

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bellevalia crassa İNFÜZYONLARININ *in vitro* ANTİOKSİDAN VE
MUHTEMEL PROOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Kubilay PEDİS

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hasan KILIÇGÜN

KİMYA ANABİLİM DALI

ERZİNCAN

2019

Her Hakkı Saklıdır.

Kabul ve Onay Sayfası

Dr. Öğr. Üyesi Hasan KILIÇGÜN danışmanlığında, Kubilay PEDİS tarafından hazırlanan bu çalışma 05/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

İmza: 

Üye : Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

İmza: 

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hasan KILIÇGÜN

İmza: 

Yukarıdaki sonuç Enstitü Yönetim Kurulunun **11 / 09 / 2019** tarih ve **37 / 10** sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Mustafa Fatih ERTUGAY
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, şekil ve tabloların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası

“*Bellevalia crassa* infüzyonlarının *in vitro* antioksidan ve muhtemel prooksidan aktiviteleri” isimli “Yüksek Lisans” tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim.
05/09/2019


Kubilay PEDİS

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Bellevalia crassa* İNFÜZYONLARININ *in vitro* ANTIOKSİDAN VE MUHTEMEL PROOKSİDAN AKTİVİTELERİ**

Kubilay PEDİS

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hasan KILIÇGÜN

Bu çalışmada Erzincan İli'nde endemik olarak yetişen *Bellevalia crassa* Wendelbo bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki infüzyonlarının *in vitro* antioksidan ve muhtemel prooksidan aktiviteleri, etki mekanizmalarıyla birlikte incelendi. Yapılan *in vitro* deneylerde *Bellevalia crassa*'nın antioksidan aktivite tayinin yapıldığı parametrelerde ve antioksidan etki mekanizmasının değerlendirildiği parametrelerin tamamında bütün konsantrasyonlarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Öteyandan, yapılan mekanizma deneyleri sonucunda *Bellevalia crassa*'nın aynı konsantrasyonda bir antioksidan etki mekanizması üzerinde antioksidan etki göstermesine rağmen diğer mekanizmada bu etkinin konsantrasyon artışıyla paralellik göstermediği belirlenmiştir. Bunun mekanizmasında ise serbest radikal temizleme aktivitesi, O₂⁻ temizleme kapasitesi ve H₂O₂ temizleme yeteneğinin, antioksidan aktivite göstermiş fakat yüksek dozlarda bu aktivitede azalmalar görülmüştür, diğer parametrelerden metal şelatlama aktivitesi ve indirgeyici gücün de *Bellevalia crassa*'nın antioksidan potansiyelinin sebepleri olduğu sonucuna varıldı. Sonuç olarak konsantrasyon yükselmesiyle beraber antioksidan aktivitede azalmanın olması, *Bellevalia crassa*'nın antioksidan aktivitesinin yanı sıra konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivite potansiyelinin de değişebileceğini göstermektedir.

2019, 64 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Aktivite, *Bellevalia crassa*, Prooksidan Aktivite

ABSTRACT

Master Thesis

in vitro ANTIOXIDANT and POSSIBLE PROOXIDE ACTIVITIES of *Bellevalia crassa* INFUSIONS

Kubilay PEDİS

Erzincan Binali Yıldırım University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Asist. Prof. Hasan KILIÇGÜN

In this study, *in vitro* antioxidant and probable prooxidant activities of infusions of different concentrations of *Bellevalia crassa* Wendelbo plant grown in Erzincan province were investigated with their mechanisms of action. When *in vitro* experiments was examined, *Bellevalia crassa* was found to have antioxidant activity in all concentrations. On the other hand, although the mechanism experiments showed that *Bellevalia crassa* showed an antioxidant effect on one mechanism of antioxidant action at the same concentration, it was found that this effect did not show parallelism with the other mechanism. In the mechanism of this, free radical scavenging activity, O_2^- scavenging capacity and H_2O_2 scavenging ability showed antioxidant activity, but decreases in this activity were observed at high doses. As a result, the decrease in antioxidant activity with increasing concentration shows that the antioxidant activity potential of *Bellevalia crassa* may change depending on the concentration. As a result, the decrease in antioxidant activity with increasing concentration shows that the antioxidant activity potential of *Bellevalia crassa* may change depending on the concentration.

2019, 64 Pages

Keywords: Antioxidant Activity, *Bellevalia crassa*, Pro-oxidant Activity

TEŐEKKÖR

Bu tez çalıőmasında benden bilgisini, tecröbesini esirgemeyen ve tüm yönlendirmeleriyle yardımcı olan, beraber çalıőmaktan büyük onur duyduğum, tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hasan KILIÇGÜN'e

Çalıőmalarım süresince bana yardımcı olan, benim her zaman her konuda yanımda olan kuzenim Feray SEYYAH' a, çalışma arkadaşlarıma, tüm dostlarıma ve her zaman olduğu gibi büyük desteğini gördüğüm aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serbest Radikaller	3
2.1.1.Serbest radikallerin tarihçesi.....	3
2.1.2.Serbest radikallerin tanımı ve özellikleri.....	3
2.1.2.1. Reaktif oksijen türleri	5
2.2. Lipit Peroksidasyonu.....	7
2.3. Protein Oksidasyonu	10
2.3.1.Protein oksidasyonunun türleri	11
2.4. Oksidatif Karbonhidrat Hasarı	13
2.5. Antioksidanlar	13
2.5.1.Antioksidan savunma sistemlerine genel bir bakış.....	13
2.5.1.1. Diyetle alınan antioksidanlar	16
2.5.1.2. Doğal antioksidanların yapıları.....	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM	25
3.1. Kimyasal Maddeler	25
3.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	26
3.3. Yöntem	26
3.3.1. <i>in vitro</i> deneyler.....	27
3.3.1.1. Toplam antioksidan aktivitenin (lipit oksidasyonu) ölçülmesi.....	27
3.1.1.2. Protein Oksidasyonun Ölçülmesi	29
3.3.1.3. Oksidatif karbonhidrat hasarının ölçülmesi	31

3.3.1.4. Bleomisin-Demir bağımlı oksidatif DNA hasarının ölçülmesi	33
3.4. <i>in vitro</i> Antioksidan Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi	35
3.4.1. Serbest radikal temizleme aktivitesinin ölçülmesi	35
3.4.2. Süperoksit radikalini temizleme kapasitesinin ölçülmesi.....	36
3.4.3. İndirgeyici gücün ölçülmesi	37
3.4.4. Hidrojen peroksit temizleme yeteneğinin ölçülmesi	39
3.4.5. Metal iyonlarını şelatlama aktivitesinin ölçülmesi.....	40
3.5. Toplam Fenol İçeriğinin Ölçülmesi	41
3.6. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....	43
4. BULGULAR	44
4.1. <i>in vitro</i> Deneyleler.....	44
4.1.1. Lipit oksidasyonu	44
4.1.2. Protein oksidasyonu.....	44
4.1.3. Oksidatif karbonhidrat hasarı	44
4.1.4. Bleomisin-Demir bağımlı oksidatif DNA hasarı.....	44
4.2. Antioksidan Etki Mekanizmaları.....	46
4.2.1. İndirgeyici güç.....	46
4.2.2. Hidrojen peroksit temizleme aktivitesi.....	46
4.2.3. Metal iyonlarını şelatlama aktivitesi.....	46
4.2.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi	46
4.2.5. Süperoksit radikalini temizleme kapasitesi	46
4.3. Toplam Fenol İçeriği.....	48
4.3.1. <i>Bellevalia crassa</i> konsantrasyonunun etkisi.....	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Çoklu doymamış yağ asitlerinde peroksidasyon.....	10
Şekil 2.2. Protein karbonil oluşumuna yol açan primer modifikasyon reaksiyonları	12
Şekil 2.3. Askorbik asidin redoks reaksiyonu ile dehidroaskorbik aside dönüşmesi.....	19
Şekil 2.4. Türkiyede <i>Bellavalia crassa</i> 'nın yetiştiği bölge	22
Şekil 2.5. <i>Bellavalia crassa</i> bitkisi.....	23

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1. <i>Bellevalia crassa</i> Konsantrasyonlarının <i>in vitro</i> Antioksidan Aktivitesi	45
Tablo 4.2. <i>Bellevalia crassa</i> Konsantrasyonunun Antioksidan Etki Mekanizmasına Tesiri.....	47
Tablo 4.3. <i>Bellevalia crassa</i> Konsantrasyonlarının Toplam Fenol İçeriği	48



SİMGELER ve KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BER	: Baz çıkararak tamir
CCl ₄	: Karbon tetraklorür
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSH-Rd	: Glutatyon redüktaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipokloruz asit
LO.	: Alkoksil radikali
LOO.	: Peroksil radikali
LOOH	: Lipit hidroperoksitler
MCO	: Metal-katalizli oksidasyon
MDA	: Malondialdehit
NER	: Nükleotid çıkararak tamir
NO.	: Nitrik oksit radikali
O ₂	: Moleküler oksijen
O ₂ ^{·-}	: Süperoksit radikali
O ₃	: Ozon
·OH	: Hidroksil radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri

SOD : Süperoksit dismutaz

TBA : Tiyobarbiturikasit



1.GİRİŞ

Oksijenli solunum yapan organizmalarda oksijen kullanımından ötürü reaktif oksijen türleri (ROT) oluşmaktadır. Antioksidanlar reaktif oksijen metabolitlerinin şekillenmesini engelleyerek organizmayı olumsuz etkilerinden korurlar. Hücreler oksidatif hasara karşı yaşamlarını devam ettirmeyi bir sistem yardımı ile başarır. Bu sistem glutatyon peroksidaz (GSH-Px), superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon redüktaz gibi yapılardan meydana gelmektedir. Ancak prooksidan/ antioksidan dengenin prooksidanlar tarafına geçmesi ile gelişen oksidatif stres, farklı mekanizmalarla biyomoleküllere zarar vermektedir (Cooke vd., 2003). Bu zararı engellemek için diyetle alınan antioksidanlar büyük önem arz etmektedir. Bu antioksidanlar meyve, sebze ve çeşitli gıdalarda doğal olarak bulunabilmektedir. Bu besin maddeleri antioksidan olarak nitelendirdiğimiz vitamin E, C, karotenoidler ve fenolik bileşikler bakımından zengindirler. Bu özelliklerinden ötürü de organizmayı reaktif oksijen moleküllerine karşı koruyabilirler (Gülçin vd., 2002). Flavonoitlerin antioksidan aktiviteleri birçok çalışmada gösterilmiştir (Heijnen vd., 2002). Fakat flavonoitlerin *in vitro* prooksidan etkisiyle ilgili az sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Yen vd., 2003; Smith vd., 1992). Bir çalışmada prooksidan aktivitenin, DNA, protein ve karbonhidratlar gibi lipit yapıda olmayan biyomoleküllere karşı serbest radikal hasarını hızlandırabileceği ve ayrıca dört flavonoidin süperoksit radikalleri oluşturduğu bildirilmiştir (Yen vd., 2003). Askorbik asit, α -tokoferol, β -karoten, aloin, aloe-emoidin ve punikalinin bazı konsantrasyonlarda antioksidan, bazı konsantrasyonlarda prooksidan etki gösterdiği, ayrıca üzüm çekirdekleri, kakao ve elmada bulunan ve antioksidan olan prosiyanidin B2'nin ortamda bakır II iyonu varlığında prooksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Song vd., 1999; Strlic vd., 2002; Tina ve Hua, 2005).

Literatürde *Bellevalia crassa* infüzyonlarının *in vivo*, *in vitro* antioksidan veya prooksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla, farklı konsantrasyonlarda *Bellevalia crassa*'dan hazırlanan infüzyonların *in vitro* antioksidan aktivitelerini ve prooksidan aktivitelerini aydınlatmak literatüre katkı sağlayacaktır. *Bellevalia crassa* infüzyonlarının serbest radikal temizleme aktivitesi, indirgeyici güç metal iyonlarını şelatlama aktivitesi, *in vitro* protein oksidasyonu, karbonhidrat

ve DNA hasarları üzerindeki etkisine dair hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu etki mekanizmalarını çalışmak ve bunu farklı konsantrasyonlarda gerçekleştirmek literatüre katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki *Bellevalia crassa* infüzyonlarının ve *in vitro* antioksidan ve muhtemel prooksidan aktiviteleri ve bu aktiviteleri sağlayan etki mekanizmalarının ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

2.1.1. Serbest radikallerin tarihçesi

Serbest radikal kimyası ile ilgili çalışmalar 1800'lü yılların ortalarında yapılmaya başlamıştır. Wurtz, sodyum ile metil iyodür ve sodyum ile etil iyodürü reaksiyona sokarak, kimyasal formülleri metil ve etil radikallerine karşılık gelen bileşikler elde etmiştir (Huysen, 1970). Serbest radikal zincir mekanizmaları Haber ve Willstätter tarafından ileri sürülmüştür. Hey ve Waters, birçok organik reaksiyon için serbest radikal mekanizmalarını açıklamak için çalışma yapmışlardır (Huysen, 1970). Bir başka açıdan ticari hayatta yaşanan, yağların depolanma aşamasındaki bozulma problemi, bilim adamlarının Serbest Radikaller ile daha fazla ilgilenmelerine sebep olmuştur (Gutteridge, 1990). İlerleyen zamanda bu bileşiklerin biyolojik sistemlerde ve bazı hastalıkların patolojisinde yer aldığı görülmüştür (Southorn ve Powis, 1988). 1968'de McCord ve Fridovich'in süperoksit dismutaz enzimini buluşu ile radikallerin spesifik enzimlerle katalitik olarak uzaklaştırılabileceği izlenmiştir (Fridovich, 1986; Çakatay ve Kayalı, 2006). Günümüzde serbest radikal reaksiyonlarının, hastalıklardaki, biyolojideki, toksikolojideki ve yiyeceklerin bozulmasındaki görevleri anlaşıldıkça radikallerin önemi daha fazla dikkat çekmektedir (Aruoma, 1998; Karabulut ve Gülay, 2016).

2.1.2. Serbest radikallerin tanımı ve özellikleri

Serbest radikaller, en dış orbitalinde bir veya birden çok ortaklanmamış elektron taşıyan atom, atom grupları veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Yılmaz, 2012; Kaya, 2016). Bunlar, Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinden (RNS) meydana gelmektedir (Kayıhan, 2012, Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikaller kısa ömürlü moleküllerdir, lakin yapılarındaki kararsızlık sebebiyle çok aktif yapılı olduklarından bütün hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğindedirler (Atalay, 2016). Serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdiği oksidatif hasarı önüne geçmek, durdurmak veya etkilerini azaltmak için organizmada üretilen ya da organizmaya dışarıdan alınan

savunma amaçlı bileşikler antioksidan olarak isimlendirilir (Atalay, 2016). Reaktivitelerinden sebebiyle düşük konsantrasyonlarda (10^{-4} - 10^{-9} M) bulunan serbest radikaller meydana geldikleri yerden uzaklaşamazlar. Diğer kimyasal yapılar gibi serbest radikallerin reaktiviteleri de sıcaklıkla ve etrafındaki moleküllerin konsantrasyonuyla değişim göstermektedir. Bir bileşik üç farklı şekilde serbest radikal oluşabilir. Bunlardan birinci olanı, radikal olmayan atom veya molekülün bir elektron kazanması ile, ikincisi, radikal olmayan atom veya molekülden bir elektron kaybı ile, üçüncüsü ise bileşikteki kovalent bağın simetrik kırılması neticesinde iki fragmentin birer elektron kazanmasıyla serbest radikal haline geldikleri homolitik bağ kırılmasıyla meydana gelmektedir (Bardakçı, 2017). Radikaller bir defa oluşuktan sonra diğer radikallerle veya diğer moleküllerle değişik etkileşimlerle tepkimeye girebilirler. Bu reaksiyonların hızı ve seçiciliği, radikalın yüksek konsantrasyon da olmasına, radikalın tek elektronunun yer değiştirmesine ve radikalın etkileşime geçeceği molekülde zayıf bağların bulunmasına bağlı olmaktadır. Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı olarak oluşmaktadır (Çelik, 2014, Atalay, 2016).

Endojen Kaynaklar

- ✓ Mitokondriler
- ✓ Endoplazmik retikulum
- ✓ Peroksizomlar
- ✓ Fagositler
- ✓ Hücre membranları
- ✓ Otooksidasyon reaksiyonu
- ✓ Enzim reaksiyonları
- ✓ Solunumsal patlama

Eksojen kaynaklar

- ✓ Toksik kimyasal maddeler
- ✓ Radyasyon
- ✓ Antineoplastik ajanlar
- ✓ Çevresel Faktörler
- ✓ Fotokimyasal hava kirliliği
- ✓ Hiperoksi
- ✓ Böcek ilaçları
- ✓ Tütün
- ✓ Çözücüler
- ✓ Anestezik maddeler
- ✓ İlaç oksidasyonları

2.1.2.1. Reaktif oksijen türleri

Süperoksit radikali

Süperoksit anyonu, aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron almasıyla meydana gelir. Çok reaktif ve stabil bir yapıya sahipliği yoktur. Etkileşimsiz olarak hidrojen peroksite ve moleküler oksijene dönüş olabilir (Yıldırım, 2015).



O_2^- radikalleri hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu oluşturulabilmektedir. O_2^- oluşumu; elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve ortamdaki oksijen derişimi ile bağlantılıdır. Yarı ömrü uzundur (Çakır Arıcan, 2013), lipofilik özellik göstermektedir. Bu özelliği nedeni ile difüzyonla oluştuğu yerden uzak bölgelere yayılabilir (Mısır, 2013).

Bu anyon radikalinin asıl önemi Hidrojen Peroksit kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olabilmesidir (Kaya, 2016). Süperoksit radikalinin sahip olduğu özellikler; hem oksitleyici hem de indirgeyici olmasıdır (Çakır Arıcan, 2013; Medetalibeyoğlu, 2015).

Hidrojen peroksit

Bu radikal oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron kazanması veya süperoksit radikaline bir elektron ilave edilmesiyle oluşur (Çaylak, 2011; Çakır Arıcan, 2013).



Yapısında eşlenmemiş elektron barındırmadığından radikal özellik göstermez (Çakır Arıcan, 2013).

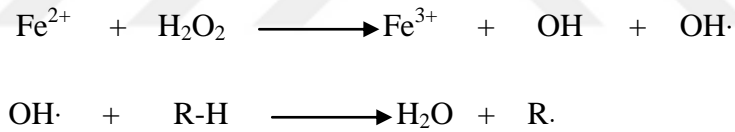
Canlılarda hidrojen peroksitin üretim süreci, süperoksitin dismutasyonu ile olmaktadır. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton yüklenecek hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni meydana getirir (Özcan vd., 2015). H_2O_2 , ortaklanmamış elektronları bulunmadığı için serbest radikal olarak adlandırılmaz

(Medetalibeyoğlu, 2015). Yalnız bir elektron aldığında hidroksil radikali (OH·) meydana getirmektedir (Yıldırım, 2015). Bu elektronu belirli metal iyonlarından temine eder. H₂O₂, membranları serbestçe girebilir ve olduğu yerden çok uzaklara gidip hücre kompartımanları boyunca ve hücreler arasında serbest radikal indüklü hasarı iletir (Medetalibeyoğlu, 2015).

Hidroksil radikali

Moleküler oksijenin üç elektron almasıyla meydana gelir. Serbest radikallerin çoğu zararlı etkileri hidroksil radikali ile olduğu bilinmektedir. H₂O₂ ve O₂⁻ bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron taşıyan ve serbest radikal karakterli geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluştururlar (Çaylak, 2011; Yıldırım, 2015).

Haber-Weiss Reaksiyonunda bakır ve demir metal iyonları bulunabilir. Reaksiyonda öncelikle Fe⁺³ iyonu süperoksit radikali tarafından Fe⁺² iyonuna döştürölür. Fe⁺² iyonunun H₂O₂ ile reaksiyonu sonucunda ise OH· radikali oluşur. Bu reaksiyon çok hızlı olur ve Fenton reaksiyonu olarak isimlendirilir.



Hidroksil radikalleri hızlı bir biçimde etrafındaki moleküllerle bağ kurarlar, çok kısa yarı ömürleri vardır (10⁻⁹ saniye). Bunun neticesinde, yarı ömürleri kendisine göre daha uzun olan ve reaktifiteleri de daha az olan radikaller meydana gelir (Yıldırım, 2015; Özcan vd., 2015).

Farklı molekülle reaksiyona girse dahi özellikle elektronca zengin bileşikler öncelikli seçimidir. Nükleik asitler (pürin ve pirimidin bazları) ve proteinler (aromatikamino asitler) ile farklı radikalik tepkimeler meydana getirmektedir (Medetalibeyoğlu, 2015).

Singlet oksijen

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin zıt yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen meydana gelir (Medetalibeyoğlu, 2015). Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu bulunmadığından radikal olarak adlandırılmaz (Yıldırım, 2015). Singlet Oksijen radikal reaksiyonları sonucunda oluşabildiği gibi bu reaksiyonlarının başlamasının da sebebidir (Bardakçı, 2017; Kaya, 2016). Vücudumuzda özellikle deri ve retina gibi güneş ışığına maruz kalan alanlarda çokca oluştuğu kanıtlanmıştır.

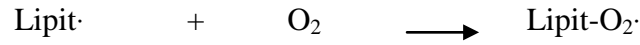
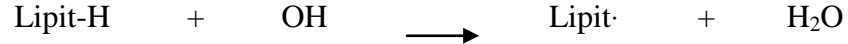
2.2. Lipit Peroksidasyonu

Serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküller lipitlerdir (Medetalibeyoğlu, 2015). Oksijenin neden olduğu lipit oksidasyonu radikal zincir reaksiyonunun tipik bir örneğidir. Bu peroksidasyon, hücrenin yaşamsal fonksiyonları için de zararlıdır (Kaya, 2016; Süleyman vd., 2018). Hücre duvarlarında ve gıdalarda bulunan kolesterol ve yağ asitleri serbest radikallerle kolay bir biçimde reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Serbest radikaller etkisi ile çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı “nonenzimatik lipit peroksidasyonu” olarak bilinir ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (Medetalibeyoğlu, 2015).

Serbest radikallerin başlattığı lipit peroksidasyonu, membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesine sebep olan ve bunun sonucu olarak da membranların lipit yapısını değiştirerek hücrenin yapı ve işleyişini bozan kimyasal bir olaydır.

Lipit peroksidasyonu temelinde; başlama, ilerleme ve sonlanma basamaklarından oluşan bir reaksiyon zinciridir. Lipit peroksidasyonunun membranda başlaması, bir hidrojen atomunu koparabilecek reaktivitede olan herhangi serbest radikalle gerçekleşebilmektedir. Hidrojen atomunun koparılmasıyla beraber, hidrojen atomunu tek bir elektrona sahip olduğu için karbon atomunda yalnızca ortaklanmamış bir elektron kalır. Çok doymamış yağ asitinde bulunan karbon radikali ise moleküler bir değişim geçirerek konjuge

bir dien oluşturmaktadır. Bu dienin de O₂ ile hızlı bir reaksiyona sonucu bir hidroperoksi radikali meydana gelmektedir. Oluşan radikal ise lipit moleküllerinden hidrojen atomları koparır bunun sonucunda ise lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonları halinde devam eder. Oluşan hidroperoksi radikalının bir hidrojen atomu ile birleşmesi sonucunda ise bir lipit hidroperoksit oluşturmaktadır. Aşağıdaki reaksiyonlar söz konusu olayları göstermektedir (Çelik, 2014; Yıldırım, 2015):



(moleküler düzenlenimden sonra)



Hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri yükseltgeyici serbest radikaller tarafından kolay bir biçimde etkilenmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinde meydana gelen oksidatif hasara lipit peroksidasyonu da (LPO) denmektedir. LPO oluşumu ile hücrede kendi kendine devam ettiren bir seri zincir reaksiyonları meydana gelmektedir. Oksidasyonla beraber meydana gelen peroksil radikalleri (LOO[·]) kendinden sonra gelen doymamış yağ asidini yükseltgeyerek yeni zincir reaksiyonları başlatırlar. Bu oluşan zincirleme reaksiyonlar ile hidroperoksitler (LOOH) meydana gelmektedir. Hidroperoksitler ise aldehitler gibi daha zararlı radikal özelliği olan türlere çevrilirler.

Biyolojik olarak aktif olan aldehitlerin çoğu, lipit hidroperoksitlerin parçalanması sonucunda oluşurlar. Hidroksialkenoller bunlardan en çok bilinenidir ve bunlar da 4-hidroksinonenal üyesidir. Oluştukları yerden diffüze olarak hücrenin diğer kısımlarına giden bu bileşikler, hücre hasarına neden olmaktadır (Yıldız, 2013; Karabulut ve Gülay, 2016; Atalay, 2016).

Reaktif oksijen türlerinin hücre fonksiyonunu bozan malondialdehit (MDA) oluşumunda ve membran lipit peroksidasyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Lipit

peroksidasyonu membran permeabilitesinin artırır. Bununla birlikte membran transportunu MDA tarafından moleküllerin içi ve arasında çapraz bağlantılar oluşturularak inaktive edilir (Karakoç, 2015).

LPO oluşumundan sonra membran yapısındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girer ve peroksidasyon ürünleri oluşturur. Bu oluşum membranda yapısında değişikliklere yol açar. Bunları kısaca özetlersek,

- 1-) LPO oluşumu esnasında meydana gelen lipit hidroperoksitleri hücre membranı üzerindeki enzimlerin aktivitelerini bozarak onları çalışamaz hale getirir.
- 2-) Hücre membranı üzerinde bulunan yağ asidi sayısında azalma meydana gelir.
- 3-) Hücre membranının temel yapı taşlarından birisi olan yağların vizkozitesini bozar.
- 4-) Hücre membranı üzerindeki protein–lipit ilişkisini ise tiyol gruplarını yükseltgeyerek bozulmasına neden olur.
- 5-) LPO nedeni ile meydana gelen serbest radikaller hücre membranının dışında da farklı moleküllerde bozulmalara neden olurlar.

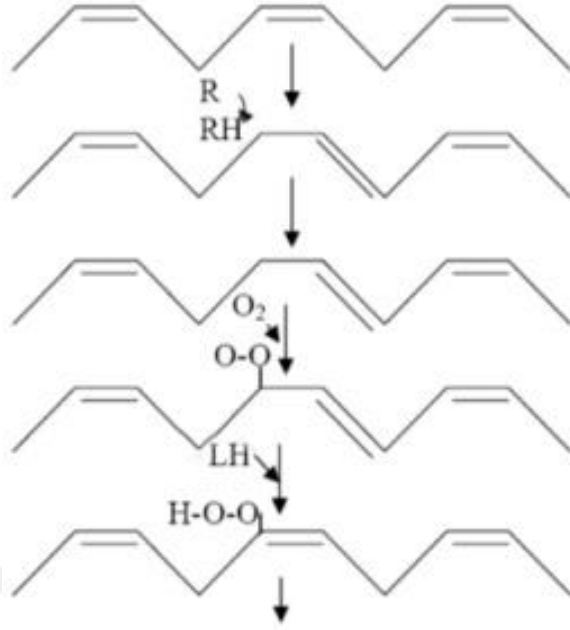
Zincirleme bir reaksiyon olan LPO, lipit hiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle son bulmaktadır. Bu bileşiklerden sonuncusu olan MDA'nın miktarı tiyobarbitürik asit ile ölçülmektedir ve bu yöntem lipit peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Şekil 2.1) (Yıldız, 2013; Karakoç, 2015).

**Lipit peroksit
Radikali (LOO[·])**

Lipit radikali

**Lipit peroksit
Radikali (LOO[·])**

**Lipit hidroperoksit
(LOOH)**



Parçalanma Ürünleri: (Aldehitler, karbonil bileşikler, etan, pentan v.b.)

Şekil 2.1. Çoklu doymamış yağ asitlerinde peroksidasyon

2.3. Protein Oksidasyonu

Proteinlerin ROT ile direkt veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile indirekt reaksiyonu sonucu meydana gelen modifikasyona protein oksidasyonu denir (Karakoç, 2015; Büyükgüzel ve Kayaoğlu, 2014; Bastıoğlu vd, 2016). Tanımda da belirtildiği gibi protein oksidasyonu yalnızca ROT ile uyarılmaz bunun yanı sıra ROT etkisiyle meydana gelen lipit peroksidasyon ürünleri [MDA, 4-hidroksi-2-noneal (4-HNE), 2-propenal] ve şeker gibi gliksidasyon ürünleri de proteinlerin aminoasit miktarında değişikliklere sebebiyet vermektedir. Modifikasyona uğrayan proteinler, polipeptit zincirlerinin parçalanmasıyla düşük molekül ağırlıklı ürünler oluşturmasının yanı sıra protein-protein çapraz bağları ile yüksek molekül ağırlıklı ürünlere de dönüşebilirler. Bu oksidatif değişimler ise hücrede önemli roller olan proteinlerin yapı ve işlevlerini etkiler (Karakoç, 2015). ROT'nin proteinlerle reaksiyona girmesi ile histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asit kalıntısında ya da peptid dizisindeki oluşan oksidatif hasar neticesinde protein karbonil (PCO) ürünleri oluşur (Büyükgüzel, 2013; Karakoç, 2015). Oksidatif

protein hasarını belirlemede, PCO düzeylerinin saptanmasının önemli bir metod olduğu bildirilmektedir (Büyükgüzel ve Kayaoğlu, 2014; Çolak ve Ağaçcıoğlu, 2018). Proteinlerin üç boyutlu yapısı oksidasyona uğradığında bozulur. Bunun sonucu olarak da proteinin çökme ve parçalanma hızında artış, enzimlerin aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarında bozulma, enzim inhibisyon aktivitesinde kayıp, protein kaybının artmasına veya azalmasına yatkınlık, reseptörler aracılığıyla yapılan endositozda bozulma, gen anlatımında değişiklik, alerjik tepkilerde artış görülür. Proteinlerin oksidatif olarak hasara uğraması, kardiyovasküler sistem hastalıkları da dahil olmak üzere pek çok metabolik bozukluk ile hastalığın oluşmasına ve ilerlemesine neden olur.

2.3.1. Protein oksidasyonunun türleri

Protein oksidasyonuna yol açan başlıca moleküler mekanizmalar; PCO meydana gelmesi, tiyol gruplarındaki kayıp, nitrozin oluşması ve daha fazla okside protein ürünlerinin oluşumudur. Oksidasyonla ilgili mekanizmalar çok fazla olduğundan ötürü proteinlerde meydana gelen oksidatif modifikasyonuyla ilgili kabul görmüş genel bir sınıflandırma şekli yoktur. Ancak oksidasyonun oluştuğu protein kalıntısının ve ortaya çıkan ürünün özelliğine göre proteinlerde meydana gelen oksidasyon iki gruba ayrılabilir.

1. Global Modifikasyon: Birden fazla protein kalıntısının değiştiği ve birden çok ürünün ortaya çıktığı modifikasyona global modifikasyon denir. Karbonil gruplarının oluşumu bu tür modifikasyonun bir örneğidir.

2. Spesifik Modifikasyon: Hem yükseltgenen protein kalıntısının, hem de meydana gelen ürünün oldukça spesifik olduğu modifikasyonlara spesifik modifikasyon denir. Ditirozin oluşumu bu tür modifikasyonun bir örneğidir (Karakoç, 2015).

Serbest radikallerin sebebiyet verdiği protein modifikasyonunun mekanizması hakkında sahip olduğumuz bilgiler; Swallow (1960), Garrison vd. (1962) ve Shuessler ve Schilling (1984) tarafından, HO[·] ya da O₂^{-·} radikallerinin meydana gelmesini sağlayacak oksijen varlığında, proteinin sulu çözeltisinin iyonize radyasyona (X ışınları, gama ışınları) maruz bırakılması ile elde edilen sonuçlardan elde ettiklerimizdir (reaksiyon b).

Proteinlerdeki yapısal değişim; çökme ve parçalanmadaki artışa ilaveten sekonder ve tersiyer yapının bozulmasında da artışa neden olur. Böylece proteinlerin proteolize yatkınlığına ve doğal işlevlerinde azalmaya neden olur.

2.4. Oksidatif Karbonhidrat Hasarı

Hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu meydana gelir, Serbest radikallerin saldırıları sonucu polisakkaritlerin depolimerize olduğu bildirilmiştir (Bardakçı, 2017). OH·'nin karbonhidratlar da dahil olmak üzere hemen hemen tüm biyomoleküllere hasar verdiği bilinmektedir. Bu gerçek, Anbar ve Neta'nın yaptığı bir çalışmadan anlaşılmaktadır (Anbar ve Neta, 1967). Karbonhidratlarda oksidan hasarın ölçülmesi ile ilgili olarak bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem ile deoksiriboz şekerine olan oksidatif hasar ölçülebilmektedir (Aruoma, 1998). Öte yandan bağ dokudaki mukopolisakkaritlerden birisi olan hiyaluronik asidin, ödemli eklem hastalıklarında hücreler arası sıvıda artmış olan H₂O₂ ve O₂OH⁻ ile parçalandığı bildirilmiştir (Yapar ve Tanrıverdi, 2016).

2.5. Antioksidanlar

2.5.1. Antioksidan savunma sistemlerine genel bir bakış

Serbest radikallerin canlılarda meydana getirdiği hasarı ortadan kaldırmak için çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır (Yalçınkaya, 2013; Odabaş, 2013; Atalay, 2016). Bu mekanizmalardan en önemli etki mekanizması serbest radikalleri inaktif 7 maddelere dönüştürmesidir (Odabaş, 2013). Canlılarda ana savunma mekanizması antioksidanlardır. Kısaca antioksidanlar vücutta zararlı etkileri olan serbest radikallere ve oksidatif strese karşı savunma sağlayan suda ya da yağda çözünebilir hayati biyomoleküllerdir. Bu moleküllere “antioksidan savunma sistemleri” denilmekte olup bu sistemde kullanılan moleküllere ise “antioksidanlar” adı verilir (Belviranlı vd., 2017). Aerobik organizmalar içerisinde antioksidan savunma sistemlerine sahip olanlar, substrat oksidasyonu ve aerobik solunum sonucunda ROT üretimini engellemektedir. Aerobik organizmalarda hidroksil radikalleri (OH·), süperoksit anyonları (O₂·⁻) ve hidro-

jen peroksiti (H_2O_2) içeren reaktif oksijen türlerinin küçük miktarları, hem iç hemde dış uyarıcılara karşılık sürekli olarak üretilmektedir (Tuna Keleştemur ve ark., 2011; Balı, 2014). Günümüzde en güçlü, en reaktif oksijen türevi olarak hidroksil radikali bilinmektedir. Hidrojen peroksit; Fenton tepkimesi ve Haber-Weiss tepkimeleri ile $HO\cdot$ radikali meydana getirmektedir (Balı, 2014).

Radikal oluşumunun sınırlandırılması, radikal reaksiyonlarının durdurulması, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve hasarlı moleküllerin yok edilmesinden sorumlu moleküllere antioksidan denir. ROT üretimi ve farklı antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlik, antioksidanların azlığından ya da ROT'un artan oluşumundan ortaya çıkan ve yukarıda bahsedilen oksidatif stresle sonuçlanır (Tuna Keleştemur ve Özdemir, 2011; Aydın, 2012). Canlılarda, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve reaktif oksijen türlerinin sebebiyet verdiği zararları önlemek için çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Canlılarda bulunan mekanizmalara genel olarak antioksidan savunma sistemleri olarak tanımlanmaktadır (Aydın, 2012).

Antioksidan savunma sistemlerini genel açıdan hücre içi ve hücre dışı olarak iki grupta incelenir. Hücre içi enzim olan antioksidanlar; SOD, CAT ve GPX'tir. Hücre içi enzimatik olmayan antioksidanlar ise askorbat, Glutasyon, membranlara bağlanabilen Vitamin E, Vitamin A, seruloplazmin ve bilirubindir. Hücre dışındaki savunma sistemine baktığımızda; metallothionein gibi serbest radikal yok edicileri ve Çinko gibi eser elementlerden meydana gelir.

Antioksidanların bir diğer tanımı ise serbest radikalleri etkisiz hale getirmek için karşılıklı etkileşim halinde olan iç ve dış kaynaklı, çok çeşitli bileşikler olarak yapılmaktadır. Bu bileşikler arasında gıda kaynaklı antioksidanlar (Vitamin C, Vitamin E, lipoik asit ve karotenoidler v.b.), antioksidan enzimler (SOD, glutasyonperoksidaz, glutasyon redüktaz gibi), metal şelatlayıcı proteinler (albümin, seruloplasmin, ferritin, laktoferrin, gibi) ve bitkilerde bulunan çeşitli antioksidan besin maddeleridir. Diğer anlatımla, radikal oluşumunun sınırlandırılmasında, radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesinde, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesinde ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasında sorumlu moleküllere antioksidan denir (Tuna Keleştemur ve Özdemir 2011).

Antioksidanların etki mekanizması aşağıdaki gibidir:

- a) Ortamdan oksijeni uzaklaştırır ya da bölgesel olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltır.
- b) Aktifleştirici metal iyonlarını bağlayarak ortamdan uzaklaştırır.
- c) Reaktif oksijen türlerinden olan süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip yapıları ortamdan uzaklaştırır ya da daha zayıf moleküllere çevirirler.
- d) Organizmada serbest radikal hasarına yol açabilecek zincirleme reaksiyonların başlamasını önlerler.
- e) Serbest radikallerden kaynaklanan hasarı onarıcı etki gösterirler (Özcan vd., 2015).

Reaksiyon sonucu oluşan serbest radikallerin ortadan kaldırılması:

- a) Scavenging (Temizleyici) etki: ROT'ne etki ederek bağlama ya da çok daha az reaktif başka bir moleküle dönüştürme
- b) Quencher (Bastırıcı) etki: ROT ile reaksiyona girip onlara bir proton ekleyip aktivitesini kaybetmesine neden olma
- c) Repair (Onarıcı) etki: ROT'nin etkilerini onarma
- d) Chain breaking (Zincir kırıcı) etki: ROT'ni ve ardışık reaksiyonları başlatacak diğer maddelerle reaksiyona girip bunları bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını önleyici etki (Tuna Keleştemur ve Özdemir, 2011).

Normal şartlarda organizmada oluşan serbest radikallerle bunlara karşı oluşan antioksidan savunma sistemleri dengededir. Bu denge, serbest radikaller lehine bozulduğu zaman oksidatif stres oluşmaktadır (Karakoç, 2015).

Antioksidanlar radikal oluşumunun sınırlandırılmasından, radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesinden, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesinden ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasından sorumlu moleküller olarak bilinmektedir (Eren, 2011; Bozkurt,

2014). Bunlar sınıflandırılması, iç kaynaklı ve dış kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar olarak da sınıflandırmaktadır (Bozkurt, 2014). ROT'nin oluşumu ve farklı antioksidan savunma sistemleri arasındaki uyumsuzluk, antioksidanların azlığından ya da ROT'in artan oluşumundan ortaya çıkan oksidatif stresle sonuçlanır (Eren, 2011). Oksidatif stres ise hücre hasarına hatta hücre ölümüne neden olabilmektedir (Eren 2011; Karakoç, 2015).

2.5.1.1. Diyetle alınan antioksidanlar

Oksidasyonu önemli düzeyde geciktiren veya engelleyen maddeler olarak tanımlanan antioksidanlar (Karabulut ve Gülay, 2016), hayvan ve insanlarda hastalıklara direnç ve immün yeterlilik ile ilişkilendirilmektedir (Bayaz, 2013; Gürbüz, 2018). Meyve ve sebzelerin içeriğinde bulunan ve antioksidan etkisi olduğu bilinen fenolik bileşikler, vitaminler ve karotenoidlerin, oksidatif stresle bağlantılı hastalıklardan korunmada önemli bileşikler olarak öne çıktıkları görülmektedir (Çakır Arıcan, 2013; Baladura ve Şimşek, 2013; Şengül vd., 2018). Gıdalarda varolan antioksidanların temel taşına meydana getiren fenolik bileşikler, rezonans hibritleri yoluyla düşük enerjili serbest radikaller oluşturmalarına olanak tanımaktadır (Baladura ve Şimşek, 2013). Bu nedenle son dönemde özellikle diyetle alınan gıdaların sahip olduğu antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi bilimsel alanda her geçen gün daha fazla ilgi çekmektedir (Çakır Arıcan, 2013).

Diyetle alınan antioksidanların en çok bilinen temsilcileri; C vitamini, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidlerdir. C vitamininin dışındaki antioksidanların her bir grubu yapısal olarak farklı bileşiklerin bir dizisinden ibarettir. Örneğin; 600'den fazla karotenoid olduğu bilinmektedir ve bunların 50 tanesi insan diyetinde vardır (Çağlayan, 2013).

Bilimsel alandaki literatürlere bakıldığında, diyetle alınan antioksidanların serbest radikallere karşı organizmayı korunmada yararlı olduğu ve insanlarda pek çok hastalığın ve kanserin önlenmesinde önemli rol oynadıkları görülmektedir (Çaylak, 2011).

2.5.1.2. Doğal antioksidanların yapıları

Beslenmenin insan sağlığı ve yaşam süresi üzerine etkisinin kesin bir şekilde ortaya konulmasıyla birlikte ekonomik refahı üst düzeyde olan ülkelerde doğal antioksidanların tüketiminin arttığı görülmektedir.

Doğal antioksidanların en önemli ve ucuz kaynaklarından birisi bitkiler olduğu için insanların beslenme rejiminde bitkisel orijinli gıdaların tüketilmesi teşvik edilmekte ve giderek artmaktadır. Bitkilerde bulunan ve başlıca antioksidan bileşiklerden olan fenolik bileşikler, özellikle meyve ve sebzelerde bulunan flavonoidlerin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Öğüt, 2014; Okumuş vd., 2015).

Doğal antioksidanları tanımlayacak olursak; bunlar bitki ve hayvan dokularında elde edilebilen ya da besinin işlenmesi aşamasında açığa çıkan bileşenlerdir. E vitamini türevleri, flavonoidler, fenolik asitler, askorbik asit, karotenoidler, polifenoller ve selenyum önemli doğal antioksidanlar olarak bilinmektedir (Çakır Arıcan, 2013). Doğal antioksidanların gıdalarda bulunan ve kolay olarak oksitlenmeye yatkın maddeleri oksidasyondan korudukları gösterilmiştir (Faydaoğlu ve ark., 2013). Günümüzde besin kimyası ve alternatif tıbbın bitkisel kaynaklı ve doğal antioksidanlara olan ilgisi giderek artmaktadır. Bunu nedeni ise BHA ve BHT gibi yapay olarak tüketilen antioksidanların kanserojen etki gösterdiklerinin düşünülmesidir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

Tokotrienollerin ve α -, β -, δ -, γ - tokoferollerin ait olduğu grup olan tokoferoller biyolojik aktivitesi yüksek olan antioksidanlardır. Özellikle α -tokoferol, vitaminler arasında en güçlü olanlardan ve yiyeceklerde de en fazla bulunan antioksidanlardan birisidir. Bunlar arasında en fazla antioksidan aktiviteye sahip olanı ise γ -tokoferol'dür (Bozkurt ve Baştürk, 2018).

Dokularda önemli zincir kırıcı antioksidanlarda birisi olan E vitamininin lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan aktivite gösterdiği ve serbest radikal saldırılarından hücre membranlarını koruduğu bilinmektedir.

E vitamininin temel kaynağı yağ bakımından zengin bitki ve hayvansal besinlerdir. E vitamini türevlerinden olan tokotrienoller, palm yağı ve pirinç kepeğinde yüksek miktarda bulunmasının yanı sıra, hindistan cevizi yağı, kakao yağı, soya fasülyesi, arpa, buğday, kırmızı et ve yumurtada da bulunmaktadır. Sadece tokoferol içeren besinler ise ayçiçeği, yer fıstığı, ceviz, susam ve zeytinyağı olarak sıralanmaktadır (Güleşçi ve Aygöl, 2016).

Flavonoidler: Bitki fenollerinin en geniş sınıfını difenilpropan ($C_6C_3C_6$) iskeletine sahip flavonoidler oluşturmaktadır (Çakır Arıcan, 2013; Arıduru, 2013). Ayrıca bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenolik bileşiklerdir (Arıduru, 2013).

Latince flavus (sarı) kelimesinden köken alan, bitkilerden elde edildiği ve genellikle sarı renkli olduğu için bu bileşikler “flavonoid” olarak adlandırılmıştır.

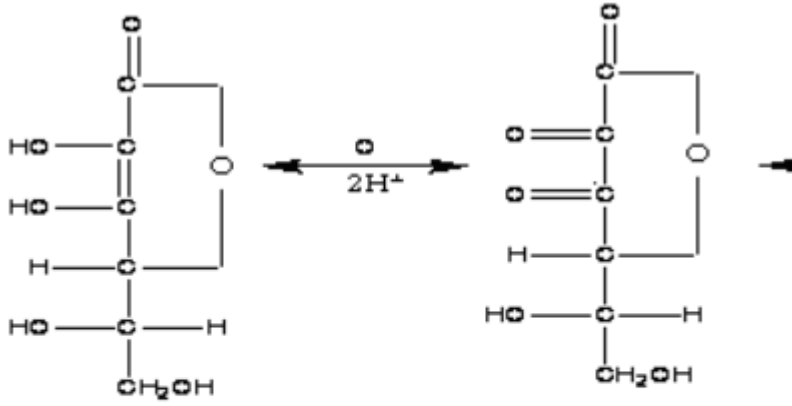
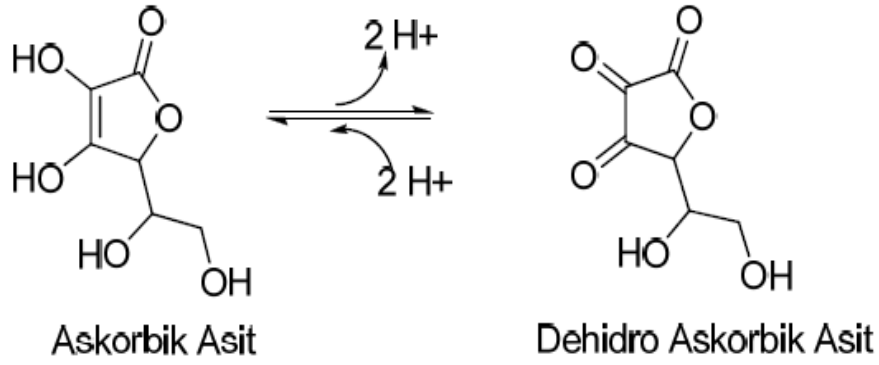
Flavonoidlerin belirlenmesi amacıyla yapılan bilimsel çalışmalarda şu ana kadar bitkisel kaynaklı 4000’den fazla flavonoidizole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bunların tamamının antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve yaklaşık 50 tanesinin ise besinlerde doğal olarak bulunduğu tespit edilmiştir

Meyve ve sebzelere kırmızı, turuncu, sarı, mavi ve mor rengi veren flavonoidlerin çoğu polifenolik bitki pigmentidir. Bunlar arasında yeşil çayda bulunan epigallokateşin gallat (EGCG) bilinen flavonoid ise yapılan çalışmalarda umut vaat edici antikansorejen fenoliklerden biridir (Çakır Arıcan, 2013; Özenç, 2011; Ayhan, 2015).

Fenolik asitler: Bu asitler hidroksi benzoik ve hidroksi sinamik asitler olarak adlandırılan farklı iki sınıftan oluşmaktadır (Özenç, 2011; Ayhan, 2015).

Fenolik asitlerin ve esterlerinin antioksidan etki kapasiteleri, sterik engelleme ile güçlenen moleküldeki hidroksil gruplarının miktarına bağlıdır.

Askorbik asit: Askorbik asit (C vitamini, askorbat) vücutta sentezlenemeyen ve suda çözünebilen bir vitamindir. Çok kolay bir şekilde serbest radikal şekli olan dehidroaskorbik aside okside olabilir ve bu nispeten kararlı bir formdur. Daha ileriki oksidasyon basamaklarında hiçbir biyolojik fonksiyonu olmayan diketo gulonik aside dönüşür.



L(+)-Askorbik asit

Dehidroaskorbik asit

Şekil 2.3. Askorbik asidin redoks reaksiyonu ile dehidroaskorbik aside dönüşmesi (A.Yavaşca, 2009)

Hem askorbik asit hem de bunun bir elektron yükseltgenmiş hali olan askorbil radikali düşük indirgeme potansiyeline sahip olduğu için kendisine spesifik olan radikal ve oksidan maddelerle reaksiyona girer. Askorbil radikalının ise eşleşmemiş elektronun rezonans kararlılığı nedeniyle indirgeme potansiyeli düşüktür ve kolayca askorbat ve dehidro askorbik asite dönüşür. Bununla birlikte, vitamin C askorbil radikalının yanı sıra dehidroaskorbik asittende enzimatik veya non enzimatik yollarla kolay bir biçimde üretilir. Bu özelliklerinden dolayı askorbik asit etkili bir antioksidandır. Dolayısıyla

reaktif oksijen, reaktif azot ve reaktif klor türlerini kolayca ortadan kaldır ve böylece olası substratları oksidatif hasara karşı korur. Yüksek konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesi olduğu gösterilen askorbik asidin, düşük konsantrasyonlarda prooksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Bitkilerde doğal olarak bulunan renk pigmentlerinden biriside karotenoidlerdir. Fotooksidasyon süreçlerine karşı bitkilerin korunmasını sağlar, A vitamini öncüsü olan β -karoten en önemli karotenoiddir (Çakır Arıcan, 2013; Güleşçi ve Aygöl, 2016). Doğada da en yaygın olarak bulunan pigment maddeleri karotenoidlerdir (Kasnak vd., 2014).

Singlet oksijenin (1O_2) ve peroksil radikallerinin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasıdaki en etkili antioksidan gruplardan birisi karotenoidlerdir. Bunlar arasında en iyi 1O_2 tutucusu ise likopen olarak bilinen β -karotenin açık zincirli analogudur. Likopen LDL (low density lipoprotein) 'nin oksidatif hasara uğramasını önleyerek ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıkların gelişmesini de engeller (Çakır Arıcan, 2013).

Günümüze kadar bitkilerden ve çoğu mikro organizmalardan 600'ü aşkın karotenoid izole edilmiştir. Bu karotenoidlerin büyük bir kısmı çiçek ve meyvelerin renklerinin yanı sıra birçok kuş, böcek ve deniz hayvanına rengini veren gruptur (Çakır Arıcan, 2013).

Antioksidan/Prooksidan mekanizma

ROT ve serbest radikaller adı verilen toksik ara ürünlere; özellikle süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH\cdot$), hidroperoksil radikali ($HO_2\cdot$) ve hipoklorit (OCl^-) örnek verilebilir. Tüm bu reaktif oksijen türleri organizmalara karşı zararlıdır. Canlı organizmaların hayatta kalması ve fonksiyonlarını doğru şekilde yapabilmesi için ROT'ların hücrelerde hızlı ve etkin biçimde elimine edilmesi gerekmektedir. Bunun için organizmalar 'antioksidan koruma sistemi' geliştirmişlerdir (Çolak, 2018).

Antioksidanlar ise ROT ve serbest radikallerin tahrip edici etkisine (oksidasyon) karşı organizmayı koruyan maddelerdir. Organizma hem sindirim, solunum, hastalık, gibi metabolik olaylar hem de çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli olarak hasara maruz kalmaktadır. Bu maruziyet esnasında ve sonrasında oluşan oksidan maddeler hücre ve dokulara saldırarak yıkıma sebebiyet verirler. Organizmada ROT ve diğer prooksidanlar, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal temizleyiciler ve antioksidan enzimler tarafından etkisiz hale getirilir. ROT'ne karşı hücre içinde ve hücre dışında enzim ve nonenzim savunma mekanizması antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılmaktadır (Aslan, 2018).

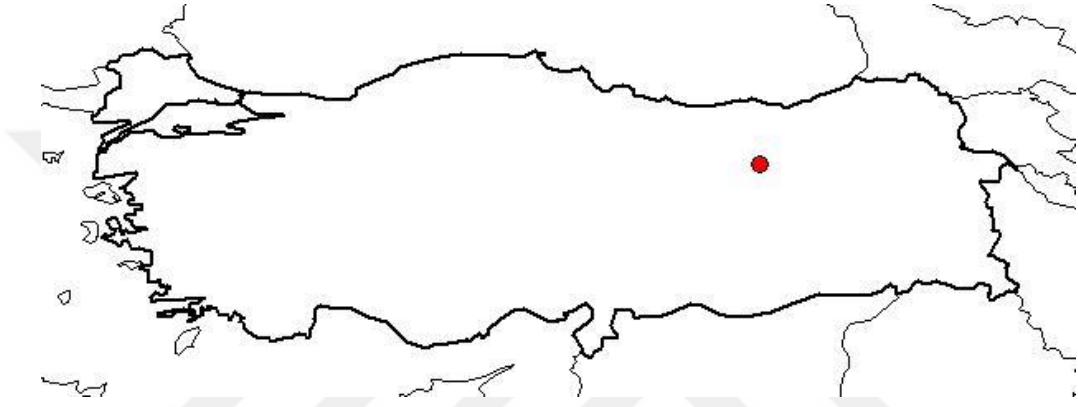
Kimyasal olarak reaktif, bir ya da daha fazla oksijen atomu içeren moleküllere ROT denir. Bunlar radikalleri ve biyolojik molekülleri yükseltgeyebilen fakat radikal olmayan reaktif bileşiklerdir. Bu yüzden ROT aynı zamanda hem oksidanlar hem de prooksidanlar olarak da bilinmektedir (Mısıır, 2013).

ROT'nin prooksidan özelliği olmasına rağmen bunların aynı zamanda, serbest radikal oluşumunu en düşük seviyeye indirmeye özelliği de olabilir (Tuna Keleştemur ve Özdemir, 2011). Prooksidanlar metalleri şelatlayarak da antioksidan etki gösterebilir (Selen İşbilir, 2008).

Sigler ve arkadaşları (1999), oksijenin serbest radikal oluşturarak yarattığı toksik etkilerinin ilk kez Gershman (1954) ve Harman (1956) tarafından önerildiğini, oksidatif stres teriminin ise ilk kez 1978 yılında Fridovich tarafından ortaya atıldığını bildirmişlerdir. Hücre ya da organizmadaki prooksidan- antioksidan dengesinin zarar görmesi (prooksidana doğru kayması ile) olarak tanımlanmıştır. Prooksidanlar, ROT oluşturmaya ya da antioksidan sistemleri inhibe ederek oksidatif stresi indükleyen kimyasallardır. Birçok çevresel oksidatif stresin (hiperbarik oksijen, gama radyasyonu, yakın UV-ışınması, ozon, peroksitler, redoks çevrimi, ilaçlar) hem prokaryotik hem de ökaryotik hücreler için toksik sonuçları bulunmaktadır (Ünlü Büyüktopçu, 2012).

Bellevalia crassa

Erzincan ili endemik bitki ve bitki çeşitliliği açısından oldukça zengin bölgedir. Bu bölgede endemik bitki zenginliğinin ana nedenleri jeolojik ve toprak yapısındaki değişkenlik, iklim elemanlarındaki değişkenlik, kısa mesafelerdeki bakı, eğim ve topoğrafyadaki değişkenlik ve gözlem yapılan bu bölgenin iki flora bölgesinin geçişinde olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.4. Türkiyede *Bellevalia crassa*'nın yetiştiği bölge

Erzincan ilinde 1031 çeşit bitki kayıt altına alınmıştır. Bu bölgede yapılan arazi incelemelerinde doğal olarak yaşayan bitki çeşidi 2000 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Endemik olarak ele alındığında 437 adet bitki olduğu kanısına varılıyor. Bu 437 endemik bitkinin 50 tanesi ise dünyada tek yaşam alanı Erzincan'dır.

Manolya alt sınıfı (magnoliidae) familyasından olan *Bellevalia crassa* (Başak Sümbülü), Kuşkonmazgiller (Asparagaceae) cinsi içerisinde yer almaktadır. *Bellevalia*'nın (Kırs Sümbülü) Türkiye'de 23 türü vardır. Bu türlerin %56,5'i endemik bitkidir. *Bellevalia crassa* (Başak Sümbülü) Erzincan'da endemik olarak bulunan bitkiler arasındadır (Kandemir, 2012; Kandemir vd., 2015; Korkmaz vd., 2013).

Erzincan İli Refahiye İlçesi'nde 1934 yılında toplanan, bilim dünyasının 1980 yılında tanıdığı tür (Wendelbo, 1984) tip örneğini takiben, *Bellevalia crassa* ikinci kez bizim çalışmamız dahilinde toplanmıştır. Bu türün tip lokalitesine Doğan köy-Uluyamaç (İliç)

arasında kuş uçuşu 68,76 km uzaklıkta serpantin alanda rastlanmıştır. İlk yıl çiçeklenme döneminin sonu olduğu için Refahiye popülasyonundan 12 adet ikinci yıl 87, İliç popülasyonunda ise ve 28 birey gözlenmiştir. Refahiye için popülasyon dağılım alanı km^2 de 0,14 olarak bulunmuştur. Erzincan İli'ndeki benzer habitatlarda bu türe rastlanmamıştır. *Bellevalia crassa*, serpantin anakaya üzerinde organik madde bakımından zayıf, bitki örtüsünün % 10'u geçmediği hareketli ve yamaç topraklara uyum sağlamıştır. Refahiye İlçesi'nde bulunan bitkilerin Erzincan-Sivas karayolu kenarında olması, İliç İlçesi'nde gözlemlenen bitkilerin ise maden alanı içerisinde olması bu bitkinin yaşamını sürdürmesi bakımından risk oluşturmaktadır. Yayılış alanı 100 km^2 den azdır, yayılış alanında ve yaşam alanında düşüşler mevcuttur, popülasyonlar ciddi derecede parçalanmıştır. Bu yüzden türün IUCN kategorisinin CR [B1ab (i,ii); C2a(i)] olmasının uygun olduğuna karar verilmiştir (Kandemir vd., 2015; TÜBİVES, 2019).



Şekil 2.5. *Bellevalia crassa* bitkisi

Bellevalia crassa bitkisi 1402 m rakımlı Refahiye-İmranlı ilçeleri arası, Refahiye çıkışı 1.km, akıntılı yamaçlarda bulunmaktadır. Çok yıllık otsu bitkisi olup, çiçeklenme dönemi Mayıs ayıdır. Bitkinin yaprak sayısı 2 adet olup, ana gövdeden kısa, 26-35 mm büyüklüğünde, ters yumurtamsı şekilli, sivrilmiş uçlu, kenarları düz, gövde 6,5-12,5 cm, çiçek durumu yarım bazal, sık çiçekli, çanak yapısı sarı-mor renkli 5,5 mm, tübsü, çiçek sapı 0,5-1 mm, kalınlaşmış kapül ve morumsu renkli yapıya sahiptir (Davis, 1965-1985).

Yapılan literatür taramasında *Bellevalia crassa*'nın *in vitro* antioksidan etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla bizim çalışmamız bu alanda ilk olacaktır ve alan literatürüne katkıda bulunacaktır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Maddeler

- 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma)
- 2,4-Dinitrofenil hidrazin (DNPH) (Sigma)
- Absolu etanol (Riedel-de Haen)
- Tiyosiyanat (Riedel-de Haen)
- Asetik asit (Merck)
- Askorbik asit (Sigma)
- Bleomisin sülfat (Calbiochem)
- Bovin serum albumin (BSA) (Sigma)
- Chelex-100 resin (Sigma)
- Demir (II) klorür (FeCl_2) (BDH Chemicals)
- Demir (III) klorür (FeCl_3) (Riedel-de Haen)
- Dietilentriaminpentaasetik asit (DETAPAC) (Sigma)
- Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) (Merck)
- Etil asetat (Merck)
- Ferrozin (Sigma)
- Guanidin-HCl (Fluka)
- H_2O_2 (Merck)
- HCl (Merck)
- Hipoksantin (Sigma)
- Ksantin oksidaz (Sigma)
- Linoleik asit (Aldrich)
- Metanol (Merck)
- MgCl_2 (Merck)
- NaOH (Merck)
- Nitroblu tetrazolyum (NBT) (Amresco)
- Polioksietilen-sorbitan monolaurat (Tween-20) (Sigma)

- Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck)
- Potasyum ferrik siyanit [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (Riedel-de Haen)
- Sığır timus DNA (Calbiochem)
- Tiyobarbiturik asit (TBA) (Merck)
- Tiyosiyonat (SCN) (Sigma)
- Trikloro asetik asit (TCA) (Sigma)
- Tris [hidroksimetil] aminometan (Tris) (Sigma)
- *Bellevalia crassa*

3.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler

- Çalkalamalı kaynar su banyosu (Memmert WB14)
- Distile su cihazı (Burgwedel GFL-2004)
- Etüv (Heraeus)
- Hassas terazi (Sartorius)
- pHmetre (Mettler Toledo MP 220)
- Pipetler (otomatik (Ependorph 1000 μL , Gilson 100 μL) ve cam)
- Santrifüj (Hettich Eba 8S)
- Spektrofotometre (Beckman DU 520)
- Vorteks (IKA-RH)
- Çalkalamalı karıştırıcı (IKA KS 125 basic)
- Mavi bant filtre (S&S)

3.3. Yöntem

Bu çalışmada, *Bellevalia crassa* bitkisi 1402 m rakımlı Refahiye-İmranlı ilçeleri arası, Refahiye çıkışı 1. km, akıntılı yamaçlarda çiçeklenme dönemi olan Mayıs ayında Doç. Dr. Mustafa Korkmaz tarafından toplanmış ve tür tayini yapılmıştır. Çalışmada 4 gram *Bellevalia crassa* bitkisininin 100 ml distile su içerisinde infüzyonu yapılmış ve “%4” lük infüzyon hazırlanmış stok solüsyon hazırlanmış diğer infüzyonlar bu stoktan seyreltilmiştir. Bu infüzyonlar, aşağıdaki şekilde adlandırılmıştır:

- “Kontrol”
- 1 gram/100ml (“%1”)
- 2 gram/100ml (“%2”)
- 4 gram/100ml (“%4”)

3.3.1. *in vitro* deneyler

3.3.1.1. Toplam antioksidan aktivitenin (lipit oksidasyonu) ölçülmesi

Lipit oksidasyonunun ölçülmesi, Mitsuda ve arkadaşlarının (1966) tiyosiyanat metoduna göre aşağıda ifade edildiği şekilde gerçekleştirildi (Lenz vd., 1989; Öztan, 2006).

Gerekli Çözeltiler:

- Fosfat tamponu (pH 7.4): 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mM olarak hazırlandı.
- Bovin Serum Albumin (BSA) çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mg/ml olarak hazırlandı.
- FeCl₃ çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 100 µM olacak şekilde deney günü yeni hazırlandı.
- H₂O₂ çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 2 mM olacak şekilde deney günü yeni hazırlandı.
- Askorbik asit çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 200 µM olacak şekilde deney günü yeni hazırlandı.
- 20 mM DNPH çözeltisi: Bu çözelti 2 M HCl'de hazırlandı.
- %20'lik soğuk (+4°C) TCA çözeltisi
- Etanol-Etil asetat (1 : 1 (v/v)) çözeltisi
- 2 M Guanidin-HCl (pH 6.5) çözeltisi

Deneyin Yapılışı:

Reaksiyon karışımının son hacmi 1.2 ml

0.2 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

fosfat tamponu

+BSA

+FeCl₃

+H₂O₂

+askorbik asit

karıştırıldı ve 37°C'de 1 saat inkubasyon uygulandı

+1 ml DNPH + 1 ml TCA

karıştırıldı ve 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi

Protein, 3 kere 1 ml etanol-etil asetat ile yıkandı,

2 ml guanidin-HCl'de çözüldü.

Absorbans köre karşı 360 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Hesaplama:

Protein oksidatif hasarının antioksidan tarafından inhibisyonu aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_o - A_x) / A_o] \times 100$$

A_o = Kontrolün absorbansı (Kontrol, antioksidan çözeltisini içermez.)

A_x = Örneğin varlığındaki absorbans

3.3.1.2. Protein Oksidasyonun Ölçülmesi

Protein oksidasyonu, Lenz ve arkadaşlarının yöntemine (1989) göre aşağıdaki gibi ölçüldü.

Gerekli çözeltiler:

- Fosfat tamponu (pH 7.4): 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde hazırlandı.
- Bovin Serum Albumin (BSA) çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mg/ml olacak şekilde hazırlandı.
- $FeCl_3$ çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 100 μ M olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- H_2O_2 çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 2 mM olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- Askorbik asit çözeltisi: 1.2 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 200 μ M olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- 20 mM DNPH çözeltisi: Bu çözelti 2 M HCl'de hazırlandı.
- %20'lik soğuk (+4°C) TCA çözeltisi
- Etanol-Etil asetat (1 : 1 (v/v)) çözeltisi
- 2 M Guanidin-HCl (pH 6.5) çözeltisi

Deneyin Yapılışı:

Reaksiyon karışımının son hacmi 1.2 ml

0.2 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

+ fosfat tamponu

+ BSA + FeCl₃ + H₂O₂

+ askorbik asit

Karıştırıldı ve 37°C'de 1 saat inkubasyona tabi tutuldu.

+ 1 ml DNPH + 1 ml TCA

Karıştırıldı ve 3000 g'de 10 dak. santrifüj edildi.

Protein, 3 kere 1 ml etanol-etil asetat ile yıkandı ve 2 ml guanidin-HCl'de çözüldü.

Absorbans köre karşı 360 nm dalgaboyunda spektrofotometrede okundu.

Hesaplama:

Protein oksidatif hasarının antioksidan tarafından inhibisyonu aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_o - A_x) / A_o] \times 100$$

A_o = Kontrolün absorbanası (Kontrol, antioksidan çözeltisini içermez.)

A_x = Örneğin varlığındaki absorbanas

3.3.1.3. Oksidatif karbonhidrat hasarının ölçülmesi

Oksidatif karbonhidrat hasarı deoksiriboz yöntemine göre aşağıdaki gibi ölçüldü:

Gerekli çözeltiler

- Deoksiriboz çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 6 mM olacak şekilde hazırlandı.
- H_2O_2 çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 3 mM olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- KH_2PO_4 - K_2HPO_4 tamponu (pH 7.4): 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde hazırlandı.
- $FeCl_3$ çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 400 μ M olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- EDTA çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 400 μ M olacak şekilde hazırlandı.
- Askorbik asit çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 400 μ M olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- %1'lik TBA çözeltisi: 50 mM NaOH çözeltisinde hazırlandı.
- %2.8'lik TCA çözeltisi

Deneyin Yapılışı:

Reaksiyon karışımının son hacmi 3.5 ml

0.2 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

+Deoksiriboz

+KH₂PO₄-K₂HPO₄

+ FeCl₃

+ EDTA

+ askorbik asit

+H₂O₂

Karıştırılarak 37°C'de 1 saat inkubasyona tabi tutuldu.

Deoksiriboz degradasyonu TBA testi ile ölçüldü.

+1 ml TBA

+1 ml TCA

Karıştırılarak kaynar su banyosunda 90°C'de 20 dakika ısıtıldı.

Karışımların absorbansı 532 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu.

(Kontrol, antioksidan çözeltisini içermeyecek şekilde hazırlandı).

Hesaplama:

Deoksiriboz oksidasyonunun arttığını reaksiyon karışımının artan absorbansından anlaşılmaktadır. Absorbansın düşmesi hasarın antioksidan tarafından inhibe edilmesi ile gerçekleşir.

3.3.1.4. Bleomisin-Demir bağımlı oksidatif DNA hasarının ölçülmesi

Oksidatif DNA hasarı, Aruoma ve ark. (1993), yöntemine göre aşağıdaki gibi ölçüldü:

Gerekli çözeltiler:

- Sığır timus DNA çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 0.2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı.
- Bleomisin sülfat çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 0.05 mg/ml olacak şekilde hazırlandı.
- $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ tamponu (pH 7.4): 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde hazırlandı.
- FeCl_3 çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 25 μM olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- MgCl_2 çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 5 mM olacak şekilde hazırlandı.
- Askorbik asit çözeltisi: 3.5 ml'lik reaksiyon karışımında konsantrasyonu 240 μM olacak şekilde deney günü taze hazırlandı.
- 0.1 M EDTA çözeltisi
- %1'lik TBA çözeltisi: 50 mM NaOH çözeltisinde hazırlandı.
- %2.8'lik TCA çözeltisi

Bleomisin sülfat çözeltisi hariç tüm reaktifler, kontamine demiri uzaklaştırmak için chelex ile muamele edilip kullanılmıştır. Deneyde kullanılan tüm materyaller plastik veya HCl ile yıkanmış cam malzemedir seçilmiştir (Evans ve Hallivvell, 1994).

Deneyin Yapılışı:

Reaksiyon karışımının son hacmi 3.5 ml

Bellevalia crassa infüzyonu

+sığır timus DNA

+bleomisin

+KH₂PO₄-K₂HPO₄

+FeCl₃

+MgCl₂

+askorbik asit

Karıştırılmıştır ve 37°C'de 1 saat inkübasyona tabi tutuldu.

DNA hasarı TBA testi ile ölçüldü.

0.1 ml EDTA

+1 ml TBA

+ 1 ml TCA

karıştırılarak kaynar su banyosunda 90°C'de 20 dakika ısıtıldı.

Karışımların absorbanansı 532 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu.
(Kontrol, antioksidan çözeltisini içermeyecek şekilde yukarıdaki gibi hazırlandı).

Hesaplama:

Reaksiyon karışımının artan absorbanası, DNA'da artan hasarı göstermektedir. Absorbansların düşmesi hasarın antioksidan tarafından inhibe edildiğini göstermektedir.

3.4. *in vitro* Antioksidan Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi

3.4.1. Serbest radikal temizleme aktivitesinin ölçülmesi

Serbest radikal temizleme aktivitesinin ölçülmesi, Yamaguchi ve ark. (1998), yöntemine göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

Gerekli Çözeltiler:

- 100 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.4)
- 500 µM DPPH çözeltisi: Bu çözelti, günlük taze olarak absolu etanolde hazırlandı ve ışıktan korundu.

Deneyin Yapılışı:

0.2 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu veya standart

+0.8 ml Tris-HCl

+1 ml DPPH

Genişçe karıştırıldı ve oda sıcaklığında karanlıkta 20 dakika bekletildi.



Meydana gelen rengin absorbanası köre karşı 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Yukarıdakilere ilaveten *Bellevalia crassa* infüzyonlarının renginden ileri gelen absorbans değerleri, infüzyonların DPPH ile ortaya koydukları absorbans değerlerinden çıkartılmalıdır. Bu amaçla 0.2 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu + 0.8 ml Tris-HCl + 1 ml absolu etanol karışımı aynı şekilde deneye tabi tutulup köre karşı absorbansı spektrofotometrede okundu.

Hesaplama:

İnfüzyonların antioksidan aktivitesine bağlı gerçek absorbans değerleri (A_x) aşağıdaki formülde yerine konuldu.

$$\% \text{ DPPH İnhibisyonu} = [(A_o - A_x) / A_o] \times 100$$

A_o = Kontrolün absorbansı (Konrol, antioksidan çözeltisini içermez.)

A_x = Örneğin veya standardın varlığındaki absorbans

3.4.2. Süperoksit radikalini temizleme kapasitesinin ölçülmesi

$O_2^{\cdot-}$ ni temizleme kapasitesinin ölçülmesi, Nishikimi ve ark. (1972), yöntemine göre aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Gerekli çözeltiler:

- 3 mM Hipoksantin çözeltisi: Bu çözelti, 0.1 M fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlandı.
- 100 ml/U Ksantin oksidaz çözeltisi: Bu çözelti, 0.1M fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlandı.
- 12 mM Dietilen triamin penta asetik asit (DETAPAC) çözeltisi: Bu çözelti, 0.1 M fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlandı.
- 178 mM NBT çözeltisi: Bu çözelti, 0.1M fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

+1 ml hipoksantin

+1 ml ksantin oksidaz

+1 ml DETAPAC

+1 ml NBT

+1ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

Karıştırılır ve bu karışımların absorbans değerleri 560 nm'de

0. dakikada ve 60. dakikada spektrofotometrede köre karşı okundu.

Hesaplama:

Örneklerin gerçek absorbans değerleri için;

“60. dakikadaki değerler - 0. dakikadaki değerler” çıkartılarak düzetmeler yapıldı.

Aşağıdaki formülle $O_2^{\cdot -}$ ni temizleme kapasitesi hesaplandı.

$\% O_2^{\cdot -}$ ni temizleme kapasitesi = $100 - (A_x / A_o) \times 100$

A_x = Örneğin varlığındaki absorbans

A_o = Kontrolün absorbansı (Konrol, antioksidan çözeltisini içermez).

3.4.3. İndirgeyici gücün ölçülmesi

İndirgeyici güç, Oyaizu yöntemine (1986) göre aşağıdaki gibi ölçüldü:

Gerekli çözeltiler:

- 0.2 M Fosfat tamponu (pH 6.6)
- %1'lik Potasyum ferrik siyanit [$K_3Fe(CN)_6$] çözeltisi
- %10'lukTCA çözeltisi

- %0.1'lik FeCl_3 çözeltisi: Bu çözelti, deney günü taze hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

1 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu veya

+2.5 ml Fosfat tamponu

+2.5 ml $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$

50°C'de 20 dakika bekletildi.

+2.5ml TCA

3000 rpm'de 10 dak. santrifüj edildi.

Üst faz ile çalışıldı.

+2.5 ml üst faz

+2.5 ml distile su

+0.5 ml FeCl_3

Karışımların absorbansları köre karşı 700 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

(Kontrol, antioksidan çözeltisini içermeyecek şekilde yukarıdaki gibi hazırlandı).

Hesaplama:

Reaksiyon karışımının artan absorbansı, artan indirgeyici gücü göstermektedir.

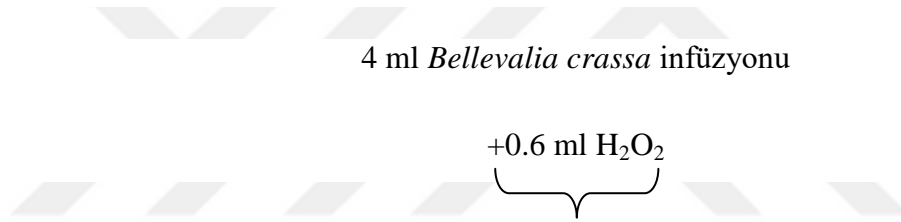
3.4.4. Hidrojen peroksit temizleme yeteneğinin ölçülmesi

H₂O₂'e temizleme yeteneği, Ruch ve ark. (2001) yöntemine göre aşağıdaki gibi ölçüldü:

Gerekli çözeltiler:

- 4 mM H₂O₂ çözeltisi: Bu çözelti, PBS'de (phosphate buffered saline (pH 7.4) hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:



10 dakika oda sıcaklığında bekletilir.



Karışımların absorbansı 230 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu.

Yukarıdakilere ilaveten *Bellevalia crassa* örneklerinin renginden ileri gelen absorbans değerleri, infüzyonların H₂O₂ ile ortaya koydukları absorbans değerlerinden çıkartılmalıdır. Bu amaçla, 4 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu + 0.6 ml PBS karışımlarının aynı şekilde deneye tabi tutulup absorbansları köre karşı spektrofotometrede okundu. H₂O₂ çözeltisi kontrol olarak kullanıldı.

Hesaplama:

H₂O₂ konsatrasyonu hesaplamak için ekstinksiyon katsayısı

$81 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Beers ve Sizer, 1952) kullanıldı ve sonuçlar mM H_2O_2 olarak ifade edildi. H_2O_2 'in azalan konsantrasyonu artan temizleme yeteneğini göstermektedir.

3.4.5. Metal iyonlarını şelatlama aktivitesinin ölçülmesi

Metal iyonlarını şelatlama aktivitesinin ölçülmesi, Decker ve Welch'in (1990) yöntemine göre aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

Gerekli Çözeltiler:

- 2 mM FeCl_2 çözeltisi
- 5 mM Ferrozin çözeltisi

Deneyin Yapılışı:

1 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

+0.1 ml FeCl_2

+0.2 ml ferrozin

Karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.



Karışımların absoransı köre karşı 562 nm dalgaboyunda spektrofotometrede okundu.

(Kontrol, antioksidan çözeltisini içermeyecek şekilde yukarıdaki gibi hazırlandı).

Hesaplama: Reaksiyon karışımındaki azalan absorbans, artan Fe^{2+} şelatlayıcı aktiviteyi göstermektedir.

3.5. Toplam Fenol İçeriğinin Ölçülmesi

Toplam fenollerin ekstraksiyonu, Vinson ve ark. (1995) yöntemine göre aşağıdaki gibi gerçekleştirildi (Apaydın, 2008). Toplam fenol içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemine (Singleton ve Rossi, 1965; Aydın, 2012) göre aşağıdaki şekilde ölçüldü:

Gerekli Çözeltiler:

- 6 M HCl çözeltisi
- %75'lik Metanol çözeltisi
- %1'lik Folin çözeltisi: Hazır 2 N Folin-Ciocalteu fenol çözeltisi kullanıldı ve deney esnasında 1: 9 (v/v) oranında distile su ile karıştırıldı.
- Standart kateşin hidrat çözeltisi: 1 mM'lık kateşin hidrat çözeltisi, 0.01M HCl'de hazırlandı. Bu stok çözeltilerden çalışma standart çözeltileri seyreltilmiştir.

Deneyin Yapılışı:

1.5 ml *Bellevalia crassa* infüzyonu

+1 ml HCl

+5 ml metanol

Ağız kapaklı bir tüpe konuldu ve 90°C'lik çalkalamalı su banyosunda 15 dak. aralıkla çalkalanarak 2 saat bekletildi. Tüpler sonra oda sıcaklığında soğutuldu. Balon jodede hacim 10 ml'ye distile su ile tamamlandı ve mavi bant fitreden süzüldü.

↓
Bu süzüntüden gerekli miktar alınıp Folin-Ciocalteu deneyine tabi tutuldu.

↓
Bu süzüntüden gerekli miktar alınıp Folin-Ciocalteu deneyine tabi tutuldu.

↓
Örnek veya standart çalışma çözeltilerinin üzerine son hacim 1 ml olacak şekilde Folin çözeltisi konuldu.

↓
Tüpler karıştırılır, oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

↓
Karışımların absorbansları 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

Hesaplama:

Toplam fenol içeriği, standart eğri grafiği kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar mg/l kateşin eşdeğeri olarak ifade edildi.

3.6. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmeleri "SPSS 22.0 for Windows" programı kullanılarak yapıldı. Kontrol ve *Bellevalia crassa* infüzyonları arasındaki istatistiksel karşılaştırılmalarda tekyönlü varyans analizi (One Way ANOVA)-Scheffe testi kullanıldı. Tüm testlerde $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *in vitro* Deneyleler

4.1.1. Lipit oksidasyonu

Lipit oksidasyonunda % inhibisyon değerleri, başta artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde lineer artış göstermiş (Tablo 4.1) ve “%4” lk konsantrasyondan itibaren de anlamlı düşüşler göstermiştir.

4.1.2. Protein oksidasyonu

Artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte % inhibisyon değerleri de anlamlı bir şekilde artmış, “%4” lk konsantrasyondan itibaren platoya ulaşmıştır (Tablo 4.1).

4.1.3. Oksidatif karbonhidrat hasarı

“%1” lik konsantrasyondan itibaren absorbands değerlerinin anlamlı şekilde kontrolden düşük olduğu grlmştir (Tablo 4.1) ve “%4” lik konsantrasyonda ise absorbands değerinin yükselme eğiliminde olduğu grlmştir.

4.1.4. Bleomisin-Demir bağımlı oksidatif DNA hasarı

Tüm konsantrasyonların absorbands değerlerinde kontrole göre anlamlı düşüşler grlmştir. “%2” lik konsantrasyonda en düşük absorbands elde edildikten sonra “%4” lk konsantrasyonda ise absorbands değerinin “%1” ve “%2” lik konsantrasyonlara göre anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. *Bellevalia crassa* Konsantrasyonlarının *in vitro* Antioksidan Aktivitesi

	Kontrol	%1	%2	%4
Lipit Oksidasyonu				
(% inhibisyon)	0,00	55,00 ± 0,02a	86,20 ± 0,06b	69,50 ± 0,08c
Protein Oksidasyonu				
(% inhibisyon)	0,00	68,30 ± 0,30a	79,06 ± 0,01b	79,09 ± 0,04b
Karbonhidrat Hasarı (A₅₃₂)	0,304 ± 0,001a	0,271 ± 0,002b	0,123 ± 0,003c	0,198 ± 0,005d
DNA hasarı (A₅₃₂)	0,335 ± 0,003a	0,144 ± 0,001b	0,081 ± 0,003c	0,220 ± 0,001d

Değerler aritmetik ortalama ± olarak ifade edilmiştir (n=3)

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

4.2. Antioksidan Etki Mekanizmaları

4.2.1. İndirgeyici güç

İndirgeyici güç artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde lineer artış göstermiştir. “%4” lük konsantrasyonda ise platoya ulaşmıştır (Tablo 4.2).

4.2.2. Hidrojen peroksit temizleme aktivitesi

Bellevalia crassa konsantrasyonu arttıkça H_2O_2 konsantrasyonu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ancak “%4” lük konsantrasyonda ise tekrar yükselme eğilimine girmiştir (Tablo 4.2).

4.2.3. Metal iyonlarını şelatlama aktivitesi

Konsantrasyon arttıkça absorpsiyon değerleri kontrole göre anlamlı şekilde düşmüştür (Tablo 4.2).

4.2.4. Serbest radikal temizleme aktivitesi

% DPPH inhibisyon değerleri, artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte “%2” lük konsantrasyona kadar lineer artmış (Tablo 4.2), “%2” lük konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi takiben “%4” lük konsantrasyonda anlamlı düşüş göstermiştir.

4.2.5. Süperoksit radikalini temizleme kapasitesi

Artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte % değer de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde lineer artış göstermiştir (Tablo 4.2). “%4” lük konsantrasyonda ise tekrar düşme eğilimine girmiştir.

Tablo 4.2. *Bellevalia crassa* Konsantrasyonunun Antioksidan Etki Mekanizmasına Tesiri

Parametreler	Kontrol	%1	%2	%4
İndirgeyici Güç (A ₇₀₀)	0,008 ± 0,0004a	0,110 ± 0,0014b	0,178 ± 0,0021c	0,177 ± 0,0022d
H₂O₂ Temizleme Aktivitesi (mM H ₂ O ₂)	3,746 ± 0,1002a	0,221 ± 0,0018b	0,123 ± 0,0012c	0,176 ± 0,0010d
Metal Şelatlama Aktivitesi (A ₅₆₂)	0,383 ± 0,0010a	0,209 ± 0,0008b	0,118 ± 0,0012c	0,117 ± 0,0012d
Serbest Radikal Temizleme Aktivi- tesi (% DPPH inhibisyonu)	0,00	65,021 ± 0,120a	89,895 ± 0,112b	72,055 ± 0,109c
O₂⁻ temizleme ka- pasitesi (%)	0,00	51,000 ± 0,125a	70, 896± 0,265b	65,422 ± 0,335c

Değerler Aritmetik Ortalama ± Standart sapma olarak ifade edilmiştir (n = 3).

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel farklılığı (p < 0,05) göstermektedir.

4.3. Toplam Fenol İçeriği

4.3.1. *Bellevalia crassa* konsantrasyonunun etkisi

Bellevalia crassa konsantrasyonu arttıkça toplam fenol içeriği de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde lineer artış göstermiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *Bellevalia crassa* Konsantrasyonlarının Toplam Fenol İçeriği

Parametreler	% 1	%2	%4
Toplam fenol içeriği (mg/l kateşin eşdeğeri)	225,0 ±5,90a	435,8 ±8,65b	786 ±10,65c

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *Bellevalia crassa*, *in vitro* lipit oksidasyonuna karşı da inhibe edici etki göstermiştir (Tablo 4.1). Öte yandan *in vitro* lipit oksidasyonu deneyinde “%2” lik konsantrasyonda en fazla düşüşü gösterdikten sonra “%4” lük konsantrasyondan itibaren konsantrasyona bağlı olarak inhibisyonun anlamlı düşmesi (Tablo 4.2), *Bellevalia crassa*’nın bu konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesinin azalmasına neden olan bir aktivite altında olduğunu düşündürmektedir. Bu olgu *Bellevalia crassa*’nın prooksidan etki gösterebileceğini de düşündürebilir. Literatürde *Bellevalia crassa*’nın *in vivo* veya *in vitro* lipit peroksidasyonuna etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Öte yandan yapılan çalışmalarda antioksidan etkisi olduğu bilinen bitkilerin ve bu bitkilerdeki polifenollerin yüksek dozlarda DNA, proteinler lipler ve insan periferel kan lenfositlerindeki sitotoksik ve genotoksik potansiyellerinden ötürü (Karadali vd., 2014; Koçyiğit ve Selek, 2016) prooksidan aktivite de gösterebilecekleri bildirilmiştir.

Protein oksidasyonu ile ilgili yapılan *in vitro* deneyde, “%1” ve “%2” ‘lik konsantrasyonlarda (Tablo 4.1) antioksidan aktivitesinin arttığı gözlenmektedir. “%2” ve “%4” lük konsantrasyonlarda en yüksek inhibisyon aktivitesine ulaştığı belirlenmiştir. Literatür taramasında *Bellevalia crassa*’nın *in vivo* ve *in vitro* protein oksidasyonuna olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak detaylı olarak literatür çalışması yapıldığında; farklı çalışmalarda antioksidan etkiye sahip bitki ekstrelerinin ve antioksidan maddelerin hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak protein oksidasyonunu azaltıcı yönde etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Zhana and Tsao, 2016; Estevez vd., 2006). Bu sonuçlar çalışmamızda kullandığımız endemik bitki olan *Bellevalia crassa*’nın güçlü bir oksidasyon önleyici etkisi olduğu tezini destekler niteliktedir. Öte yandan bitkilerde bulunan bazı flavonoidlerin ise proteinler, esansiyel amino asitler, karbonhidratlar ve sindirim enzimleriyle kompleks oluşturarak gıdaların besin değerlerini bozdukları da bildirilmektedir (Jakobek, 2015; Pena vd., 2009; Al-Snafi, 2015).

Bellevalia crassa’nın karbonhidrat hasarı üzerine antioksidan potansiyelini incelediğimizde (Tablo 4.1), “%1” ve “%2” lik konsantrasyonlarda absorbansların kontrole göre düşmesi, *Bellevalia crassa*’nın antioksidan etkisini göstermektedir. Bununla birlikte

“%4” lük *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile “%1” ve “%2” lik konsantrasyonlar arasındaki absorbans değerlerinin anlamlı olarak farklı olması, özellikle “%2” lik konsantrasyonda en yüksek etki görüldükten sonra “%4” lük konsantrasyonda antioksidan aktivitede azalmanın başlaması, artan konsantrasyona bağlı olarak *Bellevalia crassa*’nın karbonhidrat hasarını engelleyici etkisinin azaldığını, inhibe edici etkinin azalmaya başladığını düşündürmektedir. Ayrıca bu sonuçlar *in vitro* olarak en iyi aktivitenin “%2” lik konsantrasyonda olduğunu işaret etmektedir. Literatürde *Bellevalia crassa*’nın karbonhidrat hasarına olan etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat karbonhidrat hasarı ile ilgili polifenol ve bazı şekerlerle yapılan çalışmalarda bitkilerdeki polifenollerin ve disakkarit şekerlerin karbonhidrat hasarını önleyici yönde aktivitelerinin olduğu bildirilmiştir (Morelli vd., 2003; Zhu, 2015; Jakobek, 2015).

Bellevalia crassa’nın DNA hasarı üzerine antioksidan potansiyelini incelediğimizde (Tablo 4.1), *Bellevalia crassa* konsantrasyonlarının tamamında kontrole göre anlamlı düşüşler görülmüştür. Öte yandan “%1” lik konsantrasyondan başlayarak kontrole göre düşen absorbans “%2” lik konsantrasyonda en fazla düşüşü gösterdikten sonra “%4” lük konsantrasyondan itibaren konsantrasyonun anlamlı olarak atmış olması, *Bellevalia crassa*’nın artan konsantrasyona bağlı olarak, DNA hasarı üzerindeki inhibe edici etkisinin azaldığını göstermektedir. Literatürde *Bellevalia crassa*’nın DNA hasarına olan etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Öte yandan antioksidan aktivite gösteren farklı bitki ve maddelerle yapılan çalışmalarda bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir (Kosanovic vd., 2016; Nisansala vd., 2018; Verma vd., 2015; Nimse ve Pal, 2015; Rahman vd., 2018; Sevgi vd., 2015; Shameem vd., 2015; Kwon vd., 2017; Almedia vd., 2015). Bu çalışmalardan elde edilen verilerin bizim çalışmamızla benzerlik göstermesi, endemik bir bitki olan ve DNA hasarına etkisinin daha önce çalışılmamış olan *Bellevalia crassa*’nın insan sağlığına faydaları açısından da değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Bitkilerin çoğunda fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite arasında güçlü bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Shao vd., 2018; Jiao vd., 2018; Koley vd., 2016; Stafussa vd., 2018). Bizim çalışmamızda toplam fenol içeriği, *Bellevalia crassa*’nın bütün konsantrasyonlarında doğrusal bir artış gösterirken (Tablo 4.3), antioksidan aktivite yukarıda

sözü edildiği gibi toplam fenol içeriğine paralellik göstermemiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Üstelik bazı parametrelerde yükselen konsantrasyon ile antioksidan aktivite azalmıştır. Bu sonuçlar antioksidan aktivitedeki değişimlerin sadece *Bellevalia crassa* polifenollerine bağlanamayacağı ve toplam fenol içeriği ile antioksidan aktivite arasında belirgin bir korelasyon olmakla beraber bitkideki diğer maddelerinde birbiri ile etkileşim içinde olduğunu göstermektedir. Nitekim çeşitli bitki ekstraktlarının içerdiği fenolik bileşiklerle yapılan çalışmalarda da bizim elde ettiğimiz bulguları destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Skravanko vd., 2015; Baldim vd., 2017; Castañeda-Arriaga vd., 2018; Santos vd., 2018).

Bellevalia crassa'nın konsantrasyon artışına bağlı olarak indirgeyici güçte de artış görülmesi (Tablo 4.2), *Bellevalia crassa*'nın *in vitro* olarak potansiyel bir antioksidan etki mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan “%1” lik ve “%2” lik konsantrasyonda en fazla düşüşü gösterdikten sonra “%4” lük konsantrasyondan itibaren aktivitenin platoya ulaşmış olması, *Bellevalia crassa*'nın “%2” lik konsantrasyonda maksimum etkiyi gösterdiği ve bu dozun en uygun doz olduğuna işaret etmektedir. Literatür taramasında *Bellevalia crassa*'nın *in vitro* indirgeyici gücü ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, biyoaktif bileşenlerin indirgeyici güçleri ile antioksidan aktiviteleri arasında doğrudan pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Turan vd., 2016; Demir vd., 2018; Arituluk vd., 2016; Aksu, 2018; Turan vd., 2017).

"Kontrol" grubuna göre “%1” ve “%2” konsantrasyonlarda *Bellevalia crassa*'nın artan konsantrasyonla beraber H_2O_2 konsantrasyonunda düşüş görülmesi (Tablo 4.2), *Bellevalia crassa*'nın H_2O_2 'i temizlediğini göstermektedir. Öte yandan bu aktivitenin “%2” lik konsantrasyonda en yüksek temizleme aktivitesine ulaşmasının ardından “%4” lük konsantrasyonda temizleme aktivitesinde dramatik bir düşüş olduğu görülmüştür. Bu bulgular (Tablo 4.2) *Bellevalia crassa*'nın konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivitesininin değişebileceğini göstermektedir. Yapılan literatür taramasında *Bellevalia crassa*'nın *in vitro* H_2O_2 'i temizleme aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak yapılan diğer çalışmalarda bitkilerdeki fenolik bileşik diğer maddelerin H_2O_2 temizleme aktivitesi olduğu görülmektedir (Atoloni vd., 2018; Yılmaz vd., 2018;

Apaydın, 2018; Albayrak ve Kaya, 2019). Dolayısıyla çalışmamızda ilk olarak elde edilen sonuçlar alan literatürüne katkı sağlayacak niteliktedir.

Çalışmamızda *Bellevalia crassa*'nın metal iyonlarını şelatlama (Bağlama) aktivitesine incelendiğinde, “Kontrol” grubuna göre tüm konsantrasyonlarda *Bellevalia crassa*'nın artan konsantrasyonla beraber artan bir metal bağlama aktivitesinin olduğu görülmektedir. Öte yandan bu aktivitenin “%2” lik konsantrasyonda en yüksek şelatlama aktivitesine ulaşmasının ardından “%4” lük konsantrasyonda şelatlama aktivitesinin platoya ulaştığı görülmüştür. Bu bulgular *Bellevalia crassa*'nın antioksidan etkisinin metal iyonlarını şelatlama aktivitesi vasıtasıyla da gerçekleşmiş olduğunu göstermekte ve bu çalışmadaki antioksidan aktivitenin (Tablo 4.2) önemli mekanizmalarından birinin de metal şelatlama aktivitesi olduğu görülmektedir. Alan literatürüne bakıldığında, *Bellevalia crassa*'nın *in vitro* metal iyonlarını şelatlama aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak yapılan antioksidan aktivite çalışmalarında Vitamin C ve melatoninin oksidasyon ve redüksüyon reaksiyonları esnasında hem konsantrasyon artışına bağlı olarak, hem de maruz kalma süresi arttıkça antioksidan aktivitesi bilinen vitamin C'nin askorbil radikaline, melatoninin ise hücre ölümüne neden olarak prooksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Zhang ve Omega, 2001; Karımısakhydı, 2018).

Çalışmamızda *Bellevalia crassa*'nın, diğer bir *in vitro* antioksidan etki mekanizmalarından olan serbest radikal temizleme aktivitesine bakıldığında, “%1” lik konsantrasyondan itibaren “%2” lik konsantrasyona kadar, konsantrasyon artışıyla beraber serbest radikal temizleme aktivitesinde doğrusal bir artış görülmüştür. Öte yandan “%2” lik konsantrasyonda en yüksek aktiviteye ulaşıldıktan sonra, “%4” lük *Bellevalia crassa* konsantrasyonunda doğrusal artıştaki bozulmanın *Bellevalia crassa*'nın hidrojen verme kapasitesindeki azalmasını ve buna bağlı olarak serbest radikal temizleme aktivitesindeki düşüşü göstermektedir (Tablo 4.2). Literatürde *Bellevalia crassa*'nın serbest radikal temizleme aktivitesini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Öte yandan, María Llana-Ruiz-Cabello ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Karvakrol, timol ve bunların karışımlarının oksidatif sters baskılanması düşük dozlarda artarken yüksek dozlarda bu durum prooksidan aktivite lehine değişmiştir. Ancak bu maddelerin DPPH radikaline karşı inhibe edici etkisini inceldiklerinde her iki maddenin de konsantrasyon art-

tıkça DPPH temizleme kapasitesinin arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular bizim çalışmamızın oturduğu temelleri ve sonuçlarımızı destekler niteliktedir (Lawrance vd, 2016; Rubalya Volantina ve Neelamegam, 2015; Talla vd., 2017; Ruiz Cabello vd., 2015). Çalışmamızda artan *Bellevalia crassa* konsantrasyonu ile birlikte $O_2^{\cdot-}$ (süperoksit anyon radikali) temizleme kapasitesinde “Kontrol” grubu ile karşılaştırdığımızda “%2” lik konsantrasyonuna kadar lineer artış görülmüş, “%4” lük konsantrasyonda ise temizleme kapasitesi “%1” lik konsantrasyona göre daha iyi olmasına rağmen temizleme etkisi düşme yönünde eğilim göstermiştir (Tablo 4.2). Bu bulgular *in vitro* deneylerde görülen antioksidan potansiyelin oluşmasını sağlayan etki mekanizmalarından birinin de $O_2^{\cdot-}$ temizleme kapasitesi olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde *Bellevalia crassa*'nın süperoksit anyon radikali temizleme kapasitesinde araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Nitekim bitkilerle yapılan diğer çalışmalarda da konsantrasyona bağlı olarak *bitkilerin* $O_2^{\cdot-}$ 'ni temizlediği bildirilmiştir (Hashim vd., 2018; Pınar vd., 2015; Han vd., 2017; Muhammed vd., 2019).

Sonuç olarak elde edilen veriler değerlendirildiğinde; *Bellevalia crassa*'nın konsantrasyona bağlı olarak güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiği (Tablo 4.1), ancak konsantrasyon artışıyla beraber antioksidan aktivitede azalmaların görüldüğü hatta bu azalmanın protein oksidasyonunun inhibisyonu hariç, diğer parametrelerde azalma yönünde geliştiği görülmüştür. Bu veriler antioksidan etkisi çalışılan maddelerde doz ayarlamasının önemini bir kez daha ortaya koymaktadır Ayrıca yapılan mekanizma deneyleri sonucunda *Bellevalia crassa*'nın aynı konsantrasyonda bir antioksidan etki mekanizması üzerinde antioksidan etki göstermesine rağmen diğer mekanizmada antioksidan aktivitede azalma eğilimi göstermesi (Tablo 4.2), *Bellevalia crassa*'nın da optimum dozda çalışılması düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Bunun mekanizmasında ise serbest radikal temizleme aktivitesi, $O_2^{\cdot-}$ temizleme kapasitesi ve H_2O_2 temizleme yeteneği olduğundan bu mekanizmaların, farklı dozlarda da çalışılması gerektiğini göstermektedir, diğer parametrelerden metal şelatlama aktivitesi ve indirgeyici gücün de *Bellevalia crassa*'nın antioksidan potansiyelinin sebepleri olduğu sonucuna varıldı.

Bizim çalışmamız gelecekte, bu bitki ile yapılacak muhtemel antioksidan aktivite, sekonder metabolit, kimyasal içerik anal veya tıbbi ve aromatik bitki ıslahı açısından literatüre katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Aksu, F., (2018), “Ordu İlinden Toplanan Yabani ve Yenilebilir Mantar Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin ve Kolinesteraz, Tirosinaz ve Üreaz İnhibisyon Potansiyellerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ordu.
- Albayrak, S. ve Kaya, (2019), “Türkiye’den Endemik *Astragalus argaeus* Boiss.’in Antioksidan, Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktivitesi”, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 47 (1), 87-97.
- Almeida, I.F., Pinto, A.S., Monteiro, C., Monteiro, H., Belo, L., Fernandes, J., Bento, A.R., Duarte, T.L., Garrido, J., Bahia, M.F., Sousa Lobo, J.M. and Costa, P.C., (2015), “Protective Effect of *C. Sativa* Leaf Extract Against UV Mediated-DNA Damage in a Human Keratinocyte Cell Line”, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 144, 28-34.
- Al-Snafi, A.E., (2015), “Therapeutic Properties of Medicinal Plants: A Review of Plants with Antioxidant Activity”, *International Journal of Pharmacy ve Therapeutics*, 6(3), 152-182.
- Anbar M. and Neta P., (1967), “A Compilation of Specific Biomolecular Rate Constants for the Reactions of Hydrate Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals With Inorganic and Organic Compounds in Aqueous Solutions”, *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 18, 493-523.
- Apaydın, E., (2008), “Nar Suyu Konsantresi Üretim ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Apaydın, E., (2018), “*Salvadora persica* (misvak) Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağın Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması”, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22 (3), 1001-1006.
- Arıdur, R., (2013), “Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya.
- Arıtuluk, Z.C., Tatlı Çankaya, İ.İ. and Gençler, Ö., (2016), “Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Some *Tanacetum L.* (Asteraceae) Taxa Growing in Turkey”, *Research Article*, 41, 17-25.
- Aruoma O.I., (1998), “Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease”, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 199-212.

- Aruoma O.I., Murcia A., Butler J. and Hallivvell B., (1993), "Evaluation of the Antioxidant and Prooxidant Actions of Gallic Acid and Its Derivatives", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1880-1885.
- Aslan, Ş., (2018), "Tek Atak ve Tekrarlayan Depresyon Tanılı Hastalarda Total Antioksidan Seviyesi (Tas), Total Oksidan Seviyesi (Tos) ve Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması ile İlaç Etkisinin Değerlendirilmesi", Uzmanlık Tezi, *Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*, Denizli, 52-53.
- Atalay Z., (2016), "Siklofosfamid Uygulanan Ratlarda Nefrotoksisite Üzerine Propolisin Etkileri", Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ, 14-16-17-23.
- Atolani, O., Olorundare, O.E., Anoka, A.N., Osin, A.O. and Biliaminu, S.A., (2018), "Antioxidant, Proteinase Inhibitory and Membrane Stabilization Potentials of Moringa Oleifera Seed Oil", *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences* 43 (2), 91-10.
- Aydın, Ç., (2012), "Denizli İlinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik Allium L. Taksonlarının Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli.
- Ayhan, S., (2015), "Bira Mayşe Atığının *Lactobacillus Pentosus* ile Biyodönüşümünün Laktik Asit ve Fenolik Asitlere Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.
- Baladura, E. ve Şimşek, B., (2013), "Doğal Antioksidanlar ve Süt ve Süt Ürünlerinde Kullanımı", *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 27, Sayı 2, 155-162.
- Balim, J.L., Bianca Alcântara, G.V., Domingos, O.S., Soares, M.G., Caldas, I.S., Novaes, R.D., Oliveira, T.B., Ghilardi Lago, J.H. and Aparecida Chagas-Paula, D., (2017), "The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 3789856, s.12.
- Balı, H., (2014), "Farklı Bölgelerden Toplanan Arı Ürünlerinin Biyolojik Özelliklerinin *in vitro* Yöntemlerle İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, s.5.
- Bardakçı, Ö., (2017), "Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Aydın, 3-4, 20.

- Bastioğlu, A.Z, Serdaroğlu, M. ve Nacak, B., (2016), “Et ve Et Ürünlerinde Protein Oksidasyonu” *Journal of Food and Health Science*, E-ISSN: 2149-0473, 2(3), 171-183
- Bayaz, M., (2013), “Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri”, *Akademik Gıda*, 12(3), 45-53.
- Beers R.F. and Sizer I .W., (1952), “A Spectrofluorometric Method for Measuring The Breakdown of Hydrogen Peroxide by Catalase”, *Journal of Biological Chemistry*, 195, 133-140.
- Belviranlı, M., Okudan, N., Kabak, B., Erdoğan, M., Karanfilci, M. ve Ada, A.M. (2017), “Yüksek İrtifa Antrenmanının Pentatlon Sporcularında Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Belirteçleri Üzerine Etkisi” *Genel Tıp Dergisi*, 27(3), 96.
- Bozkurt, F. ve Baştürk, A., (2018), “Farklı Depolama Sıcaklıklarının Kahvaltılık ve Mutfak Margarınlarının Oksidatif Stabiliteleri Üzerine Etkileri”, *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 103-111.
- Bozkurt, N., (2014), “Dmba İle Oluşturulan Rat Karaciğer Hasarında Resveratrol ve Pekmezin Karaciğer Enzimleri ve Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Malatya.
- Büyükgüzel, E., (2013), “Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması”, *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1), 40-51.
- Büzükgüzel, E. ve Kayaoğlu, S., (2014), “Niklozamidin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)’nın bazı biyolojik ve fizyolojik özelliklerine etkisi”, *Türkiye entomoloji Dergisi*, 38 (1), 83-99, ISSN 1010-6960.
- Castañeda-Arriaga, R., Pérez-González, A., Reina, M., AlvarezIdaboy, J.R. and Galano, A., (2018), “Comprehensive Investigation of The Antioxidant and Pro-oxidant Effects of Phenolic Compounds: A Double-Edged Sword in the Context of Oxidative Stress?”, *The Journal of Physical Chemistry B*, 122(23), 6198-6214.
- Çakır Arıcan, N., (2013), “Gıda Maddelerinde Toplam Antioksidan Kapasite Düzeyinin Elektroanalitik Yöntemlerle Tayini”, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Çağlayan, C., (2013), “Oktopamin: Antioksidan Kapasitesi ve İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (hCa I Ve hCa II) Üzerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Çakatay, U. ve Kayalı, R., (2006), “Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi”, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37, 162–167.

- Çaylak, E., (2011), “Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar”, *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
- Çelik, Y., (2014), “Ratlarda Thermopsis Turcica Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması”, Doktora Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Afyonkarahisar.
- Çolak, R. ve Aşçıoğlu, E., (2018), “Hipoksi, Yaşlılık, Serbest Radikaller ve Serbest Radikal Hasar Markörler”, Hipoksida Kas Atrofisi ve Serbest Radikal Hasarı 1.Baskı, İbrahim Erdemir(ed.), *Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık*, Ankara, 66,48.
- Davis, P.H., (1965–1985), “Flora of Turkey and The East Aegean Islands”, *Edinburgh University Press*, Edinburgh, Vol.1–9.
- Decker E.A. and Welch B., (1990), “Role of Ferritin as A Lipid Oxidation Catalyst in Muscle Food”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674-677.
- Demir, S., Turan, İ. ve Aliyazıcıoğlu, Y., (2018), “Antioxidant Properties of Primula Vulgaris Flower Extract and Its Cytotoxic Effect on Human Cancer Cell Lines”, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(1), 19-25.
- Eren, E., (2011), “Bazı Soğanslı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya.
- Estevez, M., Ventanas, S. and Cava, R., (2006), “Effect of Natural and Synthetic Antioxidants on Protein Oxidation and Colour and Texture Changes in Refrigerated Stored Porcine Liver Pate”, *Meat Science*, 74, 396-403.
- Evans P.J. and Halliwell B., (1990), “Measurement of Iron and Copper in Biological Systems: Bleomycin and Copper-Phenanthroline Assays”, *Methods in Enzymology*, 233, 82-92.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu M.S., (2013), “Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları”, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Fridovich I., (1986), “Biological Effects on Superoxide Radical”, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247, 1-11.
- Gutteridge J.M.C. and Halliwell, B., (1990), “The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation in Biological Systems” *Trends Biochemical Sciences*, 15, 129-135.

- Güleşçi, N. ve Aygül, İ., (2016), “Beslenmede Yer Alan Antioksidan ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler”, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (1), 116.
- Gürbüz, M., (2018), “Diyabetik Ratlarda Zeytin Yaprağı Ekstresinin Glisemik, Kolesterolemik ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Aydın, 10-11.
- Han, H., Yılmaz, H. and Gülçin, İ., (2017), “Antioxidant Activity of Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) shell and Analysis of Its Polyphenol Contents by LC-MS/MS”, *Faculty of Sciences*, 12(4) 397-402.
- Hashini Mansoori, M., Gupta, M.K., Mishra, V., Yadav, N. and Vyas M., (2018), “Evaluation of the Antioxidant Activity of Fruit Extracts of Indigenous Medicinal Plant, *Zizyphus Xylopyrus* (Retz.) Willd”, *International Journal of Green Pharmacy*, 12(4), 863.
- Huysen E.S., (1970), “Free Radikal Chain Reactions”, *John Wiley and Sons*.
- Jakobek, L., (2015), “Interactions of Polyphenols with Carbohydrates, Lipids and Proteins”, *Food Chemistry*, 175, 556-567.
- Jiao, Y., Kilmartin, P.A, Fan, M. and Young Quek, S., (2018), “Assessment of Phenolic Contributors to Antioxidant Activity of New Kiwifruit Cultivars Using Cyclic Voltammetry Combined with HPLC”, *Food Chemistry*, 268, 77-85.
- Kandemir, A., (2012), “Erzincan’ın Endemik Bitkileri ve Tehditleri”, *Biyolojik Çeşitlilik Sempozyumu*, Ankara, 108-109.
- Kandemir, A., Sevindi, C., Korkmaz, M. ve Çelikoğlu, Ş., (2015), “Erzincan (Türkiye)’a Özgü Endemik Bitki Taksonlarının IUCN Tehdit Kategorileri”, *Bağbahçe Bilim Dergisi*, E-ISSN:2148-4015. 2 (1), 43-65.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. (2016) “Antioksidanlar”, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1 (1), 65-76.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş., (2016), “Serbest Radikaller”, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 52-55.
- Karakoç, A., (2015), “Hipertiroidili Sıçanların Kalp Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması”, Doktora Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 2, 22.
- Karımısakhvıdı, N., (2018), “Hidrojen Peroksite Maruz Kalan Fare Miyoblast Hücre Hattında Oluşan Atrofiye, Melatonin Uygulanmasının Kalpain-1 İfadelenmesine ve Atrofik Morfolojiye Etkisinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.

- Kasnak C. ve Palamutoğlu R., (2015), “Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri”, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5), 226-234.
- Kasnak, C., Sarıçoban, C. ve Palamutoğlu, R., (2014), “Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH) ve Et Ürünlerinde Oluşumu”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 9(3), 47-57, e-ISSN:1306-7648.
- Kasonic, M., Ranković, B., Rančić A. and Stanojković, T., (2016), “Evaluation of Metal Concentration and Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Potentials of two Edible Mushrooms *Lactarius Deliciosus* and *Macrolepiota Procera*”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 477-484.
- Kaya, E., (2016), “Dietilnitrozamin Uygulanan Ratlarda Oksidatif Stres ve DNA Hasarı Üzerine Likopenin Etkisi”, Doktora Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ, 29-34-38.
- Kayıhan, S., (2012), “Farklı Lokalitelerden Toplanan *Gypsophila Perfoliata* L. Var. *Perfoliata*’nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli.
- Koçyiğit, A. ve Selek, Ş., (2016), “Exogenous Antioxidants are Double-Edged Swords”, *Bemiale Science*, 2, 70-5.
- Koley, T.K., Kaur, C., Nagal, S., Seema Jaggi, S. and Sarika., (2016), “Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk.)”, *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 1044–1052.
- Korkmaz, M., Özçelik, H., Kandemir, A. ve İlhan, V., (2013), “Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Doğal Gül (*Rosa* L.) Taksonları”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 17(1),49-59.
- Kwon, T., Lee, S., Park, J., Kim, T., Park, J. and Park, N., (2017), “Antimicrobial Activity and Protective Effect of *Geranium Thunbergii* Against Oxidative DNA Damage Via Antioxidant Effect”, *Korean Journal of Food Preservation*, 24(3), 325-333.
- Lawrence, L., Menon, S., Vincent, S., Sivaram, V.P. and Padikala, J., (2016), “Radical Scavenging and Gastroprotective Activity Of Methanolic Extract of *Gmelina Arborea* Stem Bark”, *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 78-82.
- Lee B.M., Lee S.K. and Kim H.S., (1998), “Inhibition of Oxidative DNA Damage, 8-OHdG, and Carbonyl Contents in Smokers Treated with Antioxidants (Vitamin E, Vitamin C, beta-carotene and Red Ginseng)”, *Cancer Letters*, 132, 219-227.
- Lenz A.G., Costabel U., Shaltiel S. and Levine R.L., (1989), “Determination of Carbonyl Groups in Oxidatively Modified proteins by Reduction with Tritiated Sodium Borohydride”, *Analytical Biochemistry*, 177, 419-425.

- McCord J.M. and Fridovich I., (1969), "Superoxide Dismutase: An Enzymic function for Erythrocyte (Hemocuprein)", *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055.
- Mitsuda H., Yasumoto K. and Iwami K., (1966), "Antioxidative Action of Indole Compounds During the Autoxidation of Linoleic Acid", *Eiyoto Shokuryo*, 19, 210-214.
- Muhammed, H., Tahiri, I.A., Qasim, M., Gul, M.B, Ali, S.T. and Ahmed, S., (2019), "Electrochemical Determination of Antioxidant Activity and HPLC Profiling of Some Dry Fruits", *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 150(7), 1195-1203.
- Morelli, R., Russo-Volpe, S., Bruno, N. and Scalzo, R.L., (2003), "Fenton-Dependent Damage to Carbohydrates: Free Radical Scavenging Activity of Some Simple Sugars", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7418-7425.
- Nishikimi M., Rao NA. and Yagi K., (1972), "The Occurrence of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Molecularoxygen. Biochem", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46, 849-853.
- Nisansala, A., Hapugaswatte, H., N Seneviratne, K. and Jayathilaka, N., (2018), "Protective Effect of Coconut Oil Meal Phenolic Antioxidants on Mitochondrial DNA Damage In Hep-2 Human Epithelial Cells", *International Postgraduate Research Conference*.
- Nimse, S.B. and Pal, D., (2015), "Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms", *Royal Society Chemistry Advances*, 5, 279-86.
- Oyaizu M., (1986), "Studies on Product of Browning Reaction Prepared From Glucose Amine", *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44, 307-315.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, Ka-W., Jiang, Y., Chen, F. and Wang, M., (2009), "The Effects of Grape Quality Attributes of Bread", *Food Chemistry*, 119, 49-53.
- Pınar, K., Gülçin, İ. ve Gören A.C., (2015), "Antioxidant Activity and Polyphenol Content of Cranberries (Vaccinium Macrocarpon)", *Records of Natural Products*, 9(4), 496-502.
- Rahman, Md. J., Ambigaipalan, P. and Shahidi, F., (2018), "Biological Activities of Camelina and Sophia Seeds Phenolics: Inhibition of LDL Oxidation, DNA Damage, and Pancreatic Lipase and α -Glucosidase Activities", *Journal of Food Science*.

- Rubalya Valentina, S. and Neelamegam,, P., (2015), “Selective ABTS and DPPH-Radical Scavenging Activity Of Peroxide From Vegetable Oils”, *International Food Research Journal*, 22(1), 289-294.
- Ruch R.J., Cheng S.J. and Klauning J.E., (1989), “Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intercellular Communication By Antioxidant Catechins Isolated From Chinese Green Tea”, *Carcinogenesis*, 10, 1003-1008.
- Ruiz Cabello, M.L., Praena, D.G., Puerto, M., Pichardo, S., Jos, A. and Camean, A.M., (2015), “*in vitro* Pro-Oxidant/Antioxidant Role Of Carvacrol, Thymol and Their Mixture in The Intestinal Caco-2 Cell Line”, *Toxicology in vitro*, 647–656.
- Santos, D.M., Jardim Rocha, C.V., Silveira, E.F., Germani Marinho, M.A., Rodrigues, M.R., Silva, N.O., Fernandes de Moure, A.N., Sagraera Darelli, G.J., Braganhol, E., Paulo Horn, A. and Rodrigues de Lima, V., (2018), “*in vitro* Anti/Pro-oxidant Activities of *R. ferruginea* Extract and Its Effect on Glioma Cell Viability: Correlation with Phenolic Compound Content and Effects on Membrane Dynamics”, *The Journal of Membrane Biology*, 247-251-261.
- Sevgi, K., Tepe, B. and Sarikurcu, C., (2015), “Antioxidant and DNA Damage Protection Potential of Selected Phenolic Acids”, *Food and Chemical Toxicology*, 77, 12-21.
- Shameem, Nowsheen., Kamili, A. N., Ahmad, M., Masoodi, F.A. and Parray, J. A., (2015), “Radical Scavenging Potential and DNA Damage Protection of Wild Edible Mushrooms of Kashmir Himalaya”, *Journal of The Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Shao, Y., Hu, Z., Yu, Y., Mou, R., Zhu, Z. and Beta, T., (2018), “Phenolic Acids, Anthocyanins, Proanthocyanidins, Antioxidant Activity, Minerals and Their Correlations in Non-pigmented, Red, and Black Rice”, *Food Chemistry*, 239, 733–741.
- Singleton V.L. and Rossi J.A., (1965), “Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphtungstic Acid Reagents”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T. and Sochor, J., (2015), “Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries”, *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 24673-24706.
- Southern P.A. and Powis G., (1988), “Free Radicals in Medicine. II. Involment in Human Disease”, *Mayo Clinic Proceedings*, 63, 390-408.

- Sozer Karadali, S., Agrap, B. and Lermioglu Erciyas, F., (2014), "Investigation of Cytotoxic and Genotoxic Potential of Cinnamomum cassia Bark Water Extract", *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1),17-23.
- Stafussa, A.P., Maciel, M.G., Rampazzo, V., Bona, E., Nascimento Makara, C., Demczuk Junior, B. and Isidoro Haminiuk, C.W., (2018), "Bioactive Compounds of 44 Traditional and Exotic Brazilian Fruit Pulps: Phenolic Compounds and Antioxidant Activity", *International Journal of Food Properties*, 21(1), 106–118.
- Talla, E., Tamfu, A.N., Gade, I.S., Lambert, Y., Mbafor, J.T., Elst, V.L., Popova, M. and Bankova, V., (2017), "New Mono-Ether Of Glycerol and Triterpenes with DPPH Radical Scavenging Activity From Cameroonian Propolis", *Natural Product Research*, 1379–1389.
- Tuna Keleştemur, G. ve Özdemir, Y., (2011), "Balıklarda Antioksidan Savunma ve Oksidatif Stres", *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 69-73.
- Turan, İ., Demir, S., Aliyazıcıoğlu, R. ve Aliyazıcıoğlu, Y., (2016), "Primula vulgaris Yaprak Ekstraktının Antioksidan ve Sitotoksik Özelliklerinin Değerlendirilmesi", *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 20(4), 361-367.
- Turan, İ., Demir, S., Aliyazıcıoğlu, R., Mısır, S. ve Aliyazıcıoğlu, Y., (2017), "Dianthus carmelitarum Ekstraktının Antioksidan ve Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi", *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7 (1), 41-50.
- TÜBİVES, "Türkiye Bitkileri Bilgi Servisi",
http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=9138 Son Erişim Tarihi: 30.07.2019.
- Ünlü Büyüktopçu, A.E., (2012), "Farklı Stres Koşullarında Rhodotorula Glutinis'ten Antioksidan Üretimi İçin Biyoproses Koşullarının Geliştirilmesi" Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 7.
- Verma, K., Shrivastava, D. and Kumar, G., (2015), "Antioxidant Activity and DNA Damage Inhibition *in vitro* By a Methanolic Extract of Carissa Carandas (Apocynaceae) Leaves", *Journal of Taibah University for Science*, 9, 34-40.
- Vinson J.A., Dabbagh YA, Mamdouh M.S. and Jang J., (1995), "Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols Are Powerful Antioxidants Using an *in vitro* Oxidation Model For Heart Disease", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2800-2802.

- Yalçinkaya, E., (2013), “Organofosforlu İsektisit Fenthion’ Un *Galleria Mellonella* L.’ nin Antioksidan Savunma Sistemi ve Lipit Peroksidasyonu Üzerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Sakarya.
- Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T. and Terao J., (1998), “HPLC Method For Evaluation of the Free Radical-Scavenging Activity of Foods By Using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl”, **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 62, 1201-1204.
- Yapar, E.A. ve Tanrıverdi, S.T., (2016), “Yaşlanma Karşıtı Kozmetik Yaklaşımlar ve Ürün Bileşenleri”, **Balkesir Sağlık Bilimleri Dergisi**, 104.
- Yıldırım, M., (2015), “Diyabetik Sıçanlarda Işkın Otunun (*Rheum ribes*) Oksidatif Sitres Üzerine Etkisinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, **Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Mersin.
- Yılmaz, F.Ö., Su, Z., Özlüer Hunt, A., Yıldırım, M. ve Yalın, S., (2018), “Nil Tilapyası, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Karaciğer Dokusunda Kurşunun Neden Olduğu Oksidatif Strese Karşı Humik Maddelerin Koruyucu Etkisi”, **Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 6(8), 1015-1021.
- Zhang, H. and Tsao, R., (2016), “Dietray Polyphenols, Oxidative Stress and Antioxidant and Anti-inflammatory Effects”, **Science Direct**, 8, 33-42.
- Zhang, P. and Omaye S.T., (2001), “ β -Carotene: Interactions with α - Tocopherol and Ascorbic Acid in Microsomal Lipid Peroxidation”, **Journal of Nutritional Biochemistry**, 12, 38-45.
- Zhu, F., (2015), “Interactions Between Starch and Phenolic Compound”, **Trends in Food Science & Technology**, 43,129-143.

ÖZGEÇMİŞ

Kubilay PEDİS, 1986 yılı Erzincan doğumlu olup, öğrenim hayatına İzmir Muzaffer Taşdemir İlköğretim okulunda başlayıp, Erzincan Vali Metin İlyas Aksoy İlköğretim okulunda tamamladı. Erzincan Lisesi (YDA)' ni bitirmesinin hemen ardından, 2004 yılında başlamış olduğu Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'nü 2008 yılında bitirdi. Askerlik görevinden terhis olduktan sonra başlamış olduğu Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü' nü 2014 yılında tamamladı. Mayıs 2013 ilk dönem iş güvenliği uzmanlık sınavında başarılı olarak, C sınıfı iş güvenliği belgesine sahip oldu. Serbest Muhasebeci Mali Müşavirlik stajyerliği için girdiği 2016 yılı Mayıs ayı staj başlatma sınavların da başarılı olarak 3 yıllık stajı tamamladıktan sonra yeterlilik sınavı sürecindedir.