



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI TİCARİ BESLENME TAKVİYESİ
ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN
KAPASİTELERİNİN SPEKTROFOTOMETRİK VE
KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ

Ashlı DEMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAM


İSTANBUL-2018

Bu çalışma 27.11.2018 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı,
Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ


Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi


Prof. Dr. Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi


Doç. Dr. Aslı BAYSAL
İstanbul Aydın Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 18516 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca göstermiş olduğu her türlü yardım ve anlayış için, tezimin hazırlanmasında bilimsel katkılarıyla yardımlarını esirgemeyen danışmanım ve değerli büyüğüm Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bilimsel ve akademik tecrübelerinden yararlandığım, hoşgörü ve samimiyetiyle örnek teşkil eden çok değerli ve sevgili Hocam Sayın Prof. Dr. Esmâ TÜTEM' e en içten dileklerle şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bilimsel ve akademik kimliğiyle örnek aldığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum Sayın Prof. Dr. M. Reşat APAK' a yüksek lisans öğrenimim süresince ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Analitik Kimya Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma her türlü desteklerinden ve yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca desteğini gördüğüm herkese ve destekleriyle her zaman yanımda olan, varlıkları ile bana güven veren, bugünlere gelmemde büyük emek sahibi olan canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Kasım 2018

Aslı DEMİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR.....	4
2.2. TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	4
2.2.1. CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi	5
2.2.2. ABTS/TEAK (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi	6
2.3. TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİĞİ TAYİN YÖNTEMİ	7
2.4. TOPLAM FLAVONOİD İÇERİĞİ TAYİN YÖNTEMİ	7
2.5. BESLENME TAKVİYELERİ	7
2.6. ÇALIŞILAN BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİ.....	9
2.6.1. Üzüm Çekirdeği.....	9
2.7. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİ İLE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR.....	14
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	22
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR.....	22
3.2. KİMYASAL MADDELER	22
3.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	22
3.4. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİNİN ANALİZE HAZIRLANMASI	23
3.4.1. Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon Yöntemleri.....	23
3.4.2. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Ekstraksiyonunda Uygun Çözücü Seçimi	24
3.4.3. Hidroliz İşlemi.....	24
3.5. SPEKTROFOTOMETRİK TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	25
3.5.1. CUPRAC Yöntemi	25

3.5.2. ABTS/Persulfat Yöntemi.....	26
3.5.3. Toplam Polifenol İçerik (TFİ) Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi).....	26
3.5.4. Toplam Flavonoid Tayini (AlCl ₃ /NaNO ₂ Yöntemi)	26
3.5.5. Kromatografik Yöntemler	27
4. BULGULAR.....	30
4.1. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİNİN EKSTRAKSİYONUNDA UYGUN ÇÖZÜCÜ SEÇİMİ.....	30
4.2. SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERİN UYGULANMASI.....	33
4.2.1. CUPRAC ve ABTS/TEAK Yöntemlerinin Fenolik Bileşiklere Uygulanması	33
4.2.2. Beslenme Takviyesi Ürünlerine CUPRAC ve ABTS/TEAK Yöntemlerinin Uygulanması	37
4.2.3. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu Yöntemi)	38
4.2.4. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Toplam Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi (AlCl ₃ /NaNO ₂ Yöntemi).....	39
4.3. KROMATOĞRAFİK ANALİZ SONUÇLARI	40
4.3.1. HPLC Yönteminin Antioksidan Standartlarına Uygulanması	40
4.3.1.1. Üzüm Çekirdeği Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartlarının Kromatogramları	41
4.3.1.2. Biberiye Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları	43
4.3.1.3. Kudret Narı Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları	45
4.3.1.4. Ginkgo Biloba Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları	47
4.3.2. Çalışılan Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Kromatografik Analizleri.....	48
4.3.2.1. Üzüm Çekirdeği Tabletlerinin Kromatografik Analizi	48
4.3.2.2. Biberiye Tabletlerinin Kromatografik Analizi.....	52
4.3.2.3. Kudret Narı Tabletlerinin Kromatografik Analizi.....	53
4.3.2.4. Ginkgo Biloba Tabletlerinin Kromatografik Analizi.....	54
4.3.3. HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS Yöntemleri ile Belirlenmiş Teorik TAK Değerleri	56
4.3.4. HPLC Yöntemlerinin Geri Kazanım Testleri	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: (A) [Cu(II)-Nc], (B) [Cu(I)-Nc] komplekslerinin spektrumları.	5
Şekil 2.2: ABTS ^{•+} radikal katyonunun yapısı.	6
Şekil 2.3: ABTS radikal katyonunun (ABTS ^{•+}) absorpsiyon spektrumu.	6
Şekil 2.4: Çalışılan beslenme takviyesi ürünleri örnekleri.	9
Şekil 2.5: Siyah üzüm ve çekirdekleri.	10
Şekil 2.6: Resveratrol(trans-3,5,4'-trihidroksistilben)'ün kimyasal yapısı.	11
Şekil 2.7: Biberiye bitkisi.....	11
Şekil 2.8: Biberiyenin antioksidan etkili bileşenleri [34].....	12
Şekil 2.9: Kudret narı bitkisinin ham ve olgun meyveleri.	13
Şekil 2.10: Ginkgo biloba ağacının yaprakları ve meyveleri.	14
Şekil 4.1: 1:100 (v/v) oranında seyreltilmiş üzüm çekirdeği ekstraktlarının spektrumları.....	30
Şekil 4.2: 1:100 (v/v) oranında seyreltilmiş (% 1 HCl içeren) üzüm çekirdeği ekstraktlarının spektrumları.....	30
Şekil 4.3: 1:60 (v/v) oranında seyreltilmiş biberiye ekstraktlarının spektrumları.	31
Şekil 4.4: 1:50 (v/v) oranında seyreltilmiş kudret narı ekstraktlarının spektrumları.	32
Şekil 4.5: 1:50 (v/v) oranında seyreltilmiş ginkgo biloba ekstraktlarının spektrumları.	32
Şekil 4.6: Standartların kromatogramı. 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Epikateşin, 4: Resveratrol (λ : 280 nm).....	42
Şekil 4.7: Siyanidin klorür standardının kromatogramı (λ : 520 nm).....	42
Şekil 4.8: Flavon standardının kromatogramı (λ : 280 nm).....	43
Şekil 4.9: Prosiyanidin B2 standardının kromatogramı (λ : 280 nm).....	43
Şekil 4.10: Kafeik asit standardının kromatogramı (λ : 280 nm).	44
Şekil 4.11: Karnosik asit standardının kromatogramı (λ :280 nm).....	44

Şekil 4.12: Karnosol standardının kromatogramı (λ : 280 nm).	45
Şekil 4.13: Rozmarinik asit standardının kromatogramı (λ : 280 nm).	45
Şekil 4.14: Rutin standardının kromatogramı (λ : 320 nm).	46
Şekil 4.15: Klorojenik asit standardının kromatogramı (λ : 320 nm).	46
Şekil 4.16: Kafeik asit standardının kromatogramı (λ : 320 nm).	47
Şekil 4.17: Standart maddelerin 280 nm'deki kromatogramı. 1: Vanilik asit, 2: Kafeik asit, 3: Rutin, 4: Kuersetin, 5: Luteolin, 6: Kamferol, 7: Apigenin.	47
Şekil 4.18: Standart maddelerin 340 nm'deki kromatogramı. 1: Kafeik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin, 4: Luteolin, 5: Kamferol, 6: Apigenin.	48
Şekil 4.19: Üzüm çekirdeği tableti metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Epikateşin, 2: Resveratrol, 3: Flavon (λ : 280 nm).	49
Şekil 4.20: Üzüm çekirdeği tabletinin metanollü (% 80 MeOH) hidrolizatının kromatogramı; 1: Kateşin, 2: Prosiyanidin B2, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).	49
Şekil 4.21: Üzüm çekirdeği tableti asitli metanollü ekstraktının kromatogramı 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).	50
Şekil 4.22: Üzüm çekirdeği tableti asitli metanollü ekstraktının (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı 1: Siyanidin klorür (λ : 520 nm).	50
Şekil 4.23: Üzüm çekirdeği tableti asitli hidrolizati kromatogramı (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).	51
Şekil 4.24: Üzüm çekirdeği tableti asitli hidrolizati (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı 1: siyanidin klorür (λ : 520 nm).	51
Şekil 4.25: Biberiye tabletinin metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Kafeik, 2: Rozmarinik asit, 3: Karnosol, 4: Karnosik asit (λ : 280 nm).	52
Şekil 4.26: Kudret narı tabletinin metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Klorojenik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin (λ : 320 nm).	53
Şekil 4.27: Kudret narı tableti hidrolizati (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Kafeik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin (λ : 320 nm).	54
Şekil 4.28: Ginkgo biloba tableti metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Rutin, 2: Kuersetin, 3: Luteolin, 4: Kamferol, 5: Apigenin (λ : 340 nm).	55
Şekil 4.29: Ginkgo biloba tableti hidrolizati (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Rutin, 2: Kuersetin, 3: Luteolin, 4: Kamferol, 5: Apigenin (λ : 340 nm).	55

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Kırmızı üzüm kabuğu ve çekirdeğinin polifenolik bileşenleri [24, 27].	10
Tablo 2.2: Çeşitli ginkgo biloba örneklerinin antioksidan kapasiteleri (mg AA/100 g homojenat).	19
Tablo 3.1: Üzüm çekirdeği kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.	27
Tablo 3.2: Biberiye kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.	28
Tablo 3.3: Kudret narı kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.	28
Tablo 3.4: Ginkgo bilabo tableti bileşenleri analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.	29
Tablo 4.1: Referans standart maddelerin molar absorplama katsayıları.	33
Tablo 4.2: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının normal CUPRAC yöntemi ile belirlenen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusallık aralıkları.	34
Tablo 4.3: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının inkübasyonlu CUPRAC yöntemi ile belirlenen doğru.	35
Tablo 4.4: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının ABTS/Persülfat yöntemi ile belirlenen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusallık aralıkları.	36
Tablo 4.5: Fenolik bileşik standartlarının CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle hesaplanmış TEAK katsayıları.	37
Tablo 4.6: Beslenme takviyesi ürünlerinin CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle belirlenen TAK (mmol TR/g örnek) değerleri.	38
Tablo 4.7: Beslenme takviyesi ürünlerinin toplam fenolik madde içerikleri (mmol GA/g örnek).	39
Tablo 4.8: Beslenme takviyesi ürünlerinin toplam flavonoid içerikleri (mmol KAT/g örnek) ^a .	40
Tablo 4.9: Literatür bilgilerine göre çalışılan ürünlerde bulunması muhtemel fenolik bileşikler.	40
Tablo 4.10: Bazı fenolik bileşiklerin HPLC ile elde edilen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusal aralıkları.	41

Tablo 4.11: Beslenme takviyesi ürünlerinin ekstrakt ve hidrolizatlarının birleştirilmiş HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS yöntemleri ile bulunmuş teorik TAK (mmol TR/g örnek) değerleri ve HPLC ile belirlenebilen toplam antioksidan kapasite yüzdeleri.	56
Tablo 4.12: Örnek ekstraktlarına ve hidrolizatlarına ilave edilen fenolik bileşiklerin uygun HPLC yöntemiyle belirlenmiş olan % geri kazanım değerleri.....	57



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
NH₄Ac	: Amonyum asetat
NaKC₄H₄O₆	: Sodyum potasyum tartarat
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
CuSO₄	: Bakır (II) sülfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
CuCl₂	: Bakır (II) klorür
H₃PO₄	: Fosforik asit
AlCl₃	: Alüminyum klorür
NaNO₂	: Sodyum nitrit
nm	: Nanometre, dalgaboyu birimi
r	: Korelasyon katsayısı
ε	: Molar absorplama katsayısı

Kısaltmalar	Açıklama
AA	: Askorbik asit
AAE	: Askorbik asit eşdeğeri
APG	: Apigenin
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
CA	: Karnosik asit
COH	: Karnosol
Cu(II)-Nc	: Bakır(II)-Neokuproin
CUPRAC	: Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
EGCG	: Epigallokateşin gallat
EKAT	: Epikateşin
ET	: Elektron transfer
EtOH	: Etanol
GA	: Gallik asit
HAT	: Hidrojen atomu transferi

KA	: Kafeik asit
KAT	: Kateşin
KAM	: Kamferol
KLA	: Klorojenik asit
KUE	: Kuersetin
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LUT	: Luteolin
MeOH	: Metanol
Nc	: Neokuproin, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin
PBS	: Fosfat tamponu çözeltisi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif azot türleri
RSD	: Bağlı standart sapma
RT	: Rutin
TAK	: Toplam antioksidan kapasite
TBHQ	: Tersiyer butilhidrokinon
TR	: Troloks
TRE	: Troloks eşdeğeri

ÖZET

BAZI TİCARİ BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN SPEKTROFOTOMETRİK VE KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı DEMİR

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Beslenme takviyesi olarak adlandırılan ticari bitkisel ürünler tablet ya da kapsül formunda ve değişik markalar adı altında piyasada satılmaktadır. Bunlar tıbbi ilaç değildir, sağlıklı yaşamı desteklemek ve diyet ile yeterince alınamadığı durumlarda bazı besin öğelerini karşılamak amacıyla çokça kullanılmaktadır. Bu durum da bu tür ürünlerin güvenilir olup olmadığı sorusunu gündeme getirmektedir. Bu nedenle çalışmanın amacı, bu tür bitkisel ürünlerin hazırlanmasında kullanılan ham bitkilerde ve aynı zamanda beslenme takviyesine dönüştürülen formlarda kullanılacak standart analitik yöntemler önermektir. Bu amaç doğrultusunda, antioksidan özellikleriyle bilinen polifenol türü bileşenler içeren ve tablet ya da kapsül halinde piyasada satılan ürünlerden öğütülmüş üzüm çekirdeği, biberiye, kudret narı ve ginkgo biloba ile çalışıldı. Bu ürünlerin toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri ve içerdikleri önemli biyoaktif bileşenler belirlendi. Her bir ürün için uygun ekstraksiyon çözücüsü belirlendikten sonra hazırlanan ekstraktlara spektrofotometrik yöntemler uygulandı. Bu ürünlerin toplam polifenol içerikleri, Folin-Ciocalteu yöntemiyle; toplam flavonoid içerikleri $AlCl_3/NaNO_2$ yöntemiyle; toplam antioksidan kapasiteleri, CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) ve ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzotiyazolin-6-sülfonik asid)/TEAK (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) yöntemleriyle belirlendi. Antioksidan kapasiteye katkı sağlayan bileşenler ve miktarlarının belirlenmesinde HPLC

(Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemi kullanıldı ve herbir ürün için ayrı analiz yöntemleri oluşturuldu.

Çalışılan beslenme takviyesi ürünlerinin gallik asit (GA) eşdeğeri toplam fenolik madde içerikleri (TFİ) (mmol GA/g); üzüm çekirdeği için $1,71\pm0,47$, biberiye için $0,55\pm0,13$, kudret narı için $0,24\pm0,03$ ve ginkgo biloba için $0,40\pm0,16$ olarak belirlendi. Kateşin (KAT) eşdeğeri (mmol KAT/g) olarak belirlenen toplam flavonoid içerikleri (TFdİ); biberiye için $0,13\pm0,01$, kudret narı için $0,01\pm0,001$, ginkgo biloba için $0,03\pm0,005$ 'dir. Çökme meydana geldiği için bu yöntem üzüm çekirdeği ekstraktına uygulanamadı. Aynı ürünlerin CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle belirlenmiş olan troluks (TR) eşdeğeri (mmol TR/g) toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri sırasıyla; üzüm çekirdeği için $0,91\pm0,07$ ve $0,72\pm0,17$, biberiye için $0,79\pm0,05$ ve $0,41\pm0,09$, kudret narı için $0,08\pm0,006$ ve $0,11\pm0,05$, ginkgo biloba için $0,12\pm0,01$ ve $0,14\pm0,02$ 'dir. Bu bulgular HPLC verileri ile karşılaştırıldı ve antioksidan kapasitesine katkıda bulunan bileşenler belirlendi. Çalışılan beslenme takviyesi ürünlerinin HPLC ile edilen kapasite değerleri; CUPRAC yöntemi ile elde edilen kapasite değerlerinin üzüm çekirdeği asitli ve asitsiz ekstraktlarında % 46-57; üzüm çekirdeği asitli ve asitsiz ekstraktlarının hidrolizatlarında % 43-56; biberiye ekstrakt ve hidrolizatında % 39-22; kudret narı ekstrakt ve hidrolizatında % 38-43; ginkgo biloba ekstrakt ve hidrolizatında % 33-40'luk kısmını belirlemektedir.

HPLC analizleri ile fenolik bileşenler bakımından üzüm çekirdeği (kateşin, epikateşin, gallik asit, flavon, procyanidin B2, resveratrol ve siyanür), biberiye (kafeik asit, rutin, karnosol ve karnosik asit), kudret narı (kafeik asit, rutin, kuersetin ve klorojenik asit) ve ginkgo biloba (apigenin, luteolin, kaempferol, rutin ve kuersetin) ürünleri incelenmiştir.

Kasım 2018, 85 sayfa.

Anahtar kelimeler: Beslenme takviyesi, üzüm çekirdeği, biberiye, kudret narı, ginkgo biloba

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME COMMERCIAL DIETARY SUPPLEMENTS BY SPECTROPHOTOMETRIC AND CHROMATOGRAPHIC METHODS

M.Sc. THESIS

Aslı DEMİR

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Commercial herbal products, called dietary supplements, are sold in tablet or capsule form under the name of different brands on the market. These are not medical medicines, they are used extensively in order to support healthy life and to compensate for some nutritional elements not taken enough by diet. This reminds the importance of the question of whether such products are reliable or not. For this reason, the aim of the study is to suggest standard analytical methods that can be used in the row plants used for the preparation of such herbal products, as well as in forms transformed into nutritional supplements. For this purpose, we examined tablet and capsule forms of ground-grape seeds, rosemary, bitter melon and ginkgo biloba on the market which contain polyphenol-type components known with their antioxidant properties. Total antioxidant capacity (TAC) values and important bioactive components of these compounds were determined. Spectrophotometric methods were applied to extracts prepared after the appropriate extraction solvent was identified for each product. Total polyphenol contents of these products were determined by Folin-Ciocalteu method; total flavonoid contents were determined by $AlCl_3/NaNO_2$ method; total antioxidant capacities were determined by CUPRAC (copper (II) ion reducing antioxidant capacity) and ABTS (2,2'-azino-bis-6-sulfonic acid)/TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity). To

detect the components that support the antioxidant capacity and determine the amounts, HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method was used and analysis methods were developed individually for each product.

Gallic acid (GA) equivalent total phenolic contents (TPC) (mmol GA/g) of nutritional supplement products examined were measured; 1.71 ± 0.47 for grape seed, 0.55 ± 0.13 for rosemary, 0.24 ± 0.03 for bitter melon and 0.40 ± 0.16 for ginkgo biloba. Total flavonoid contents (TFC) determined as catechin (CAT) equivalent (mmol CAT/g); 0.13 ± 0.01 for rosemary, 0.01 ± 0.001 for bitter melon and 0.03 ± 0.005 for ginkgo biloba. This method could not be applied to grape seed's extract due to sediment formation. Total antioxidant capacity (TAC) values of the same products as trolox (TR) equivalent (mmol TR/g) determined by CUPRAC and ABTS methods respectively; 0.90 ± 0.07 and 0.72 ± 0.17 for grape seed, 0.79 ± 0.05 and 0.41 ± 0.09 for rosemary, 0.08 ± 0.006 and 0.11 ± 0.05 for bitter melon, 0.12 ± 0.01 and 0.14 ± 0.02 for ginkgo biloba. These findings were compared with HPLC data and components contributing to the antioxidant capacity were identified. The theoretically calculated-with the aid of HPLC-capacity values of the commercial herbal products compensated for the experimentally found CUPRAC capacities at the following percentages: acidic and acid-free grape seed extracts 46-57%, acidic and acid-free grape seed extract hydrolyzates 43-56%, rosemary extract and hydrolyzate 39-22%, bitter melon extract and hydrolyzate 38-43%, and ginkgo biloba extract and hydrolyzate 33-40%. It was thought that unestimated species in the chromatograms were responsible for this case.

Phenolic components determined in HPLC analyzes; catechin, epicatechin, gallic acid, flavon, procyanidin B2, resveratrol and cyanide in grape seed; caffeic acid, rutin, carnosol and carnosic acid in rosemary; caffeic acid, rutin, quercetin and chlorogenic acid in bitter melon; apigenin, luteolin, kaempferol, rutin and quercetin in ginkgo biloba.

November 2018, 85 pages.

Keywords: Dietary supplements, grape seed, rosemary, bitter melon, ginkgo biloba

1. GİRİŞ

Kaliteli bir yaşam sürdürebilmemiz için aldığımız gıdaların besin kalitesinin yüksek olması şarttır. Geçtiğimiz yüzyılda, gıda sektöründe beslenme ve gıda konusunda geliştirilen bazı yanlış görüşlerin sonucu olarak görünüm açısından çekiciliği yüksek ama besin değeri düşük ürünler ortaya çıkmıştır. Tükettiğimiz hazır gıdalar, endüstriyel işlemden geçirilen yani fiziksel ve kimyasal dönüşümlere maruz bırakılan gıdalardır ve işlem gereği bazı önemli özelliklerini (örneğin; rafine şeker, kepeksiz un, yağı alınmış süt, margarin, vb.) yitirmektedirler. Hazır ve işlenmiş gıdaların tüketimi pratik olması sebebiyle giderek yaygınlaşmaktadır. Bunun sonucu olarak toplumda yanlış beslenme alışkanlıkları gelişmekte ve eksik beslenmenin getirdiği sağlık sorunları karşımıza çıkmaktadır.

Yaşamın sağlıklı olarak devam ettirilebilmesi için gerekli enerji, yediğimiz besinlerden sağlanmaktadır. Vücudun ihtiyacı olan temel maddeler (vitaminler, proteinler, karbohidratlar, mineraller, yağlar vb.) yeterli ve dengeli beslenme ile karşılanabilmektedir. Aksi bir durum bağışıklık sisteminin giderek zayıflamasına neden olur. Doğal koşullarda yetişmiş meyve ve sebzelerle beslenenler sağlıklı yaşam için gerekli besin maddelerini karşılayabilirler. Ancak son zamanlarda üretimde kullanılan yöntemler ve çevresel koşullar nedeniyle tükettiğimiz gıdaların kalitesi giderek düştüğünden, hazır ve işlenmiş gıdalara olan ilgi giderek arttığından sağlıklı yaşamı sürdürebilmek için gerekli besin elemanlarını içeren beslenme takviyesi ürünlerine ihtiyaç duyulmaya başlanmıştır. Beslenme takviyesi olarak adlandırılan ve farklı ticari markalar adı altında satılan bu ürünler; vitamin ve mineraller, bitkisel ekstraktlar, amino asitler, doku ekstraktları vb. ürünleri kapsamaktadır. Bu ürünlerin bitkisel kaynaklı olanları kurutulmuş kök ve yapraklar, sıvı ekstraktlar, kapsül, tablet ve toz halinde satılmaktadır. Beslenme takviyeleri sağlıklı beslenme için oldukça faydalı olmakla beraber ancak çok yönlü bir beslenmeyle birlikte alındıklarında sağlığımız için maksimum verim sağlarlar, tek başına yeterli değildirler.

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (US Food and Drug Administration, FDA) beslenme takviyesi ürünlerinin sağlıklı beslenme için yardımcı olduğunu belirtmektedir. Bu ürünlerin kullanımı amacı, yetersiz ve dengesiz beslenme sonucu meydana gelebilecek eksiklikleri gidermek, hastalıkları önlemek, yaşam kalitesini arttırmaktır. Bu nedenle kullanılacak ürünün içeriğinin

gerçek ve standart olduğundan emin olmak önemlidir. Doğal ürünlere olan ilgi ve ihtiyaç arttıkça üretici sayısı da hızla artmaktadır. Bitkisel ürünlerin çoğunun kontrolü yapılmadığından ve satışı serbest olduğundan, yeterli özen gösterilmeden satışa sunulan ürünlerde içerik ve kalite açısından sorunlara rastlanmaktadır. Bazen ürünün içinde yer alması gereken aktif bileşenler yetersiz çıkmakta bazen ise etiket bilgisinde yer alan bitkiden tamamen farklı bitkiler çıkabilmektedir.

Bazı ülkeler, beslenme takviyelerini “gıda” olarak tanımlarken diğerleri “ilaç” ya da “doğal sağlık ürünleri” olarak tanımlamaktadır. Avrupa’da bitkisel takviyeler, genellikle reçetesiz satılan ilaç olarak hazırlanmaktadır. Bunlar kalite ve doğru kullanımdan emin olmak için lisanslı eczacılar veya profesyonel sağlık uzmanları tarafından hazırlanmaktadır. Alman hükümeti tarafından kalite standartlarını ve etki gücünü tanımlamak için 350 bitkisel ilacın monografi hazırlanmıştır. Fransa resmi olarak 200’den fazla tıbbi bitkiyi kabul etmiş ve şartnamelerle bunların kontrollü satışını sağlamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri’nde ise 1994’de yayınlanan Beslenme Takviyesi Sağlık ve Eğitim Kanunu’na (DSHEA; Dietary Supplement Health and Education Act) göre bitkisel ürünler beslenme takviyesi olarak sınıflandırılmaktadır [1].

Ülkemizde de Tarım Bakanlığı’ndan aldıkları izinle “gıda takviyesi” adı altında üretim yapan firmalar bulunmaktadır. Bazı ürünler de yine izinle yurt dışından ithal edilip pazarlanmaktadır [2].

Tez çalışmasının amacı, çeşitli nedenlerle yaygın kullanımı olan ve insan sağlığını yakından ilgilendiren bu ürünlerin orijinalliğini belirlemek için standart analitik yöntemler önermektir. Ayrıca, bunların içerdikleri biyoaktif bileşenlerin, dolayısıyla da kişinin ihtiyacına göre kullanılacak etkin dozun belirlenmesi amacıyla yararlanılabilecek kromatografik yöntemler geliştirmek ve uygulamaktır. Çalışma kapsamında, bitkisel beslenme takviyesi ürünlerinden, tablet halinde satılan ve antioksidan özellikleriyle öne çıkan fenolik bileşikler içeren, üzüm çekirdeği, biberiye, kudret narı ve ginkgo bilabo ürünleri incelendi. Bu ürünlerin toplam antioksidan kapasiteleri (TAK), Analitik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında geliştirilen CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi ve literatürde yaygın olarak kullanılan ABTS/Persülfat yöntemi ile belirlenerek sonuçlar karşılaştırıldı. Bitkisel tablet örneklerinin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri, bu amaçla kullanılan Folin Ciocalteu ve Alüminyum Klorür/Sodyum Nitrit ($AlCl_3/NaNO_2$) yöntemleri ile

belirlendi. Ürünlerin içerdiği başlıca fenolik bileşikler ise HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemi ile belirlendi ve bulgular literatür verileriyle karşılaştırıldı. Ayrıca HPLC yöntemi ile belirlenen antioksidan bileşenlerin derişimlerinin troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) katsayıları (bir antioksidanın TEAC katsayısı, o antioksidanın 1 mM'lık çözeltilisinin indirgeme gücü bakımından eşdeğer olduğu troloks çözeltilisinin mM derişimidir) ile çarpılması ile elde edilen toplam antioksidan kapasite, CUPRAC ve ABTS/persülfat yöntemleri ile elde edilen toplam antioksidan kapasite değerleri ile karşılaştırıldı.



2. GENEL KISIMLAR

2.1. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR

Antioksidan terimi, Halliwell ve diğ. [3] tarafından şöyle açıklanmaktadır; yükseltgenebilecek maddeye nazaran daha düşük derişimde bulunduğunda, bu yükseltgenebilecek maddenin oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da engelleyen maddelerdir. Metabolik tepkimeler sonucu oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) gibi yapılar prooksidan olarak adlandırılmakta, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde yol açtıkları oksidatif hasar nedeniyle çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara zemin hazırlamaktadırlar. Hücrelere zarar veren prooksidanların antioksidanlar tarafından azaltılması ya da tamamen yok edilmesi zararlı etkileri minimize etmekte hatta ortadan kaldırmaktadır. Bu durum sağlıklı bir yaşam için antioksidan bileşiklerin ve enzimlerin önemini ortaya koymaktadır [4,5].

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), polifenolik bileşikler ve karotenoidlerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır [6].

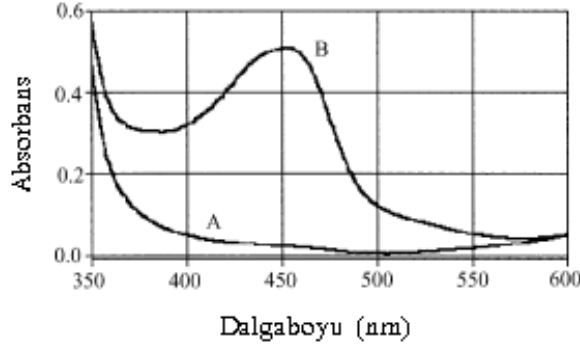
2.2. TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

Antioksidan kapasiteyi ölçmek için bugüne kadar çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesini sağlayan yöntemler, elektron transferine (ET) dayanan yöntemler ve hidrojen atom transfer (HAT) tepkimelerine dayanan yöntemler ve olmak üzere ikiye ayrılabilir. HAT temelli yöntemlerin birçoğu azo-bileşiklerin bozulması ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yarışmalı kinetik reaksiyonları kullanmaktadır. ET temelli yöntemler ise antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini renk değişimi ile ölçmektedir. Renk değişiminin derecesi örneklerin antioksidan derişimi ile ilişkilidir [7]. Çalışmamızda TAK ölçümü için yaygın kullanımı olan

yöntemlerden iki tanesi, CUPRAC ve ABTS/TEAC yöntemleri kullanıldığından sadece bu yöntemler ile ilgili bilgiler verildi.

2.2.1. CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Apak ve diğ.'nin [8] geliştirdiği bu yöntemde TAK hesabı, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin [Cu(II)-Nc] antioksidan bileşik tarafından indirgenmesi sonucu oluşan bakır(I)-neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatının 450 nm' de absorpsiyonunun (Şekil 2.1) ölçümüne dayanmaktadır. Bu nedenle yöntem, CUPRAC yani 'bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi' olarak adlandırılmıştır.



Şekil 2.1: (A) [Cu(II)-Nc], (B) [Cu(I)-Nc] komplekslerinin spektrumları.

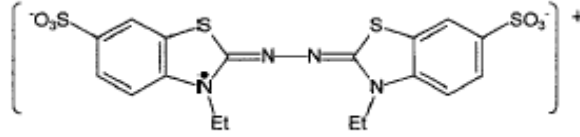
Yöntem; sulu Cu(II) klorür çözeltisi üzerine alkolde hazırlanmış Nc çözeltisi ve sulu amonyum asetat (pH 7 tamponu) çözeltilerinin ilave edilmesinden sonra karıştırılması ve antioksidan bileşik ya da bileşikler içeren çözeltisinin ilave edilmesini takip eden 30 dakika sonunda, içerisinde antioksidan bulunmayan referans çözeltisine karşı, 450 nm'de absorbansın ölçülmesine dayanmaktadır. Bu uygulama normal CUPRAC yöntemi (CUPRAC_N) olarak adlandırılmaktadır. Askorbik asit, gallik asit ve kuersetin gibi bileşikler için renk oluşumu hızlı olurken naringin, naringenin gibi yavaş tepkime veren antioksidan bileşikler için 50 °C' de 20 dakika inkübasyon işlemi uygulanmaktadır ki bu da inkübasyonlu CUPRAC yöntemi (CUPRAC_I) olarak adlandırılmaktadır.



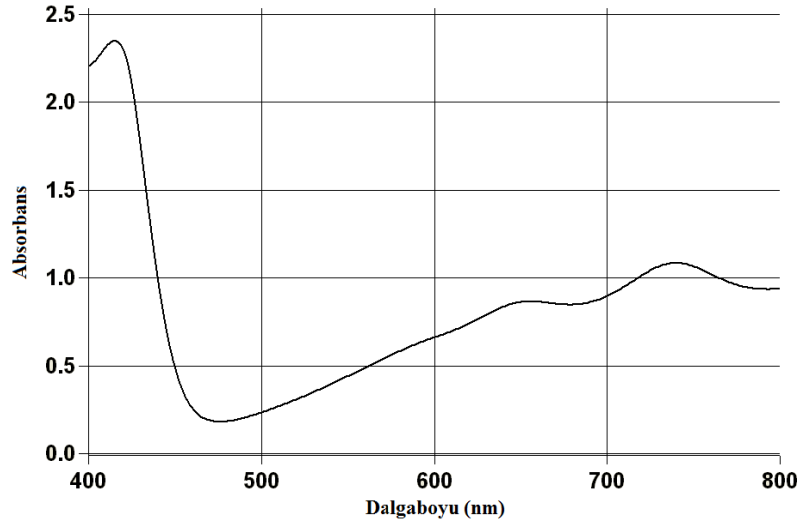
Yöntem, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara uygulanabildiğinden son zamanlarda TAK ölçümlerinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

2.2.2. ABTS/TEAK (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Troloks (TR) eşdeğeri antioksidan kapasite olarak ifade edilen ABTS/TEAK yöntemi, ilk olarak Miller ve arkadaşları [9, 10] tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem; 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) bileşiği ile hazırlanan kromojen ABTS^{•+} radikal katyonunun absorbansının, antioksidanlar tarafından inhibisyonunu temel alır. Antioksidanlar varlığında ABTS^{•+} radikal katyonunun (Şekil 2.2) absorbansında belirli bir süre içindeki azalma ölçülür ve bu farka dayalı olarak TAK değeri TR eşdeğeri olarak hesaplanır.



Şekil 2.2: ABTS^{•+} radikal katyonunun yapısı.



Şekil 2.3: ABTS radikal katyonunun (ABTS^{•+}) absorpsiyon spektrumu.

Re ve diğ. [11] tarafından modifiye edilmiş ve geliştirilmiş TEAK yönteminde potasyum persülfatla ABTS'in oksidasyonu sonucu üretilen ABTS^{•+} radikal katyonları kullanılır.

ABTS⁺ radikal kationunun spektrumu Şekil 2.3'te görülmektedir. Üretilen bu bu radikaller oda sıcaklığında, karanlıkta beklediği zaman 2 gün kararlıdır. Geliştirilen bu yöntem, hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde kullanılabilir.

2.3. TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİĞİ TAYİN YÖNTEMİ

Toplam fenolik madde içeriğini tayin etmek için Folin Ciocalteu yöntemi kullanılmaktadır. Singleton ve arkadaşları [12,13] tarafından geliştirilen yöntemin temeli, fenolik bileşiklerin Folin Ciocalteu ayırıcı (FCR) (fosfomolibdik fosfotungstik asit) ile sadece bazik ortamda tepkime vermesine dayanmaktadır. FCR kullanılan bu yöntem, gerçekte örneğin indirgeme kapasitesini tayin etmektedir. Çünkü bu ayıraç sadece fenolik bileşenlere özgü olmayıp, fenolik yapıda olmayan ve indirgen özellik gösteren çok sayıda bileşeni de yükseltme yeteneğine sahiptir.

2.4. TOPLAM FLAVONOİD İÇERİĞİ TAYİN YÖNTEMİ

Jia Zhishen ve diğerleri [14] tarafından rapor edilen $AlCl_3/NaNO_2$ yönteminde toplam flavonoid içeriği (TFdİ), $AlCl_3$ ve $NaNO_2$ ayıraçları kullanılarak, alkali ortamda pembe renkli flavonoid-alüminyum kompleksinin meydana gelmesiyle belirlenmiştir.

2.5. BESLENME TAKVİYELERİ

Beslenme takviyeleri (dietary supplements), bitkisel ya da hayvansal ürünler kullanılarak hazırlanmış formülasyonlardır. Beslenmeyi desteklemek amacıyla hazırlanan, vitaminler, mineraller, bitkiler ve bitkisel ürünler, amino asitler vb. içeren, ağızdan tablet, kapsül, toz veya sıvı şeklinde alınan ve etiketinde “besin takviyesi” ibaresi bulunan ürünler bu kapsamda yer alırlar. Bu tür ürünler piyasaya çıktığında, ülkelerin resmi ilaç otoritesi kurumları ilaç tanımı içinde yer vermek istemediklerinden, hukuki bir karmaşaya neden olmuştur. Bu ürünler pazarda yüksek talep gördüğü için de bu soruna çözüm getirmek amacıyla 1994 yılında, Amerikan Senatosu tarafından “Besin Takviyesi Sağlık ve Eğitim Yasası” (Dietary Supplement Health and Education Act; DSHEA) kabul edilmiş ve yürürlüğe konmuştur. Bu yasaya göre; her ne şekilde olursa olsun, etikette ürünün alışılagelmiş bir ürün olmadığı ve bütünleyici maddeler içerdiğinin yazılması zorunluluğu vardır. DSHEA'ya göre bu ürünler “gıda” kapsamında özel bir kategoride değerlendirilirler ve “ilaç” kabul edilmezler [15].

Son yıllarda hastalıklardan korunmak, etkisini hafifletmek ya da tedavi amacıyla çeşitli bitkilerin ve/veya bitkisel tıbbi ürünlerin kullanımı tüm toplumlarda giderek artmaktadır. Her ne kadar geleneksel fitoterapi terimi çoğu batı toplumunda uzun yıllar boyunca “herbalizm” ve “alternatif tıp” anlamında kullanılmışsa da modern fitoterapi, bitkisel kaynaklardan elde edilen ekstraktların ilaç ve sağlık ajanı olarak kullanılmasıdır [16]. Bitkisel ilaçların ve bitkisel ürünlerin kimyasal içeriklerinin insanlar üzerinde toksik etkileri de olabilir. İnsanlar çoğu kez bitkisel ilaçları reçete edilmiş ilaçlarla birlikte kullanmaktadırlar. Bu nedenle de bitki-ilaç etkileşmelerinin görülmesi olasıdır. Beslenme takviyesi olarak tanınan geniş bir ürün yelpazesinin pazar değeri daha 2000’li yılların başlarında, bütün dünyada 50,6 milyar dolarlık bir rakama ulaşmıştır. Ülkeler açısından bakıldığında besin destekleri piyasasında en büyük pazar payı 16,3 milyar dolar ile Kuzey Amerika ülkelerindedir (% 37). Daha sonra 15 milyar dolar ile Avrupa ülkeleri (% 33) ve 7,2 milyar dolar ile Japonya (% 18) gelmektedir [17].

Bitkilerden tedavi edici veya tedaviye yardımcı ürün hazırlanmasında dikkat edilmesi gereken konular kısaca şöyle özetlenebilir [16]:

Tür farkı: Bir cinsin altında yer alan tüm türler aynı kimyasal yapıyı göstermeyebilirler.

Yetiştirme koşulları: Bitkilerin yetiştikleri coğrafi bölgedeki iklim durumu, yağış miktarı, toprak yapısı ve bitkilerin toplanma zamanı gibi unsurlar kimyasal yapıları üzerinde etkilidir.

Üretim yöntemi: Bir bitkisel ürün hazırlanırken en uygun üretim yöntemi seçilmelidir.

Saklama koşulları: Örneğin nemli ortamda bırakılan kokulu yonca (*Melilotus officinalis* L.) bitkisinin içerisindeki kumarinler, kolaylıkla toksik bir bileşik olan *dikumarol* bileşiğine dönüşürler.

İsim ve bitki karışıklıkları: Tek başlarına etkili olmayan bazı bileşiklerin de bir bitki ekstraktı içerisinde diğer bileşiklerle birlikte buldukları zaman, birbirlerine katkı yaparak (sinerjik etki göstererek) tıbbi bir etkinin ortaya çıkmasını sağladıkları da bilinen bir gerçektir [18]. Bütün bu noktalar göz önüne alındığında, tıbbi bitkilerden hazırlanan ürünler için, “bitkisel ise zararsızdır” demek de “bitkisel ise yararlıdır” demek de yanlıştır. Çoğu zaman besin takviyeleri ile karıştırılan nutrasötik denilen ürünler de vardır. Nutrasötikler, gıdalardan izole edilerek saflaştırılan önemli biyoaktif bileşiklerin derişiklendirilmesiyle hazırlanmış

tablet, toz veya sıvı formlardır. Nutrasötik, nutrition (beslenme) ve pharmaceutical (farmasötik, eczacılığa ait) kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuş bir kavramdır. Dolayısıyla bu ürünler, bir gıdada bulunan ve biyolojik olarak etkili olduğu kabul edilen bir bileşeni, gıda olmayan bir taşıyıcı içerisinde ve gıdada bulunduğu çok daha yüksek miktarlarda taşıyan; bu özellikleri nedeniyle profilaktik olarak veya tedaviyi desteklemek için kullanılan ürünlerdir. Domatesin etkili bileşeni olan likopen, üzüm çekirdeğindeki resveratrol, yeşil çayın etkili bileşeni epigallokateşin gallat (EGCG) ve soya fasulyesinden elde edilen izoflavonlar nutrasötik olarak kabul edilirler [19, 20]. Yapılan bazı araştırmalar sonucunda, fenolik tablet alımının, güçlü antioksidan etkisi nedeniyle, kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet veya ateroskleroz gibi farklı hastalıkların riskini azalttığı saptanmıştır [21, 22].

2.6. ÇALIŞILAN BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİ

Bu kapsamda yer alan çok fazla sayıda örnek bulunmaktadır. Biz çalışmamızda en çok ve farklı amaçlar için kullanılan dört bitkisel ürünü tercih ettik. Bunlar, kapsül veya tablet halinde satılan, üzüm çekirdeği ekstresi, biberiye, kudret narı ve ginkgo biloba'dır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Çalışılan beslenme takviyesi ürünleri örnekleri.

2.6.1. Üzüm Çekirdeği

Üzüm çekirdeği ekstraktı, vücudu erken yaşlanmadan ve hastalıklardan koruyan güçlü bir antioksidan olarak bilinir. Üzüm çekirdeğindeki polifenollerin farmakolojik özellikleri, serbest radikalleri süpürme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Çok sayıda çalışmada üzüm çekirdeği polifenollerinin kanser riskini azalttığı ve LDL yükselmesini engelleyerek kalp rahatsızlığı riskini de azalttığı rapor edilmiştir [23].

Üzüm çekirdeği (Şekil 2.5), kabuğuna kıyasla çok daha fazla oranda monomerik, oligomerik ve polimerik flavanollar içermektedir. Flavanol miktarı üzümün yetiştirildiği bölgeye ve iklime göre değişmektedir. Yapılan çalışmalar üzüm flavanollerinin, özellikle de resveratrolün güçlü bir kalp koruyucusu olduğunu ortaya koymuştur [24, 25]. Üzüm çekirdeğinde bulunan resveratrolün trombosit agregasyonunu inhibe ederek pıhtılaşmayı engellediği, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu azalttığı ve buna bağlı hücre ölümünü engellediği belirtilmiştir [24-26]. Kırmızı/siyah üzümün kabuğu ve çekirdeğindeki fenolik bileşenler beyaza göre daha fazladır [39, 41]. Kırmızı üzüm kabuğu ve çekirdeğinde bulunabilen polifenolik bileşenler Tablo 2.1’ de görülmektedir.



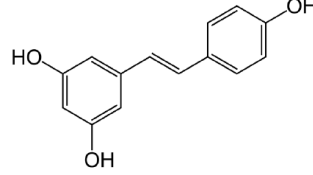
Şekil 2.5: Siyah üzüm ve çekirdekleri.

Tablo 2.1: Kırmızı üzüm kabuğu ve çekirdeğinin polifenolik bileşenleri [24, 27].

Çözünabilir Polifenoller	Çekirdek (g/kg kuru madde)	Kabuk (g/kg kuru madde)
Fenolik asitler	% 26,2	% 13,4
Hidroksisinnamik asitler	% 4,2	% 4,8
Flavon-3-ler	% 40,3	% 17,8
Flavonoller	% 6,7	% 11,8
Antosiyaninler	% 22,7	% 52,2

Resveratrol (3,4',5-trihidroksistilben), güçlü antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, antioksidan ve antibakteriyel etkileriyle beraber iyi bir kalp-damar sistemi koruyucusudur [25, 28, 29].

Ayrıca meme, prostat ve nöroblastom türü kanserlerin tedavisinde tedavinin etkinliğini artırdığı, antioksidan ve antiproliferatif etkilerinden ötürü yaşa bağlı gözdeki makular dejenerasyonun önlenmesinde de etkili olduğu rapor edilmektedir [25, 28, 30].



Şekil 2.6: Resveratrol(trans-3,5,4'-trihidroksistilben)'ün kimyasal yapısı.

2.6.2. Biberiye

Ballıbabagiller (Laminaceae veya Labiatae) familyasından olan biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) tıbbi ve aromatik bitki türlerinden biridir. Çalı görünümünde, kışın yaprağını dökmeyen çok yıllık bir bitki olan biberiyenin yaprakları koyu yeşil, çiçekleri soluk mavi renklidir (Şekil 2.7). Eski Yunan ve Romalılar döneminde gıdaların lezzetlendirilmesi ve tıbbi tedavi amacıyla kullanılan biberiye, günümüzde kozmetik, parfümeri, aromaterapi, eczacılık ve gıda gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar, biberiyenin içerdiği bileşikler nedeniyle antioksidan, antibakteriyel, antiviral ve bağışıklık sistemini iyileştirici etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur [31,32].

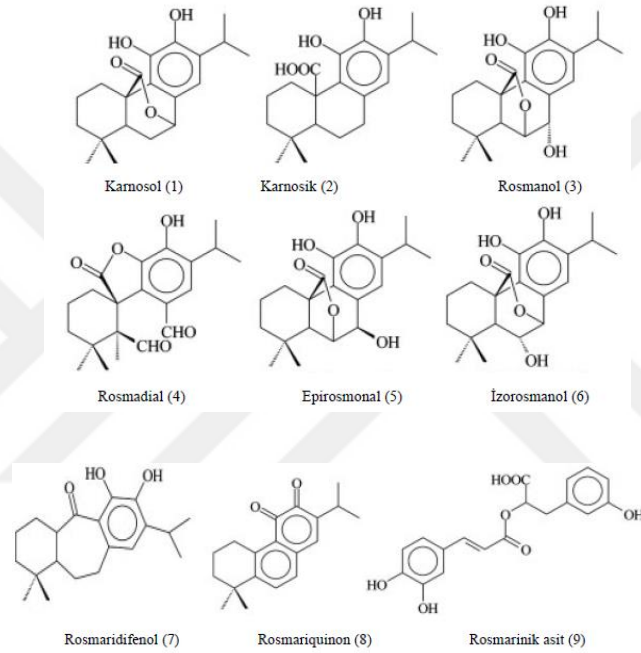


Şekil 2.7: Biberiye bitkisi.

Biberiye yapraklarında bulunan başlıca bileşikler, karnosik asit, karnosol, rozmanol, epirozmanol ve rozmarinik asit'tir. Karnosik asitin hayvansal yağlar için en güçlü antioksidan olduğu bilinmektedir. Abietatrien türevi diterpenler olan karnosik asit ve karnosol,

biberiyenin antioksidan etkisinin % 90'ından sorumludur. Biberiye yapraklarının hem ham hem de rafine ekstraktları ticari ürün olarak bulunmaktadır [33].

Biberiye bitkisinin kimyasal kompozisyonu ile antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmalarda, yaş veya kurutulmuş bitkisi, su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı veya farklı ekstraksiyon yöntemleri (solvent veya süper kritik CO₂) ile elde edilen ekstraktı kullanılmıştır. Biberiye ekstraktında bulunan başlıca 9 fenolik bileşik, antioksidan etkiye sahip olup kimyasal yapıları Şekil 2.8' de görülmektedir [34].



Şekil 2.8: Biberiyenin antioksidan etkili bileşenleri [34].

2.6.3. Kudret Narı

Ülkemizde kudret narı adıyla bilinen *Momordica charantia* L., Kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasının bir üyesidir. Özellikle tropik iklim bölgelerinde, gıda olarak ya da tedavi amaçlı kullanılmak üzere yetiştirilen, tek yıllık ve sarmaşık formunda ve ekonomik açıdan önemli bir tıbbi bitkidir (Şekil 2.9). Bitkinin, vitaminler, mineraller bakımından zengin olan yaprakları ve olgunlaşmamış meyveleri sebze olarak tüketilmektedir. Olgun meyvelerin tadı acı olduğundan sebze olarak tüketilirken ham hali tercih edilmektedir. Ham meyveler, olgun meyveler ya da tüm bitkiden hazırlanan preparatlar ile yapraklardan hazırlanan çaylar tedavi ya da sağlığı koruma amaçlı kullanılmaktadır. Bitkide bulunan bazı biyoaktif maddelerin,

hipoglisemik, antiülser, antioksidan, antibiyotik, antidiyabetik, antikanserojen, antimitojenik özellikte olduğu klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır [35].



Şekil 2.9: Kudret narı bitkisinin ham ve olgun meyveleri.

Günümüzde kudret narı tarımı Hindistan, Çin, Malezya, Afrika ve Güney Amerika’da ekonomik olarak yapılmaktadır. Ayrıca Japonya, Tayvan, Tayland, ABD ve nadiren Avustralya’da yetiştirilmektedir [36]. Ülkemizde Bursa ve Yalova civarlarında bahçe tarımı şeklinde küçük alanlarda üretilmektedir. Mayıs ayında tohumundan ekilerek yetiştirilir ve ağustos ayında olgunlaşmış meyveler hasat edilir. Tohumlar müshil etkisi nedeni ile yemek için tavsiye edilmez [36].

Kudret narı, yüksek miktarlarda C vitamini, bunun yanında A vitamini, β -karoten, α -karoten, potasyum, magnezyum, ve çinko içermektedir. Olgun meyvelerin çekirdeklerinin zarları iyi bir likopen kaynağıdır. Bitkinin hem meyveleri hem yaprakları, vitaminler (B ve C vitaminleri) ve mineraller (demir, kalsiyum, fosfor) bakımından oldukça zengindir [37-40].

Meyve suyundan ve meyvesinden elde edilen enjekte edilebilir preparatlar, geleneksel olarak dünya çapında kan şekeri seviyesini düşürmek için kullanılmaktadır [41]

2.6.4. Ginko Biloba

Türkiye’de “Japon eriği” ya da “kız saçı” olarak bilinen ginkgo biloba (Syn. *Salisburia adiantifolia* Sm. *S. biloba* Hoffmag) ağacının anavatanı Güneydoğu Çin olarak kabul edilmektedir. Ginkgoaceae familyasına ait olan bitki “mabet ağacı” ya da “filkulağı”

isimleriyle de bilinmektedir. 200 milyon yıllık bir tarihi geçmişe sahip olması nedeniyle “yaşayan fosil” olarak kabul edilir. Ülkemizde büyük şehirlerimizde (İstanbul, Ankara ve İzmir) yaklaşık 200 yıldan beri süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir [42, 43].



Şekil 2.10: Ginkgo biloba ağacının yaprakları ve meyveleri.

Ginkgo bilobanın (Şekil 2.10) en önemli biyoaktif bileşenleri, flavonoidler ve terpenik laktonlardır. Yapraklarında belirlenmiş olan bileşenler ve yaklaşık oranları şu şekildedir; % 22-27 flavonoller (kuersetin, kamferol, izoramnetin), biflavon (amentoflavon), % 5-7 terpenik laktonlar (% 2,8-3,4 ginkolit, % 2,6-3,2 bilobalit), % 8-12 proantosiyanidinler, fenolik asitler (protokateşuik asit, vanilik asit), ginkgolik asit, fitosteroller ve karotenoidler.

Standardize ekstreleri ya da çay halinde kullanılan ginkgo biloba ürünlerinin, içermiş oldukları bileşenlerin beyin damarları üzerindeki etkisine bağlı olarak, yaşa bağlı hafıza zayıflığında ve demans (bunama) gibi durumlarda kullanımı bütün dünyada yaygınlaşmıştır [43]. Ginkgo biloba'nın ticari ekstraktların çoğu patentlidir ve genelde % 24 oranında flavonoid glikozitleri, % 6 oranında terpenik laktonlardan oluşmaktadır [44].

2.7. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİ İLE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Xu ve diğ. yaptıkları çalışmada [45] Çin'de yetişen Doğu kökenli ve Kuzey Amerika kökenli üzümlerin 18 çeşidinin kabuk ve çekirdeklerinin sağlığa yararlı özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada dört tane fenolik bileşik parametresi (toplam fenol, flavonoid, flavan-3-ol ve antosiyanın) ve üç tane antioksidan özellik parametresi {DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme, ABTS radikal süpürme ve FRAP(demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan

gücü}} ölçülmüştür. Sonuçlar, incelenen çeşitler arasında hem kabuklarda hem de çekirdeklerde, fenolik bileşenler açısından ve antioksidan özellikler bakımından farklılıklar olduğunu göstermiştir. Cabernet Sauvignon türünün çekirdekleri en yüksek fenolik içeriğe ve antioksidan özelliğe sahip olarak belirlenmiştir. İncelenen üzüm türlerinin çekirdeklerinin antioksidan aktivitelerinin uygulanan yöntemlere bağlı olarak büyük değişim gösterdiği belirlenmiştir. Cabernet Sauvignon türünün çekirdeklerinin DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiş antioksidan aktiviteleri sırasıyla; 422,18; 649,85 ve 605,18 μM troloks eşdeğeri (TRE)/g kuru madde olarak hesaplanmıştır.

Lacopini ve diğ.'nin [46] yaptıkları çalışmada, Toskana'ya ait üzüm türlerinin kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri, toplam fenol ve antosiyanin içerikleri hesaplanmış, UV (Ultraviyole) dedektörlü HPLC analizi ile beş fenolik bileşenin (kateşin, epikateşin, kuersetin, rutin ve resveratrol) miktarları belirlenmiştir. Bu bileşenlerden kateşin ve epikateşinin en fazla çekirdeklerde diğerlerinin ise kabuklarda bulunduğu belirtilmiştir. Ekstraksiyon etanol:su:0,12 M HCl (hidroklorik asit) (70:29:1, v/v/v) çözeltisi ile 4 saatte yapılmıştır. Ekstraktlar 10 dakika 3300 rpm'de santrifüj edilmiş, son hacim aynı çözücü ile çekirdekler için 100 mL'ye tamamlanmıştır. Ekstraktlar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklanmıştır. Ekstraktlar C18 kartuşlarla analiz öncesinde saflaştırılıp, mikrofiltre ile süzülerek HPLC'ye verilmiştir. Üzüm çekirdekleri ekstraktlarının HPLC analizinde, A (su), metanol (B) ve asetik asit (C) kullanılarak gradient elüsyon programı uygulanmıştır (başlangıçta % 15 B ve % 5 C olan bileşim 15 dakikada % 25 B'ye sonraki 5 dakikada % 85 B'ye çıkarılıp 10 dakika bu şartlarda izokratik elüsyon uygulandıktan sonra 5 dakikada % 15 B'ye düşürülerek bu şartlarda da 5 dakika izokratik elüsyon uygulanmıştır. HPLC analizleri sonucu çekirdeklerin kateşin içerikleri, 60,3-141,8 mg/100 g kuru madde, epikateşin içerikleri ise 47,2-205,7 mg/100 g kuru madde aralıklarında bulunmuştur. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri, DPPH radikali ve peroksinitrit (ONOO^-) süpürme etkilerini ölçmeye dayalı iki farklı yöntem ile belirlenmiştir. Bütün ekstraktların önemli ölçüde antiradikal kapasite gösterdiği görülmüştür. Çekirdeklerin IC_{50} (mg GAE/L) değerleri, ONOO^- yöntemiyle 10,99-15,35 aralığında DPPH yöntemiyle ise 1,7-3,5 aralığında belirlenmiştir. Toplam fenolik içerik, Folin-Ciocalteu yöntemi ile mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE)/100 g kuru madde (çekirdek veya kabuk) olarak hesaplanmıştır. Kabuk ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin çekirdek ekstraktlarından daha düşük olduğu bulunmuştur. Çekirdeklerin toplam fenolik

içeriklerinin; 8708±430 ve 5033±40 mg GAE 100/g kuru madde değerleri arasında olduğu belirlenmiştir.

Moreno ve diğ. [47] Arjantin'in San Luis eyaletinde yetiştirilen biberiye bitkisinin ekim ve kasım aylarında toplanan yaprak ve çiçek kısımlarının önemli biyoaktif bileşenlerini {rozmarinik asit (RA), karnosol (COH) ve karnosik asit (CA)} HPLC ile belirlemişlerdir. Araştırmacılar ekstraktların hazırlanmasında farklı çözücüler (aseton, metanol ve su) kullanmışlar ve ekstraksiyon verimlerini karşılaştırmışlardır. Yaprak ve çiçeklerde en fazla miktarda bulunan bileşen CA olup içerikler sırasıyla, 29,3 ve 13,6 g/100 g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Yaprak ve çiçeklerin COH içerikleri; 8,5 ve 8,7 g/100 g ekstrakt, RA içerikleri; 7,9 ve 4,6 g/100 g ekstrakt olarak bulunmuştur. RA 330 nm'de, COH ve CA 280 nm'de belirlenmiştir. Su ekstraktının RA içeriği, 14,5 g/100 g ekstrakt olarak belirlenmiş olup CA ve COH belirlenememiştir. Aseton ekstraktının RA, CA ve COH içerikleri sırasıyla; 4,0; 21,5 ve 11,0 g/100 g ekstrakt, metanol ekstraktının ise 5,5; 30,5 ve 16,2 g/100 g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Aseton ekstraktının toplam fenolik madde içeriği 19 g GAE/100 g ekstrakt, metanol ve su ekstraktlarının ise 12 ve 3 g GAE/100 g ekstrakt olarak belirlenmiştir. DPPH yöntemiyle belirlenmiş olan antioksidan aktivite (EC_{50}) değerleri aseton, metanol ve su ekstraktlarında sırasıyla; 18, 25,6 ve 55,8 ($\mu\text{g/mL}$) olarak bulunmuştur. Bu değerler, butillenmiş hidroksi toluen (BHT) için belirlenen 20,8 ve α -tokoferol için belirlenen 18,5 $\mu\text{g/mL}$ değerleriyle karşılaştırılmıştır. Del Baño ve diğ. [48] biberiyenin kök, gövde, çiçek ve dal kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin (polifenolik diterpenler, rozmarinik asit ve flavonların) oranlarının vejetasyon (bitkinin tohumdan gelişip tekrar tohum verecek hale gelene kadar geçen zaman) dönemlerine göre farklılık gösterdiğini, tüm etken bileşenlerinin yaprakta ve vejetasyonun erken döneminde en yüksek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir.

Biberiye yapraklarından elde edilen ekstraktın antioksidan olarak kullanılabileceği ilk defa Rac ve Ostric-Matijasevic (1955)'e atfen Yanishlieva ve diğ. [49] tarafından rapor edilmiştir. Yapılan bilimsel çalışmalarda söz konusu bitkinin antioksidan aktivitesi öncelikle gıdalarda yaygın olarak kullanılan antioksidanların (α -tokoferol asetat, C vitamini, sentetik antioksidanlar) aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. Briskorn ve Domling [50] CA ve COH'ın butillenmiş hidroksi anisol (BHA) kadar etkili (bu etki derişime bağlıdır) olduğunu belirtmişlerdir. Richheimer ve diğ. [51] biberiye ekstraktının en güçlü antioksidan aktivite gösteren bileşiminin CA olduğunu ve bunun diğeri bir bileşik olan COH'den üç kat, BHT ve

BHA gibi sentetik antioksidanlardan da yedi kat daha yüksek aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Literatürde biberiyenin antioksidan etkisinin, sentetik antioksidanlar ve α -tokoferol asetat yanında diğer bitkisel ürünlerle karşılaştırıldığı çalışmalara rastlamak mümkündür. Nitekim Rababah ve diğ. [52] tarafından yapılan çalışmada çemen otu, zencefil, yeşil ve siyah çay, üzüm çekirdeği, gotu kola (Hindistan ve Endonezyaya ait tropik bir bitki), ginkgo biloba (Japon eriği) ekstraktları ile Vitamin E, t-butilhidroksikinin (TBHQ)'nun toplam fenol içeriği ile antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre; en yüksek toplam fenol içeriği biberiye ekstraktında saptanmasına karşılık en yüksek antioksidan aktivitesi üzüm çekirdeği ile yeşil çay ekstraktlarında elde edilmiştir. Bu çalışmada toplam fenol içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif yönde yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.

Troncoso ve ark. [53] tarafından yapılan çalışmada, Şili ve diğer ülkelerden toplanan taze biberiye örneklerinde, ultra performanslı sıvı kromatografisi (UPLC) ile UV-görünür bölgede fenolik antioksidanlar belirlenmiştir. Kromatografik analizde iki farklı yöntem kullanılmış, 230 ve 330 nm'de çalışılmıştır. Birinci yöntemde, A {asetonitril-su-H₃PO₄ (% 65,1: % 34,9: % 0,02)} ve B {asetonitril-su-H₃PO₄ (% 22: % 78: % 0,25)} hareketli fazları kullanılarak, 1,5 mL dk⁻¹ akış hızı ile gradient elüsyon programı uygulanmıştır. Buna göre, ilk 2 dakika % 100 B, sonraki 2,1 dakikada A % 100'e yükselmiş ve 6 dakika boyunca sabit kalmış, 8,1 dakikada yine B % 100'e yükselmiş ve son 2 dakika bu şekilde devam edilmiştir. Bu yöntemle, rozmarinik asit alıkonma zamanı 2,7, karnosol 5,7 ve karnosik asit 6,6 dakika olarak bulunmuştur. Bu yöntemde tüm lipofilik ve hidrofilik antioksidanları ekstrakte etmek için metanol:su (2:1, v/v) kullanılmıştır. İkinci yöntemde ise 6 dakika boyunca %100 A'nın kullanıldığı izokratik elüsyon programı uygulanmıştır. COH ve CA için alıkonma zamanları sırasıyla; 1,8 ve 5 dk olarak belirlenmiştir. Bu yöntem, sadece metanol ile ekstrakte edilmiş örneklerle uygulanmış ve hidrofilik bileşenler ayrılmamıştır. Geliştirilmiş kromatografik yöntemler ile on dakika içinde CA, COH ve RA'in çok hızlı bir şekilde ayrımı gerçekleştirilmiştir.

Wang ve diğ. [54] çeşitli aromatik bitkilerde (biberiye, adaçayı, kekik, nane, melisa ve lavanta) RA ve kafeik asit (KA) tayini için bir HPLC yöntemi geliştirmiştir. HPLC analizinde, C₁₈ ters-faz kolonu, metanol:su (*o*-fosforik asit içeren) gradiyent elüsyon programı kullanılmış ve dedeksiyon PDA (fotodiyot dizisi) detektörü ile gerçekleştirilmiştir. En uygun

ekstraksiyon çözücüsünü belirlemek için etanol, metanol, aseton ve asetonitrilin sudaki % 30'luk (v/v) çözeltileri denenmiş ve aralarında çok küçük farklar olduğu görülmüştür. Sadece su ile ekstraksiyon yapıldığında ekstraktın RA içeriğinin kullanılan dört çözücüye oranla % 20 oranında daha düşük olduğu belirlenmiştir. Her iki asit için en iyi ekstraksiyon veriminin elde edildiği koşullar, % 30-60 (v/v) etanol ile ultrasonik banyoda 10 dk olarak belirlenmiştir. HPLC analizinde % 0,1 *o*-fosforik asit içeren su (v/v) (A) ve % 0,1 *o*-fosforik asit içeren metanol (v/v) (B) hareketli fazlarının kullanıldığı gradient elüsyon programında; 0-10 dk arasında, doğrusal gradient ile B oranı % 40'tan % 50'ye; 10–15 dk, doğrusal gradient ile % 50'den % 60'a çıkarılmış ve 25nci dakikaya kadar % 60 B şeklinde uygulanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C, akış hızı 1 mL/dk ve dedeksiyon dalgaboyu 330 nm'dir. Aromatik bitkilerin analizinde, RA ve KA içerikleri sırasıyla 2,0-27,4 ve 0-0,4 mg/g aralıklarında belirlenmiştir.

Goh ve Barlow tarafından yapılan çalışmada [55] ginkgo bilabo meyvesinin pişirilmesinin antioksidan kapasitesine etkisi, standardize yaprak ekstraktı, kurutulmuş yaprak ekstraktı ve ticari ginkgo kapsülleri ile karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir. Yenebilir, kabuklu Ginkgo meyvesi 1 dk kaynar su banyosunda bekletildikten sonra kabuğu elle soyularak analize hazırlanmıştır. Pişirme, ıslak ve kuru olmak üzere, 5 dk ile 4 saat arasında ısıtma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Su ile pişirme işlemi, 1:10 (w/v) oranında distile su ile 80-90 °C'de ısıtılarak uygulanmıştır. Uygun sürede su ile pişirme yapıldıktan sonra taneler süzülerek pişirme suyundan ayrılmıştır. Pişmiş meyveler homojenize edilmiş ve aseton:su (60:40, v/v) karışımı ile geri soğutucu altında ekstrakte edilmiştir. Çeşitli yaprak örnekleri (standardize yaprak ekstraktı, kurutulmuş yaprak ekstraktı ve ticari ginkgo biloba kapsülleri) de aynı şekilde, 30 dk süre ile geri soğutucu altında ekstrakte edilmiştir. Örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri ABTS/Persülfat yöntemi ile belirlenmiş, sonuçlar askorbik asit (AA) eşdeğeri antioksidan kapasite (AAEAK) olarak verilmiştir. Çalışılan örneklerin askorbik asit eşdeğeri (AAE) antioksidan kapasite ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri Tablo 2.2'de görülmektedir.

Tablo 2.2: Çeşitli ginkgo biloba örneklerinin antioksidan kapasiteleri (mg AA/100 g homojenat).

Ginkgo Biloba Örnekleri	AAEAK^a
Ginkgo biloba çekirdeği (Çin) (ham)	515,5 (% RSD=2,13)
Ginkgo biloba çekirdeği (Çin) (1 saat pişirilmiş)	287,9 (% RSD=1,15)
Ginkgo biloba yaprağı (USA)	16288 (% RSD=2,44)
Ginkgo biloba yaprağı (Çin)	15509 (% RSD=2,5)
Standart Ginkgo biloba yaprak ekstraktı	41777 (% RSD=1,98)
Ticari Ginkgo biloba kapsülleri	4440 (% RSD=2,56)

^amg AA/100 g homojenat

Ham ginkgo biloba meyvelerinin AAEAK değeri 515,5 mg AA/100 g homojenat olarak belirlenmiştir. 140 °C'de 25 dk ısıtma yapıldığında bu değer 275 mg AAE olarak belirlenmiştir. Su ile pişirme yapıldığında ise 10 dk sonunda 350 mg AAE belirlenmiştir. Dört saat sonunda bu değer toplamda çok fazla değişmediği fakat ekstraktta kalan miktarın azalıp suya geçen miktarın arttığı görülmüştür. Tablo 2.2'de ticari kapsüllerin, yaprak ekstraktlarından çok daha düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir.

Mantle ve diğ. [56] çalışmalarında, ticari ginkgo biloba ürünlerinin (tablet veya kapsül formunda) antioksidan aktivitelerini ABTS/TEAK yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Kapsül veya tablet formundaki örnekler 1:10 (w/v) oranında 50 mM pH 7,4 fosfat tamponu (PBS) kullanılarak homojenizatörde ekstrakte edilmiştir. ABTS (150 µM) radikal çözeltisi metmiyoglobin (2,5 µM) ve H₂O₂ çözeltisi (75 µM) kullanılarak [57] hazırlanmıştır. Ekstraktlar santrifüj edilmiş ve süpernatantlar analiz için kullanılmıştır [56]. Bulguların farklılığı, tablet veya kapsüllerin hazırlanma prosedürü, ya da kullanılan ginkgo biloba'nın fiziksel doğası (toz halinde, kurutulmuş yaprak veya konsantre ekstrakt gibi) ile ilişkilendirilmiştir.

Diğer bir çalışmada, Dubber ve Kanfer [58], eczaneden temin ettikleri (farklı firmalar tarafından üretilmiş) 4'ü tablet biri kapsül formunda 5 adet ginkgo biloba ürünü ile çalışmışlardır. Çalışmalarının amacı, ginkgo biloba ürünlerinin ürün kalitesinin değerlendirilmesinde karşılaştırma kriteri olarak kullanılacak flavonol bileşiklerinin (kuersetin, kamferol, izoramnetin) ile flavonol glikozidlerinin (rutin ve izokuersitrin) analizi için yeni bir HPLC yöntemi geliştirilmesidir. Bir kutudaki 25 tablet, havanda ezilerek toz haline getirilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra, bir tablet ağırlığına eşit örnek alınarak, analize

hazırlanmıştır. Kapsül formundaki örnek için de benzer şekilde hareket edilmiş, 25 adet kapsül içeriği boşaltılıp karıştırılmış ve tek kapsülün ağırlığına eşdeğer örnek alınmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak, yüksek polaritesi nedeniyle, aglikonlarla birlikte polar glikozidleri de yüksek verimle alabilen metanol kullanılmıştır. Toz halde örnek üzerine 25 mL metanol eklenmiş ve ultrasonik banyoda 1 saat ekstrakte edilmiştir. 30 dk sonra elle altüst edilerek yeniden karıştırılmış ve santrifüj edilmiştir. Çözelti hacmi 50:50 (v/v) metanol:su ile tamamlandıktan sonra süzölmüştür. HPLC analizleri, C18 kolon kullanılarak, 0,4 mL dk⁻¹ akış hızıyla ve 45 °C kolon sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Antioksidan bileşikler, gradient elüsyon programı ile ikili mobil faz sistemi {asetonitril (A) ve % 0,3 formik asit (v/v) (B) hareketli fazlarının 15 dk % 15 A ve 33ncü dakikaya kadar % 25 A} kullanılarak 350 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Literatür verilerine göre, standardize yaprak ekstraktlarının % 0,39 (w/w) kamferol (KAM) ve % 0,5 (w/w) kuersetin (KUE) içerdiği ve çalışma bulgularının bu değerlerle uyumlu olduğu belirtilmiştir. Çalışılan örneklerin hepsinde rutin (RT) ve kuersitrin (kuersetin glikoziti) miktarları daha yüksek bulunmuştur. RT ya da kuersitrin miktarlarının KUE miktarına oranının, tablet matriksinde kimyasal değişim ya da bozulma olup olmadığının belirlenmesinde kalite kontrol amaçlı kullanılabileceği de belirtilmiştir.

Wua ve Ngb [59] Tayvan'da yetişen kudret narının su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan ve radikal süpürme aktivitelerini DPPH, metal kelatlama, sitokrom *c* ve ksantin oksidaz inhibisyonu yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda kudret narının toplam fenol ve flavonoid içeriklerini de analiz etmişlerdir. Flavonoid içeriğini Zou ve diğ. [60] tarafından tanımlanan kolorimetrik yöntemle göre, toplam fenol içeriğini ise Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlemişlerdir. Örneklerin toplam flavonoid içerikleri sulu ve etanollü ekstraktlar için sırasıyla; 62 ve 44 mg/g; toplam fenolik madde içerikleri ise sırasıyla; 51,6 ve 68,8 mg/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca DPPH radikal süpürme aktiviteleri, sulu ekstrakt için IC₅₀ = 129,94 mg/mL ve etanollü ekstrakt için IC₅₀=156,78 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar E vitamini ile kıyaslandığında daha iyi olduğu görülmüştür (IC₅₀ = 172,21 mg/mL). Ayrıca metal kelatlama aktiviteleri de E vitamininden daha yüksek bulunmuştur.

Kubola ve Siriamornpun [61] kudret narı yaprağı, kökü ve meyvesinin sulu ekstraktlarına Folin-Ciocalteu, DPPH, FRAP, hidroksil radikali süpürme ve toplam antioksidan kapasite yöntemlerini uygulamışlardır. Ham meyvenin toplam antioksidan kapasite değerleri olgun

meyveye oranla daha yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Yaprakta 474, ham meyvelerinde 324, kökünde 259 ve olgunlaşmış meyvesinde 224 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Fenolik bileşenler HPLC-PDA yöntemi ile belirlenmiştir. HPLC analizleri, C18 kolonu ile kolon sıcaklığı 40 °C, akış hızı 1 mL/dk, örnek hacmi 20 µL olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. İkili mobil faz sistemi (A: % (v/v) asetik asit, B: % 3 asetik asit : % 25 asetonitril : % 2 (v/v/v) bidistile su karışımından oluşmaktadır) kullanılarak gradient elüsyon uygulanmış ve analizler 278 nm'de gerçekleştirilmiştir. Ham ve olgun meyve ekstraktlarında belirlenen fenolik bileşenlerden GA miktarları ham meyve için 95,6, olgun meyve için 202 mg/L iken, KA içerikleri sırasıyla 3,35 ve 1,62, kateşin (KAT) içerikleri ise 3,95 ve 4,54 mg/L olarak belirlenmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Bu çalışmada kullanılan cihazlar; kimyasal madde ve beslenme takviyelerini tartmak için Radwag WAS 220/X analitik terazi, ekstraksiyon işlemleri ve kimyasal maddelerin çözünmesine yardımcı olmak için Branson 221 ultrasonik banyo, inkübasyon işlemleri için 10 kademeli Clifton su banyosu, hidroliz işlemleri için HB4 basic KIKA-WERKE su banyosu, çözeltileri karıştırmak için Elektro-mag girdap karıştırıcı, bidistile su üretimi için Millipore Simpax 1 Synergy 185 bidistile su sistemi, absorbans ölçümleri ve spektrum çizimleri için Varian Cary 1E UV-Vis spektrofotometre, HPLC analizleri için Perkin Elmer Series 200 UV-Vis dedektör, Perkin Elmer Series 200 pompa, Perkin Elmer Series 200 Vakum degazer, Perkin Elmer 600 Series Link Chromatography ara yüzey (interface)'den oluşan HPLC sistemi.

3.2. KİMYASAL MADDELER

Kullanılan kimyasal maddeler; troloks (TR) (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), kuersetin (KUE), rozmarinik asit (RA) ve flavon (Aldrich); neokuproin (Nc) (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), apigenin (APG), luteolin (LUT), kamferol (KAM), rutin (RT), kafeik asit (KA), karnosol (COH), karnosik asit (CA), kateşin (KAT) hidrat, epikateşin (EKAT), gallik asit (GA), klorojenik asit (KLA), bakır (II) sülfat, folin reaktifi ve sodyum potasyum tartarat (Sigma); prosiyanidin B2, resveratrol, siyanidin klorür, ABTS (2,2'-azinobis[3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat]) ve alüminyum klorür heksahidrat (Fluka); bakır (II) klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodyum hidroksit, % 37'lik hidroklorik asit, sodyum klorür, *o*-fosforik asit ve formik asit (Merck); amonyum asetat, sodyum karbonat, % 96'lık etanol ve kromatografik saflıkta metanol (Riedel-de Haën); potasyum persülfat (Sigma-Aldrich) ve sodyum nitrit (J.T.Baker).

3.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

$1,0 \times 10^{-3}$ M derişimde APG, TR, LUT, KAM, RT, KA, KUE, RA, COH, CA, flavon, GA, prosiyanidin B2 ve KLA çözeltileri uygun tartımlar alınarak % 80 (v/v) metanol (MeOH)de;

$1,0 \times 10^{-3}$ M derişimde KAT, EKAT, resveratrol ve siyanidin klorür stok çözeltileri % 2 (v/v) HCl içeren % 80 (v/v) MeOH'de çözüldü. Tüm stok antioksidan çözeltileri -20 °C' de saklanarak kullanıldı.

CUPRAC yönteminde; Cu(II) klorür çözeltisi, $1,0 \times 10^{-2}$ M olacak şekilde bakır(II)klorür dihidrat'tan ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,4262 g tartım alınıp su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Amonyum asetat (NH_4Ac) tamponu, 1 M (pH 7) olacak şekilde NH_4Ac 'tan 19,27 g tartım alınıp su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Nc çözeltisi, $7,5 \times 10^{-3}$ M olacak şekilde 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin'den 0,039 g tartım alınıp % 96'lık etil alkolle 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

ABTS yönteminde; ABTS'den 0,1920 g tartım alınıp su ile 50 mL'ye tamamlanarak 7 mM ABTS çözeltisi hazırlandı. ABTS stok çözeltisi içine, son derişimi 2,45 mM olacak şekilde 0,0331 g potasyumpersülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) ilave edildi. Elde edilen ABTS radikal çözeltisi, 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra kullanıma hazır hale gelmektedir.

Folin-Ciocalteu yönteminde;

Lowry A: % 2 sodyum karbonat (Na_2CO_3) (0,1 M NaOH çözeltisinde)

Lowry B: 0,5 M bakır(II) sülfat (CuSO_4) (% 1'lik $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ çözeltisinde)

Lowry C: 50 mL Lowry A + 1 mL Lowry B

Folin-Ciocalteu reaktifi distile su ile 1:3 oranında (v/v) seyreltildi.

$\text{AlCl}_3/\text{NaNO}_2$ yönteminde; % 5'lik (w/v) NaNO_2 çözeltisi, % 10'luk (w/v) AlCl_3 çözeltisi ve 1 M NaOH çözeltileri distile suda hazırlandı.

3.4. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİNİN ANALİZE HAZIRLANMASI

3.4.1. Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon Yöntemleri

Üzüm çekirdeği, biberiye ve ginkgo biloba içeren beslenme takviyesi ürünleri kapsül formunda (Shiffa Home) ve kudret narı macunumsu şekilde kapsül formunda (Bilge Aktar) temin edildi.

Üzüm çekirdeği, biberiye ve ginkgo biloba kapsüllerinin içindeki tozlar MeOH:su (80:20, v/v), üzüm kapsülü ise % 1 (v/v) HCl içeren MeOH:su (80:20, v/v) çözücü karışımları ile ekstrakte edildi. Kudret narı kapsülünün macunumsu içeriği plastik bıçak ile en küçük parçalara bölündükten sonra MeOH:su (80:20, v/v) karışımı ile 65 °C'de ekstrakte edildi.

Ekstraksiyon işlemleri, toz haldeki örneklerden 0,5 g ve 1,0 g tartılıp çözücünün 10 mL'si ile 30 dk, daha sonra ikinci bir 10 mL'si ile yine 30 dk ve son olarak 5 mL çözücü ile 30 dk daha ultrasonik banyoda ağızları kapalı ve cam erlenler içinde, üç kademedede gerçekleştirildi. Bu üç ekstrakt bir araya getirilerek, önce süzgeç kağıdından daha sonra GF/PET (Glass fiber/polietilentereftalat) 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikrofiltre ile süzüldü ve hacmi aynı çözücü ile 25 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan tüm örnekler analiz aşamasına kadar -20 °C' de saklandı. Daha sonra uygun oranlarda seyreltilerek yöntemler uygulandı.

3.4.2. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Ekstraksiyonunda Uygun Çözücü Seçimi

Üzüm çekirdeği, biberiye ve kudret narı tabletlerinden elde edilen toz halindeki numunelerden 0,5 g ve ginkgo biloba tabletlerinden elde edilen toz halindeki numuneden 1,0 g tartılıp tartılıp flavonoid türü bileşenlerini ekstrakte etmek için % 50, % 70 ve % 80 (v/v) MeOH çözücüleri ile % 1 (v/v) asit içeren % 50, % 70 ve % 80 (v/v) MeOH çözücüleri kullanılarak 3.4.1'de anlatıldığı şekilde ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirildi. Bu şekilde numunelerin ekstraksiyonları için uygun çözücüler belirlendi.

Daha sonra hazırlanan ekstraktlar uygun oranlarda seyreltilerek yöntem uygulamaları için kullanıldı.

3.4.3. Hidroliz İşlemi

% 80 (v/v) MeOH ve % 1 HCl içeren ekstraktlar, son hacim içinde % 50 MeOH ve 1,2 M HCl [62] olacak şekilde ayarlandıktan sonra 80 °C'de geri soğutucu altında ısıtılarak, 4 saat süreyle, hidroliz işlemi uygulandı.

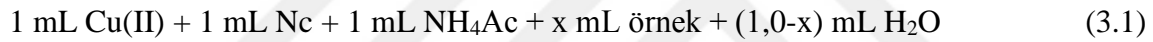
% 80 (v/v) MeOH ile hazırlanan ekstraktların hidrolizi 12,5 mL % 80 metanollü ekstrakt + 2 mL derişik HCl + 7,5 mL bidistile su içeren karışım ve % 1 (v/v) HCl içeren % 80 (v/v) asitli MeOH ile hazırlanan üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidrolizi 12,5 mL % 80 (v/v) asitli MeOH + 2 mL derişik HCl + 7,5 mL bidistile su içeren karışım kullanılarak yapıldı.

Hidrolizatlar, 1,0/0,45 μm GF/PET mikrofiltre ile süzülerek hacimleri % 80 metanol ile 25 mL'ye tamamlandı.

3.5. SPEKTROFOTOMETRİK TOPLAM ANTIOKSİDAN KAPASİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

3.5.1. CUPRAC Yöntemi

Normal CUPRAC yöntemi (CUPRAC_N); bir deney tüpü içerisine sırasıyla 1 mL $1,0 \times 10^{-2}$ M Cu(II) klorür çözeltisi, 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M Nc çözeltisi ve 1 mL 1 M NH₄Ac (pH 7) çözeltisi ilave edildi. Daha sonra reaktif karışımının üzerine x mL antioksidan standart çözeltisi veya örnek çözeltisi ve (1,0-x) mL distile su ilave edilerek toplam hacim 4,0 mL olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Vorteks yardımıyla karıştırılan tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dk bekletildi. Süre sonunda çözeltilerin absorpsanları, içinde örnek bulunmayan referans çözeltiliye karşı 450 nm'de ölçüldü [8].



V_{toplam} : 4,0 mL

İnkübasyonlu CUPRAC Yöntemi (CUPRAC_I); Normal yönteme göre hazırlanmış çözeltiler ağızları kapatılarak 50 °C'lik su banyosunda 20 dakika süreyle inkübe edildi. Süre sonunda tüpler soğuk su içinde birkaç dakika soğutuldu. Tüplerin ağızları açılıp tekrar karıştırıldıktan sonra içinde örnek bulunmayan referans çözeltiliye karşı 450 nm'deki absorpsanları ölçüldü [8].

Farklı derişimlerde TR standart çözeltilerinin derişimleri ile ölçülen absorpsan (A) değerleri arasında oluşturulan çalışma grafiğinden yararlanılarak beslenme takviyesi örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri (TAK) mmol TR/g kuru madde cinsinden hesaplandı. Bu yöntem ile kullanılan standart maddelerin hepsi için kalibrasyon grafikleri oluşturuldu ve her bir bileşik için grafiklerden belirlenen molar absorpslama katsayısının (ϵ) TR'un molar absorpslama katsayısına bölünmesi suretiyle TR eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAK) katsayıları belirlendi.

3.5.2. ABTS/Persulfat Yöntemi

Kullanıma hazır hale gelen mavi-yeşil renkli ABTS radikal çözeltisi etanolle 1:10 oranında (v/v) seyreltili. 1 mL ABTS^{•+} çözeltisi üzerine 4 mL etanol (EtOH) ilave edilip 734 nm'de 6ncı dakika sonundaki absorbans değerleri kaydedildi. Daha sonra x mL örnek üzerine 1 mL ABTS^{•+} çözeltisi ve (4-x) mL % 80 (v/v) MeOH ilave edilip aynı dalgaboyunda 6ncı dakika sonundaki absorbans değerleri ölçüldü. Radikalın absorbans değerinden örneğin bulunduğu çözeltinin absorbansı çıkarılarak ΔA değerleri elde edildi. ΔA ile TR standardının derişimi arasındaki çalışma grafiğinden yararlanılarak beslenme takviyesi örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri mmol TR/g kuru madde cinsinden hesaplandı. Bu yöntem ile standart maddelerin kalibrasyon grafikleri oluşturuldu ve herbirinin molar absorplama katsayısının TR'un molar absorplama katsayısına bölünmesi suretiyle TEAK katsayıları belirlendi.

3.5.3. Toplam Polifenol İçerik (TFİ) Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Toplam fenolik madde derişimini ölçen Folin-Ciocalteu yöntemine göre; bir deney tüpü içerisine sırasıyla x mL örnek çözeltisi, (2-x) mL distile su ve 50 mL Lowry A çözeltisine (0,1 M NaOH içinde % 2 (w/v) Na₂CO₃) 1 ml Lowry B çözeltisinin (% 1 (w/v) NaKC₄H₄O₆ içinde % 0,5 (w/v) CuSO₄ çözeltisi) ilave edilmesiyle oluşan Lowry C çözeltisinden 2,5 mL ilave edildikten 10 dakika sonra 0,25 mL, 1'e 3 oranında (v/v) su ile seyreltilen Folin reaktifi eklendi. Tüpler oda sıcaklığında ve ağızları kapalı olarak 30 dk bekletildikten sonra örnek içermeyen referansa karşı 750 nm'de absorbansları ölçüldü [26].

GA standardının derişimleri ile ölçülen absorbans değerleri arasında oluşturulan çalışma grafiğinden yararlanılarak beslenme takviyesi örneklerinin toplam polifenol içerikleri (TFİ) mmol GA/g kuru madde cinsinden hesaplandı.

3.5.4. Toplam Flavonoid Tayini (AlCl₃ /NaNO₂ Yöntemi)

Toplam flavonoid tayini için literatürde mevcut olan [27] modifiye AlCl₃/NaNO₂ yöntemi uygulanmıştır. x mL örnek çözeltisine (3,4-x) mL distile su ve 0,2 mL % 5'lik (w/v) NaNO₂ çözeltisi ilave edildi. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0,4 mL % 10'luk (w/v) AlCl₃.6H₂O çözeltisi eklendi. Yine oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra 1 mL 1 M NaOH eklendi ve hemen 510 nm dalga boyunda örnek içermeyen referansa karşı absorbans değerleri ölçüldü. Absorbans ile KAT standardının derişimi arasındaki kalibrasyon

doğrusundan yararlanılarak beslenme takviyesi örneklerinin toplam flavonoid içerikleri mmol KAT/g kuru madde cinsinden hesaplandı.

3.5.5. Kromatografik Yöntemler

ACE 5 C18 A7037 ve ACE 5 C18 5/N A61887 (5 μ m, 25 cm x 4,6 mm) kolonları ile gerçekleştirilen ters faz HPLC analizlerinde; % 0,2 Formik asit içeren bidistile su (A) ve MeOH (B) ikili çözücü sistemi ile % 0,2 *o*-H₃PO₄ içeren bidistile su (A) ve MeOH (B) ikili çözücü sistemlerinden uygun olan biri kullanılarak farklı gradient elüsyon programları kullanıldı. Kolon, enjeksiyon öncesinde, 10 dakika % 100 MeOH ile yıkandı ve başlangıç oranındaki hareketli faz ile 15 dakika dengelendi.

- *Kapsül formundaki üzüm çekirdeği ürününün bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi;*

% 0,2 Formik asit içeren bidistile su (A) ve MeOH (B) ikili çözücü sisteminden oluşan hareketli fazın gradient elüsyonu uygulandı (Tablo 3.1). Akış hızı 1 mL/dk, dedeksiyon (belirleme) dalga boyları olarak 280 ve 520 nm'dir.

Tablo 3.1: Üzüm çekirdeği kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.

Zaman (dk)	(%) A	(%) B	Eğim
0,5	93	7	0,0
0,5-5	93	7	1,0
5-15	90	10	1,0
15-20	87	13	1,0
20-25	82	18	1,0
25-40	79	21	-4,0
40-50	76	24	-4,0
50-56	73	27	-4,0
56-68	0	100	-4,0

- Kapsül formundaki biberiye ürününün bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi;

% 0,2 Formik asit içeren bidistile su (A) ve MeOH (B) ikili çözücü sisteminden oluşan hareketli fazın gradient elüsyonu uygulandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: Biberiye kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.

Zaman (dakika)	(%) A	(%) B	Eğim
0,5	80	10	0,0
0,5-3	65	35	1,0
3-13	50	50	1,0
13-28	40	60	1,0
28-38	20	80	1,0
38-53	0	100	1,0

Akış hızı 1 mL/dk, dedeksiyon (belirleme) dalga boyu 280 nm'dir.

- Kapsül formundaki macunumsu yapıda kudret narı örneği bileşenleri analizi için geliştirilen HPLC yöntemi;

% 0,2, *o*-H₃PO₄ içeren bidistile su (A) ve MeOH (B) ikili çözücü sisteminden oluşan hareketli fazın gradient elüsyonu uygulandı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Kudret narı kapsülü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.

Zaman (dakika)	(%) A	(%) B	Eğim
0,5	100	0	0,0
0,5-3	100	0	1,0
3-20	70	30	1,0
20-40	45	55	1,0
40-50	0	100	1,0

Akış hızı 0,7 mL/dk, dedeksiyon (belirleme) dalga boyu 320 nm'dir.

- Kapsül formundaki ginkgo biloba ürünü bileşenlerinin analizi için geliştirilen HPLC yöntemi;

MeOH (A) ve % 0.2 *o*-H₃PO₄ (B) ikili çözücü sisteminden oluşan hareketli fazın gradient elüsyonu uygulandı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4: Ginkgo bilabo tableti bileşenleri analizi için geliştirilen HPLC yöntemi.

Zaman (dakika)	(%) A	(%) B	Eğim
0,5-1	20	80	0,0
1-4	35	65	1,0
4-9	45	55	1,0
9-21	50	50	1,0
21-24	55	45	1,0
24-26	60	40	1,0
26-28	80	20	1,0
28-41	100	100	1,0

Akış hızı 1 mL/dk, dedeksiyon (belirleme) dalgaboyları 280 ve 340 nm'dir.

Kapsül formundaki bitkisel ürünlerin içerdiği önemli biyoaktif bileşikler HPLC analizleri ile belirlendi. Analiz sonuçları, pik alanlarıyla madde derişimleri arasında çizilen çalışma grafiklerine göre değerlendirildi.

3.5.6. Birleştirilmiş HPLC- CUPRAC ve HPLC-ABTS Yöntemleri

Çalışılan beslenme takviyesi ürünlerinin ekstraktlarında HPLC analizleri sonucu belirlenen bileşenlerin toplam antioksidan kapasiteye katkıları aşağıda verilen denklem [63-65] yardımıyla hesaplandı. HPLC ile belirlenen derişimler, bileşenlerin spektrofotometrik yöntemle belirlenmiş olan TEAK (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) katsayıları ile çarpıldı ve bulunan değerler toplanarak örneklerin teorik TAK değerleri belirlendi. HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS, HPLC yöntemi ile belirlenen bileşiklerin derişimlerinin CUPRAC ve ABTS yöntemleri ile belirlenmiş TEAK katsayıları ile çarpılmasıyla teorik TAK değerinin hesaplanmasını sağlayan yöntemleri ifade etmektedir. Hesaplanan bu kapasite değerleri hem kromatografik hem de spektrofotometrik verilere dayandığından bunları ifade ederken her iki enstrümental tekniğin sembolleri kullanılmıştır.

$$TAK = \sum_{i=1}^n C_i TEAK_i \quad (3.1)$$

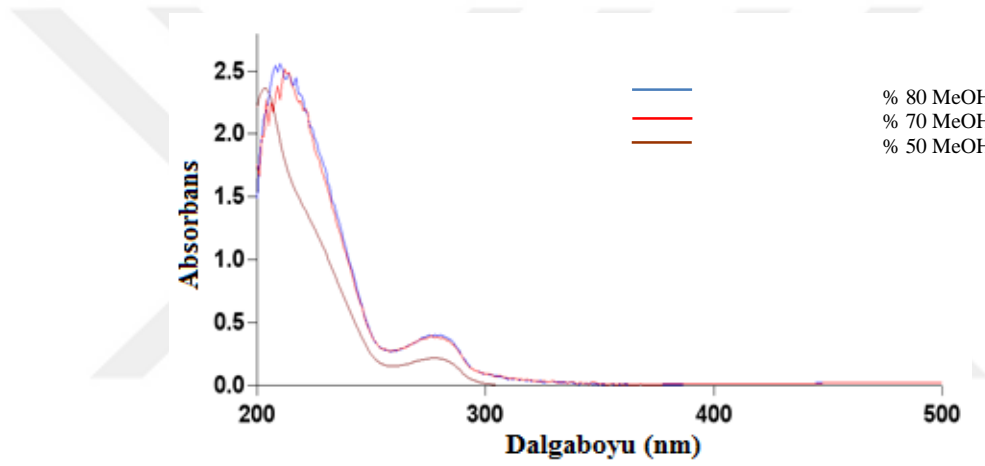
(C_i : i- bileşenin HPLC yöntemiyle belirlenen derişimini; $TEAK_i$: i- bileşenin seçilen kapasite ölçüm yöntemine göre TEAK katsayısını ifade etmektedir).

4. BULGULAR

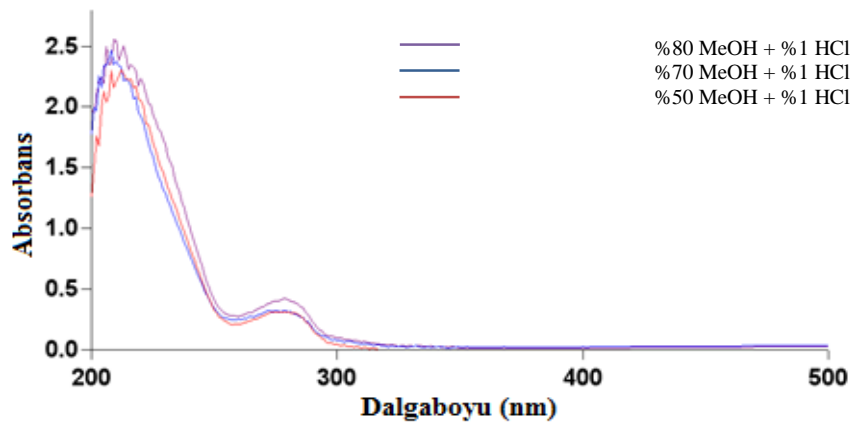
4.1. BESLENME TAKVİYESİ ÜRÜNLERİNİN EKSTRAKSİYONUNDA UYGUN ÇÖZÜCÜ SEÇİMİ

4.1.1. Üzüm Çekirdeği

Bölüm 3.4.2’de belirtildiği şekilde farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan üzüm çekirdeği ekstraktlarının 200-400 nm aralığındaki spektrumları, uygun oranlarda seyreltme yapılarak alındı ve böylece en yüksek ekstraksiyon verimi sağlayan çözücü oranı belirlendi.



Şekil 4.1: 1:100 (v/v) oranında seyreltilmiş üzüm çekirdeği ekstraktlarının spektrumları.

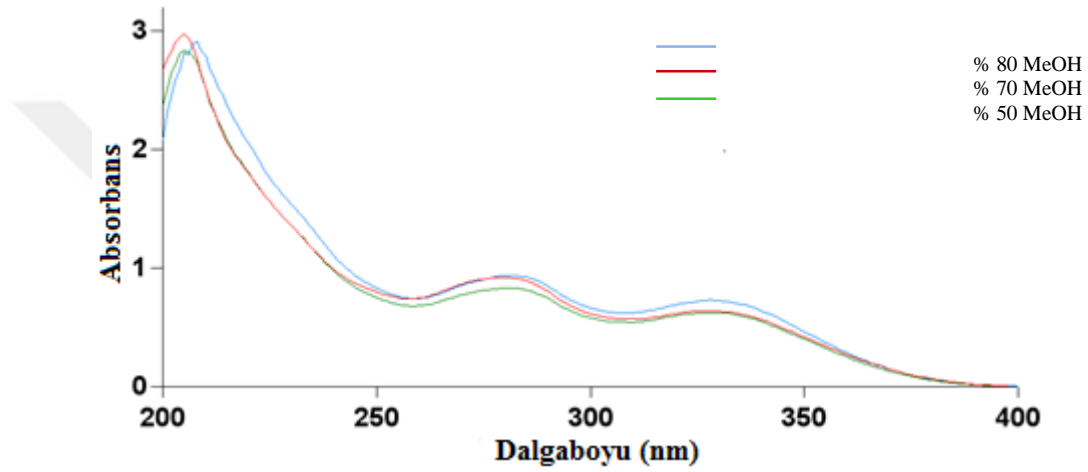


Şekil 4.2: 1:100 (v/v) oranında seyreltilmiş (% 1 HCl içeren) üzüm çekirdeği ekstraktlarının spektrumları.

Elde edilen spektrumlar değerlendirildiğinde üzüm çekirdeği ekstraksiyonu için % 80 (v/v) MeOH ve % 1 (v/v) HCl içeren çözücünün kullanılmasına karar verildi.

4.1.2. Biberiye

Bölüm 3.4.2’de belirtildiği şekilde farklı çözücüler ile hazırlanan biberiye ekstraktlarının 200-400 nm arasındaki spektrumları, uygun oranlarda seyreltme yapılarak alındı ve böylece en yüksek ekstraksiyon verimi sağlayan çözücü oranı belirlendi.

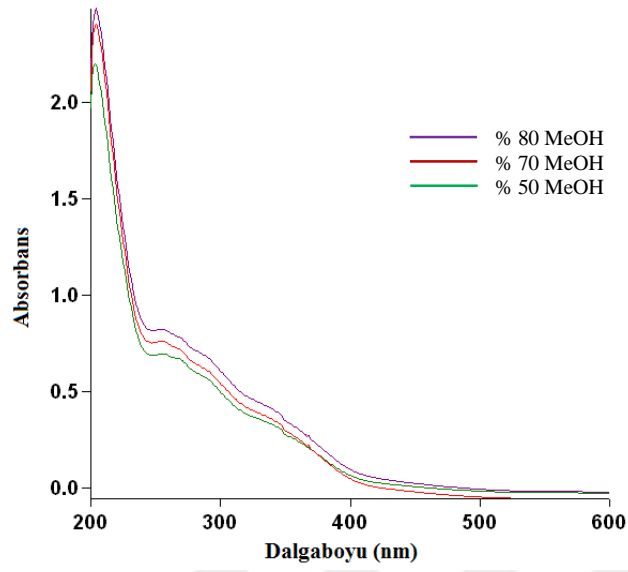


Şekil 4.3: 1:60 (v/v) oranında seyreltilmiş biberiye ekstraktlarının spektrumları.

Elde edilen spektrumlar değerlendirildiğinde biberiye ekstraksiyonu için en uygun çözücünün % 80 MeOH olduğuna karar verildi.

4.1.3. Kudret Narı

Farklı çözücüler ile bölüm 3.4.2’de belirtildiği şekilde hazırlanan kudret narı ekstraktları uygun oranlarda seyreltilerek 200-400 nm aralığında spektrumları alındı ve böylece en yüksek ekstraksiyon verimi sağlayan çözücü oranı belirlendi.

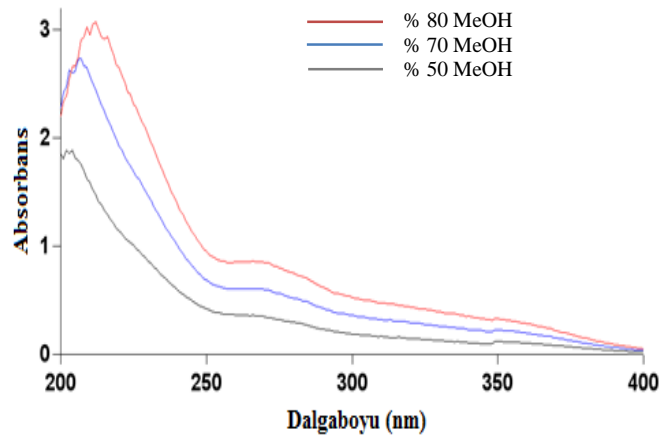


Şekil 4.4: 1:50 (v/v) oranında seyreltilmiş kudret narı ekstraktlarının spektrumları.

Elde edilen spektrumlar değerlendirildiğinde kudret narı ekstraksiyonu için en uygun çözücünün % 80 (v/v) MeOH olduğu belirlendi.

4.1.4. Ginkgo Biloba

Bölüm 3.4.2’de belirtildiği şekilde farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ginkgo biloba ekstraktları uygun oranlarda seyreltilerek 200-400 nm aralığında spektrumları alındı ve böylece en yüksek ekstraksiyon verimi sağlayan çözücü oranı belirlendi.



Şekil 4.5: 1:50 (v/v) oranında seyreltilmiş ginkgo biloba ekstraktlarının spektrumları.

Elde edilen spektrumlar değerlendirildiğinde ginkgo biloba ekstraksiyonu için en uygun çözücünün % 80 (v/v) MeOH olduğuna karar verildi.

4.2. SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERİN UYGULANMASI

İlk olarak uygulanan spektrofotometrik yöntemler (CUPRAC, ABTS/TEAK, Folin-Ciocalteu ve $\text{AlCl}_3/\text{NaNO}_2$) sonucunda elde edilen bulgular TR, GA ve KAT eşdeğeri olarak verileceğinden ilgili standartların uygulanan yöntemler ile çalışma grafikleri oluşturuldu ve molar absorplama katsayıları belirlendi. Elde edilen değerler Tablo 4.1’de görülmektedir.

Tablo 4.1: Referans standart maddelerin molar absorplama katsayıları.

Spektrofotometrik Yöntem	Standart madde	Molar Absorplama Katsayısı (L/mol.cm)
CUPRAC _N	TR	$1,67 \times 10^4$
CUPRAC _I	TR	$1,86 \times 10^4$
ABTS/TEAK	TR	$2,60 \times 10^4$
Folin-Ciocalteu	GA	$6,10 \times 10^3$
$\text{AlCl}_3/\text{NaNO}_2$	KAT	$1,10 \times 10^4$

4.2.1. CUPRAC ve ABTS/TEAK Yöntemlerinin Fenolik Bileşiklere Uygulanması

Literatür verilerine göre, çalışılan beslenme takviyelerinden üzüm çekirdeği kapsülünde; KAT, EKAT, GA, flavon, prosiyanidin B2, resveratrol ve siyanidin, biberiyede; KA, RA, COH ve CA), kudret narında; RT, KUE, KA ve KLA ve ginkgo bilobada; KA, RT, LUT, KAM, APG ve KUE bileşiklerinin bulunabildiği bilindiğinden bu maddelerin standartları kullanılarak, CUPRAC (normal ve inkübasyonlu) ve ABTS yöntemleriyle çalışma grafikleri oluşturuldu, doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusal çalışma aralıkları belirlendi (Tablo 4.2, 4.3 ve 4.4).

Tablolarda verilen doğru denklemlerinde y: pik alanı, c: derişim ve r: korelasyon katsayısını ifade etmektedir.

Tablo 4.2: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının normal CUPRAC yöntemi ile belirlenen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusallık aralıkları.

Fenolik bileşik	Doğru Denklemi	Korelasyon Katsayısı (r)	Doğrusal Aralık (mol/L)
Kateşin	$y = 5,22 \times 10^4 c + 0,007$	0,9998	$2,43 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Epikateşin	$y = 4,63 \times 10^4 c - 0,097$	0,9967	$1,51 \times 10^{-7} - 2,80 \times 10^{-5}$
Gallik Asit	$y = 4,96 \times 10^4 c + 0,019$	0,9995	$2,43 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Flavon	$y = 0,56 \times 10^4 c + 0,006$	0,9983	$4,87 \times 10^{-4} - 2,43 \times 10^{-3}$
Prosiyanidin B2	$y = 12,90 \times 10^4 c + 0,021$	0,9995	$8,29 \times 10^{-7} - 4,15 \times 10^{-6}$
Resveratrol	$y = 2,17 \times 10^4 c + 0,023$	0,9916	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Siyanidin	$y = 1,74 \times 10^4 c + 0,033$	0,9953	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Kafeik asit	$y = 5,01 \times 10^4 c + 0,080$	0,9963	$3,25 \times 10^{-6} - 1,62 \times 10^{-5}$
Rozmarinik Asit	$y = 9,02 \times 10^4 c + 0,016$	0,9988	$1,20 \times 10^{-6} - 6,10 \times 10^{-6}$
Karnosol	$y = 2,46 \times 10^4 c + 0,019$	0,9998	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Karnosik Asit	$y = 3,61 \times 10^4 c - 0,045$	0,9941	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Kuersetin	$y = 7,50 \times 10^4 c + 0,012$	0,9996	$1,22 \times 10^{-6} - 1,10 \times 10^{-5}$
Rutin	$y = 5,00 \times 10^4 c + 0,026$	0,9927	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Klorojenik Asit	$y = 5,10 \times 10^4 c + 0,001$	0,9998	$2,44 \times 10^{-6} - 1,70 \times 10^{-5}$
Apigenin	$y = 4,22 \times 10^3 c + 0,021$	0,9842	$1,83 \times 10^{-5} - 6,70 \times 10^{-5}$
Luteolin	$y = 4,72 \times 10^4 c + 0,017$	0,9989	$2,44 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Kamferol	$y = 3,34 \times 10^4 c + 0,003$	0,9928	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$

Tablo 4.3: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının inkübasyonlu CUPRAC yöntemi ile belirlenen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusallık aralıkları.

Fenolik bileşik	Doğru Denklemi	Korelasyon Katsayısı (r)	Doğrusal Aralık (mol/L)
Kateşin	$y = 5,99 \times 10^4 c + 0,022$	0,9995	$2,43 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Epikateşin	$y = 5,37 \times 10^4 c - 0,062$	0,9984	$1,86 \times 10^{-7} - 2,35 \times 10^{-5}$
Gallik Asit	$y = 5,47 \times 10^4 c + 0,015$	0,9999	$2,43 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Flavon	$y = 0,22 \times 10^3 c + 0,078$	0,9975	$4,87 \times 10^{-4} - 2,43 \times 10^{-3}$
Prosiyanidin B2	$y = 15,8 \times 10^4 c + 0,122$	0,9989	$8,29 \times 10^{-7} - 4,15 \times 10^{-6}$
Resveratrol	$y = 3,70 \times 10^4 c + 0,088$	0,9974	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Siyanidin Klorür	$y = 1,90 \times 10^4 c + 0,157$	0,9961	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Kafeik asit	$y = 5,80 \times 10^4 c + 0,054$	0,9905	$3,25 \times 10^{-6} - 1,62 \times 10^{-5}$
Rozmarinik Asit	$y = 1,13 \times 10^5 c + 0,017$	0,9987	$1,20 \times 10^{-6} - 6,10 \times 10^{-6}$
Karnosol	$y = 3,14 \times 10^4 c - 0,011$	0,9899	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Karnosik Asit	$y = 3,74 \times 10^4 c + 0,049$	0,9921	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Kuersetin	$y = 9,70 \times 10^4 c + 0,002$	0,9992	$1,22 \times 10^{-6} - 9,76 \times 10^{-5}$
Rutin	$y = 6,28 \times 10^4 c + 0,014$	0,9904	$4,88 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$
Klorojenik Asit	$y = 6,00 \times 10^4 c + 0,030$	0,9993	$4,88 \times 10^{-6} - 1,71 \times 10^{-5}$
Apigenin	$y = 1,50 \times 10^4 c + 0,034$	0,9910	$1,83 \times 10^{-5} - 6,70 \times 10^{-5}$
Luteolin	$y = 6,00 \times 10^4 c + 0,022$	0,9943	$2,44 \times 10^{-6} - 1,22 \times 10^{-5}$
Kamferol	$y = 4,30 \times 10^4 c + 0,023$	0,9951	$4,90 \times 10^{-6} - 2,44 \times 10^{-5}$

Tablo 4.4: Çeşitli fenolik bileşik standartlarının ABTS/Persülfat yöntemi ile belirlenen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusallık aralıkları.

Fenolik bileşik	Doğru Denklemi	Korelasyon Katsayısı (r)	Doğrusal Aralık (mol/L)
Kateşin	$y = 8,16 \times 10^4 c + 0,020$	0,9997	$8,50 \times 10^{-7} - 3,50 \times 10^{-6}$
Epikateşin	$y = 6,90 \times 10^4 c + 0,032$	0,9998	$1,86 \times 10^{-7} - 2,35 \times 10^{-5}$
Gallik Asit	$y = 1,00 \times 10^5 c - 0,077$	0,9999	$2,50 \times 10^{-6} x - 1,00 \times 10^{-5}$
Flavon	$y = 0,14 \times 10^4 c + 0,027$	0,9406	$1,33 \times 10^{-5} - 5,33 \times 10^{-5}$
Prosiyanidin B2	$y = 14,2 \times 10^4 c - 0,021$	0,9869	$1,13 \times 10^{-6} - 4,53 \times 10^{-6}$
Resveratrol	$y = 9,44 \times 10^4 c + 0,477$	0,9913	$6,66 \times 10^{-7} - 2,66 \times 10^{-6}$
Siyanidin Klorür	$y = 3,07 \times 10^4 c + 0,068$	0,9637	$2,00 \times 10^{-6} - 8,00 \times 10^{-6}$
Kafeik asit	$y = 3,61 \times 10^4 c + 0,064$	0,9984	$2,20 \times 10^{-6} - 7,90 \times 10^{-6}$
Rozmarinik Asit	$y = 14,7 \times 10^4 c + 0,136$	0,9914	$8,30 \times 10^{-7} - 3,30 \times 10^{-6}$
Karnosol	$y = 6,01 \times 10^4 c - 0,016$	0,9767	$1,33 \times 10^{-6} - 5,33 \times 10^{-6}$
Karnosik Asit	$y = 2,83 \times 10^4 c + 0,031$	0,9605	$1,33 \times 10^{-6} - 5,33 \times 10^{-6}$
Kuersetin	$y = 1,10 \times 10^5 c + 0,018$	0,9994	$1,50 \times 10^{-6} - 7,50 \times 10^{-6}$
Rutin	$y = 8,20 \times 10^4 c + 0,025$	0,9998	$1,67 \times 10^{-6} - 8,33 \times 10^{-5}$
Klorojenik Asit	$y = 3,50 \times 10^4 c - 0,018$	0,9994	$4,80 \times 10^{-6} - 1,20 \times 10^{-5}$
Apigenin	$y = 1,69 \times 10^4 c - 0,019$	0,9860	$1,00 \times 10^{-5} - 5,00 \times 10^{-5}$
Luteolin	$y = 4,10 \times 10^4 c + 0,029$	0,9938	$6,66 \times 10^{-7} - 2,66 \times 10^{-6}$
Kamferol	$y = 2,90 \times 10^4 c + 0,037$	0,9190	$6,66 \times 10^{-7} - 2,66 \times 10^{-6}$

TEAK (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) katsayıları her bir fenolik bileşiğin molar absorblama katsayıları (ϵ_{FB}) aynı deneysel şartlarda referans bileşik olan TR'un aynı çözücü ortamında elde edilen molar absorblama katsayısı (ϵ_{TR}) değerine oranlanarak hesaplandı (Eşitlik 4.1).

$$\text{TEAK Katsayısı} = \frac{\epsilon_{FM}}{\epsilon_{TR}} \quad (4.1)$$

Elde edilen TEAK katsayıları Tablo 4.5'de görülmektedir.

Tablo 4.5: Fenolik bileşik standartlarının CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle hesaplanmış TEAK katsayıları.

Fenolik bileşik	TEAK _{CUPRAC}		TEAK _{ABTS} ^c
	TEAK _N ^a	TEAK _I ^b	
Kateşin	3,13	3,22	3,14
Epikateşin	2,77	2,89	2,65
Gallik Asit	2,97	2,94	3,84
Flavon	0,34	0,02	0,05
Prosiyanidin B2	7,72	8,50	5,45
Resveratrol	1,30	1,99	3,63
Siyanidin Klorür	1,04	1,02	1,18
Kafeik Asit	3,00	3,12	1,39
Rozmarinik Asit	5,40	6,08	5,65
Karnosol	1,47	1,69	2,31
Karnosik Asit	2,16	2,01	1,09
Kuersetin	4,49	5,22	4,23
Rutin	2,99	3,38	3,15
Klorojenik Asit	3,05	3,23	1,35
Apigenin	0,25	0,81	0,65
Luteolin	2,83	3,23	1,58
Kamferol	2,00	2,31	1,12

^a $\epsilon_{TR} = 1,67 \times 10^4 \text{ L/mol.cm}$ ^b $\epsilon_{TR} = 1,86 \times 10^4 \text{ L/mol.cm}$ ^c $\epsilon_{TR} = 2,60 \times 10^4 \text{ L/mol.cm}$

4.2.2. Beslenme Takviyesi Ürünlerine CUPRAC ve ABTS/TEAK Yöntemlerinin Uygulanması

Tablo 4.6’da çalışılan beslenme takviyesi ürünlerinin CUPRAC ve ABTS/TEAK yöntemleri ile eşitlik 4.2 kullanılarak TR eşdeğeri cinsinden hesaplanmış TAK değerleri görülmektedir.

$$\text{TAK} = \frac{\text{Absorbans}}{\epsilon_{TR}} \times \frac{\text{Toplam hacim (mL)}}{\text{Örnek hacmi (mL)}} \times \frac{\text{Seyreltme}}{\text{faktörü}} \times \frac{\text{Toplam ekstrakt hacmi (mL)}}{\text{Örnek miktarı (g)}} \quad (4.2)$$

Tablo 4.6: Beslenme takviyesi ürünlerinin CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle belirlenen TAK (mmol TR/g örnek) değerleri.

Beslenme Takviyesi Ürünü Ekstraktları	TAK (mmol TR/g örnek) ^a		
	CUPRAC _N	CUPRAC _I	ABTS
Üzüm çekirdeği ekstraktı	0,91±0,07	1,15±0,11	0,72±0,17
Üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizati	0,42±0,03	0,47±0,04	0,30±0,03
Asitli üzüm çekirdeği ekstraktı	1,24±0,05	1,58±0,04	0,71±0,21
Asitli üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizati	0,57±0,03	0,64±0,03	0,33±0,02
Biberiye ekstraktı	0,79±0,05	1,29±0,37	0,41±0,09
Biberiye ekstrakt hidrolizati	0,18±0,03	0,22±0,05	0,12±0,07
Kudret narı ekstraktı	0,08±5,63x10 ⁻³	0,15±7,63x10 ⁻³	0,11±0,05
Kudret narı ekstrakt hidrolizati	0,07±0,01	0,11±0,031	0,07±0,01
Ginkgo biloba ekstraktı	0,12 ± 7,95x10 ⁻³	0,32 ± 0,02	0,14 ± 0,02
Ginkgo biloba ekstrakt hidrolizati	0,05± 2,22x10 ⁻³	0,06 ± 6,36x10 ⁻³	0,07 ± 0,06

^aSonuçlar, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.2.3. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Tablo 4.7’de beslenme takviyesi ürünlerinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile eşitlik 4.3 kullanılarak hesaplanmış gallik asit eşdeğeri (mmol GA/g örnek) cinsinden toplam fenolik madde içerikleri (TFİ) görülmektedir.

$$TFİ_{\text{mmol/g}} = \frac{\text{Absorbans}}{\epsilon_{\text{GA}}} \times \frac{\text{Toplam Hacim}}{\text{Alınan Örnek Hacmi}} \times \text{Seyreltme Faktörü} \times \frac{\text{Toplam Ekstrakt Hacmi (mL)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (4.3)$$

Tablo 4.7: Beslenme takviyesi ürünlerinin toplam fenolik madde içerikleri (mmol GA/g örnek).

Beslenme Takviyesi Ürünü Ekstraktları	TFİ (mmol GA/g örnek) ^a
Üzüm çekirdeği ekstraktı	1,71±0,47
Üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizatı	0,74±0,15
Asitli üzüm çekirdeği ekstraktı	2,04±0,43
Asitli üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizatı	0,76±0,22
Biberiye ekstraktı	0,55±0,13
Biberiye ekstrakt hidrolizatı	0,16±0,04
Kudret narı ekstraktı	0,24±0,03
Kudret narı ekstrakt hidrolizatı	015±0,04
Ginkgo biloba ekstraktı	0,40 ± 0,16
Ginkgo biloba ekstrakt hidrolizatı	0,16 ± 0,04

^aSonuçlar; ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.2.4. Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Toplam Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi (AlCl₃/NaNO₂ Yöntemi)

Tablo 4.8’de beslenme takviyesi ürünlerinin AlCl₃/NaNO₂ yöntemi ile eşitlik 4.4 kullanılarak kateşin (KAT) eşdeğeri cinsinden hesaplanmış toplam flavonoid madde içerikleri (TFdİ) görülmektedir.

$$TFdİ_{\text{mmol/g}} = \frac{\text{Absorbans} \pm \text{kayım}}{\epsilon_{\text{KAT}}} \times \frac{\text{Toplam Hacim}}{\text{Alınan Örnek Hacmi}} \times \text{Seyreltme Faktörü} \times \frac{\text{Toplam Ekstrakt Hacmi (mL)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (4.4)$$

Tablo 4.8: Beslenme takviyesi ürünlerinin toplam flavonoid içerikleri (mmol KAT/g örnek)^a.

Beslenme Takviyesi Ürünü Ekstraktları	TFdİ (mmol KAT/g örnek)
Biberiye ekstraktı	0,13±0,01
Biberiye ekstrakt hidrolizatu	0,03±1,52x10 ⁻³
Kudret narı ekstraktı	0,01±6,09x10 ⁻⁴
Kudret narı ekstrakt hidrolizatu	0,005±2,57x10 ⁻⁴
Ginkgo biloba ekstraktı	0,03 ± 4,77x10 ⁻³
Ginkgo biloba ekstrakt hidrolizatu	0,006 ± 8,11x10 ⁻³

^aSonuçlar; ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Beslenme takviyelerinden üzüm çekirdeği tabletlerinin AlCl₃/NaNO₂ yöntemi ile toplam flavonoid içerikleri çökeltili oluşumundan dolayı görülememektedir.

4.3. KROMATOĞRAFİK ANALİZ SONUÇLARI

4.3.1. HPLC Yönteminin Antioksidan Standartlarına Uygulanması

Tablo 4.9'da, çalışılan ürünlerde bulunması muhtemel fenolik bileşikler görülmektedir. Söz konusu polifenolik bileşik standartlarının HPLC'de geliştirilen yöntemlerle elde edilen pik alanları (dedeksiyon dalgaboylarındaki) ile derişim arasında oluşturulan çalışma grafiklerinden belirlenmiş olan doğru denklemleri, korelasyon katsayıları, ve doğrusal aralıkları Tablo 4.10'da görülmektedir.

Tablo 4.9: Literatür bilgilerine göre çalışılan ürünlerde bulunması muhtemel fenolik bileşikler.

Örnek	Fenolik bileşik	Örnek	Fenolik bileşik
ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ	Kateşin	KUDRET NARI	Kafeik asit
	Epikateşin		Kuersetin
	Gallik Asit		Rutin
	Flavon		Klorojenik Asit
	Prosiyanidin B2	GİNGKO BİLİBO	Apigenin
	Resveratrol		Luteolin
BİBERİYE	Siyanidin	Kamferol	
	Kafeik asit	Rutin	
	Rozmarinik Asit	Kafeik asit	
	Karnosol	Kuersetin	
	Karnosik Asit		

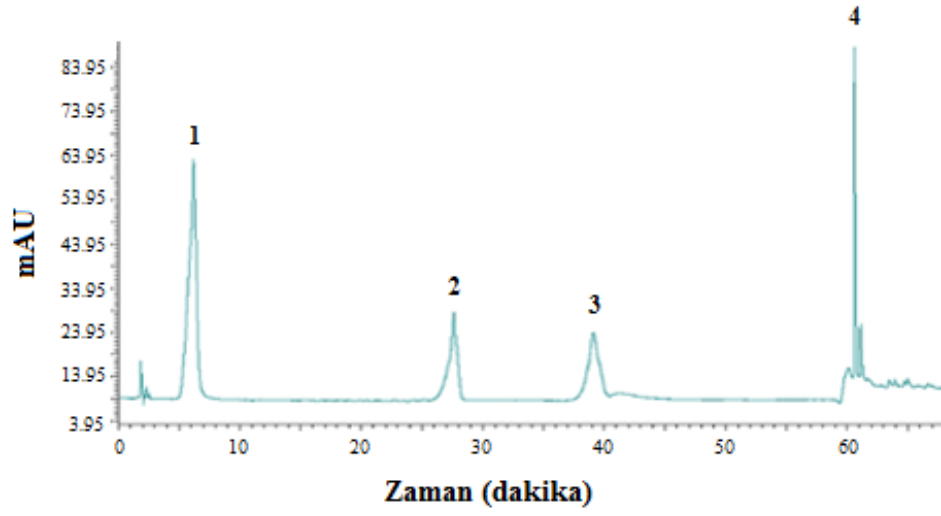
Tablo 4.10: Bazı fenolik bileşiklerin HPLC ile elde edilen doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ve doğrusal aralıkları.

Antioksidan	Dalgaboyu (nm)	Doğru Denklemi	(r)	Doğrusal Aralık (mol/L)
Kateşin	280	$y = 4,0 \times 10^8 c + 2673,7$	0,9945	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Epikateşin	280	$y = 9,0 \times 10^7 c + 564,07$	0,9987	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Gallik Asit	280	$y = 6,8 \times 10^9 c - 30032$	0,9684	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Flavon	280	$y = 7,4 \times 10^9 c + 15669$	0,9984	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Prosiyanidin B2	280	$y = 5,0 \times 10^8 c + 398,30$	0,9898	$2,60 \times 10^{-5} - 3,46 \times 10^{-4}$
Resveratrol	280	$y = 8,2 \times 10^9 c - 4990,4$	0,9765	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Siyanidin Klorür	520	$y = 8,0 \times 10^9 c - 40416$	0,9413	$1,55 \times 10^{-5} - 1,55 \times 10^{-4}$
Kafeik asit	280	$y = 9,0 \times 10^8 c + 51181$	0,9728	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Rozmarinik Asit	280	$y = 9,2 \times 10^8 c + 3977,8$	0,9992	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Karnosol	280	$y = 3,2 \times 10^8 c - 2773,4$	0,9928	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Karnosik Asit	280	$y = 1,4 \times 10^8 c - 2184,4$	0,9824	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Kuersetin	320	$y = 5,2 \times 10^9 c + 11103$	0,9995	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Rutin	320	$y = 7,0 \times 10^9 c - 32435$	0,9958	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Klorojenik Asit	320	$y = 6,0 \times 10^9 c + 38961$	0,9986	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Apigenin	340	$y = 6,4 \times 10^9 c - 21453$	0,9749	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Luteolin	340	$y = 6,0 \times 10^9 c - 12803$	0,9844	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$
Kamferol	340	$y = 7,2 \times 10^8 c + 21411$	0,9830	$1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-4}$

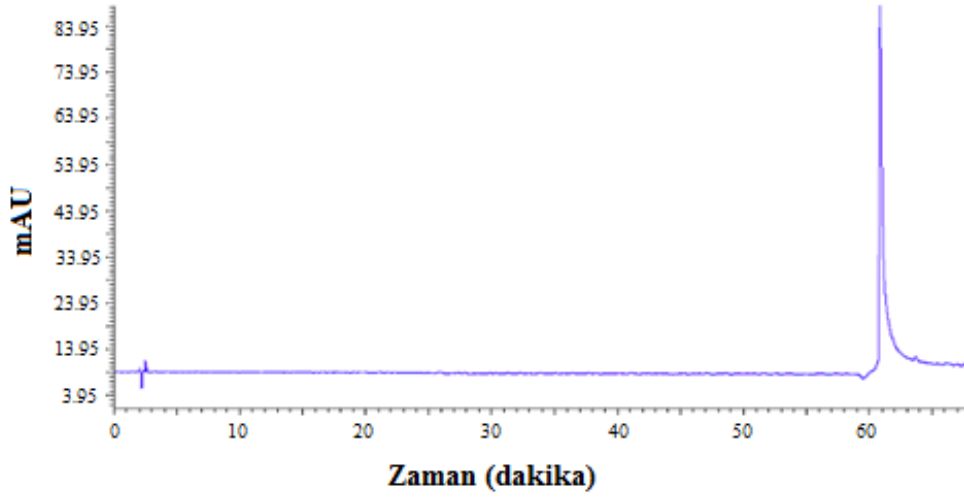
Tablo 4.10'da verilen doğru denklemlerinde y: pik alanı, c: derişim ve r: korelasyon katsayısını ifade etmektedir.

4.3.1.1. Üzüm Çekirdeği Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartlarının Kromatogramları

Şekil 4.6-4.9'da üzüm çekirdeği tabletlerinde bulunması muhtemel antioksidan standartlarının HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları görülmektedir.



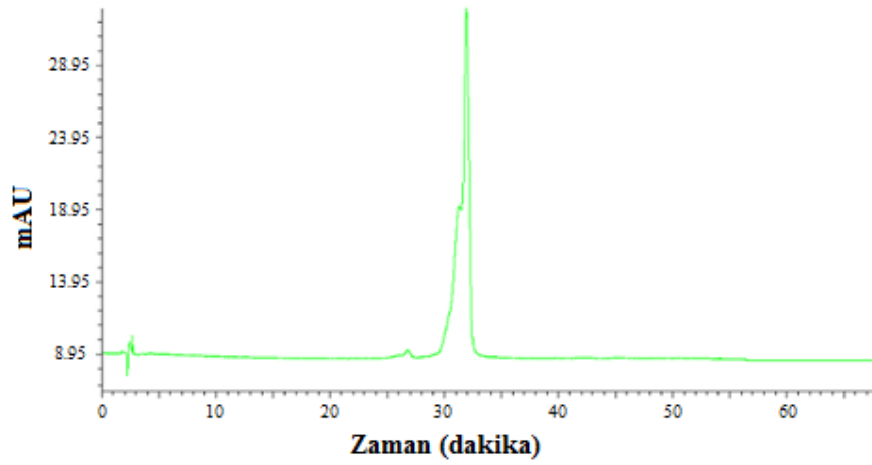
Şekil 4.6: Standartların kromatogramı. 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Epikateşin, 4: Resveratrol (λ : 280 nm).



Şekil 4.7: Siyanidin klorür standardının kromatogramı (λ : 520 nm).



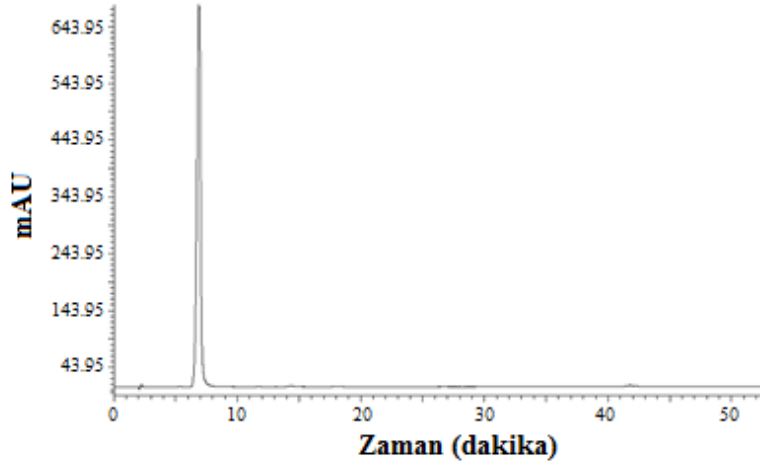
Şekil 4.8: Flavon standardının kromatogramı (λ : 280 nm).



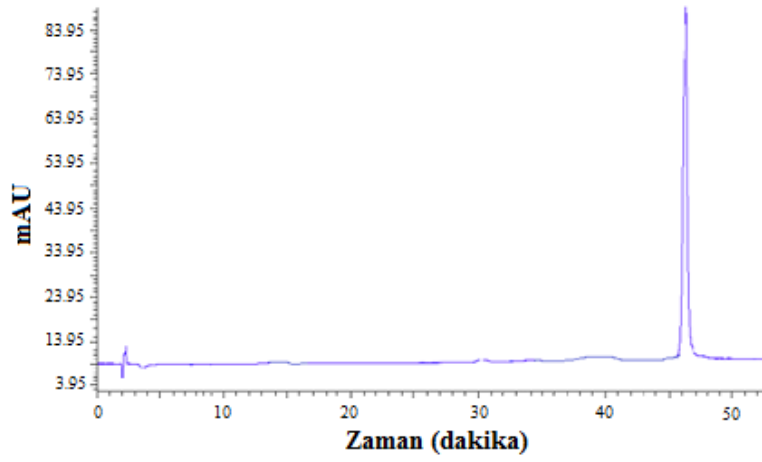
Şekil 4.9: Prosiyanidin B2 standardının kromatogramı (λ : 280 nm).

4.3.1.2. Biberiye Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları

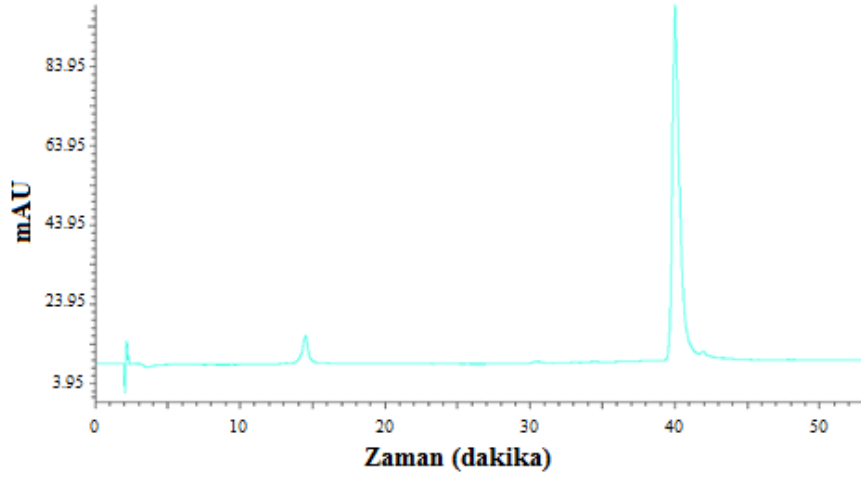
Şekil 4.10-4.13'de biberiye tabletlerinde bulunması muhtemel antioksidan standartlarının HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları görülmektedir.



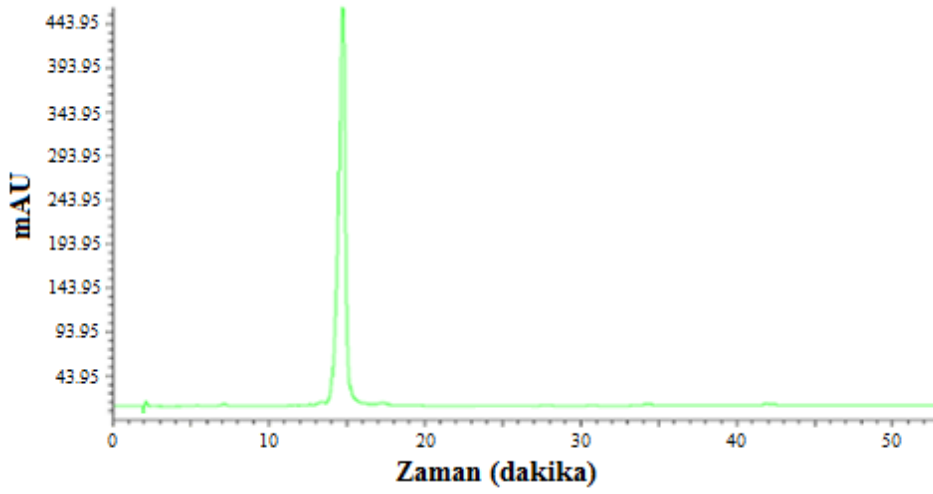
Şekil 4.10: Kafeik asit standardının kromatogramı (λ : 280 nm).



Şekil 4.11: Karnosik asit standardının kromatogramı (λ :280 nm).



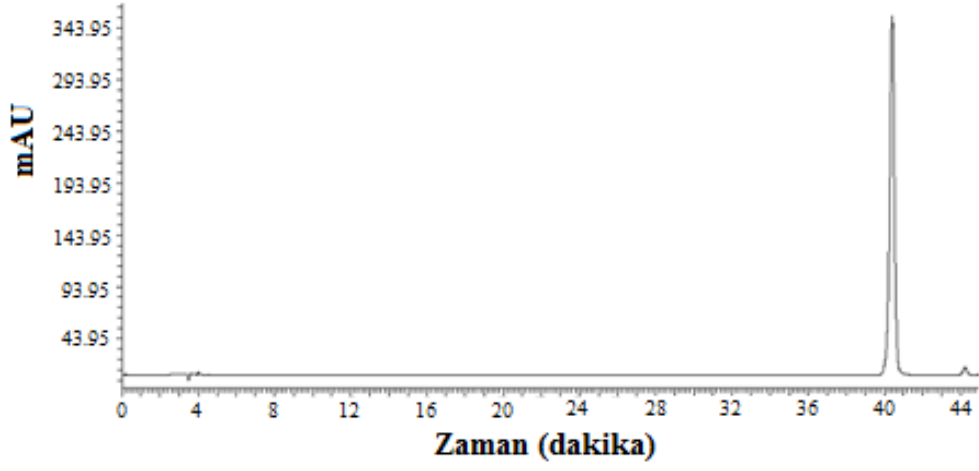
Şekil 4.12: Karnosol standardının kromatogramı (λ : 280 nm).



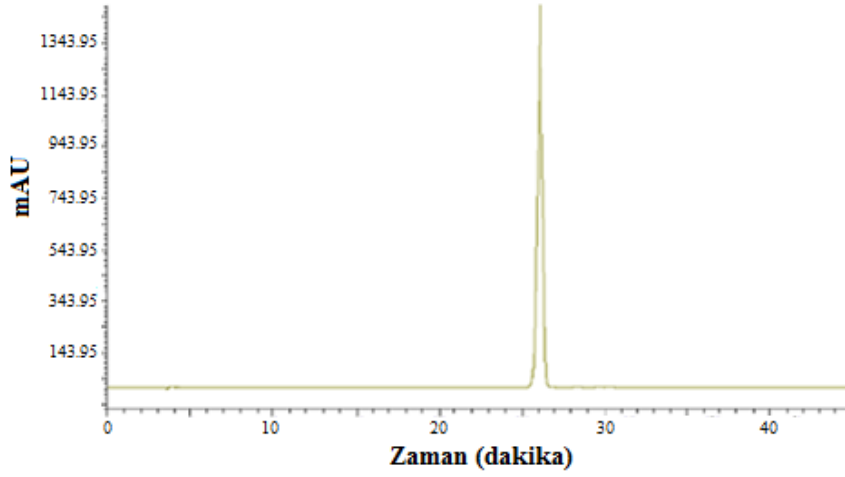
Şekil 4.13: Rozmarinik asit standardının kromatogramı (λ : 280 nm).

4.3.1.3. Kudret Narı Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları

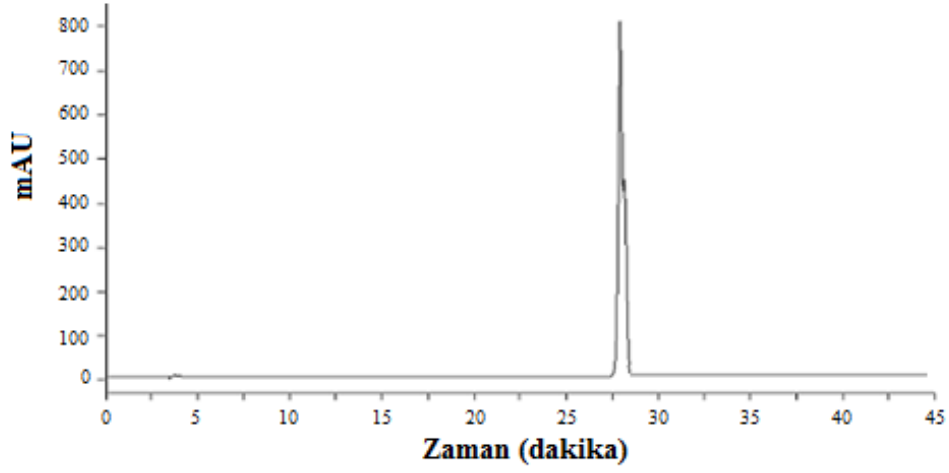
Şekil 4.14-4.16'da kudret narı tabletlerinde bulunması muhtemel antioksidan standartlarının HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları görülmektedir.



Şekil 4.14: Rutin standardının kromatogramı (λ : 320 nm).



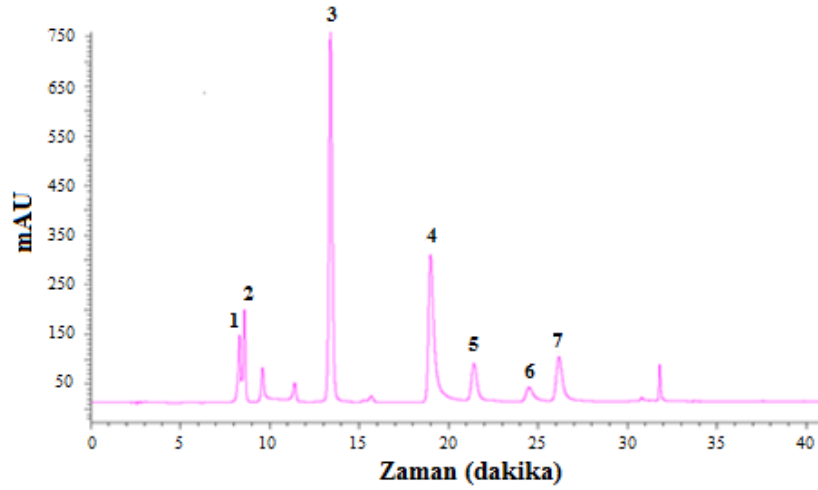
Şekil 4.15: Klorojenik asit standardının kromatogramı (λ : 320 nm).



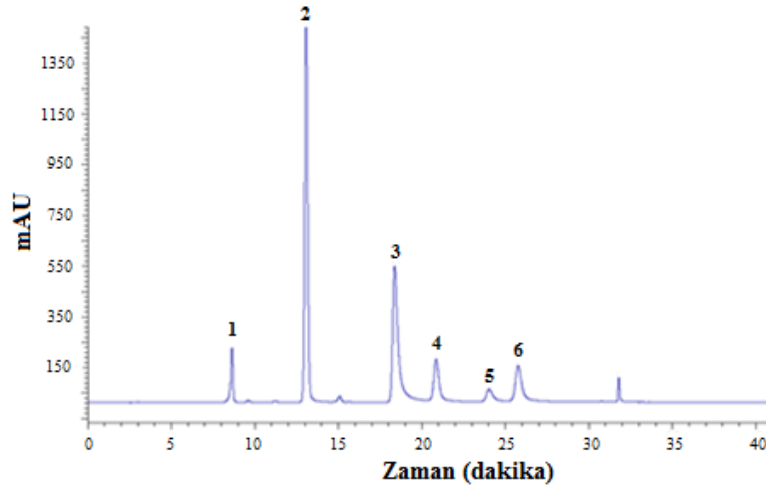
Şekil 4.16: Kafeik asit standardının kromatogramı (λ : 320 nm).

4.3.1.4. Ginkgo Biloba Tabletlerinde Bulunması Muhtemel Standartların Kromatogramları

Şekil 4.17-4.18'de ginkgo biloba tabletlerinde bulunması muhtemel antioksidan standartlarının HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları görülmektedir.



Şekil 4.17: Standart maddelerin 280 nm'deki kromatogramı. 1: Vanilik asit, 2: Kafeik asit, 3: Rutin, 4: Kuersetin, 5: Luteolin, 6: Kamferol, 7: Apigenin.



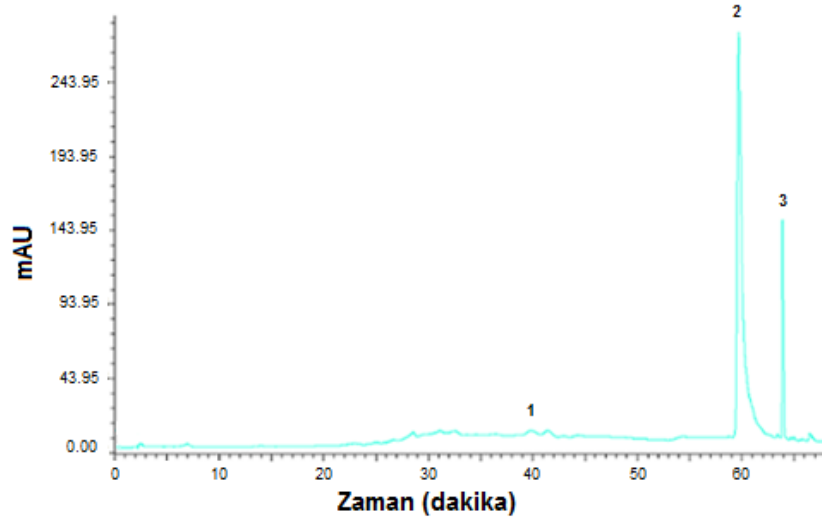
Şekil 4.18: Standart maddelerin 340 nm'deki kromatogramı. 1: Kafeik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin, 4: Luteolin, 5: Kamferol, 6: Apigenin.

4.3.2. Çalışılan Beslenme Takviyesi Ürünlerinin Kromatografik Analizleri

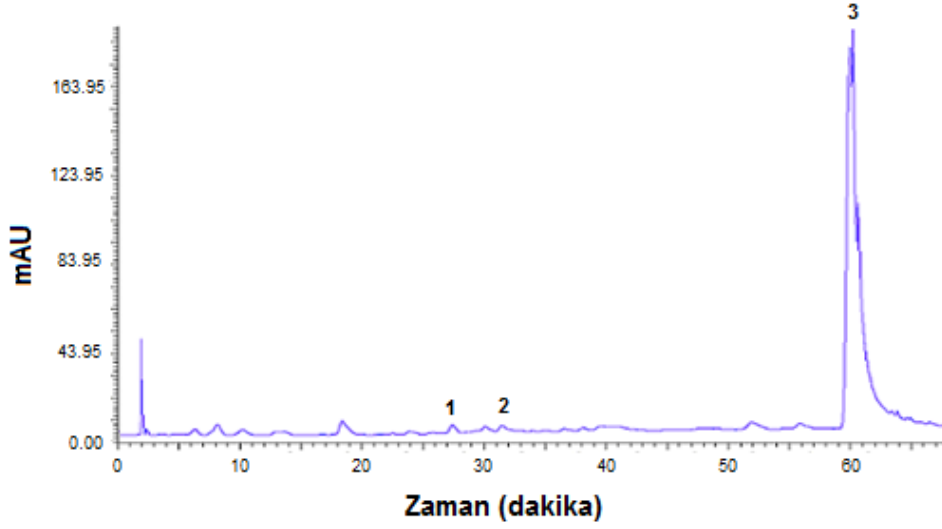
Beslenme takviyelerinin kromatografik analizinde bileşenler uygun oranda seyreltilen ekstraksiyon çözeltilerine yapılan standart eklemeler ile belirlendi.

4.3.2.1. Üzüm Çekirdeği Tabletlerinin Kromatografik Analizi

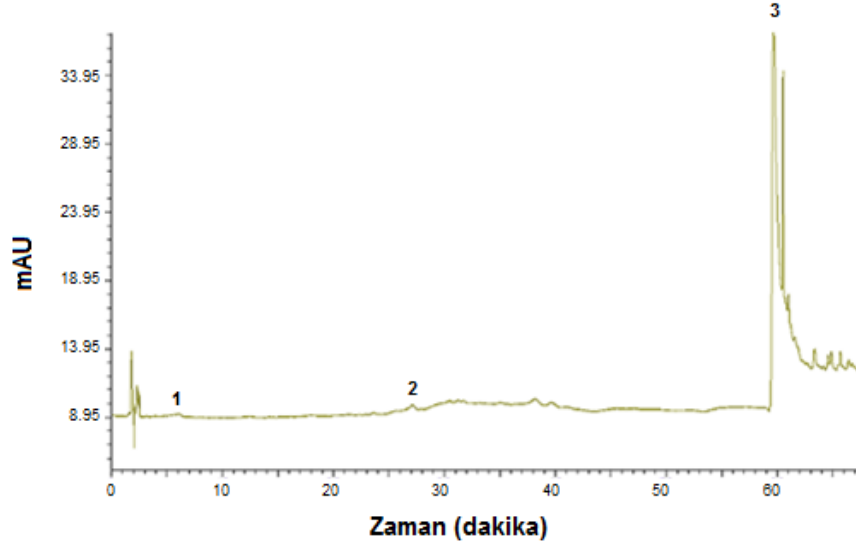
Üzüm çekirdeği tableti iki farklı çözeltide ekstrakte edilerek HPLC'ye verildi. 280 nm'de metanollü ekstraktında epikateşin, resveratrol ve flavon; hidrolizatında ise kateşin, prosiyanidin B2 ve resveratrol belirlendi. Asitli metanol ekstraktında ve hidrolizatında 280 nm'de kateşin, gallik asit ve resveratrol; 520 nm'de siyanidin klorür standartı tespit edildi.



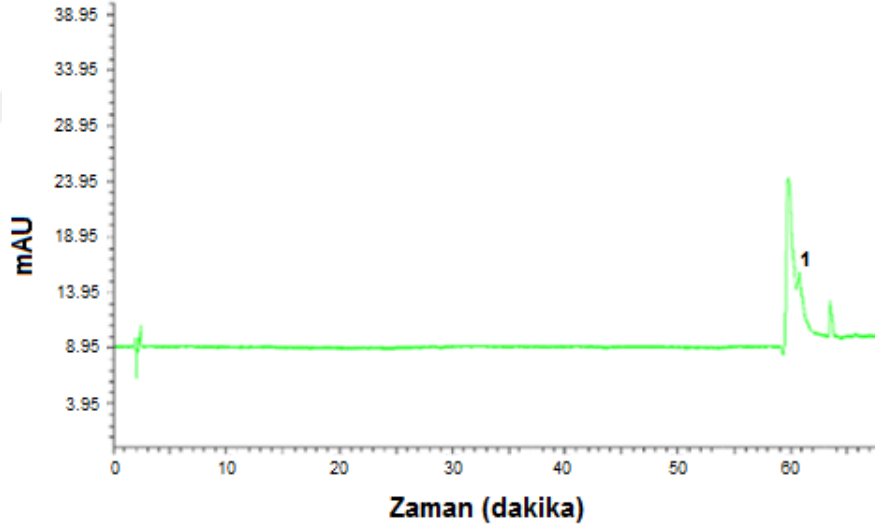
Şekil 4.19: Üzüm çekirdeği tableti metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Epikateşin, 2: Resveratrol, 3: Flavon (λ : 280 nm).



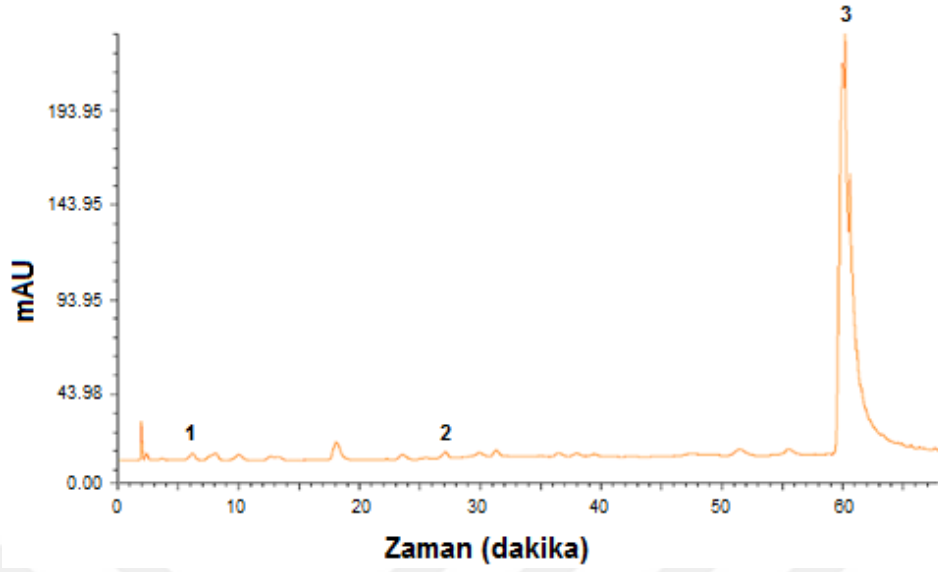
Şekil 4.20: Üzüm çekirdeği tabletinin metanollü (% 80 MeOH) hidrolizatının kromatogramı; 1: Kateşin, 2: Prosiyanidin B2, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).



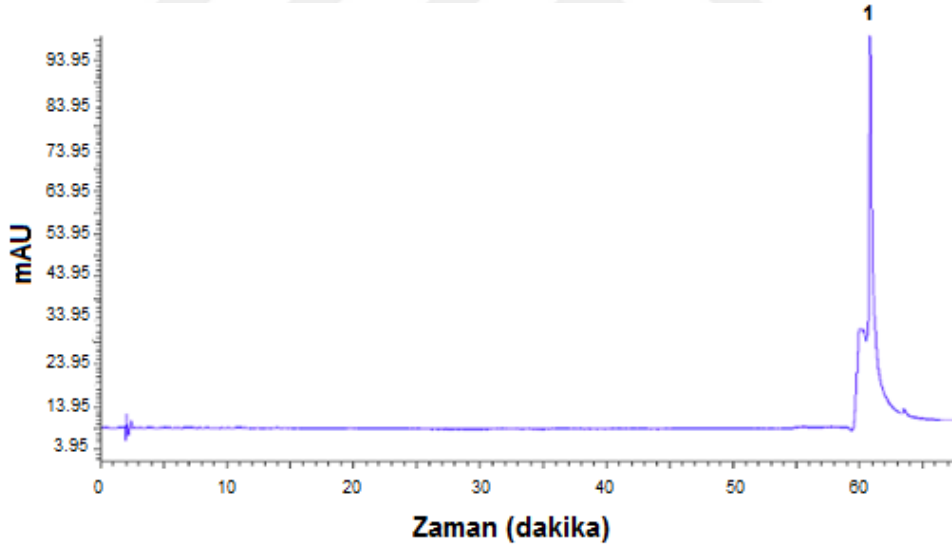
Şekil 4.21: Üzüm çekirdeği tableti asitli metanollü ekstraktının kromatogramı 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).



Şekil 4.22: Üzüm çekirdeği tableti asitli metanollü ekstraktının (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı 1: Siyanidin klorür (λ : 520 nm).



Şekil 4.23: Üzüm çekirdeği tableti asitli hidrolizatı (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı 1: Gallik asit, 2: Kateşin, 3: Resveratrol (λ : 280 nm).



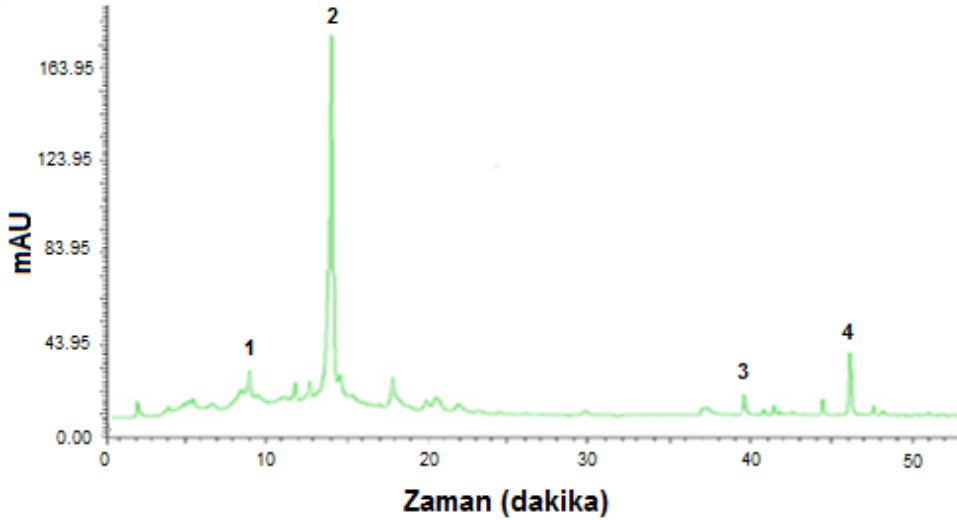
Şekil 4.24: Üzüm çekirdeği tableti asitli hidrolizatı (% 1 HCl içeren % 80 MeOH) kromatogramı kromatogramı 1: siyanidin klorür (λ : 520 nm).

Üzüm çekirdeği kapsülünün metanollü ekstraktında 280 nm'de belirlenen bileşenler; epikateşin, resveratrol ve flavon; hidrolizatında ise kateşin, prosiyanidin B2 ve resveratrol'dür. Asitli metanol ekstraktı ve hidrolizatında ise 280 nm'de; kateşin, gallik asit ve resveratrol; asitli hidrolizatında 520 nm'de siyanidin tespit edildi. Lacopini ve diğ.'nin [46]

yaptıkları çalışmada Toskana'ya ait üzüm türlerinin kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri, toplam fenol ve antosiyanin içerikleri belirlenmiş, UV dedektörlü HPLC analizleri ile beş fenolik bileşenin (kateşin, epikateşin, kuersetin, rutin ve resveratrol) miktarları belirlenmiştir. Çalışmamızda üzüm ekstraktlarında bulunan fenolik bileşenlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.3.2.2. Biberiye Tabletlerinin Kromatografik Analizi

Biberiye tableti % 80 metanol çözeltisiyle ekstrakte edilerek HPLC'ye verildi ve 280 nm'de çalışıldı. Biberiye tabletinin 280 nm'de metanollü ekstraktında kafeik asit, rozmarinik asit, karnosol ve karnosik asit standartları belirlendi. Biberiye hidrolizatı bozunmaya uğradığından analiz edilemedi.

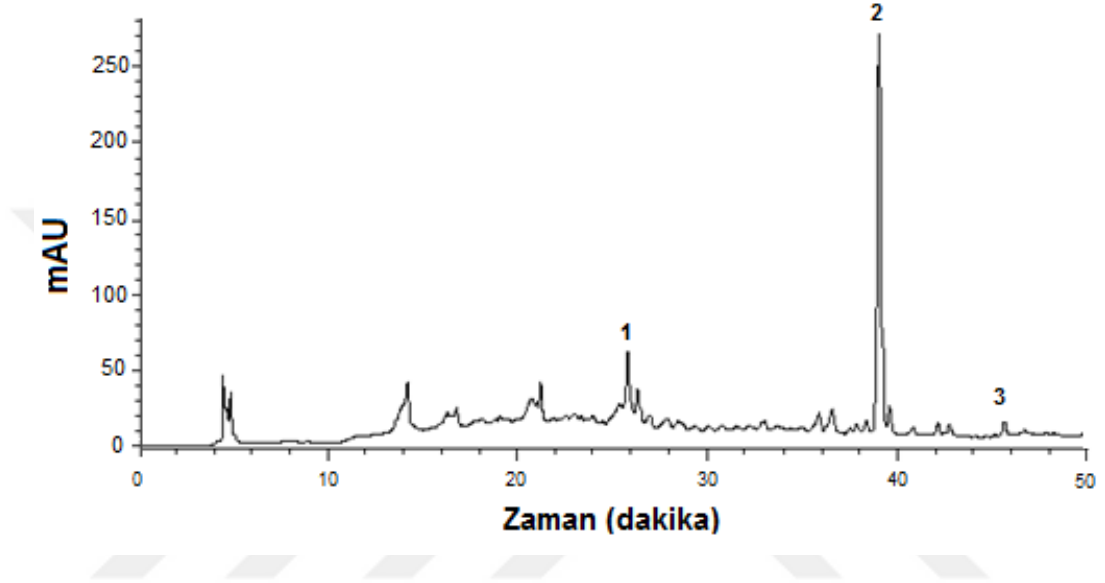


Şekil 4.25: Biberiye tabletinin metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Kafeik, 2: Rozmarinik asit, 3: Karnosol, 4: Karnosik asit (λ : 280 nm).

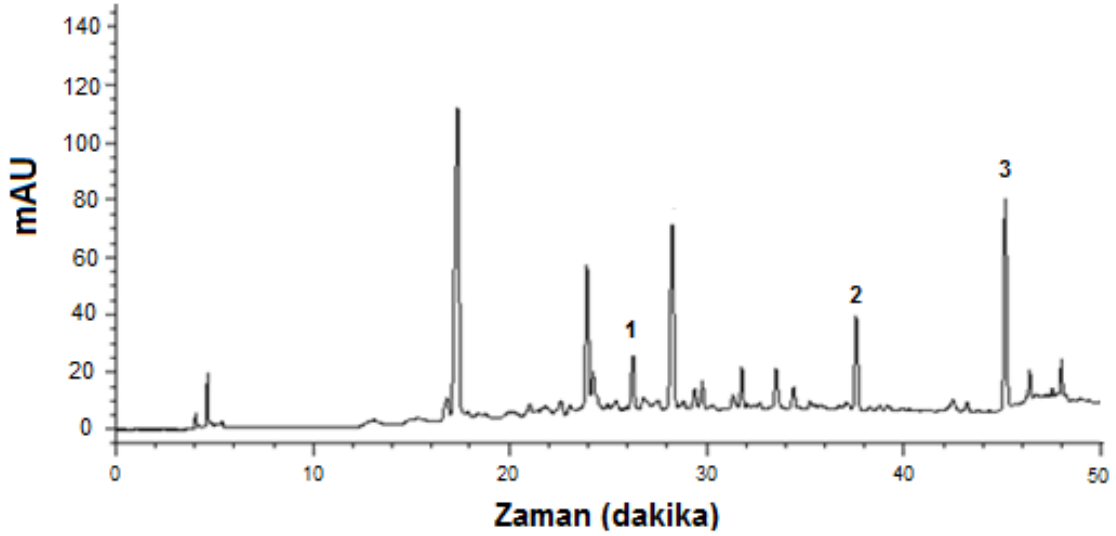
Biberiye kapsülü ekstraktında HPLC ile kafeik asit, rozmarinik asit, karnosol ve karnosik asit belirlendi. Bu bileşenler standart bileşiklerin kromatogramları ile karşılaştırma yapılarak tespit edildi. Biberiye hidrolizatı bozunmaya uğradığından HPLC analizleri yapılamadı. Troncoso ve diğ. [49] Şili ve diğer ülkelerden toplanan taze biberiye örneklerinde HPLC yöntemi ile UV-görünür bölgede fenolik antioksidanları saptamışlardır. Uygulanan HPLC yöntemleriyle (230 ve 330 nm) 10 dk gibi kısa bir sürede karnosik asit, karnosol ve rozmarinik asit belirlenmiştir. Çalışmamızda biberiye ekstraktında bulunan fenolik bileşenlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.3.2.3. Kudret Narı Tabletlerinin Kromatografik Analizi

Kudret narı tableti % 80 metanol çözeltisiyle ekstrakte edilerek HPLC'ye verildi ve 320 nm'de çalışıldı. Kudret narının ekstraktında klorojenik asit, rutin ve kuersetin; hidrolizatında ise kafeik asit, rutin ve kuersetin standartları saptandı.



Şekil 4.26: Kudret narı tabletinin metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Klorojenik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin (λ : 320 nm).

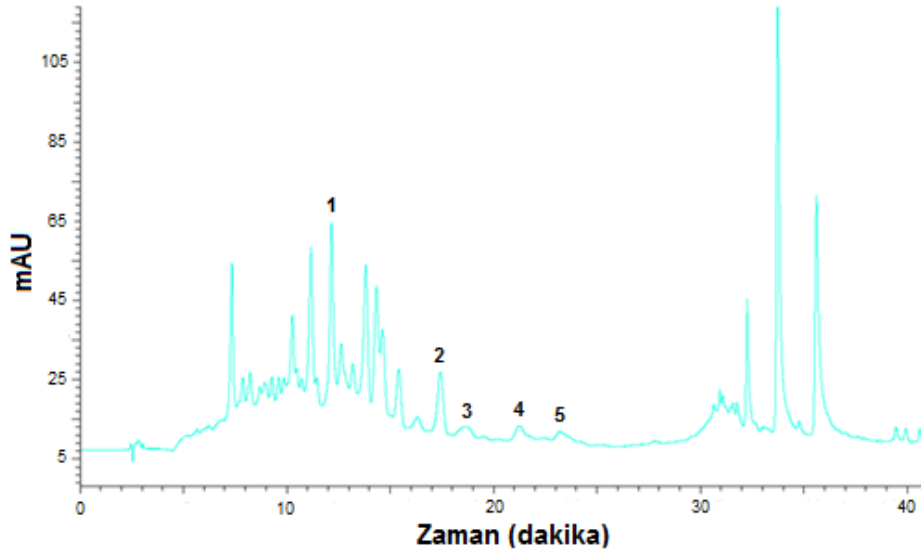


Şekil 4.27: Kudret narı tableti hidrolizatı (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Kafeik asit, 2: Rutin, 3: Kuersetin (λ : 320 nm).

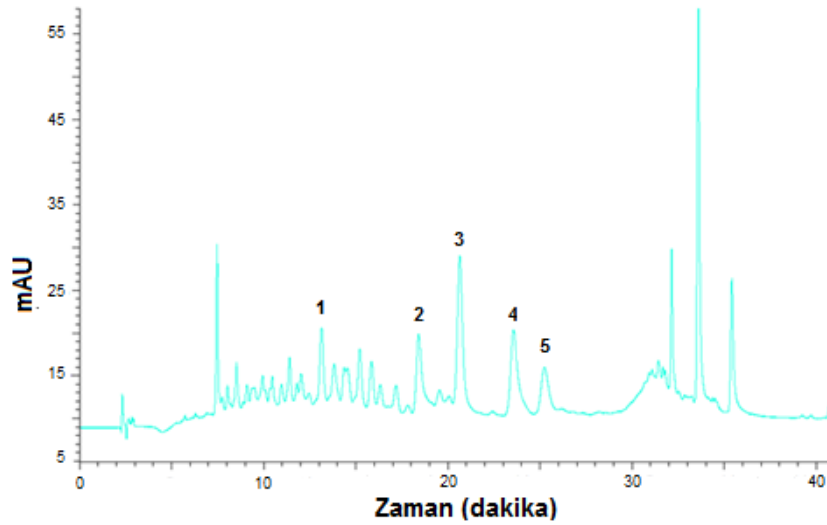
Kudret narı kapsülünün ekstrakt ve hidrolizatlarının fenolik içerikleri HPLC ile 320 nm’de belirlendi. % 80 (v/v) MeOH’lı ekstrakta klorojenik asit, rutin ve kuersetin; hidrolizatta ise kafeik asit, rutin ve kuersetin bileşenleri saptandı. Kubola ve Siriamornpu [61] kudret narının yaprak, kök ve meyve ekstraktlarında fenolik bileşiklerin tanımlanması için HPLC yöntemi kullanmışlardır ve 278 nm’de HPLC analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Örneklerde başlıca fenolik bileşik olarak; gallik asit, kafeik asit ve kateşin belirlenmiştir. Çalışmamızda kudret narı ekstraktlarında bulunan fenolik bileşenlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.3.2.4. *Ginkgo Biloba Tabletlerinin Kromatografik Analizi*

Ginkgo biloba tableti % 80 metanol çözeltisiyle ekstrakte edilerek HPLC’ye verildi ve 340 nm’de çalışıldı. Ekstrakt ve hidrolizatında rutin, luteolin, kamferol, apigenin ve kuersetin standartları belirlendi.



Şekil 4.28: Ginkgo biloba tableti metanollü ekstraktının (% 80 MeOH) kromatogramı. 1: Rutin, 2: Kuersetin, 3: Luteolin, 4: Kamferol, 5: Apigenin (λ : 340 nm).



Şekil 4.29: Ginkgo biloba tableti hidrolizatı (% 80 MeOH) kromatogramı 1: Rutin, 2: Kuersetin, 3: Luteolin, 4: Kamferol, 5: Apigenin (λ : 340 nm).

Ginkgo biloba kapsülü ekstrakt ve hidrolizatlarının HPLC analizinde 340 nm'de belirlenen fenolik bileşikler; rutin, luteolin, kamferol, apigenin ve kuersetin'dir. Ticari ginkgo biloba ürünlerinin MeOH ile hazırlanan ekstraktları HPLC/MS (kütle spektrometrisi) ile analiz edildiği bir çalışmada önemli miktarda kuersetin ve rutin türevlerinin yanı sıra terpenik

laktonlar bulunduğu belirlenmiştir [56]. Çalışmamızda kudret narı ekstraktlarında bulunan fenolik bileşenlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.3.3. HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS Yöntemleri ile Belirlenmiş Teorik TAK Değerleri

Tablo 4.11’de beslenme takviyesi ürünlerinin ekstrakt ve hidrolizatlarının birleştirilmiş HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS yöntemleri ile bulunmuş teorik toplam antioksidan kapasite değerleri (mmol TR/g örnek) görülmektedir. Parantez içinde bulunan değerler HPLC’den hesaplanan kapasite değerlerinin, spektrofotometrik kapasite değerlerine bölünmesiyle, HPLC yardımıyla hesaplanan kapasitenin spektrofotometrik yolla bulunan kapasitenin % kaçını belirleyebildiğini ifade etmektedir. Tabloda gösterilen HPLC-CUPRAC_N, HPLC-CUPRAC_i ve HPLC-ABTS ifadeleri HPLC’de belirlenen derişimlerin sırasıyla CUPRAC-normal, CUPRAC-inkübasyonlu ve ABTS yöntemindeki TEAC katsayıları kullanılarak hesaplanan kapasiteyi ifade etmektedir.

Tablo 4.11: Beslenme takviyesi ürünlerinin ekstrakt ve hidrolizatlarının birleştirilmiş HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS yöntemleri ile bulunmuş teorik TAK (mmol TR/g örnek) değerleri ve HPLC ile belirlenebilen toplam antioksidan kapasite yüzdeleri.

Beslenme Takviyesi Ürünü Ekstraktları	HPLC-CUPRAC _N	HPLC-CUPRAC _i	HPLC-ABTS
Üzüm çekirdeği ekstraktı	0,42 (% 46,15)	0,68 (% 59,13)	0,37 (% 51,39)
Üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizati	0,18 (% 42,86)	0,21 (% 44,68)	0,11 (% 36,67)
Asitli üzüm çekirdeği ekstraktı	0,71 (% 57,26)	0,76 (% 48,10)	0,34 (% 47,89)
Asitli üzüm çekirdeği ekstrakt hidrolizati	0,32 (% 56,14)	0,28 (% 43,75)	0,16 (% 48,49)
Biberiye ekstraktı	0,31 (% 39,24)	0,61 (% 47,29)	0,19 (% 46,34)
Biberiye ekstrakt hidrolizati	0,04 (% 22,22)	0,08 (% 36,36)	0,05 (% 41,66)
Kudret narı ekstraktı	0,03 (% 37,50)	0,07 (% 46,67)	0,04 (% 36,36)
Kudret narı ekstrakt hidrolizati	0,03 (% 42,86)	0,06 (% 54,55)	0,04 (% 57,14)
Ginko Biloba ekstraktı	0,04 (% 33,33)	0,14 (% 43,75)	0,05 (% 35,71)
Ginko Biloba ekstrakt hidrolizati	0,02 (% 40,00)	0,02 (% 33,33)	0,03 (% 42,86)

4.3.4. HPLC Yöntemlerinin Geri Kazanım Testleri

Örnek ekstraktlarına ve hidrolizatlarına standart antioksidan bileşik katkıları yapılarak HPLC yönteminin geri kazanımı test edildi. Antioksidan bileşiklerin HPLC yöntemi ile elde edilen doğru denklemleri yardımıyla ayrı ayrı % geri kazanım değerleri hesaplandı ve değerler Tablo 4.12’de gösterildi.

Tablo 4.12: Örnek ekstraktlarına ve hidrolizatlarına ilave edilen fenolik bileşiklerin uygun HPLC yöntemiyle belirlenmiş olan % geri kazanım değerleri.

Örnek	Fenolik bileşik	% Geri Kazanım (Ekstrat)	% Geri kazanım (Hidrolizat)
ÜZÜM	Kateşin	97.1	97.7
	Epikateşin	97.3	97.4
	Gallik Asit	95.6	94.6
	Flavon	97.9	-
	Prosiyanidin B2	-	97.8
	Resveratrol	98.7	99.0
	Siyanidin Klorür	-	95.7
	Kafeik asit	97.8	-
BİBERİYE	Rozmarinik Asit	99.7	-
	Karnosol	97.5	-
	Karnosik Asit	97.0	-
	Kafeik asit	-	97.0
KUDRET NARI	Kuersetin	95.7	95.2
	Rutin	97.2	96.0
	Klorojenik Asit	98.9	-
	Apigenin	99.8	92.0
	Luteolin	97.0	93.8
ĞİNGKO BİLİBO	Kamferol	95.6	99.7
	Rutin	96.3	96.0
	Kuersetin	95.0	98.4

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda hastalıklardan korunmak veya hastalıkların etkisini hafifletmek amacıyla ya da hastalıkların tedavisi için çeşitli bitkilerin ve/veya bitkisel tıbbi ürünlerin kullanımı tüm toplumlarda giderek artmaktadır. Tez çalışması kapsamında günümüzde yaygın olarak çeşitli hastalıkları önlemede beslenme takviyesi olarak kullanılan, kudret narı, ginkgo biloba, biberiye ve üzüm çekirdeği ile hazırlanmış kapsül formunda ürünler ile çalışıldı. Beslenme takviyeleri kapsüllerinin TAK, TFİ ve TFDİ değerleri ile biyoaktif temel bileşiklerinin HPLC yöntemi kullanılarak araştırıldığı bu çalışmada, değişik yöntemlerle elde edilen sonuçlar mevcut standart maddelerle ve literatür verileriyle karşılaştırılarak değerlendirildi. TAK tayini için spektrofotometrik yöntemlerden bu amaçla yaygın kullanımı olan CUPRAC (normal ve inkübasyonlu) ve ABTS/Persülfat ve yöntemleri uygulandı. CUPRAC yönteminin tercih edilme nedeni, kolay, hızlı, etkili ve maliyetinin düşük olması, bu yöntemde kullanılan reaktifin kromojenik radikal reaktiflerinden (ABTS ve DPPH gibi) çok daha kararlı olması ve bu yöntem ile fizyolojik pH'a yakın ortamlarda çalışılabilmesidir. Çalışılan örneklerin TFİ değerleri Folin-Ciocalteu yöntemi, TFDİ değerleri ise $AlCl_3/NaNO_2$ yöntemi ile belirlendi.

Tez kapsamında ilk olarak, kapsül formundaki bitkisel ürünlerin ekstraksiyonu için uygun çözücü seçimi yapıldı. Üzüm çekirdeği, biberiye, ginkgo biloba kapsüllerinin toz halindeki örnekleri ve kudret narı kapsülünün macunumsu kütesinin çok küçük parçalara ayrılmış örnekleri % 50, % 70 ve % 80 (v/v) MeOH çözücüleri ile ultrasonik banyo kullanılarak ekstrakte edildi. Üzüm çekirdeği örneği için ayrıca % 1 (v/v) HCl içeren % 50, % 70 ve % 80 (v/v) MeOH çözücüleri kullanılarak ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirildi. Elde edilen tüm ekstraktların UV-görünür bölge spektrofotometresi kullanılarak 200-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Bunun sonucunda örneklerin ekstraksiyonları için uygun çözücüler; üzüm çekirdeği için % 80 MeOH ve % 1 (v/v) asit içeren % 80 MeOH ve diğerleri için ise % 80 MeOH olarak belirlendi. Çözücü ortamları belirlendikten sonra aynı ortamda hazırlanan TR standardına CUPRAC ve ABTS/Persülfat yöntemleri; GA standardına Folin-Ciocalteu ve KAT standardına $AlCl_3/NaNO_2$ yöntemi uygulanarak derişim-absorbans arasında oluşturulan çalışma grafiklerinin doğru denklemleri (y : absorbans, c : derişim) ve korelasyon katsayıları (r) hesaplandı (Tablo 4.1). Aynı şekilde örneklerde bulunması muhtemel diğer

polifenolik bileşiklere de ayrı ayrı yöntemler uygulanarak derişim-absorbans arasında oluşturulan çalışma grafiklerinin doğru denklemleri (y : absorbans, c : derişim) ve korelasyon katsayıları (r) hesaplandı (Tablo 4.2-4.4).

İndirgen gücü ölçülecek antioksidan bileşiğın 1 mM'lık çözeltisinin aktivitesine eşdeğer olan TR çözeltisinin mM derişimi, TEAK katsayısını ifade eder. $TEAK_{CUPRAC}$ katsayıları, fenolik bileşiklerin ϵ değerleri TR'un aynı koşullardaki ϵ değerine (normal yöntem için $\epsilon_{TR}=1.67 \times 10^4$ L/mol.cm) oranlanarak hesaplandı (Eşitlik 4.1). Bu değerlere göre bazı fenolik antioksidanlar için CUPRAC ve ABTS/Persülfat yöntemleri ile Tablo 4.5'deki veriler elde edildi.

Beslenme takviyesi ürünlerinin CUPRAC ve ABTS/Persülfat yöntemleriyle bulunan TAK değerleri eşitlik 4.2 kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar karşılaştırıldı (Tablo 4.6). Sonuçlar değerlendirildiğinde beslenme takviyesi ürünlerinde en yüksek TAK değerlerinin üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait olduğu görüldü. Aynı zamanda genel olarak en yüksek TAK değerleri CUPRAC yöntemiyle elde edildi. ABTS/Persülfat yöntemiyle düşük değerlerin elde edilmesinin nedeni, örnek matriksinde TAK tayini için ABTS yönteminin (örneğin redoks potansiyeli veya çözünme özellikleri itibarıyla) yetersiz kalması ve aynı zamanda iki yöntemin mekanizma farklılıkları ile açıklanabilir. Bunun yanısıra en yüksek değerlerin CUPRAC yöntemiyle elde edilmesi, yöntemin örnek matriksinde TAK tayini için uygun ve verimli olduğunu göstermektedir. Bu durum CUPRAC yönteminin daha fazla fenolik maddeyi çözündürerek yükseltmesi sonucu diğer referans yöntemlere olan üstünlüğünü doğrulamaktadır.

Çalışılan bitkisel ürünlerde bulunan başlıca fenolik bileşikler HPLC yöntemi ile saptandı ve fenolik bileşen içerikleri belirlendi. HPLC yöntemleri her bir kapsül için bölüm 3.5.5'de belirtilen şekilde ayrı ayrı uygulandı.

Üzüm çekirdeği kapsülünün HPLC analizinde iki farklı çözücü {(metanol:su (80:20, v/v) ve % 1 (v/v) HCl içeren metanol:su (80:20, v/v)} ile hazırlanan ekstraktlar kullanıldı ve ölçümler 280 nm ile 520 nm olmak üzere iki farklı dalga boyunda yapıldı. Üzüm çekirdeği kapsülünün MeOH ekstraktında 280 nm'de belirlenen bileşenler; epikateşin, resveratrol ve flavon; hidrolizatında ise kateşin, prosiyanidin B2 ve resveratrol'dür. Asitli metanol ekstraktı ve hidrolizatında ise 280 nm'de; kateşin, gallik asit ve resveratrol; asitli hidrolizatında 520 nm'de siyanidin tespit edildi. Lacopini ve diğ.'nin [46] yaptıkları çalışmada Toskana'ya ait üzüm

türlerinin kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri, toplam fenol ve antosiyanin içerikleri belirlenmiş, UV dedektörlü HPLC analizleri ile beş fenolik bileşenin (kateşin, epikateşin, kuersetin, rutin ve resveratrol) miktarları belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların literatür verileri ile uyduğu görülmektedir.

Biberiye kapsülü ekstraktının HPLC analizinde, 280 nm'de; kafeik asit, rozmarinik asit, karnosol ve karnosik asit belirlendi. Bu bileşenler standart bileşiklerin kromatogramları ile karşılaştırma yapılarak tespit edildi. Biberiye hidrolizatı bozunmaya uğradığından HPLC analizleri yapılamadı. Troncoso ve diğ. [49] Şili ve diğer ülkelerden toplanan taze biberiye örneklerinde HPLC yöntemi ile UV-görünür bölgede fenolik antioksidanları saptamışlardır. Uygulanan HPLC yöntemleriyle (230 ve 330 nm) 10 dk gibi kısa bir sürede karnosik asit, karnosol ve rozmarinik asit belirlenmiştir. Çalışmamızda biberiye kapsülünde belirlemiş olduğumuz bileşenler literatür verileri ile doğrulanmaktadır.

Kudret narı kapsülünün ekstrakt ve hidrolizatlarının fenolik içerikleri HPLC ile 320 nm'de belirlendi. % 80 (v/v) MeOH'lı ekstraktta klorojenik asit, rutin ve kuersetin; hidrolizatta ise kafeik asit, rutin ve kuersetin bileşenleri saptandı. Kubola ve Siriamornpu [61] kudret narının yaprak, kök ve meyve ekstraktlarında fenolik bileşiklerin tanımlanması için HPLC yöntemi kullanmışlardır. Gradient elüsyon programı ile ikili mobil faz sistemi kullanılarak (A: % 3 (v/v) asetik asit ve B: % 3 asetik asit: % 25 asetonitril: % 72 su, v/v/v) 278 nm'de 75 dakika sürede HPLC analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Örneklerde başlıca fenolik bileşik olarak; gallik asit, kafeik asit ve kateşin belirlenmiştir.

Ginkgo biloba kapsülü ekstraktının HPLC analizinde 340 nm'de belirlenen fenolik bileşikler; rutin, luteolin, kamferol, apigenin ve kuersetin'dir. Ekstrakt hidrolizatında kamferol, apigenin ve kuersetin ekstrakta göre daha yüksek miktarlarda belirlenmiştir. Ticari ginkgo biloba ürünlerinin MeOH ile hazırlanan ekstraktları HPLC/MS (kütle spektrometrisi) ile analiz edildiği bir çalışmada önemli miktarda kuersetin ve rutin türevlerinin yanı sıra terpenik laktonlar bulunduğu belirlenmiştir [56]. Bir diğer çalışmada [66] ise ginkgo biloba bitkisi ekstraktında, UHPLC-DAD-QToF-MS (ultra yüksek performanslı sıvı kromatografi-DAD dedektörü-uçuş zamanlı kütle spektrometri) yöntemi ile yapılan analiz sonucunda, rutin, kuersitrin, kamferol, kuersetin, kamferol-3-O-rutinozit, kamferol-glikozit, isoramnetin vb. flavonoidler tespit edilmiştir. Çalıştığımız ginkgo biloba kapsülü ekstraktında belirlemiş olduğumuz bileşenler; rutin, luteolin, kamferol, apigenin ve kuersetin'dir.

Tablo 4.11' de beslenme takviyesi ürünlerinin ekstrakt ve hidrolizatlarının birleştirilmiş HPLC-CUPRAC ve HPLC-ABTS yöntemleri ile bulunmuş teorik toplam antioksidan kapasite değerleri (mmol TR/g örnek) görülmektedir. Ayrıca parantez içinde HPLC ile belirlenebilen toplam antioksidan kapasite yüzdeleri hesaplanarak verilmiştir. Tüm standartlar olmadığı için teorik verimde % 100'e ulaşmak mümkün olamamıştır. Çalışılan beslenme takviyesi ürünlerinin HPLC ile edilen kapasite değerleri; CUPRAC yöntemi ile elde edilen kapasite değerlerinin üzüm çekirdeği asitli ve asitsiz ekstraktlarında % 46-57; üzüm çekirdeği asitli ve asitsiz ekstraktlarının hidrolizatlarında % 43-56; biberiye ekstrakt ve hidrolizatında % 39-22; kudret narı ekstrakt ve hidrolizatında % 38-43; ginkgo biloba ekstrakt ve hidrolizatında % 33-40'luk kısmını belirlemektedir.

Örnek ekstrakt ve hidrolizatlarına standart antioksidan bileşik katkıları yapılarak HPLC yönteminin geri kazanımı test edildi ve ekstrakt bileşiminin fenolik bileşenlerin geri kazanımlarına etkisi araştırıldı. Tablo 4.12'deki verilere bakıldığında üzüm çekirdeği ekstrakt ve hidrolizatlarında % 94,6-99,0; biberiye ekstraktında % 97,0-99,7 kudret narı ekstrakt ve hidrolizatlarında % 95,2-98,9; ginkgo biloba ekstrakt ve hidrolizatlarında % 92,0-99,8 aralıklarında % geri kazanım elde edildiği görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki uygulanan yöntemler; üzüm çekirdeği, biberiye, ginkgo biloba ve kudret narı bitkileri ile bunlardan hazırlanan ürünlerin analizi, örneklerin orijinalliğinin belirlenmesi için kullanılabilir niteliktedir.

KAYNAKLAR

1. Liu, F. F., Ang, C. Y. W., Heinze, T. M., Rankin, J. D., Beger, R. D., Freeman, J. P., Lay, Jr. J. O., 2000, Evaluation of major active components in st. john's wort dietary supplements by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection and electrospray mass spectrometric confirmation, *Journal of Chromatography A*, 888, 85-92.
2. <http://www.bodytr.com/wp-content/uploads/2010/12/uretim-izni-verilen-gida-takviyeleri-listesi-05-agustos-2010.pdf> [Ziyaret tarihi: 14 Mayıs 2014].
3. Halliwell, B., Aruoma, O.I., 1991, DNA damage by oxygen-derived species: its mechanisms and measurement in mammalian systems, *FEBS Lett*, 281(1-2), 9-19.
4. Sroka, Z., Cisowski, W., 2003, Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids, *Food and Chemical Toxicology*, 41, 753-758.
5. Cao, G., Prior, R. L., 1998, Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum, *Clinical Chemistry*, 44, 1309-1315.
6. Rice-Evans, C. A., Miller, N.J., Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
7. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1997, Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships, *Free Radical Biology & Medicine*, 22, 749-760.
8. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
9. Miller, N. J., Diplock, A. T., Rice- Evans, C., 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.
10. Miller, N. J., Rice-Evans, C., 1994, Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods in Enzymology*, 234, 279-293.

11. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
12. 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.
13. 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, *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
14. Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64, 555-559.
15. Anonim, 2000, What are Dietary Supplements? Office of Dietary Supplements, <http://ods.od.nih.gov/whatare/whatare.html>.
16. Ersöz, T., 2011, Bitkisel Tedaviye Bilimsel Bakış: Doğrular ve Yanlışlar, *Journal of Pediatric Infection*, 5 (Suppl 1), 217-22.
17. Başer, K. H. C., 2003, Industrial plants as sources of dietary supplements, In: Maffei M (ed), *Dietary Supplements of Plant Origin*, London: *Taylor and Francis*, 31-42.
18. Demirezer, L. Ö. (ED), 1993, *Tedavide Kullanılan Bitkiler*, “FFD Monografıları, MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi, 1. Baskı, Ankara:
19. Zeisel, S. H, 1999, Regulation of “Nutraceuticals”, *Science*, 285, 1853-55.
20. Kalra, E. K., 2003, Nuraceutical – Definition and introduction, *The American Association Pharmaceutical Scientists*, 5, 1-2.
21. Beara, I. N., Lesjak, M. M., Jovin, E. D., Balog, K. J., Anackov, G. T., Orcić, D. Z., Mimica-Dukić, N. M., 2009, Plantain (*Plantago L.*) species as novel sources of flavonoid antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 9268-9273.
22. Havsteen, B. H., 2002, The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.
23. Yemis, O., Bakkalbaşı, E., Artık, N., 2008, Antioxidative activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts obtained from different varieties grown in Turkey, *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 154-159.

24. Terra, X., Larrea, J. F., Pujadas, G., Ardèvol, A., Bladé, C., Salvadó, J., Arola, L., Blay, M., 2009, Inhibitory effects of grape seed procyanidins on foam cell formation in vitro, *Food and Chemical Toxicology*, 57, 2588–94.
25. Covas, M. I., Gambert, P., Fitó, M., Torre, R., 2010, Wine and oxidative stress: Up-to-date evidence of the effects of moderate wine consumption on oxidative damage in human, *Atherosclerosis*, 208 (2), 297–304.
26. Cemeli, E., Baumgartner, A., Anderson, D., 2009, Antioxidants and the Comet assay, *Mutation Research*, 681, 51–67.
27. Alia, M., Horcajo, C., Bravo, Luis, G., 2003, Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats, *Nutrition Research*, 23, 1251–67.
28. Fang, Y. Z., Yang, Z., Wu, G., 2002, Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
29. Leifert, W. R., Abeywardena, M. Y., 2008, Cardioprotective actions of grape polyphenols, *Nutrition Research*, 28, 729–37.
30. Bartlett, H. E., Eperjesi, F., 2008, Nutritional supplementation for type 2 diabetes: a systematic review, *Ophthalmic and Physiological Optics*, 28, 503–23.
31. Baytop, T., 1984, *Türkiye’de bitkilerle tedavi*, İstanbul Üniversitesi, Yayın No: 3255,
32. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I. 2007, Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils, *Food Chemistry*, 102, 898-904.
33. Shahidi, F., Naczk, M., 1995, Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications, *Lancaster, PA: Technomic Publishing Co Inc.*
34. Fu, Y., Zu, Y., Chen, L., Shi, X., Wang, Z., Sun, S., Efferth, T., 2007, Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination, *Phytotherapy Research*, 21, 989-994.
35. Yeşil Çeliktaş, Ö., Hameş Kocabaş, E. E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Özek, T., Başer, K. H. C., 2007b, Antimicrobail activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations, *Food Chemistry*, 100, 553-559.

36. Brown, D., 1995, *The Royal Horticultural Society, Encyclopaedia of Herbs and Their Uses First Education*.
37. Elibal, B., 2009, *Kanola yağından kudret narı yağ asitleri (klna) ile yapılandırılmış yağ üretimi ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
38. Tan, S.P., Kha, T.C., Parks, S.E., Roach, P.D., 2016, Bitter melon (*Momordica charantia* L.) bioactive composition and health benefits: A review, *Food Reviews International*, 32, 181-202.
39. Braca, A., Siciliano, T., D'Arrigo, M., Germano, M. P., 2007, Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil, *Fitoterapia*, 79, 123-125.
40. Patel, R., Mahobia, N., Upwar, N., Waseem, N., Talaviya, H., Patel, Z., 2010, Analgesic and antipyretic activities of *Momordica charantia* Linn. Fruits, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1(4), 415-418.
41. Singh, J., Cumming, E., Manoharan, G., Kalasz, H., Adeghate, E., 2011, Medicinal chemistry of the anti-diabetic effects of *Momordica charantia*: Active constituents and modes of actions, *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 5, 70-77.
42. Khanna, P., Jain, S. C., Panagariya, A. Dixit, V. P., 1981, Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source, *Journal of Natural Products*, 44 (6), 648-655.
43. Başaran, A. A., Güvenç, A., 2008, Ginkgo yaprağı ve ticari preparatları üzerinde morfolojik ve anatomik çalışmalar, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37, 11-27.
44. Von Beek, T. A., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Peterlonga, F. 1998, *Ginkgo biloba* L., *Fitoterapia*, 69(3), 195-244.
45. Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., Lu, J., 2010, Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China, *Food Chemistry*, 119, 1557-1565.
46. Lacopini, P., Baldi, M., Storchi, P., Sebastiani, L., 2008, Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 589-598.

47. Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., Vojnov, A. A., 2006, Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition, *Free Radical Research*, 40(2), 223-231.
48. Del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Río, J. A., Ortuño, A., Quirin, K.W., Gerard, D., 2003, Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*, antioxidant activity, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 4247–4253.
49. Yanishlieva, N. V., Marinova, E., Pokorny, J., 2006, Natural antioxidants from herbs and spices, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 776-793.
50. Briskorn, C. H., Domling, H. J., 1969, Carnosolsaure, der wichtige antioxidativ wirksame Inhaltsstoff des Rosmarin-und Salbeiblattes, *Z Lebensm Unters Fofsch.*, 141, 10-16.
51. Richeimer, S. L., Bernart, M. W., King, G. A., Kent, M. C., Bailey, D. T., 1996, Antioxidant activity of lipid soluble phenolic diterpenes from rosemary, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 507-514.
52. Rababah, T. M., Hettiarachchy, N. S., Horax, R., 2004, Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 5183-5186.
53. Troncoso, N., Sierra, H., Carvajal, L., Delpiano, P., Gunther, G., 2005, Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet–visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary, *Journal of Chromatography A*, 1100, 20–25
54. Wang, H., J. Provan, G., Helliwell, K., 2004, Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC, *Food Chemistry*, 87 307-311.
55. Goh, L. M., Barlow, P. J., 2002 Antioxidant capacity in *Ginkgo biloba*, *Food Research International*, 35, 815–820.
56. Mantle, D., Wilkins, R. M., Gok, M. A., 2003, Comparison of antioxidant activity in commercial *Ginkgo biloba* preparations, *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(5), 625-629.

57. Girotti, S., Ferri, E., Maccagnani, L., Budini, R., Bianchi, G., 2002, Plasma antioxidant capacity determination: Comparative evaluation of chemiluminescent and spectrophotometric Assays, *Talanta*, 56, 407-414.
58. Dubber, M.-J., Kanfer, I., 2004, High-performance liquid chromatographic determination of selected flavonols in Ginkgo biloba solid oral dosage forms, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 303-309.
59. Wu, S. J., Ng-LWT, L. T., 2008, Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan, *Food Science and Technology*, 41, 323–330.
60. Zou, Y., Lu, Y., Wei, D., 2004, Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5032–5039.
61. Kubola, J., Siriamornpun, S., 2008, Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food Chemistry*, 110, 881–890.
62. Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., Venema, D. P., 1992, Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1591-1598.
63. Yıldız, L., Sözgen Başkan, K., Tütem, E., Apak, R., 2008, Combined HPLC–CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay of parsley, celery leaves, and nettle, *Talanta*, 77, 304–313.
64. Karaman, Ş., Tütem, E., Sözgen Başkan, K., Apak, R., 2010, Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay, *Food Chemistry*, 120, 1201–1209.
65. Karaman, Ş., Tütem, E., Sözgen Başkan, K., Apak, R., 2013, Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 867-875.
66. Avula, B., Sagi, S., Gafner, S., Upton, R., Wang, Y.-H., Wang, M., Khan, I. A., 2015, Identification of Ginkgo biloba supplements adulteration using high performance thin layer chromatography and ultra high performance liquid chromatography-diode array detector-

quadrupole time of flight-mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(25), 7733–7746.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Aslı DEMİR
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	07.04.1981
Uyruğu	T.C. Diğer:
Telefon	05425172287
E-Posta Adresi	aslidemirist@hotmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Bölümü
Mezuniyet Yılı	2005

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri
Anabilim Dalı	Kimya
Programı	Analitik Kimya

Makale ve Bildiriler	
Demirci Çekiç, S., Demir, A., Sözgen Başkan, K., Tütem, E., Apak, R., 2010, Determination of Total Antioxidant Capacity of Milk Incorporating The Contribution of Protein Thiols Using a Modified Cuprac (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) Method, <i>8th Euro Fed Lipid Congress, Oils, Fats and Lipids: Health & Nutrition, Chemistry & Energy, ALMANYA.</i>	
Demir, A., Sözgen Başkan, K., Tütem, E., Apak, R., 2012, Ticari Beslenme Takviyesi Ürünlerinden Ginkgo Biloba Kapsüllerinin Antioksidan Kapasitesinin ve Başlıca Bileşenlerinin Belirlenmesi, <i>6. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, HATAY, TÜRKİYE.</i>	
Çekiç Demirci, S., Demir, A., Sözgen Başkan, K., Tütem E., Apak R., 2015, Determination of Total Antioxidant Capacity of Milk By Cuprac and ABTS Methods with Separate Characterisation of Milk Protein Fractions, <i>Journal of Dairy Research</i> , 82, 177-184.	