toplam fenolik testte kullanılan çözeltiler şu şekilde hazırlanmıştır: Lowry A: %2 (w/v) sulu Na₂CO₃, 0,1 M NaOH içinde; Lowry B: %1 (w/v NaKC₄H₄O₆ çözeltisi içinde %0,5 (w/v) CuSO₄ sulu çözeltisi; Lowry C: 50

mL Lowry A + 1 mL Lowry B şeklinde taze olarak hazırlanmış; Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmadan önce 1+3 hacim oranında H₂O ile seyreltilmiştir.

3.3.2 Fındık içlerinin ekstraksiyonu

Bu çalışmada kullanılan fındık örnekleri Ordu'daki Fındık Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Fındıkların kabukları ve iç derileri soyulmuş ve fındık içleri cilalanmıştır. Cilalanmış fındık içleri aşağıda anlatıldığı gibi işlenmiştir.

3.3.2.1 Fındık yağının Soxhlet ekstraksiyonu

Yaklaşık 15 g fındık tozu (içler blender ile öğütülmüştür) Soxhlet kartuşuna tartılmış ve 130 °C'de 45 dakika n-heksan ile muamele edilmiştir. Aynı sıcaklıkta 20 dakika süreyle n-heksan ile yıkandıktan sonra 15 dakika süreyle çözücünün geri kazanılması için beklenmiştir. Heksanın tamamı cihazda geri kazanılmadığı için, yağ-heksan karışımı dibi yuvarlak bir balona alınıp destillenerek yağ elde edilmiştir. Yağ numunesi bir şişeye konmuş, analizden önceye kadar karanlıkta bekletilmiştir.

3.3.2.2 Yağı gizarlanmış fındık içinin metanolle ekstraksiyonu

Yağı gizarlanmış fındık numunesi (2 g) %80 MeOH ile bir gece ıslatılmış ve Ultra-Turrax homojenizatörde birim zamandaki çevrim sayısı artırılmak suretiyle homojenize edilmiştir. Elde edilen ekstraleler santrifüj tüplerine konmuş ve 10 dakika, dakikada 5000 devirde santrifüj edilmiştir. Örneğin geri kalan kısmı üzerinde aynı prosedür 3 kere 25 mL %80 MeOH ile tekrar edilmiştir [70]. Bütün ekstraleler birleştirilmiş ve aynı çözücü kullanılarak 100 mL'ye seyreltilmiştir. Elde edilen ekstraleler azot geçirmek ve kapakla kapatmak koşulu ile +4 °C'de buzdolabında saklanabilir. Fındık ekstraleleri HPLC analizi için 0,45 µm membran filtresinden (Whatman, İngiltere) süzülmüştür.

3.4 UYGULANAN YÖNTEMLER

3.4.1 CUPRAC Yöntemi (Bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini) spektrofotometrik inceleme

Apak ve diğ. (2004) tarafından bildirildiği gibi, CUPRAC yöntemi bakır(II)-neokuproin kompleksinin antioksidanlarca bakır(I) kelatına indirgenmesine dayanmaktadır [68]. Bir

test tübüne 1'er mL Cu(II), Nc ve NH₄Ac tamponu konur. Metanollü ekstre örnekleri x mL, su (1,1-x) mL olacak şekilde ilk karışıma ilave edilir, böylece toplam hacim 4,1 mL olur. Tüpler kapatılır ve 30 dakika sonra 450 nm'deki absorbans reaktif körüne karşı ölçülür, absorbans antioksidan derişimine doğrusal bir şekilde bağlıdır. Tavsiye edilen teknik üç farklı fındık içinin metanollü ekstresine üçer kere uygulanmıştır.

$$1 \text{ mL Cu(II)} + 1 \text{ mL Nc} + 1 \text{ mL NH}_4\text{Ac} + x \text{ mL örnek} + (1,1-x) \text{ mL su} \quad (3.1)$$

$$V_{\text{toplam}}: 4,1 \text{ mL}$$

3.4.2 Fındık yağı örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde CUPRAC-DCM yöntemi

İlk olarak β-karotenin incelenmesinde uygulanan [69] CUPRAC-DCM yöntemi sentetik ve gerçek örneklerin lipofilik antioksidan kapasitesinin ölçümüne uygulanmıştır. Bir test tübüne 1 mL bakır(II) klorür çözeltisi, 1 mL neokuproin çözeltisi, 1 mL NH₄Ac tampon çözeltisi bu sıra ile konur. Fındık yağı örneği (x mL) ve DCM (4-x) mL ilk karışıma ilave edilir, burada son hacim 7 mL olmalıdır. Karıştırılır ve organik faz sulu fazdan ayrılır. 450 nm'deki absorbans okuması 30 dakika sonra reaktif körüne karşı yapılır. DCM'nin buhar basıncı oda sıcaklığında yüksek olduğu için, buharlaşma kayıplarını önlemek amacıyla +4 °C'de tutulur. Tavsiye edilen teknik, üç farklı fındık yağı örneğine üçer kere uygulanmıştır.

3.4.3 ABTS/persülfat toplam antioksidan kapasitesi ölçümü

Prosedür Re ve diğ. (1999) tarafından belirtildiği gibi [48] yapılmış ve Türk fındıklarına (fındık içi ekstrelerine ve fındık yağı örneklerine) uygulanmıştır. 1 mL olgunlaşmış ABTS radikali (ABTS⁺) çözeltisi etanol ile 1:10 oranında seyreltilir ve x mL metanollü fındık içi ekstresine veya x mL fındık yağı örneğine (DCM'de çözülmüş) ilave edilir, 4-x mL etanol konur ve 6 dakika sonunda 734 nm'de absorbans okunur. Antioksidanlar tarafından sebep olunan absorbans sönümlenmesi (ΔA) ekstraktın absorbansından reaktif körünün absorbansını çıkarmakla elde edilir. Bu değer doğrusal bir kalibrasyon

doğrusu yardımıyla troloks eşdeğeri antioksidan derişimine çevrilir. Tavsiye edilen teknik üç farklı findık içi ekstresine veya yağ örneğine üçer kere uygulanmıştır.

3.4.4 DPPH radikal süpürme aktivitesinin tayini

Fındık içi ekstresinin serbest radikal süpürme aktivitesi Sanchez-Moreno ve diğ. (1998) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılmıştır [71]. X mL metanollü ekstre ve 4-x mL EtOH karışımı üzerine 1 mL 0,1 M DPPH'in etanoldeki çözeltisi ilave edilir. Karışım vortekslenir ve oda sıcaklığında 30 dakika dinlendirilir. EtOH'e karşı absorbands 517 nm'de kaydedilir. Fındık yağı örnekleri için, x mL yağ örneği 4-x mL DCM içinde çözülür ve 1 mL 0,1 M DPPH'in etanollü çözeltisine ilave edilir, absorbands okuması metanollü ekstrede olduğu gibi yapılır. DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak DPPH renk gitmesinin yüzdesi olarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ süpürme aktivitesi} = 100 [A_{\text{DPPH}} - A_{\text{örnek}}] / A_{\text{DPPH}} \quad (2.1)$$

3.4.5 Folin-Ciocalteu toplam fenolik içerik

Metanollü findık ekstresinin toplam fenol içeriği Singleton ve diğ. (1999) tarafından bildirilen yöntemle göre Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [53]. X mL metanollü findık içi ekstresine 1-x mL H₂O konur. 2,5 mL Lowry C çözeltisi ilave edilir, karışım 10 dakika kendi haline bırakılır. Bu süre sonunda 0,25 mL Folin reaktifi ilave edilir ve oluşan mavi rengin kararlılık kazanması için 30 dakika daha beklenir. Reaktif körüne karşı absorbands 750 nm'de ölçülür. Sonuçlar örneğin gram başına mmol troloks eşdeğeri şeklinde ifade edilir. Tavsiye edilen teknik üç farklı metanollü findık içi metanol ekstresine üçer defa uygulanmıştır.

3.4.6 Fındık içi ekstrelerinde fenollü antioksidanların HPLC analizi

Analizler ters faz ACE C18 kolonu (4,6 mm x 250 mm, 5 µm parçacık boyutu) (Milford, MA, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Ters faz HPLC analizinde kullanılan gradyan elüsyon programı şöyledir: %2'lik CH₃COOH (A) bidestile suda ve saf metanol (B) hareketli fazlar olarak kullanılmıştır. Çalışma kipi gradyan elüsyon şeklinde ayarlanmış ve saf zeytinyağında fenollü antioksidanların analizinde kullanılan

yöntemden esinlenilmiştir [72]: ($V_{\text{örnek}} = 20 \mu\text{L}$, akış hızı = 1 mL/dak, tayin dalgaboyu $\lambda = 280 \text{ nm}$). 3. dakika %95 A - %5 B (eğim 1,0); 18. dakika %80 A - %20 B (eğim 1,0); 20. dakika %80 A - %20 B (eğim 0,0); 30. dakika %70 A - %30 B (eğim 1,0); 35. dakika %60 A - %40 B (eğim 1,0); 45. dakika %50 A - %50 B (eğim 1,0); 50. dakika %95 A - %5 B (eğim 1,0). Yukarıdaki çalışma kipi kullanılarak, pik alanına karşı derişim içeren doğrusal eşitlikler biçimindeki kalibrasyon doğruları ilgili antioksidanlar için oluşturulmuştur.

4 BULGULAR

4.1 CUPRAC VE ABTS/PERSÜLFAT TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (TAC)

Tablo.1'de, 15 farklı Türk fındık örneğinde geleneksel CUPRAC ve ABTS/persülfat toplam antioksidan kapasitesi ölçümleri metanol:H₂O karışımında (4:1 v:v) troloks eşdeğeri olarak (mmol TR/g katı madde) ifade edilmiştir. Yağ örneklerinin TAC_{CUPRAC} değerleri TAC_{ABTS} değerlerine göre yaklaşık 2 kat daha yüksek bulunmuştur. TAC değerleri arasındaki bu fark ABTS radikal katyonunun ilgili bütün lipofil antioksidanları yükseltgeyememesinden veya ABTS⁺'nin bu bileşiklere karşı yavaş kinetiğinden kaynaklanabilir, çünkü ABTS⁺ N merkezli, sterik olarak engelli bir radikal olup polimerik fenollerle yavaş reaksiyonlar oluşturmaktadır [76]. Yağı giderilmiş fındık içlerinin zar kısmı olmadan metanollü ekstraktları CUPRAC ve ABTS/persülfat ile analiz edilmiştir. TAC_{ABTS} değerleri daha düşük olup TAC_{CUPRAC} değerlerine daha yakındır (Tablo.4.2). CUPRAC yöntemi hem yağda (Tablo.4.1) hem de sulu metanol ekstresinde (Tablo.4.2) analiz için uygundur, çünkü CUPRAC kromoforu bakır(II) neokuproin kelatı olup hem sulu, hem de organik çözücü ortamında çözünebilmektedir (Apak ve diğ., 2007). Bu çalışmada, serbest fenollü bileşikler %80 (v:v) metanol/su ile ekstrakte edilmiştir. John ve Shahidi (2010) en iyi çözücü olarak %80 etanol, %80 metanol ve %70 aseton arasından seçmiştir, en yüksek ekstraksiyon verimi aseton ile elde edilmiştir; aseton içinde diğer çözücülerle karşılaştırıldığında daha çok çözünür fenollü içerikler bulunmuştur. Çalışma Brezilya fındık içi ve yan ürünleri ile yapılmıştır. Bu yazarlar, Brezilya fıstığı (kahverengi zarlı) için çözünür fenollü ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi, fıstık içi ve tam fıstık için sırasıyla 6,61 ve 2,56 kere daha yüksektir, ve çözünür fenollü ekstraktların bağlı fenoliklere göre daha yüksek antioksidan kapasitesi olduğu bulunmuştur [15].

Tablo 4.1. 15 Farklı fındık yağı örneğinin toplam antioksidan kapasiteleri (troloks ekivalenti olarak) ve radikal süpürme aktivitesi

Türk Fındık çeşitleri	TAC_{CUPRAC} (mmol TE/g)	TAC_{ABTS} (mmol TE/g)	DPPH Radikal süpürme aktivitesi (%)
Karafındık	0,43±0,06	0,20±0,02	72±6
Uzunmusa	0,41±0,04	0,17±0,03	75±4
Kargalak	0,19±0,02	0,14±0,02	51±3
Yuvarlak Badem	0,25±0,02	0,14±0,02	60±3
Kalınkara	0,54±0,01	0,12±0,01	56±8
Foşa	0,36±0,02	0,19±0,01	71±3
Kuş	0,30±0,04	0,14±0,01	76±4
Mincane	0,29±0,03	0,11±0,02	68±4
Palaz	0,34±0,03	0,13±0,01	58±4
Çakıldak	0,37±0,02	0,11±0,02	66±3
İncekara	0,37±0,04	0,13±0,03	66±1
Sivri	0,35±0,01	0,14±0,01	86±5
Yassı Badem	0,33±0,02	0,11±0,01	69±4
Acı	0,36±0,05	0,14±0,01	69±2
Tombul	0,27±0,01	0,12±0,01	84±3

Bulgular (Ortalama±SD), n=3 olarak verilmiştir.

4.2 DPPH RADİKAL SÜPÜRME AKTİVİTESİ

Yağı giderilmiş Türk fındık içi ve fındık yağı örneklerinde metanollü ekstrelerin serbest radikal süpürme aktivitesi DPPH analizi (Tablo 4.1 ve 4.2) ile ilk kez incelenmiştir. Yağ örneklerinde yüzdesel radikal süpürme aktivitesi %51-84 arasındadır, sulu metanol ekstrelerinde bu değerler %42-59 arasında değişmektedir. Bu da, fındık yağındaki antioksidanların metanollü ekstredekilere oranla daha etkili (DPPH'a karşı) süpürücüler olarak görev yaptığını ortaya koyar, DPPH lipofilik antioksidanlara daha yüksek ilgi göstermektedir [73]. Miraliakbari ve Shahidi (2008) fosfolipidler, sfingolipidler, steroller ve tokoferoller içeren fındık ekstrelerinin DPPH süpürme aktivitelerini ölçmüştür [74]. Kloroform/metanol ile ekstrakte edilen yağların heksan ile ekstrakte edilen yağlara göre daha yüksek antioksidan aktivitesi bulunmuştur [74]. Arcan ve Yemenicioğlu (2009), taze ve kuru fındıkta zar kısmının önemini ortaya koymuştur, bu yazarlara göre zar kısmı alınmış fındıklarda antioksidan aktivite ciddi ölçüde

düşmektedir [20]. Fındık zarındaki fenoliklerin önemi Alasalvar ve diğ. (2009) tarafından açıklanmıştır [19].

Tablo 4.2. Yağı giderilmiş, zarı alınmış 15 farklı kuru Türk fındık içi çeşidinin sulu metanollü ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi, radikal süpürme aktivitesi ve toplam fenolik içerikleri (trolloks eşdeğerleri olarak).

Türk fındığı çeşitleri	TAC _{CUPRAC} (mmol TE/g)	TAC _{ABTS} (mmol TE/g)	DPPH radikal süpürme aktivitesi (%)	Toplam fenolik içerik (mmol TE/g)
Karafındık	2,07±0,12	1,34±0,20	47±6	3,74±0,10
Uzunmusa	1,94±0,32	1,50±0,26	45±7	3,79±0,08
Kargalak	1,90±0,13	2,21±0,11	45±4	4,02±0,08
Yuvarlak Badem	2,50±0,26	1,96±0,07	59±4	4,15±0,15
Kalınkara	2,33±0,18	2,19±0,20	47±2	4,25±0,14
Foşa	2,22±0,20	2,52±0,27	55±3	5,62±0,25
Kuş	2,21±0,23	1,71±0,10	45±1	6,03±0,10
Mincane	2,98±0,37	2,38±0,43	52±1	7,44±0,08
Palaz	2,56±0,23	1,93±0,23	57±5	6,32±0,03
Çakıldak	2,72±0,12	2,31±0,21	53±4	6,12±0,16
İncekara	2,10±0,35	1,59±0,12	50±4	4,77±0,11
Sivri	2,48±0,20	1,74±0,10	54±3	7,53±0,11
Yassı Badem	2,39±0,22	2,00±0,11	50±6	6,58±0,14
Acı	2,09±0,19	2,00±0,16	58±1	8,14±0,46
Tombul	1,93±0,19	1,90±0,07	42±2	5,93±0,11

4.3 FOLİN-CIOCALTEAU TOPLAM FENOLİK İÇERİĞİ

Yağı giderilmiş, zarsız 15 adet farklı çeşit Türk fındık içinin, sulu metanol ekstrelerinde (mmol trolloks eşdeğeri/gram) toplam fenolik içeriği tespit edilmiştir. Sonuçlar Tablo.4.2'de verilmiştir. Acı türünün sulu metanollü ekstresi toplam fenolik açısından en zengin kaynak olarak tespit edilmiştir, miktarı $8,14 \pm 0,46$ mmol TR/g'dır. Sivri, Mincane, Palaz ve Yassı Badem ekstrelerinin fenolik içeriği diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak, toplam fenolik içerik sonuçları (mmol TR/g şeklinde) CUPRAC ve ABTS ile bulunanlara göre ciddi ölçüde daha yüksektir, çünkü Folin-Ciocalteu reaktifi polifenolik antioksidanlara karşı seçici değildir, ancak sitrik ve askorbik asit gibi diğer indirgeme araçları ile eşit ölçüde reaksiyona girebilir [73].

4.4 SERBEST FENOLİK VE HİDROKSİSİNNAMİK ASİTLERİN TESPİTİ VE MİKTARLANDIRILMASI

Tablo 4.3'te, Türk fındık örneklerinde serbest fenolik ve hidroksisinnamik asitlerin HPLC-DAD analizi listelenmiştir. Bu asitlerden sekizi (gallik asit, protokatekuik asit, vanilik asit, kafeik asit, sirinjik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asitler), yağı giderilmiş, zarsız fındık içinde, sulu metanol ekstresinde tayin edilmiştir. İlgili bileşiklerin gecikme zamanları, doğrusal aralıklar ve kalibrasyon eşitlikleri tespit edilmiştir. Örneklerde sulu metanol ekstreleri halinde serbest asit miktarları ($\mu\text{g/g}$ şeklinde) Tablo 4.4'te verilmiştir. Yağı giderilmiş Sivri isimli Türk fındığının (*Corylus avellana* L.) ekstraksiyonuyla elde edilen serbest fenoliklerin HPLC kromatogramı Şekil.4.1'de gösterilmiş olup altı fenollü antioksidan tespit edilmiştir. Karafındık hariç, fındık çeşitlerinde en baskın bileşen Vanilik asittir. Gallik asit sadece Yuvarlak Badem'de $26 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur, önceki bir çalışmada gallik asidin zar kısmında ve sert kabukta bulunduğu bildirilmiştir [16]. Yurtaş ve diğ. (2000), Türk ve Amerikan fındık ekstrelerinde altı fenolik aglikonu izole etmiş ve tanımlamıştır [12]. Bunlar gallik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, epikateşin ve/veya kafeik asit, sinapik asit ve kuersetindir. Benzer şekilde, Birleşik Devletler'de hasadı yapılan dokuz çeşit fındığın içinde tespit edilen fenolik asitler *p*-hidroksibenzoik asit, *p*-hidroksifenilasetik asit, vanilik asit, protokatekuik asit, sirinjik asit, gallik asit, kafeik asit ve ferulik asittir [75]. Shahidi ve diğ. (2007) yağı giderilmiş ham fındık içi ve yan ürünlerinin etanollü ekstresinde serbest ve esterleşmiş halde toplam çözümlenir fenolik asitlerin içeriğini bulmuştur [11]. Gallik asit ve dört sinnamik asit türevi (kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit) tespit edilmiştir. Alasalvar ve diğ. (2006), her bir fenolik asidin varlığının, örneklerin içindeki yere bağlı olduğunu belirtmiştir [16]. Örneğin, *p*-kumarik asit fındık içinde, yeşil yapraksı örtüsünde ve fındık ağacı yaprağında en bol miktarda bulunur.

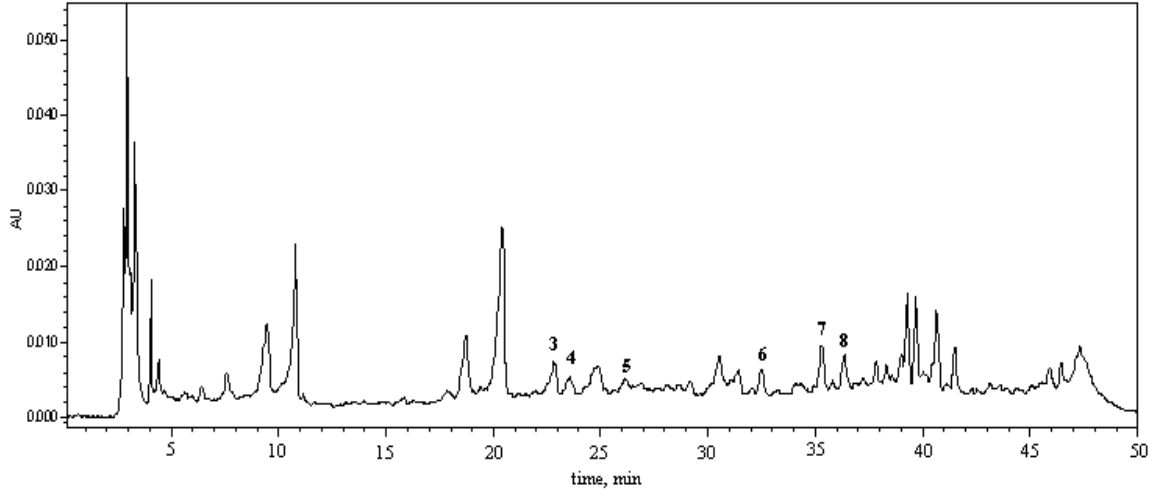
Tablo 4.3. HPLC-DAD analizleri kullanılarak Türk fındık çeşitlerinde tespit edilen serbest fenolik asitler.

Tespit edilen bileşikler	Pik numarası	t_R (dak)	Doğrusal aralığı (mol/L)	Kalibrasyon eşitliği ^a ve karşılaştırma katsayısı
Gallik asit	1	5,96	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 1,08 \times 10^{10} c - 50622$ $r = 0,9997$
Prokatekuik asit	2	11,27	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 5,25 \times 10^9 c - 20867$ $r = 0,9996$
Vanilik asit	3	17,65	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 6,61 \times 10^9 c - 7971$ $r = 0,9999$
Kafeik asit	4	23,35	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 1,19 \times 10^{10} c - 77446$ $r = 0,9999$
Sirinjik asit	5	26,01	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 1,37 \times 10^{10} c - 8029$ $r = 0,9999$
p-kumarik asit	6	32,25	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 1,78 \times 10^{10} c - 5197$ $r = 0,9998$
Ferulik asit	7	35,07	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 1,17 \times 10^{10} c + 6134$ $r = 0,9999$
Sinapik asit	8	35,65	$5 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-4}$	$y = 6,38 \times 10^9 c - 19680$ $r = 0,9998$

^a Kromatografik pik alanına karşı (y sembolü ile belirtilmiş) molar derişim.

Tablo 4.4. Zarsız fındık içlerinin metanollü ekstratlarında serbest fenolik ve hidroksisinnamik asitlerin içeriği ($\mu\text{g/g}$ olarak).

Fındık türü	Serbest fenolik asitler ($\mu\text{g/g}$)							
	Gallik asit	Protokatekuik asit	Vanilik asit	Kafeik asit	Sirinjik asit	<i>p</i> -Kumarik asit	Ferulik asit	Sinapik asit
Karafındık		84				14		
Uzun musa			43	29			10	28
Kargalak			29					
Yuvarlak badem	26		53					60
Kalınkara			35				7	33
Foşa		107	25			6		
Kuş			20				8	
Mincane			24				21	36
Palaz		96	25			8		
Çakıldak			69	45				75
İncekara		179	255		23	49		
Sivri			51	38	9	11	26	57
Yassı badem			33	30			8	30
Acı			55					
Tombul			28				6	45



Şekil 4.1: Yağı giderilmiş Sivri isimli Türk fıındığı örneğinden ekstrakte edilen serbest fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı

(3: vanilik asit, 4: kafeik asit, 5: sirinjik asit, 6: p-kumarik asit, 7: ferulik asit, 8: sinapik asit).

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde hasadı yapılan 15 farklı kurutulmuş Türk fındık çeşitlerinin iç kısmının fenolik içerik, toplam antioksidan kapasitesi ve serbest radikal süpürme aktivitesine ilişkin kapsamlı bir araştırma ilk kez yürütülmüştür. Yağı giderilmiş fındık içlerinin sulu metanol ekstraları ve yağ örnekleri ayrı ayrı analiz edilmiştir. Ekstrelerin ve yağ örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi geleneksel CUPRAC ve ABTS/persülfat deneyleri ile tespit edilmiştir. CUPRAC yöntemi ilk kez bir bitkisel yağa uygulanmıştır. Farklı fındık çeşitlerinde DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi bulunmuştur. CUPRAC bulguları, kalan diğer üç TAC deneyine karşı doğrusal korelasyon katsayıları 0,46 – 0,54 (Tablo 4.2) aralığındadır, bunun anlamı, bu testlerin farklı hassasiyetleri ve reaktiflikleri vardır. Türk fındık içlerinde bulunan tekil serbest fenolik bileşenler (temelde fenolik ve hidroksisinnamik asitler) de HPLC ile tayin edilmiş ve miktarlandırılmıştır. Bu çalışmada bildirilen, Türk fındıklarının antioksidan kapasitesi ve fenolik içeriğinin insan beslenmesinde ve sağlığında doğal antioksidan desteği olarak fındıkça zengin bir diyeti seçmek adına yararlı olacağı umulmaktadır.

Antioksidan tayin yöntemleri arasında; kullanım kolaylığı ve sonuçların tekrarlanabilirliği dikkate alındığında CUPRAC yöntemi daha yüksek hassasiyet göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Karadeniz Fındık ve Mamulleri İhracatçıları Birliği (http://www.kib.org.tr/index.php?option=com_content&task=view&id=30&Itemid=80, 29.10.2012).
2. KÖKSAL, A.İ., ARTIK, N., ŞİMŞEK, A., GÜNEŞ, N., 2006. Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chem.* 99, 509-515.
3. FDA. Food labelling: health claims; plant sterol/stanol esters and coronary heart disease. *Food Drug Admin. Fed. Reg.* 2000, 65, 54686-54739.
4. SHAHİDİ, F., ALAŞALVAR, C., Fındık ve Fındık Yan Ürünlerinde Fitokimyasal Maddeler ve Biyoaktif Bileşikler. *Fındık Tanıtım Grubu*, 2004.
5. AÇKURT, F., ÖZDEMİR, M., BIRINGEN, G., LÖKER, M., 1999. Effects of geographical origin and variety on vitamin and mineral composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chem.* 65, 309-313.
6. ALASALVAR, C., SHAHIDI, F., LIYANAPATHIRANA, C.M., OHSHIMA, T., 2003. Turkish Tömbül hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional characteristics. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3790-3796.
7. ALPHAN, E., PALA, M., AÇKURT, F., YILMAZ, T., 1997. Nutritional composition of hazelnuts and its effects on glucose and lipid metabolism. *Acta Hort.* 445, 305-310.
8. EBRAHEM, K.S., RICHARDSON, D.G., TETLEY, R.M., MEHLENBACHER, S.A., 1994. Oil content, fatty acid composition and vitamin E concentration of hazelnut varieties, compared to other types of nuts and oil seeds. *Acta Hort.* 351, 685-692.
9. KORNSTEINER, M., WAGNER, K.H., ELMADFA, I., 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chem.* 98, 381-387.
10. PARCERISA, J., RICHARDSON, D.G., RAFECAS, M., CONDORY, R., BOATELLA, J., 1998. Fatty acid, tocopherol and sterol content of some hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) harvested in Oregon (USA). *J. Chromatogr. A* 805, 259-268.
11. SHAHIDI, F., ALASALVAR, C., LIYANA-PATHIRANA, C.M., 2007. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1212-1220.

12. YURTTAŞ, H.C., SCHAFER, H.W., WARTHESEN, J.J., 2000. Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus* spp.) phenolics. *J. Food Sci.* 65, 276-280.
13. AMARAL, J.S., FERRERES, F., ANDRADE, P.B., VALENTÃO, P., PINHEIRO, C. SANTOS, A. et al., 2005. Phenolic profile of hazelnut (*Corylus avellana* L.) leaves cultivars grown in Portugal. *Nat. Prod. Res.* 19, 157-163.
14. CONTINI, M., BACCELLONI, S., MASSANTINI, R., ANELLI, G., 2008. Extraction of natural antioxidants from hazelnuts (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chem.* 110, 659-669.
15. JOHN, J.A., SHAHIDI, F., 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *J. Funct. Foods* 2, 196-209.
16. ALASALVAR, C., KARAMAC, M., AMAROWICZ, R., SHAHIDI, F., 2006. Antioxidant and antiradical activities in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4826-4832.
17. YÜCESAN, F.B., ÖREM, A., KURAL, B.V., ÖREM, C., TURAN, İ., 2010. Hazelnut consumption decreases the susceptibility of LDL to oxidation, plasma oxidized LDL level and increases the ratio of large/small LDL in normolipidemic healthy subjects. *The Anatolian J. Cardiol. (Anadolu Kardioloji Dergisi)* 10, 28-35.
18. DURAK, I., KÖKSAL, I., KAÇMAZ, M., BÜYÜKKOÇAK, S., ÇİMEN, B.M.Y., ÖZTÜRK, H.S., 1999. Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels. *Clin. Chim. Acta* 284, 113-115.
19. ALASALVAR, C., KARAMAC, M., KOSINSKA, A., SHAHIDI, F., AMAROWICZ, R., 2009. Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 57, 4645-4650.
20. ARCAN, İ., YEMENICIOĞLU, A., 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *J. Food Compos. Anal.* 22, 184-188.
21. JAKOPIC, J., PETKOVSEK, M.M., LIKOZAR, A., SOLAR, A., STAMPAR, F., VEBERIC, R., 2011. HPLC-MS identification of phenols in hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels. *Food Chem.* 124, 1100-1106.
22. OLIVERIA, I., SOUSA, A., SÁ MORAIS, J., FERREIRA, I.C.F.R., BENTO, A., ESTEVINHO, L.M., PERERIA, J.A., 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food Chem. Toxicol.* 46, 1801-1807.
23. VENKATACHALAM, M., SATHE, S.K., 2006. Chemical composition of selected edible nut seeds. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4705-4714.
24. Toprak Mahsülleri Ofisi Genel Müdürlüğü, 31.01.2009 tarih ve 2009/02 sayılı Fındık Bülteni

25. Fındık tanıtım grubu web sitesi, http://www.ftg.org.tr/devam_tur/cesit_islenmisfindik.htm, Ziyaret tarihi 19.10.2012.
26. HALLIWELL, B., ARUOMA, O. I., 1991, DNA damage by oxygen-derived species: its mechanisms and measurement in mammalian systems, *FEBS Lett*, 281, 9-19.
27. P.C. CREWS, 1987, "The fading rates of some natural dyes", *Studies in Conservation*, 32, 65-72.
28. RICE-EVANS, C.,A., MILLER, N. J., PAGANGA, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
29. KESKİN, H., ERKMEN G., 1987, *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul.
30. SHAHIDI, F., 1996, Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications, *AOCS Press*, Champaign, Illinois, 0-935315-77-2.
31. HUDSON, B., J., 1990, Food Antioxidants, *Elsevier Science*, USA.
32. RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANGA, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
33. HALLIWELL, B., 1990, How to characterise a biological antioxidant, *Free Radical Research Communication*, 9, 1-32.
34. SHAHIDI, F., WANASUNDARA, P., K., J., 1992, Phenolic antioxidants, *Critical Review of Food Science and Nutritional*, 32, 67-103.
35. HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, R., BOBILYA, D. J., 2002, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
36. CADENAS, E., PACKER, L., 2002, Handbook of Antioxidants, *Marcel Dekker*, Second Edition, New York, 0-8247-0547-5.
37. CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R. L., 1997, Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships, *Free Radical Biology & Medicine*, 22, 749-760.
38. SEKHER PANNALA, A., CHAN, T. S., O'BRIEN, P. J., RICE-EVANS, C. A., 2001, Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics, *Biochemistry, Biophysics Research Communication*, 282, 1161-1168.
39. BURDA, S., OLESZEK, W., 2001, Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779.

40. MORA, A., PAYA, M., RIOS, J. L., ALCARAZ, M. J., 1990, Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation, *Biochemistry and Pharmacology*, 40, 793-797.
41. WILLIAMS, R. J., SPENCER, J. P. E., RICE-EVANS, C., 2004, Flavonoids: Antioxidants or Signalling Molecules?, *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 838-849.
42. LLESUY, S., EVELSON, P., CAMPOS, A. M., LISSI, E., 2001, Methodologies for evaluation of total antioxidant activities in complex mixtures: A critical review, *Biol. Res. (Santiago)*, 34, 51-73.
43. WAYNER D.D.M., BURTON G. W., INGOLD K. LOCKE U. S., 1985, Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation, *FEBS Lett.*, 187, 33-37.
44. BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J., 1996, Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power'; the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
45. CAO, G., PRIOR, R.L., 1999, In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 1173-1181.
46. MILLER, N. J., RICE EVANS, C. A., DAVIES, M. J., GOPINATHAN, V., MILNER, A., 1993, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412.
47. MILLER, N. J., RICE-EVANS, C. A., 1994, Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods of Enzymology*, 234, 279-293.
48. RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26, 1231-1237.
49. VAN DEN BERG, R., HAENEN, R. M. M., VAN DEN BERG, H., BAST, A., 1999, Applicability of an improved trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures, *Food Chemistry*, 66, 511-517.
50. ARNAO, M.B., CANO, A., & ACOSTA, M., 1998, Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology, *Recent Res. Devel. in Agricultural and Food Chem.* 2, 893-905.
51. SANCHEZ, M. C., LARRAURI, J.A., SAURA, C. F., 1998, A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.

52. SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
53. SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, In *Methods in Enzymology*, Packer, L., Ed., Academic Press, Orlando, 299, 152-178.
54. WAYNER, D. D. M., BURTON, G. W., INGOLD, K. U., LOCKE, S., 1986, The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration-dependent, *Biochem. Biophys. Acta*, 884, 119-123.
55. ALHO, H., LEINONEN, J., 1999, Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods, *Methods of Enzymology*, 299, 3-14.
56. WHITEHEAD, T. P., THORPE, G. H. G., MAXWELL, S. R. J., 1992, Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids, *Analytica Chimica Acta*, 266, 265-277.
57. VALKONEN, M., KUUSI, T., 1997, Spectrophotometric assay for total radical-trapping antioxidant potential in human serum, *Journal of Lipid Research*, 38, 823-833.
58. WINSTON, G. W., REGOLI, F., DUGAS, A. J. Jr., FONG, J. H., BLANCHARD, K. A., 1998, A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 480-493.
59. TUBARO, F., GHISELLI, A., PAPUZZI, P., MAIORINO, M., URSINI, F., 1998, Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 1228-1234.
60. GHISELLI, A., SERAFINI, M., MAIANI, G., AZZINI, E., FERRO-LUZZI, A., 1995, A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability, *Free Radical Biology & Medicine*, 18, 29-36.
61. GLAZER, A. N., 1990, Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species, *Meth. Enzymology*, 186, 161-168.
62. CAO, G., ALESSIO, H. M., CUTLER, R. G., 1993, Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biology & Medicine*, 14, 303-311.
63. CAO, G., VERDON, C. P., WU, A. H. B., WANG, H., PRIOR, R. L., 1995, Automated oxygen radical absorbance capacity assay using the COBAS FARA II, *Clinical Chemistry*, 41, 1738-1744.
64. WANG, H., CAO, G., PRIOR, R.L., 1996, Total antioxidant capacity of fruits, *J. Agricultural and Food Chemistry*, 44, 701-705.

65. CAO, G., PRIOR, R. L., 1998, Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum, *Clinical Chemistry*, 44, 1309-1315.
66. CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R. L., 1996, Antioxidant capacity of tea and common vegetables, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3426-3431.
67. LUSSIGNOLI, S., FRACCAROLI, M., ANDRIOLI, G., BROCCO, G., BELLAVITE, P., 1999, A microplate-based colorimetric assay of the total peroxy radical trapping capability of human plasma, *Analytical Biochemistry*, 269, 38-44.
68. APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970-7981.
69. APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S.E., ALTUN, M., 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radical Res.* 39, 949-961.
70. GÜÇLÜ, K., ALTUN, M., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S.E., APAK, R., 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun dried and sulfited-dried Malatya apricot (*Prunus Armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin methods. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41, 76-85.
71. SANCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J.A., SAURA-CALIXTO, F.A., 1998. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76, 270-276.
72. CAPONIO, F., ALLOGGIO, V., GOMES, T., 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chem.* 64, 203-209.
73. APAK, R., GÜÇLÜ, K., DEMIRATA, B., ÖZYÜREK, M., ÇELİK, S. E., BEKTAŞOĞLU, B., BERKER, K. I., OZYURT, D., 2007. Comparative Evaluation of Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds, and the CUPRAC Assay, *Molecules*, 12, 1496-1547.
74. MIRALIAKBARI, H., SHAHIDI, F., 2008. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chem.* 111, 421-427.
75. SENTER, S.D., HORVAT, R.J., FORBUS, W.R., 1983. Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. *J. Food Sci.* 48, 798-799.
76. SCHAICH, K. M. Critical considerations in ORAC, TRAP, ABTS/TEAC, and DPPH assays of antiradical action, Plenary Lecture, *International Workshop on Antioxidant Measurement Assay Methods*, 21 April 2010, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1984 yılında Ordu'da doğdum. 1990 yılında başladığım ilköğrenimimi Kozlu Kılıç İlköğretim okulunda tamamladıktan sonra 1995-2002 yıllarında Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi'nde öğrenim gördüm. Lise öğrenimim ardından 2003 yılında İstanbul Üniversitesi Kimya Bölümünü kazandım. 2007 yılında Kimya Bölümü'nden mezun oldum. Aynı yıl içinde İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Organik Kimya Programı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım.