

**ALTIN ÇİLEK (*Physalis peruviana*) ve KETEN  
(*Linum usitatissimum*) TOHUMUNUN ANTiOKSiDAN  
KAPASiTELERiNiN BELiRLENMESi ve  
FENOLiK iÇERiKLERiNiN  
AYDINLATILMASI**

**Hatice HAN**

**Yüksek Lisans Tezi  
Kimya Anabilim Dalı  
Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN  
2012  
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALTIN ÇİLEK (*Physalis peruviana*) ve  
KETEN (*Linum usitatissimum*) TOHUMUNUN ANTIOKSİDAN  
KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ ve FENOLİK  
İÇERİKLERİNİN AYDINLATILMASI

Hatice HAN

KİMYA ANABİLİM DALI

ERZURUM  
2012

Her hakkı saklıdır



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

ALTIN ÇİLEK (*Physalis peruviana*) ve KETEN (*Linum usitatissimum*) TOHUMUNUN  
ANTIÖKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ ve FENOLİK  
İÇERİKLERİNİN AYDINLATILMASI

Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN danışmanlığında, Hatice HAN tarafından hazırlanan bu çalışma ...01.../.../2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu (.../...)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREVİOĞLU

İmza

Üye : Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

İmza

Üye : Doç. Dr. İhsan Güngör ŞAT

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU  
Enstitü Müdürü

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

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ALTIN ÇİLEK (*Physalis peruviana*) ve KETEN (*Linum usitatissimum*) TOHUMUNUN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ ve FENOLİK İÇERİKLERİNİN AYDINLATILMASI

Hatice HAN

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Bu çalışmada *Solanaceae* familyasına ait olan altın çileğinin (*Physalis peruviana*) meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile *Linaceae* familyasına ait olan keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş alkol ekstralarının antioksidan aktiviteleri değerlendirildi.

Altın çilek (*Physalis peruviana*) ve keten tohumunun (*Linum usitatissimum*) antioksidan ve radikal giderme aktivitelerini değerlendirmek için total fenolik bileşik miktar tayini, total flavonoit miktarı tayini, potasyum ferriksiyanat indirgeme metodu ile  $Fe^{+3}$ - $Fe^{+2}$  indirgeme kapasitesi, kuprak metodu ile kuprik iyonları ( $Cu^{+2}$ ) indirgeme kapasitesi, FRAP metoduna göre  $Fe^{+3}$  indirgeme kapasitesi, ferrozin ve bipiridil reaktifleri ile ferröz iyonları ( $Fe^{+2}$ ) şelatlama aktivitesi, süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) giderme aktivitesi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikal (DPPH $\cdot$ ) giderme aktivitesi, 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) radikal (ABTS $^{+}$ ) giderme aktivitesi, N,N-dimetil-p-fenilendiamin radikal (DMPD $^{+}$ ) giderme aktivitesi, ferrik tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite çalışıldı. BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks referans antioksidan olarak kullanıldı. Ayrıca her bir ekstrede bulunan p-hidroksibenzoik asit, vanilin, p-kumarik asit, askorbik asit, kafeik asit, ferulik asit, elajik asit, sirinjik asit, kuersetin, epigenin, keampferol, epigallaktekin, keampferol-3-*o*-glukozid ve luteolin-7-*o*-glukozid maddelerinin kantitatif miktarları, sıvı kromatografisi-kütle/kütle spektrometre (LC-MS/MS) metodu kullanılarak belirlendi.

Kullanılan altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının etkili bir şekilde indirgeme aktiviteleri sergilediği gözlemlendi. Ayrıca bu indirgeme aktivitelerinin bir standart antioksidan olan troloksa yakın olduğu bulundu. Bunun yanısıra radikal giderme metotlarında ise numunelerin standart antioksidanlara yakın aktiviteye sahip olduğu görüldü. Radikal giderme metotlarında keten tohumunun evaporate edilmiş alkol ekstresinin, liyofilize edilmiş su ekstresine göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Her iki metal şelatlama aktivitesinin ise standart antioksidanlardan daha yüksek olduğu tespit edildi. LC-MS/MS analiz sonuçlarına göre, p-hidroksi benzoik asitin, kullanılan numunelerde en yüksek miktardaki fenolik asit olduğu bulundu.

**2012, 112 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan aktivite, altın çilek, keten tohumu, radikal giderme, metal şelatlama

## ABSTRACT

Master Thesis

### DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF GOLDENBERRY (*Physalis peruviana*) and FLAX (*Linum usitatissimum*) SEEDS and CLARIFICATION THEIRS PHENOLIC CONTENTS

Hatice HAN

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

In this study, it was evaluated the antioxidant activity of lyophilised water extracts of fruit and leaves of goldenberry (*Physalis peruviana*), which belonging to *Solanaceae* family and lyophilised water and evaporated ethanol extracts of flax (*Linum usitatissimum*) seed, which belonging to *Linaceae* family.

In order to evaluate the antioxidant and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana*) and flax (*Linum usitatissimum*) seeds, different *in vitro* methods such as total phenolic compounds determination, total flavonoids compounds determination,  $Fe^{3+}$ - $Fe^{2+}$  reducing power by potassium ferricyanide reduction method, cupric ions ( $Cu^{2+}$ ) reduction capacity by Cuprac method,  $Fe^{3+}$  reducing power by FRAP reduction method, ferrous ions ( $Fe^{2+}$ ) chelating activities using by ferrozine and bipyridyl reagents, superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) scavenging activity, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl free radical (DPPH $\cdot$ ) scavenging activity, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical (ABTS $^+$ ) scavenging activity, N,N-dimethyl-p-phenylenediamine radical (DMPD $^+$ ) scavenging activity and total antioxidant activity by ferric thiocyanate method were performed separately. BHA, BHT,  $\alpha$ -tocopherol and trolox were used as the reference antioxidant compounds. Also, the quantitative amount of phenolic acid such as p-hydroxy benzoic acid, vanillin, p-coumaric acid, ascorbic acid, caffeic acid, ferulic acid, ellagic acid, syringic acid, quercetin, apigenin, keampferol, epigallocatech, keampferol-3-*o*-glucoside and luteolin-7-*o*-glucoside were determined by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method.

It was observed that the used lyophilized water extract of goldenberry fruit and leaves and lyophilized water and evaporated ethanol extracts of flax seed demonstrated effective reducing activities. Also, it was found that these reducing powers were close to trolox, activity a standard antioxidant. The samples had same radical activities with the standard antioxidants. In addition, it was observed that the evaporated ethanol extract of flax seed had more radical scavenging activities than that of lyophilized water extract of flax seed. It was determined that metal chelating activities of samples was found higher than standard antioxidants. According to the LC-MS/MS analysis results, p-hydroxybenzoic acid had the highest amount in the phenolic samples.

**2012, 112 pages**

**Keywords:** Antioxidant activity, goldenberry, flax seed, radical scavenging, metal chelating

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum çalışmamın deneysel kısmı Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle çalışmalarında her zaman bana her türlü yardım ve desteği sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e,

Çalışmalarımın bütün safhalarında fakültemizin ve bölümümüzün bütün imkânlarını benden esirgemeyen dekanımız Sayın Prof. Dr. Yavuz Onganer'e ve Kimya Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Abdullah MENZEK'e, Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREVOĞLU'na, Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR'e, Sayın Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR'e ve Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ'ye,

Çalışmalarında beni maddi açıdan destekleyen TÜBİTAK Bilim Adamı Yetiştirme Grubu'na,

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerindeki fenolik asit içeriğinin belirlenmesi çalışmalarındaki katkılarından dolayı TÜBİTAK Kimya Grubu Laboratuvarında görev yapan Sayın Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN'e,

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Araştırma Laboratuvarın çalışanı arkadaşlarım Pınar ANNAKAYA, Fevzi TOPAL, Meryem NAR, Hülya GÖÇER ve Hilal ŞEHİTOĞLU başta olmak üzere Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çalışan bütün arkadaşlarıma ve Kimya Bölümünün tüm elemanlarına,

Ayrıca ömrüm boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, babama, anneme canım kardeşim Fatma'ya ve abim Selçuk DENİZ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hatice HAN

Ağustos, 2012

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar .....	1
1.1.1. Serbest radikaller ve etkileri .....	1
1.1.2. Antioksidanlar .....	8
1.1.3. Fenolik bileşikler .....	15
1.2. Altın Çilek Meyvesi ve Yaprakları .....	17
1.3. Keten Tohumu .....	19
1.4. Çalışmanın Amacı .....	22
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	24
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	28
3.1. Materyal .....	28
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler .....	28
3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar .....	28
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması .....	29
3.1.3.a. Total fenolik bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler .....	29
3.1.3.b. Total flavonoit bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler .....	29
3.1.3.c. Fe <sup>3+</sup> -Fe <sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	30
3.1.3.d. Kuprak metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	30
3.1.3.e. FRAP indirgeme metodu ile ilgili çözeltiler .....	31
3.1.3.f. Metal şelatlama aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	31
3.1.3.g. Bipiridil reaktifi ile metal şelatlama metodu ile ilgili çözeltiler .....	32
3.1.3.h. Süperoksit radikali giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	32
3.1.3.i. DPPH' serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler .....	33



3.1.3.j. ABTS <sup>+</sup> giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	33
3.1.3.k. DMPD <sup>+</sup> giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	33
3.1.3.l. Total antioksidan aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	34
3.2. Yöntem .....	35
3.2.1. Altın çilek meyvesi ve yaprağının liyofilize su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstralarının hazırlanması .....	35
3.2.2. Total fenolik bileşik miktarı tayini .....	35
3.2.3. Total flavonoit bileşik miktarı tayini .....	36
3.2.4. Altın çilek meyvesi, yaprak ve keten tohumunun liyofilize su ekstresi ve keten tohumu alkol ekstresinin fenolik asit içeriğinin belirlenmesi .....	36
3.2.4.a. Test çözeltilerinin hazırlanması .....	36
3.2.4.b. Cihazlar ve kromatografik şartlar .....	37
3.2.4.c. HPLC metodlarının optimizasyonu ve LC-MS/MS prosedürü .....	37
3.2.5. Fe <sup>3+</sup> -Fe <sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi .....	38
3.2.6. Cu <sup>2+</sup> -Cu <sup>+</sup> indirgeme kapasitesi (Kuprak metodu) .....	38
3.2.7. FRAP indirgeme kapasitesi .....	38
3.2.8. Ferröz iyonları (Fe <sup>2+</sup> ) şelatlama aktivitesi .....	39
3.2.9. Bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesi .....	39
3.2.10. Süperoksit anyon radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) giderme aktivitesi .....	40
3.2.11. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi ...	40
3.2.12. 2,2-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali giderme aktivitesi .....	41
3.2.13. N,N'-dimetil- <i>p</i> -fenilendiamin dihidroklorür (DMPD) radikali giderme aktivitesi .....	41
3.2.14. Total antioksidan aktivitesi .....	42
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>43</b>
4.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulguları .....	43
4.2. Total Flavonoit Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulguları .....	44
4.3. Kullanılan Numünelerin Fenolik Asit İçeriğinin Belirlenmesi Bulguları .....	45
4.4. Fe <sup>3+</sup> -Fe <sup>2+</sup> İndirgeme Kuvveti Bulguları .....	51
4.5. Cu <sup>2+</sup> -Cu <sup>+</sup> İndirgeme Kuvveti (Kuprak metodu) Bulguları .....	54
4.6. Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) Bulguları .....	55

4.7. Ferröz İyonları ( $Fe^{2+}$ ) Şelatlama Aktivitesi Bulguları.....	57
4.8. Bipiridil Reaktifi İle Metal Şelatlama Aktivitesi Bulguları .....	59
4.9. Süperoksit Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	61
4.10. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	64
4.11. ABTS <sup>+</sup> Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları .....	67
4.12. DMPD Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları .....	70
4.13. Total Antioksidan Aktivitesi Bulguları .....	74
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>79</b>
KAYNAKLAR .....	104
ÖZGEÇMİŞ .....	114

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzttiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS <sup>+</sup>	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzttiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
DMPD	N,N-Dimetil-fenilendiamin
DMPD <sup>+</sup>	N,N-Dimetil-fenilendiamin radikali
DPPH	1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH <sup>•</sup>	1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
DPPH-H	İndirgenmiş 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
GAE	Gallik asit ekivalen
KE	Kuersetin ekivalen
LOO <sup>•</sup>	Lipit peroksit radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
NBT	Nitroblue tetrazolium
Troloks	6-Hidroksi-2,5,7,8-tetramethilkroman-2-karboksilik asit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu .....	2
Şekil 1.2. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu ve reaktif oksijen türlerinin antioksidan enzimler tarafından giderilmesi .....	3
Şekil 1.3. Bir doymamış yağ asidinden lipit peroksidasyonunun oluşum basamakları....	7
Şekil 1.4. Bazı sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları .....	12
Şekil 1.5. Tokoferollerin açık kimyasal yapıları.....	13
Şekil 1.6. Askorbik asidin açık kimyasal yapısı .....	14
Şekil 1.7. β-Karotenin açık kimyasal yapısı .....	14
Şekil 4.1. Total fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik .....	43
Şekil 4.2. Total flavonoit miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart grafik ....	44
Şekil 4.3. Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar .....	47
Şekil 4.4. Keten tohumunun liyofilize edilmiş alkol ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar .....	48
Şekil 4.5. Altın çilek meyvenin liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar .....	49
Şekil 4.6. Altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar .....	50
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin ferrik iyonlarını (Fe <sup>3+</sup> ) indirgeme kuvvetinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	52
Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin ferrik iyonlarını (Fe <sup>3+</sup> ) indirgeme kuvvetinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	52
Şekil 4.9. Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) kuprik iyonlarını (Cu <sup>2+</sup> )	

indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	54
<b>Şekil 4.10.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	55
<b>Şekil 4.11.</b> Farklı konsantrasyonlardaki altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi FRAP metoduna göre indirgeme aktivitesinin standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	56
<b>Şekil 4.12.</b> Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin FRAP metoduna göre indirgeme aktivitesinin standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	56
<b>Şekil 4.13.</b> Altın çileğin meyvesi ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması .....	57
<b>Şekil 4.14.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması.....	58
<b>Şekil 4.15.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstraları ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlama aktivite yüzdeleri .....	58
<b>Şekil 4.16.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması .....	59
<b>Şekil 4.17.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması .....	60

<b>Şekil 4.18.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdeleri .....	60
<b>Şekil 4.19.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması .....	62
<b>Şekil 4.20.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması.....	63
<b>Şekil 4.21.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda süperoksit anyon radikalleri giderme aktivite yüzdeleri .....	63
<b>Şekil 4.22.</b> DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği .....	64
<b>Şekil 4.23.</b> Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	65
<b>Şekil 4.24.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/ml}$ ) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	66
<b>Şekil 4.25.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda DPPH serbest radikali giderme aktivite yüzdeleri .....	67
<b>Şekil 4.26.</b> ABTS <sup>+</sup> giderme aktivitesi tayininde kullanılan ABTS <sup>+</sup> için hazırlanan standart grafik.....	68

<b>Şekil 4.27.</b> Farklı konsantrasyonlardaki altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) ABTS <sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	68
<b>Şekil 4.28.</b> Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) ABTS <sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	69
<b>Şekil 4.29.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda ABTS <sup>+</sup> giderme aktivite yüzdeleri .....	70
<b>Şekil 4.30.</b> DMPD <sup>+</sup> giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart grafik.....	71
<b>Şekil 4.31.</b> Farklı konsantrasyonlardaki altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresleri (10-30 µg/ml) DMPD <sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	72
<b>Şekil 4.32.</b> Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumu liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) DMPD <sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	72
<b>Şekil 4.33.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda DMPD <sup>+</sup> giderme aktivite yüzdeleri .....	73
<b>Şekil 4.34.</b> Altın çilek meyvesinin liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	75
<b>Şekil 4.35.</b> Altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	75

<b>Şekil 4.36.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	76
<b>Şekil 4.37.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	76
<b>Şekil 4.38.</b> Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) konsantrasyonunda ve α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri .....	77
<b>Şekil 4.39.</b> Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi (10-30 µg/ml) konsantrasyonunda ve α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri.....	78
<b>Şekil 5.1.</b> Standart fenolik bileşik olan gallik asit ile bir standart flavonoit olarak kullanılan kuersetinin açık yapıları .....	80
<b>Şekil 5.2.</b> Antioksidan bir molekül (HA) tarafından gerçekleştirilen kuprak reaksiyonu .....	83
<b>Şekil 5.3.</b> FRAP metoduna göre ferrik iyonlarının (Fe <sup>3+</sup> ) ferröz iyonlarına (Fe <sup>2+</sup> ) indirgenme reaksiyonu .....	84
<b>Şekil 5.4.</b> Ferrozin'in açık kimyasal yapısı (Gülçin 2012) .....	86
<b>Şekil 5.5.</b> Bir kurkumin molekülünün üç ferröz iyonu (Fe <sup>2+</sup> ) ile bağlanarak kurkumin-Fe <sup>2+</sup> kompleksi oluşturması.....	87
<b>Şekil 5.6.</b> İki molekül rezveratrolun bir adet ferröz iyonu (Fe <sup>2+</sup> ) ile bağlanarak Rezveratrol-Fe <sup>2+</sup> kompleksi oluşturması.....	88
<b>Şekil 5.7.</b> Rozmarinik asitin ferröz iyonları (Fe <sup>2+</sup> ) ile oluşturduğu kompleks.....	88
<b>Şekil 5.8.</b> Sirinjik ve ferulik asitlerin ferröz iyonları (Fe <sup>2+</sup> ) ile bağlanarak oluşturdukları kompleks.....	89
<b>Şekil 5.9.</b> NADH/PMS sisteminde üretilen süperoksit anyon radikallerinin NBT <sup>2+</sup> 'yi formazana yükseltmesi.....	92
<b>Şekil 5.10.</b> Ksantin/ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit anyon radikallerinin NBT <sup>2+</sup> 'yi formazana yükseltmesi .....	93



<b>Şekil 5.11.</b> Bir antioksidan [(AH) <sub>n</sub> ] tarafından DPPH serbest radikallerinin giderilmesi.....	95
<b>Şekil 5.12.</b> Bir rezveratrol molekülünün birebir DPPH serbest radikalini söndürmesi ve rezveratrol fenoksi radikali ara ürününün oluşumu.....	96
<b>Şekil 5.13.</b> Bir L-Adrenalin molekülünün birebir DPPH serbest radikalini söndürmesi ve L- Adrenalin'in radikalik ara ürünlerin oluşumu.....	97
<b>Şekil 5.14.</b> Eugenol molekülünün DPPH serbest radikalini gidermesi ve radikalik Eugenil ara ürünlerinin oluşumu.....	98
<b>Şekil 5.15.</b> Mono fenoller için muhtemel DPPH serbest radikali giderme mekanizması.....	99
<b>Şekil 5.16.</b> ABTS'nin kimyasal yapısı.....	99
<b>Şekil 5.17.</b> Kararlı bir radikal olan DMPD <sup>•+</sup> 'nin oluşumu ve tersinir giderilme mekanizması.....	101

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1.</b> Reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen (RNS) türleri (Gülçin 2012) .....	4
<b>Çizelge 1.2.</b> Antioksidanların farklı şekillerde sınıflandırılması .....	9
<b>Çizelge 1.3.</b> Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması .....	16
<b>Çizelge 1.4.</b> Altın çileğin bilimsel sınıflandırılması .....	17
<b>Çizelge 1.5.</b> 100 gram taze altın çilek meyvesinin besin değeri .....	18
<b>Çizelge 1.6.</b> Keten tohumunun bilimsel sınıflandırılması .....	19
<b>Çizelge 4.1.</b> Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivalen (GAE) olarak miktarları ...	44
<b>Çizelge 4.2.</b> Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) olarak miktarları ....	45
<b>Çizelge 4.3.</b> Altın çileğin meyvesi, yaprakları ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumu alkol ekstresinin kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriği için LC-MS/MS parametreleri (IS: İnternal standart) .	46
<b>Çizelge 4.4.</b> Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile alkol ekstresinde mevcut fenolik asit içeriği.....	51
<b>Çizelge 4.5.</b> 20 µg/ml konsantrasyonunda keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ile altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstralarının ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ve kuprik ( $Cu^{2+}$ ) iyonlarını indirgeme kapasitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırmaları .....	53
<b>Çizelge 4.6.</b> Ferrozin reaktifi ve bipiridil reaktifi ile yapılan ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ) şelatlama aktivitelerinin $IC_{50}$ değerlerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	61
<b>Çizelge 4.7.</b> Numunelerin DPPH $\cdot$ , ABTS $^{+}$ , DMPD $^{+}$ ve $O_2^{\cdot-}$ radikali giderme aktivitelerinin $IC_{50}$ değerlerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	74

<b>Çizelge 5.1.</b> Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivalen (GAE) ve total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) olarak miktarları .....	80
<b>Çizelge 5.2.</b> Çalışmada kullanılan altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının 20 µg/ml konsantrasyonunda ferrik iyonlarını (Fe <sup>3+</sup> ) ve kuprik iyonlarını (Cu <sup>2+</sup> ) indirgeme kapasiteleri.....	85
<b>Çizelge 5.3.</b> Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin DPPH <sup>·</sup> , ABTS <sup>+</sup> , DMPD <sup>+</sup> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> giderme aktiviteleri ile ilgili IC <sub>50</sub> (µg/ml) değerleri .....	94
<b>Çizelge 5.4.</b> Aynı konsantrasyondaki (30 µg/ml) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının linoleik asit emülsiyon peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri.....	102

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

#### 1.1.1. Serbest radikaller ve etkileri

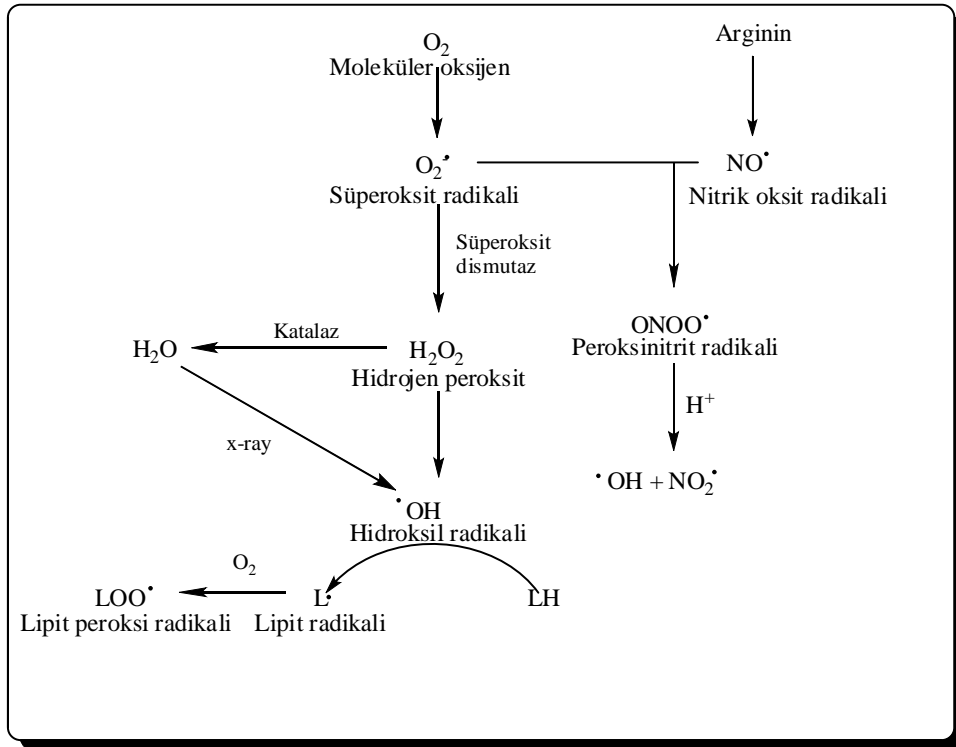
Bileşikler iki veya daha fazla elementin kimyasal bağlar ile bağlanmasıyla oluşur. Kimyasal bağlar, bağ yapımına katılan negatif yüklü elektronlardan meydana gelmektedir. Bağ yapımına katılan elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar (Gökpınar *et al.* 2006).

Ortaklanmamış elektron içeren kararsız atomlar, atom grupları veya moleküller ise serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına rağmen radikal olmayan maddelerle reaksiyona girip onları da serbest radikal yapımları ve bir dizi zincir reaksiyon başlatırlar (Akkuş 1995; Gülçin *et al.* 2003a).

Serbest radikaller organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi dış etkenlerle de oluşabilir. Örneğin kimya sanayinin ilerlemesi sonucunda oluşan atık maddeler, çeşitli alanlarda kullanılan herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünler somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran serbest radikallerin oluşumunu artırarak en ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde getirmiştir (Temur 2006; Gülçin 2007).

Biyolojik sistemlerde ise serbest radikaller en fazla elektron transport zinciri ile oluşur. En önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Gülçin 2012). Oksijenin kaynağını ise fotosentez sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen oluşturur. Canlılar varlıklarını sürdürebilmek için havadaki moleküler oksijene ihtiyaç duyarlar. Moleküler oksijen, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati bir öneme

sahiptir (Stahl *et al.* 2002). Oksijen, solunum için gerekli olduğu gibi karbon ve hidrojen zengin besinleri de okside eder (Yanbeyi 1999). Solunumda kullanılan moleküller oksijenin toksik etkisi olmamasına rağmen moleküller oksijenden, reaktif oksijen türlerinin oluşması ve bu reaktif türlerin organizmaya zarar vermesi ise metabolik açıdan bir tezattır (Sies 1997). Moleküler haldeki oksijenden serbest radikallerinin oluşumu Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Ayrıca bazı enzimatik reaksiyonlar da serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır (Stahl *et al.* 2002).

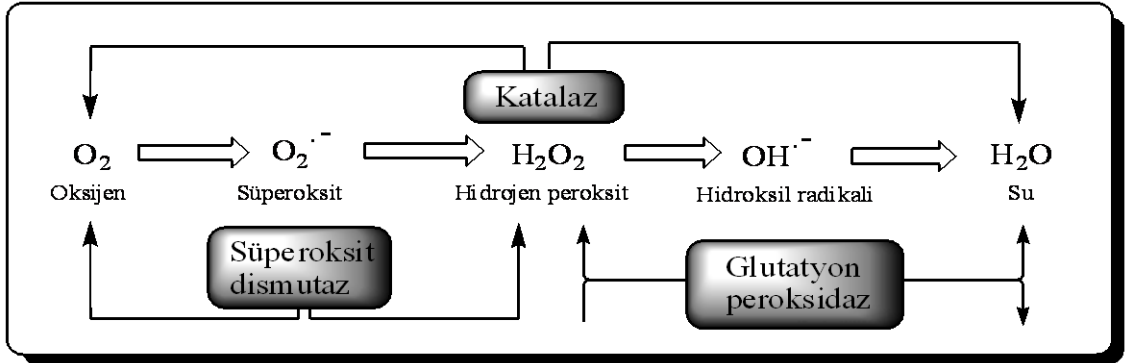
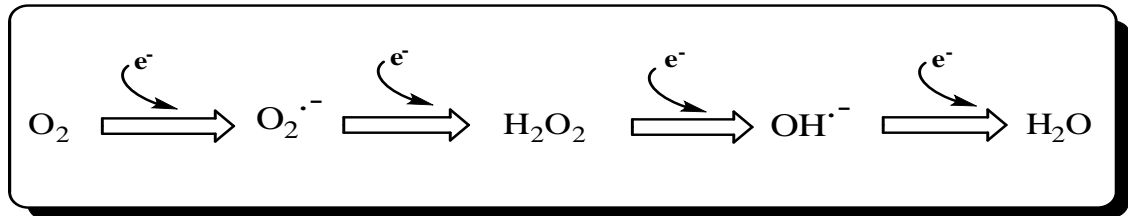


**Şekil 1.1.** Serbest oksijen radikallerinin oluşumu

Vücudumuzdaki oksijenin %90'ından fazlasını solunum zinciri olarak bildiğimiz elektron transport zinciri, %5-10'unu ise aminoasitlerin katabolizması, steroid hormonlarının sentezi gibi özel metabolik yollarda ve oksijen gerektiren diğer tepkimelerde kullanır. Elektron transport zincirinde moleküler oksijen glukoz, yağ asiti ve aminoasitlerin karbon iskeleti gibi gıda moleküllerinin oksidasyonu sonucu oluşan NADH ve FADH<sub>2</sub>'den elektronları alarak suya indirgenir. Bu olay sonucunda oksijen

molekülünün kuvvetli oksitleyici gücü, ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağı haline dönüştürülür (Gülçin 2012).

Oksijenin hücre içinde suya indirgenmesi için 4 elektrona ihtiyaç vardır. Bu esnada hücre kendisi için gerekli enerjiyi karşılar. Bu aşamada oksijenin %98'i suya indirgenirken %1-2'sinden reaktif oksijen ürünleri oluşur. Bu reaksiyonlarda ara ürün olarak serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinden olan süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot-}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur (Southorn 1988; Öztürk Sarıkaya 2009).



**Şekil 1.2.** Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu ve reaktif oksijen türlerinin antioksidan enzimler tarafından giderilmesi

Radikaller elektriksel yük olarak pozitif, negatif veya yüksüz olabilirler (Cheeseman 1993; Halliwell *et al.* 1995; Thomas 1995). Hücre hasarına sebep olan süperoksit grubu, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığıyla hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene dönüştürülür. Süperoksit grubundan daha az etkili olan  $H_2O_2$ , dokularda bulunan

katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha az etkili ürünlere dönüştürülerek etkisizleştirilir (Gülçin 2012).

**Çizelge 1.1.** Reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen (RNS) türleri (Gülçin 2012)

<b>Reaktif oksijen türleri</b>	<b>Sembolü</b>	<b>Serbest olmayan radikal türleri</b>	<b>Sembolü</b>
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	$H_2O_2$
Hidroksil radikali	$HO^{\cdot}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksi radikali	$HOO^{\cdot}$	Ozon	$O_3$
Lipit radikali	$L^{\cdot}$	Lipit hidroperoksit	$LOOH$
Lipitperoksi radikali	$LOO^{\cdot}$	Hipoklorit	$HOCl$
Peroksi radikali	$ROO^{\cdot}$	Peroksinitrit	$ONOO$
Lipit alkoksil radikali	$LO^{\cdot}$	Nitriklorür	$NO_2Cl$
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\cdot}$	Nitrikasit	$HNO_2$
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$	Dinitrojen trioksit	$N_2O_3$
Nitrosil katyon	$NO^+$	Peroksinitrik asit	$ONOOH$
Protein radikali	$P^{\cdot}$	Nitrik oksit	$N_2O$

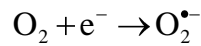
Reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) radikalidir. Serbest radikal olmayan oksijen türleri ise hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ), ozon ( $O_3$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ) gibi radikal olmayan türevleri içerir (Gülçin 2012). Serbest oksijen radikalleri normal fizyolojik olaylar sırasında sürekli oluşur. Reaktif oksijen türleri (ROS), kolayca membranda bulunan lipitlerin peroksidasyonunu başlatarak lipit peroksit birikimine yol açar (Halliwell *et al.* 1994; Gülçin *et al.* 2003a).

Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde oksidan ve antioksidan sistemler arasında bulunan dengenin bozulmaması gerekir. Bu dengenin bozulması durumunda serbest radikaller oluşur ve metabolizmadaki lipit, protein, nükleikasit ve karbohidrat gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına sebep olurlar (Güçin *et al.* 2003; Serafani and Del Rio 2004). Serbest radikallerin hücre ve dokularda sebep olduğu bu hasarlar şöyle sıralanabilir (Kehre and Smith 1994; Halliwell and Gutteridge 1999).

- ✓ DNA' nın mutasyonu ve hasarı
- ✓ Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı
- ✓ Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler
- ✓ Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- ✓ Proteinlerde yapısal hasarların oluşumu
- ✓ Lipit peroksidasyonu ve buna bağlı membran yapısının bozulması
- ✓ Membran proteinlerinde hasar ve membran transport sistemlerinin bozulması
- ✓ Steroit ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi

Oluşan bu hasarlar, kanser, yaşa bağlı bağışıklık sisteminin yetersizliği, hipertansiyon gibi birçok hastalık ve biyolojik yaşlanma sürecinde önemli rol oynamaktadır. Günümüzde birçok hastalığın bir dereceye kadar oksidatif stresle bağlantılı olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres ise organizmada prooksidan ve antioksidan dengenin bozulması şeklinde ifade edilir (Çakatay and Kalaylı 2006; Gülçin 2007).

Serbest radikallerden, süperoksit radikali hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir (Halliwell 1989).

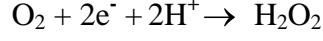


Süperoksit radikali çok az oksidatif hasara yol açar. Bunun sebebi süperoksit dismutaz enzimi tarafından hızlı bir şekilde hidrojen peroksite ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) çevrilmesidir (Cadenas and Packer 1996). Canlılarda diğer radikallerin oluşumu ise çoğunlukla süperoksit radikallerinin birikmesine bağlıdır. Bu radikaller biriktikten sonra, bir seri radikalik zincir reaksiyonları oluşur (Halliwell 1989; Halliwell and Gutteridge 1996; Gülçin *et al.* 2003b).

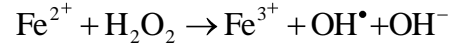
Oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelirken peroksit molekülü ise iki hidrojen atomuyla



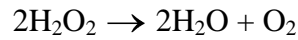
birleşerek hidrojen peroksiti oluşturur. Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir fakat kuvvetli oksitleyici ajandır (Gülçin 2012).



$\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Cu}^+$  gibi geçiş metalleri ve  $\text{O}_2$  varlığında Fenton reaksiyonu ile  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) üretilir (Gülçin 2012).

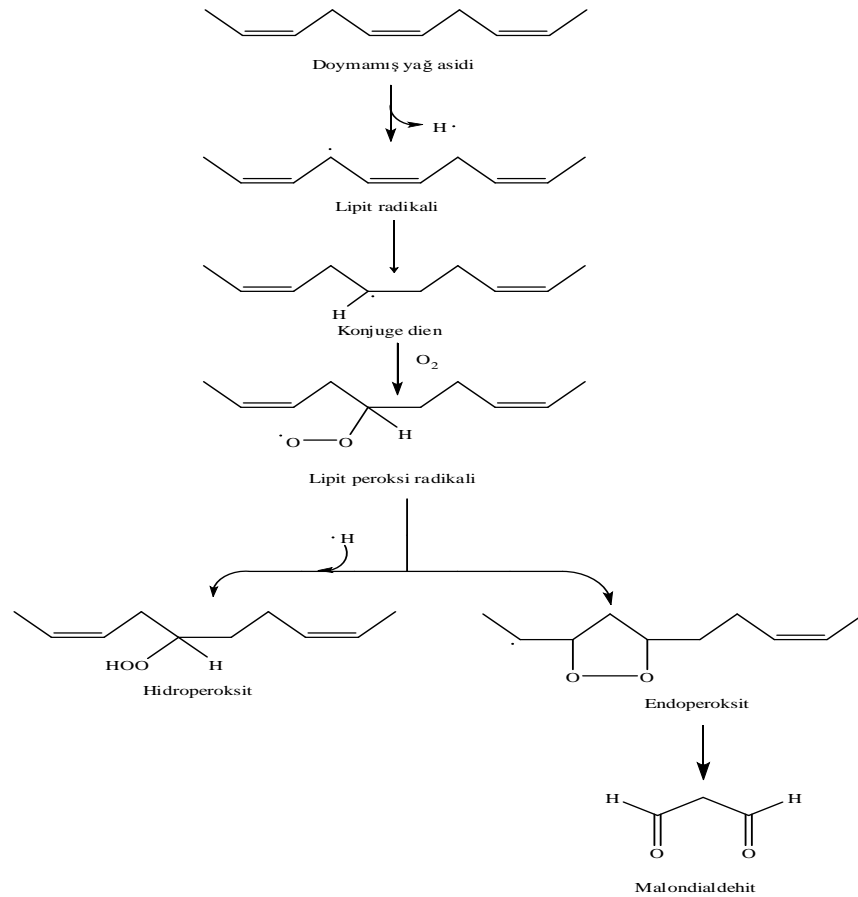


Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu yapıdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahiptir. Bu özelliğinden dolayı hücre membranlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Potansiyel hasarlarından dolayı  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimlerden olan katalaz ve peroksidaz enzimleri gerçekleştirir (Haliwell 1984; Gülçin 2007). Katalaz enzimi hidrojen peroksidi suya dönüştürerek zararlı etkilerini giderir (Gülçin 2012).



Hidroksil radikali tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilen en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikalidir. Yarılanma ömrü  $10^{-9}$  saniyelik gibi kısa bir süredir (Gülçin 2012). Hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) çoklu yağ asitleri, DNA ve proteinlere saldıran oldukça aktif bir radikaldir (Aruoma *et al.* 1997). DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları ve zincir kırılmaları gerçekleşebilir. İleri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümlerine neden olabilir. Bütün bunların yanı sıra  $\text{OH}^\bullet$  radikalinin en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipit peroksidasyonudur.

Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre (çoklu doymamış) yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve doğrudan membran yapısına, dolaylı olarak ise bazı reaktif aldehit türlerinin oluşumunu sağlayarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (Basaga 1990; Akkuş 1995; Gülçin 2012). Lipit peroksidasyonunun mekanizması Şekil 1.3'te verilmiştir (Murray *et al.* 1996; Gülçin 2012).



**Şekil 1.3.** Bir doymamış yağ asidinden lipit peroksidasyonunun oluşum basamakları

Lipit peroksidasyonu sonucu aldehitler olmak üzere alkan, alkol, hidroksi yağ asitleri gibi diğer pek çok ürünler de oluşur. Oluşan bu aldehitler oksidatif hasarı artırmaktadır. Lipit peroksidasyonunun başlıca ürünü olan malondialdehit (MDA) ise uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile protein, nükleik asit karbohidrat gibi birçok biyomolekül

üzerinde etkili olarak, geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır (Rio *et al.* 2005; Gülçin 2007).

Serbest oksijenin radikal olmayan yapılarından biri olan singlet oksijen ( $^1O_2$ ) molekülü ise yapısında iki tane ortaklanmamış elektron içerir. Singlet oksijen hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitleriyle doğrudan tepkimeye girerek lipid peroksitlerin oluşumuna neden olur (Halliwell 1991; Gülçin 2012).

Nitrik oksit çok reaktif bir serbest radikaldir. Orbitalinde taşıdığı eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle radikal özelliindedir ve oksijen, süperoksit radikalleri veya demir, bakır, kobalt, mangan gibi geçiş metalleriyle reaksiyona girer (Stamler *et al.* 1992). Diğer radikallerden farklı olarak NO düşük miktarlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol oynamaktadır. Ancak yüksek miktarda NO hücreler üzerine zararlı etkiler göstermektedir (Steven 1995). Yarı ömrü sadece birkaç saniye olan nitrik oksit kolayca diğer serbest radikallerle birleşir (Vallance and Collier 1994).

### **1.1.2. Antioksidanlar**

Serbest radikallerdeki ortaklanmış elektronlar kararlı duruma geçmek için kararlı halde bulunan başka bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür (Gülçin *et al.* 2003a; Gökpinar *et al.* 2006). Vücudumuzda kalkan görevi yapan antioksidanlar ise kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize ederken bu sırada serbest radikal haline gelmemektedirler (Prior and Cao 2000).

Aerobik organizmalarda, serbest oksijen radikallerinin oluşumuyla beraber reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararlı etkilerini engellemek amacıyla "antioksidan" olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir (Halliwell 1996).

Biyolojik sistemlerde antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin varlığı yaşam için temel bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik, antiaging gibi pek çok biyolojik fonksiyonun antioksidanlardan kaynaklandığı bilinmektedir (Cook 1996).

Gıda bileşenlerinin antioksidan özelliklerini belirtmek amacıyla “antioksidan aktivite” veya “antioksidan kapasitesi” terimleri kullanılır. Ancak bu iki terim birbirinden farklıdır. Aktivite spesifik bir antioksidanla, oksidan arasındaki reaksiyon sabiti oranı demektir. Kapasite ise bir örnek tarafından giderilen radikal miktarının ölçüsüdür (Gülçin 2012).

Bu savunma mekanizmaları serbest radikallerin, lipitler, proteinler, nükleik asitler gibi biyomoleküllere vereceği hasarı önlerler. Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerinden metabolizmayı koruyarak birçok kronik hastalığın ilerlemesini engeller (Lai *et al.* 2001; Gülçin *et al.* 2005c).

Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Canlılarda antioksidan savunma sistemi iki ana gruba ayrılır. Bunlar; metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınan (ekzojen) antioksidan sistemleridir. Endojen antioksidanlar küçük molekül yapısına sahip basit bileşikler olabildiği gibi karmaşık yapıdaki enzimler halinde de olabilirler (Bursal 2009).

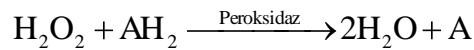
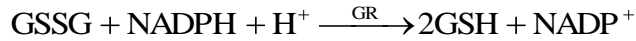
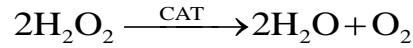
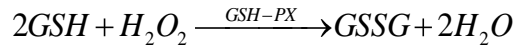
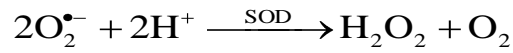
**Çizelge 1.2.** Antioksidanların farklı şekillerde sınıflandırılması

<b>Antioksidanlar</b>			
<b>Endojen antioksidanlar</b>		<b>Ekzojen antioksidanlar</b>	
<b>Enzimler</b>	<b>Küçük moleküller</b>	<b>Sentetik</b>	<b>Doğal</b>
Katalaz	Askorbik Asit	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Glutasyon	BHT	Karotenler
Süperoksit dismutaz	Melatonin	TBHQ	Fenoller
Glutasyon peroksidaz	Serotonin	Propilgallat	Flavonlar
Glutasyon redüktaz	Adrenalin	Troloks	Katekinler

Enzim yapısındaki endojen antioksidanlara ise süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSSG-Rd), katalaz gibi enzimler örnek olarak verilebilir. Vitaminler, fenoller, tiyoller gibi bileşikler enzim yapısında olmayan endojen antioksidanlar olarak sınıflandırılır (Gülçin 2002).

Endojen antioksidan enzimler serbest radikalleri etkisiz hale getirirler. Bu enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar; süperoksit anyonunu hidrojen peroksite dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), organik peroksitleri detoksifiye eden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve hidrojen peroksidi suya indirgeyen katalaz (CAT) (Arosio *et al.* 2000) ve yükseltgenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyon (GSH) haline çeviren glutatyon redüktazdır (Goulart *et al.* 2005). Peroksidazlar ise hidrojen atomlarını vermek eğiliminde olan organik ve inorganik bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen oksidoredüktazlardır (Gülçin 2002; Köksal 2007).

Bu reaksiyonlar aşağıdaki gibidir.



Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (Gökpınar *et al.* 2006).

**1. Giderme etkisi:** Oksidanları daha az etkili yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.

**2. Söndürme etkisi:** Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesi şeklinde etkisizleştirirler. Vitaminler, flavanoitler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.

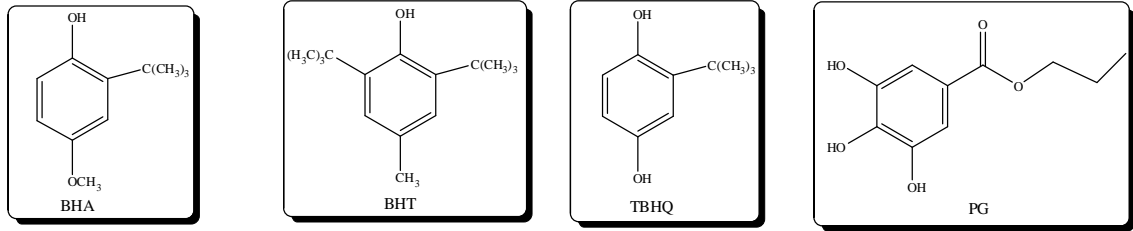
**3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi:** Hemoglobinin, serüloplazmin ve ağır minerallerin serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp oksidanların zararlı etkilerini önleyici şekilde etki eder.

**4. Onarma etkisi:** Oksidatif olarak hasar görmüş biyomoleküllü onararak etkisizleştirirler.

Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini bu dört yolla gidererek metabolizmayı koruyabilir. Ayrıca pek çok kronik hastalığın ilerlemesini ve lipid peroksidasyonunu geciktirirler (Gülçin 2012). Bu nedenle, alternatif ve güvenilir bitki kökenli doğal antioksidanlar tercih edilir (Skerget *et al.* 2005; Gülçin 2012).

Antioksidanlarla ilgili ilk çalışmalar doymamış yağların acılığını önlemek amacıyla başlamıştır (Jacop 1996). Ancak A, C ve E vitaminlerinin bulunuşuyla canlılarda antioksidanların önemi daha da fazla artmıştır (Moreau and Dufraisse 1922; Knight 1998; Gülçin 2007). E Vitamini güçlü bir antioksidandır. E vitamininin reaktif oksijen türlerini gidererek, oksidasyona sebep olan ajanları azalttığı tespit edilmiştir (Davies 1995; Gülçin 2012).

Antioksidanlar, gıdalara zarar veren radikal zincir reaksiyonlarını önlemek amacıyla gıdalara eklenir (Gülçin *et al.* 2004e; Gülçin *et al.* 2007a). Şu anda, en yaygın kullanılan antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propilgallat ve tersiyerbütül hidrokinondur. Sentetik antioksidanlar genellikle gıda ve farmakoloji uygulamalarında kullanılmaktadır. Gıdada katı ve sıvı yağların çözünürlüğünü artırmak için alkilerle yer değiştirirler. Ancak, BHA ve BHT'nin toksik ve kanserojen etkileri nedeniyle kullanımı yasal olarak kısıtlanmıştır (Gülçin 2012).



**Şekil 1.4.** Bazı sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları

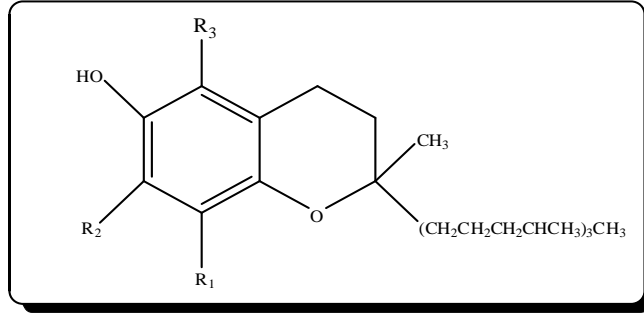
Balık ve balık ürünlerinin işlenmesi ve depolanması sırasında oluşan renk değişimlerinin azaltılması amacıyla da sentetik antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Lee *et al.* 2005; Jittrepotch *et al.* 2006).

Tüketici tercihlerinde doğal antioksidanlara olan ilgi doğal antioksidan kaynaklarını keşfetmek için çalışmaların hızlanmasına neden olmuştur. Meyve, sebze, çay ve kakao dâhil olmak üzere birçok yiyecek ve içeceğin insan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerinin antioksidan aktivitelerinden kaynaklandığı kabul edilmiştir (Gülçin 2012).

Doğal antioksidanlar en çok yeşil sebzelerde (Gülçin *et al.* 2004b; Gülçin 2007), tohumlarda (Gülçin 2005b; Gülçin 2007), baklagiller ve meyvelerde, A vitamini, C vitamini, E vitamini ve bazı B vitamini içeren besinlerde bulunur (Gülçin *et al.* 2005a). Ayrıca sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde ve köklerde bol miktarda bulunmaktadır (Pratt *et al.* 1990; Gülçin 2003; Gülçin 2007). Başlıca doğal antioksidanlar; flavonoid türevleri, kumarinler, tokoferoller, askorbik asit ve fenolik maddelerdir (Gülçin 2012).

Tokoferoller, fenolik bir hidrojeni, peroksitlenmiş doymamış bir yağ asidinin peroksi serbest radikale aktararak antioksidan etki yaparlar. Bunlardan  $\alpha$ -tokoferol yüksek biyolojik aktiviteye sahip doğada en bol bulunan E vitaminidir. E vitamini lipid peroksidasyonunu engellemektedir. Ayrıca oksidatif reaksiyonlar sırasında oluşan radikallerin etkisini engellemektedir (Flohe and Traber 1999; Gülçin 2012). İnsan vücudunda tokoferol sentezlenemediği için dışarıdan alınması gereklidir. Vücuda alınan

tokoferol ince barsakta emilerek lenf yolu ile dolaşıma katılır (Chan and Decker 1994). Tokoferoller yağda çözünmüş olarak bulunmakta ve yağ sindirimi esnasında açığa çıkmaktadır (Murray *et al.* 1996).

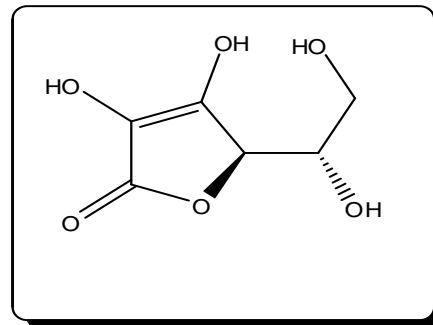


$\alpha$ -Tokoferol : R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>: CH<sub>3</sub>  
 $\beta$ -Tokoferol : R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>: CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub>: H  
 $\gamma$ -Tokoferol : R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub>: H  
 $\delta$ -Tokoferol : R<sub>1</sub>: CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>: H

**Şekil 1.5.** Tokoferollerin açık kimyasal yapıları

Tokoferol türlerinin antioksidan aktiviteleri arasında farklar vardır ve singlet oksijeni giderme kapasitesi  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$  tokoferole doğru gittikçe azalır (Gülçin 2012).

Askorbik asit (C vitamini) bitkisel kaynaklı monosakkarit yapısındaki bir antioksidandır. İnsan vücudundan sentezlenemediği için dışarıdan alınmalıdır (Smirnoff 2001; Gülçin 2012). Suda çözünen bir vitamindir. Kolayca elektron vererek dehidroaskorbik aside kendiliğinden okside olur ve süperoksit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve singlet oksijeni giderici etkiye sahiptir. C vitamini lipid peroksidasyonunu başlatmadan önce peroksil radikallerini su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korur (Gökpinar *et al.* 2006).

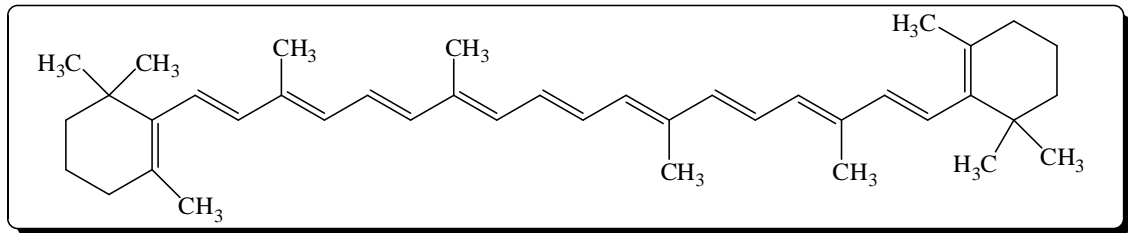




**Şekil 1.6.** Askorbik asidin açık kimyasal yapısı

Diğer antioksidan maddeler arasında karotenoitler gelmektedir. 600'ün üzerinde çeşidi olan ailedir (Gülçin 2012). Karotenoitler doğada bol bulunmaları, hidrofobik ve hidrofilik grupları içermeleri, provitamin A aktivitesine sahip olması ve anti-kanserojen özellikleri ile gıda endüstrisinde büyük öneme sahiptir (Çınar ve Çolakoğlu 2004). Genel olarak havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur (Frel 1994). Singlet oksijeni gidererek, serbest radikalleri inhibe eder ve hücreyi oksidatif stresten korur (Tee 1992). Ayrıca karotenoitlerin lipit peroksidasyonunu da engellediği bilinmektedir (Canfield and Valenzuela 1993).

En fazla çalışılan karotenoit,  $\beta$ -karotendir (Molnár *et al.* 2000).  $\beta$ -karoten genellikle havuç ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunmaktadır. Fotosentez esnasında zararlı ışığa ve kansere karşı koruma, antioksidan, tümör gelişimini engelleme gibi özellikleri vardır (Kahyaoğlu ve Kıvanç 2007). Bu nedenle  $\beta$ -karoten besin ve ilaç endüstrisinde büyük önem taşımaktadır.



**Şekil 1.7.**  $\beta$ -Karotenin açık kimyasal yapısı

Flavonoitler bitkilerde bulunan bir polifenolik bileşik grubudur. Ayrıca bitkisel pigmentler olarak da bilinmektedir. Bu bileşiğin insan organizması için çok faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Carlo 1999). Flavonoitler güçlü antioksidan, serbest radikal tutucu ve metal bağlayıcı aktivitelerine sahiptir (Saija 1995; Saija *et al.* 1998).

Flavonoitlerin düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu azaltarak

kardiyovasiküler hastalıklara karşı etkili olduğu ileri sürülmüştür. Günlük alınımının 100 mg üzerinde olması gerekmektedir. Diyet bileşenlerinin önemli antioksidanları arasında yer almaktadır (Gülçin 2012).

Flavonoitler, endüstride, boyar madde sanayinde, metal kompleksleştirmede, kozmetikte, güneş kremlerinde ve merhemlerde kullanılır. Analitik analizlerde uranyum, titan, zirkonyum metallerinin tayininde, et konserveçiliğinde ise proteoliz hızlandırıcı olarak kullanılmaktadırlar (Sağıroğlu ve Özcan 2007).

### **1.1.3. Fenolik bileşikler**

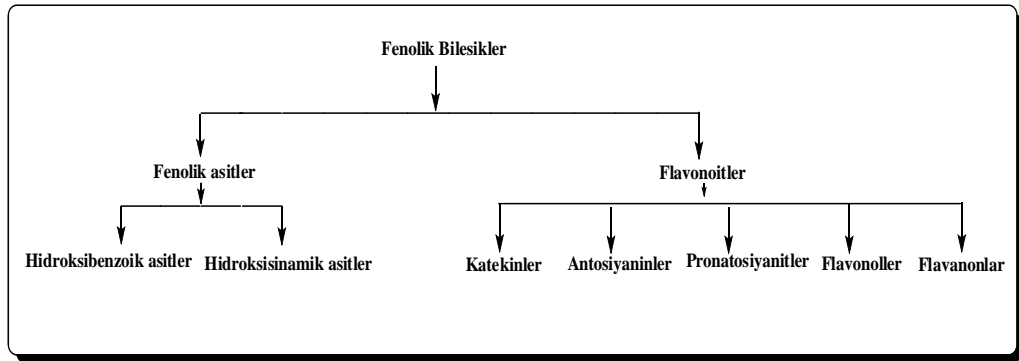
Fenolik bileşikler, daha sık kullanılan ismi ile polifenoller, bitkilerde fazla miktarda bulunan, meyve ve çiçeğe rengini veren, onları dış faktörlere karşı koruyan benzen halkasına hidroksil gurubunun bağlı olduğu kimyasal bileşiklerdir (Kahkönen *et al.* 1999; Ergün vd 2002; Cemeroğlu 2004). Fenolik bileşikler, lipitler, proteinler, karbohidratlar gibi biyomoleküllerin serbest radikallerce okside olmalarını önlemek amacıyla aromatik halkalarında bulunan hidroksil gruplarındaki hidrojeni verirler (Burda and Oleszek 2001). Fenolik bileşikler, oksidatif hasara karşı metabolizmanın doğal direncini artırmada önemli bir etkiye sahiptir (Gülçin 2012). Aynı zamanda lipit peroksidasyonunu önlemede de büyük bir rolü vardır (Gülçin 2007). Fenolik antioksidanlar, lipit kaynaklı radikallere hızla proton ( $H^+$ ) vererek, lipit peroksi ( $ROO\cdot$ ) ve alkoksil ( $RO\cdot$ ) radikallerini parçalayarak zincir reaksiyonunu sonlandırır (Sahahidi *et al.* 1992; Tüzün 1996).

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli grubudur (Gray 1978; Shahidi and Wanasundara 1992; Moure *et al.* 2001). Bu maddeler meyve, sebze, baharat ve tahıl gibi bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Katiyar and Mukhtar 1997; Gülçin 2007). Keskin acı tatları vardır (Gutierrez *et al.* 1989).

Bu bileşikler, koroner kalp yetmezliğini önlemektedir (Rauha *et al.* 1999; Summanen *et al.* 2001). Ayrıca yaşlanmayı geciktirici özelliğinin yanı sıra derideki kırışıklıkları giderirler (Gutierrez *et al.* 1989).

Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin antioksidan özelliği redoks etkilerinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle indirgeyici ajanlar, hidrojen vericiler, singlet oksijen önleyiciler ve metal şelatlayıcı olarak etki ederler (Shahidi and Nacz 1995; Cadenas and Packer 1996; Packer *et al.* 1999).

**Çizelge 1.3.** Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması



Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoitler olarak ikiye ayrılırlar. Flavonoitler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan antioksidan etkiye sahip bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin bazıları meyve ve sebzelerin ağızda acılık ve burukluk gibi tatlar oluşmasına bazıları ise meyve ve sebzelerde sarı, kırmızı renklerinin oluşmasına neden olmaktadır (Cemeroğlu 2004; Anonim 2006; Zor 2007).

Fenolik asitler de kendi içerisinde hidroksibenzoik ve hidroksisünamik asitler olarak ikiye ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler bitkisel gıdalarda çok az miktarda bulunur. Bunlar salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisünamik asitler ise fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellikler gösterirler. Bunlar ise kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve o-kumarik asitlerdir. Fenolik asitler bitkilerde daha çok organik asitler ve

şekerlerle esterleşmiş haldedirler (Balasundram *et al.* 2006; Saldamlı 2007). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, moleküldeki OH<sup>-</sup> grubu sayısına bağlıdır (Cotelle *et al.* 1992; Shahidi *et al.* 1992; Rice-Evans *et al.* 1996).

## 1.2. Altın Çilek Meyvesi ve Yaprakları

Altın çilek (*Physalis peruviana*), patlıcangiller (*Solanaceae*) familyasına girmektedir. Doğada yabani olarak yetişen 80'in üzerinde tür olmasına rağmen kültürü yapılan türlerin en önemlisi *Physalis peruviana* L.'dir. Anavatanı Güney Amerika olan altın çilek bugün Afrika, Avustralya, Yeni Zelanda ve Hindistan başta olmak üzere Türkiye'nin de dâhil olduğu dünyanın birçok yerinde üretimi yapılmaktadır. "Yer kirazi", "güney feneri" ve "pelerinli beктаşi üzümü" adlarıyla da bilinen altın çilek ile ilgili ilk çalışmalar Türkiye'de 2007 yılında başlamıştır (Çelik 2011). Altın çileğin bilimsel sınıflandırılması Çizelge 1.4'te verilmiştir.

**Çizelge 1.4.** Altın çileğin bilimsel sınıflandırılması

<b>Alem</b>	<i>Plantae</i> (Bitkiler)
<b>Bölüm</b>	<i>Magnoliophyta</i> (Kapalı tohumlular)
<b>Sınıf</b>	<i>Magnoliopsida</i> (İki çenekliler)
<b>Alt sınıf</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Takım</b>	<i>Solanales</i>
<b>Familya</b>	<i>Solanaceae</i> (Patlıcangiller)
<b>Cins</b>	<i>Physalis peruviana</i> (Altın Çilek)

Altın çilek bitkisi 2 metreye yakın bir yüksekliğe erişebilir. Meyvenin rengi başlangıçta yeşil iken olgunlaştıkça altın sarısı renge döner. Altın çilek meyvesi yaprak şeklinde bir kılıfa sarılıdır. Bu kılıf meyveyi zararlı etkilerden korur ve uzun süre depolanabilmesini sağlar (Puante *et al.* 2011).



Altın çilek bitkisinin meyveleri, yaprakları, gövdesi, kökleri ve özsuğu değerli olup farklı alanlarda kullanılmaktadır. Altın çileğin başlıca kullanım alanları konserve, reçel, salatalar, meyve suyu ve pasta sektörüdür (Çelik 2011).

Meyve, %15 şeker gibi çözünür katı madde içerir. Ayrıca altın çileğin früktoz miktarı yüksek olduğu için şeker hastaları için oldukça önemlidir (Ramadan 2011). Akciğer, göğüs ve ağız kanserlerinin oluşumunu önlerken kanser hücreleri üzerinde ise baskılayıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (Lee *et al.* 2005).

Lif oranı en yüksek meyvelerden biri olarak bilinen altın çilek (4,9-7,0 g / 100 g), karbonhidrat (1,3 g / 100 g) ve proteinlerce de (1,9 g / 100 g) zengin olup 100 gramı 77 kalorilik enerji sağlamaktadır. 100 g taze meyvesinin mineral ve vitamin içeriğinde 8 mg kalsiyum, 55,3 mg fosfor, 1,2 mg demir, 1,6 mg A vitamini, 2,08 mg B vitamini kompleksi, 43 mg C vitamini yer almakta olup %79'u sudur (Çelik 2011).

**Çizelge 1.5.** 100 gram taze altın çilek meyvesinin besin değeri

<b>Altın çilek içeriği</b>	<b>Değeri (g)</b>
Protein	1,90
Yağ	0,16
Lif	4,9
Nem	78,9
Kalsiyum	0,008
Fosfor	0,055
Demir	0,0012

A vitamini	0,0016
B vitamini	0,002
C vitamini	0,043

Bir antioksidan vitamin olan C vitamini, insan beslenmesinde, dokuların büyümesinde, nörotransimitlerin üretiminde ve A vitamini ise büyüme ve gelişmede, hücrelerin farklılaşmasında önemli rol oynar (Bates 1995). Altın çilek astım, hepatit, kanser, sıtma, enfeksiyonel ve ateşli hastalıklarda kullanılır (Wu *et al.* 2005).

### 1.3. Keten Tohumu

Keten (*Linum usitatissimum*), ılıman ve tropikal iklim bölgelerinde yetişen mavi çiçekli 200 kadar türü olan tek yıllık bir kültür bitkisidir. Latince ismi “çok faydalı bitki” anlamına gelmektedir. Yağ ketenlerinde 40-80 cm, lif ketenlerinde ise 60-120 cm kadar uzayabilen sap kısımları bulunur. Keten tohumunun bilimsel sınıflandırılması Çizelge 1.6’da verilmiştir.

**Çizelge 1.6.** Keten tohumunun bilimsel sınıflandırılması

<b>Alem</b>	<i>Plantae</i> (Bitkiler)
<b>Bölüm</b>	<i>Magnoliophyta</i> (Kapalı tohumlular)
<b>Sınıf</b>	<i>Magnoliopsida</i> (İki çenekliler)
<b>Takım</b>	<i>Malpighiales</i>
<b>Familya</b>	<i>Linaceae</i>
<b>Cins</b>	<i>Linum</i>
<b>Tür</b>	<i>Linum usitatissimum</i>

Keten Mısırlılardan beri üretimi yapılan ve çok değişik amaçlarla kullanılan bir bitkidir. İlk olarak M.Ö. 3000 yıllarında Babil kayıtlarında karşımıza çıkmaktadır. Tohumundaki lifler nedeniyle sağlık, tekstil alanlarında ve gıda endüstrisinde önemli bir materyaldir (Gökbulut 2009).



Keten tohumu hayvanların beslenmesinde yem olarak tüketilmektedir. Özellikle ekmek, bisküvi, pizza gibi fırıncılık ürünlerinin yapımında ve şekerleme endüstrisinde de bolca kullanılmaktadır.

Dünyada keten tohumunun en büyük üreticisi olan Kanada'da ise 17. yüzyıldan bu yana yetiştirilmektedir (Carter 1993). Ayrıca Arjantin, Uruguay ve ABD önemli miktarda keten tohumu üreten ülkelerdir. Türkiye'de ise keten üretimi en fazla Marmara ve Batı Karadeniz bölgelerinde yapılmaktadır.

Keten tohumları 4-6 mm uzunlukta, yumurta biçiminde, yassı, parlak, kırmızımtırak esmer renkli, kokusuz, lezzetli ve yağlıdır.

Keten tohumunun içeriğinde; Omega-3, -6 ve -9 yağ asitlerinin yanı sıra yüksek oranda çözünür ve çözünmez lif, protein, aminoasit, lignan,  $\beta$ -karoten, E vitamini, C vitamini ve B<sub>12</sub> vitamini vardır. Ayrıca, bol miktarda potasyum, az miktarlarda ise magnezyum, demir, bakır, çinko minareleri içerir.

Temel yağ asitleri olan, linoleik yağ asitleri (Omega-6 grubu yağ asitlerinin öncüsü) ve linolenik yağ asitleri (Omega-3 grubu yağ asitlerinin öncüsü) metabolizma tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır ve diğer yağ asitlerinin ham maddesi veya yapı taşlarıdır. Omega-3 yağ asitlerinin, kronik kalp hastalıklarına sebep olan trigliseritleri %30 gibi yüksek bir oranda düşürerek kalp krizi riskini azalttığı bildirilmiştir (Bozdemir 2007).

Keten tohumu ile ilgili yapılan diğer araştırmalar ise, düzenli keten tohumu kullanımı sonucu alınan linolenik asitin, damar sertliğinin gelişmesini önleyebildiğini, romatizmal hastalıklarda ve bağışıklık sisteminde etkili olabileceğini göstermiştir. Omega-3 yönünden dengeli beslenmenin kanseri engelleyici özellikleri de tespit edilmiştir (Serraino *et al.* 1992). Ayrıca keten tohumu yağında bulunan Omega-3, vücutta beyin ve sinir dokularını yapımında ve beyin sinyallerinin doğru bir şekilde iletiminde kullanılmaktadır (Sarica 2003).



Keten tohumunda, benzoik ve sinamik asit gibi fenolik asitler ve bu asitlerin hidroksilenmiş türevleri de bulunmaktadır. Keten tohumu ayrıca bol miktarda  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  tokoferolleri de içermektedir. Ayrıca toplam 100 g keten tohumunda tokoferol miktarı 40-50 mg arasında değişmektedir (Mazza *et al.* 1998).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, keten tohumunun kabuklarında lignan isimli çok faydalı özellikleri olan bitkisel kökenli bir kimyasal madde grubu bulunmuştur. Keten tohumunda “Secoisolariciresinol glucoside” isimli lignan bulunmaktadır. Bu madde sadece antikanser özelliğe sahip değil, aynı zamanda antiviral, antibakteriyel ve anti-fungal özelliklere de sahiptir. Ayrıca çok güçlü bir antioksidan ve farklı hastalıklara karşı bağışıklık sistemini güçlendirici bir maddedir (Brooks *et al.* 2004). Keten bitkisi tohumu tüketiminin, kalp hastalıkları, kanser ve diyabet riskini azalttığı belirtilmiştir.

#### **1.4. Çalışmanın Amacı**

Reaktif oksijen türleri nükleik asit, lipit, protein, çoklu doymamış yağ asitleri ve karbohidratlar gibi birçok önemli biyomoleküllerin oksidatif hasarına sebep olur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) antioksidanlar tarafından giderilmezlerse kalp hastalıkları, felç, damar sertliği, diyabet ve kanserinde içinde bulunduğu 100’den fazla hastalığa yol açtığı bildirilmiştir (Halliwell and Gutteridge 1994; Gülçin 2012).

Doğal antioksidanlar metabolizmayı serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumanın yanısıra gıdalardaki lipitlerin oksidatif bozulmasını önler ve kronik rahatsızlıkların sürecini geciktirir (Gülçin *et al.* 2007a; Gülçin 2012). Doğal antioksidanların kullanımının profilaktik etki göstererek bu hastalıkların oluşma riskini azalttığı bilinmektedir. Bu nedenle araştırmacılar potansiyel antioksidan aktiviteli maddelerin belirlenmesine yönelik çalışmaları arttırmışlardır. Bitkisel organizmalarda metabolizma ürünleri olarak oluşan fenolik yapılu bileşiklerin kimyasal yapılarından dolayı güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları düşünülmektedir. Bu sebeple doğal ve güvenli gıda antioksidan kaynaklarına bilhassa bitki kökenli olanlarını teşhis etmeye ihtiyaç duyulduğundan son yıllarda bunlara olan ilgi daha da artmıştır (Prieto *et al.* 1999;

Gülçin *et al.* 2009a). Ayrıca fenolik maddelerin besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddelerin oksidasyonunu önledikleri bilinmektedir (Harborne 1994; Shahidi and Naczki 1995; Moure *et al.* 2001).

Bu nedenle uzun yıllardan beri besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini arttırmak için katkı olarak kullanılan baharatlar ve aromatik sebzeler ve meyveler içeriklerindeki fenolik asit miktarlarından dolayı giderek önem kazanmaktadır (Öztürk Sarıkaya 2009).

Tüketiciler sentetik antioksidanlarla hazırlanan gıdalardan giderek kaçınmaktadır. Son zamanlarda kanserojen gibi yan etkileri nedeniyle yasaklanan sentetik antioksidanlar yerine gıda, tıp ve farmakoloji sektöründe kullanılmaya başlanırken doğal antioksidanlar bulmaya yönelik ilgi artmıştır (Gülçin *et al.* 2003a).

Bütün bu durumlar ve sonuçlar göz önüne alındığında bizi altın çilek (*Physalis peruviana*) ve keten tohumunun (*Linum usitatissimum*) antioksidan kapasitesini araştırmaya yönlendirdi. Bu amaçla altın çilek (*Physalis peruviana*) ve keten tohumunun (*Linum usitatissimum*) farklı ekstrelerinin 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal (ABTS<sup>•+</sup>) giderme aktivitesi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi, N,N-dimetil-p-fenilendiamin radikal (DMPD<sup>•+</sup>) giderme aktivitesi, süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) giderme aktivitesi, potasyum ferriksiyanit indirgeme metodu ile total indirgeme kuvveti, kuprak metodu ile kuprik iyonları (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme kapasitesi, ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitesi, bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesi, Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi, frap indirgeme kapasitesi, total fenolik bileşik miktar tayini ve total flavonoid miktar tayini metotlarını kullanarak antioksidan kapasitelerini belirledik. Bu aktiviteler birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ - tokoferol ve troloks ile karşılaştırıldı. Ayrıca her bir ekstrede bulunan p-hidroksibenzoik asit, vanilin, p-kumarik asit, askorbik asit, kafeik asit, ferulik asit, elajik asit, sirinjik asit, kuersetin, epigenin, keampferol, epigallaktekin, keampferol-3-*o*-glukozit ve luteolin-7-*o*-glukozit maddeleri LC-MS/MS cihazı kullanılarak belirlendi.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Doğal antioksidan kaynakları; baharatlar, şifalı bitkiler, çaylar, yağlar, tohumlar, tahıllar, hububatlar, meyveler, sebzeler, enzimler, proteinler olarak sayılabilmektedir (Gökalp 2006; Gülçin 2012).

Bitkisel yağlar, yağlı gıdalar, mayonez, fındık, ceviz, tahıllar, soya, kakao, unlu gıdalar, baklagiller, ayrıca hayvansal gıdalar da mevsimlere göre (özellikle deniz ürünleri) değişkenlik gösterebilirler de önemli  $\alpha$ - tokoferol kaynağıdır. İnsanların günlük en az 4 mg tokoferol ve 8 mg tokotrienol almaları önerilmektedir. Tokoferol ve tokotrienoller yağlarla birlikte barsakların üst kısımlarından emilmekte, lenf yoluyla karaciğere erişmekte, safra asitleri ve pankreas salgıları emilimlerinde etkili olmaktadır. Kolestatik karaciğer hastalıkları ve pankreatitlerin, sindirim salgılarındaki değişimine bağlı E vitamini eksikliğine neden olabileceği rapor edilmiştir (Stahl *et al.* 2002).

Domates, greyfurt ve karpuzda likopen bulunur. Likopen plazmada en çok bulunan ve barsaklardan emilebilen nadir karotenoidlerden biridir. Ayrıca insan metabolizmasında karotenoid sentezlenemediğinden, besinlerle dışarıdan alınmalıdır. Diyetimizdeki likopenin en az %85'i domates ve domates ürünlerinden temin edilmektedir. Ayrıca likopenin koroner kalp hastalıklarını önlediği de bildirilmiştir. Bu etkinin serum lipoproteinlerinin oksitlenmesini önleyici antioksidan etkisinden ötürü olduğu bildirilmiştir (Bramley 2000).

Polifenoller bitkilerde çok miktarda bulunan, meyve ve çiçeklere renklerini veren, çevresel stres faktörlerine karşı koruma sağlayan, benzen halkasına hidroksil bağlı kimyasal bileşiklerdir (Kahkönen *et al.* 1999; Ergün vd 2002; Cemeroglu vd 2004). Çayın çok fazla içilmesi sonucunda polifenolik bileşikler, lipid peroksidasyonunu önleyerek, serbest radikal süpürücü özellikleriyle antioksidan etki gösterirler (Mukai *et al.* 2000). Çayın antioksidan aktiviteli bileşikleri olan polifenoller kuru çayın %35'ini oluştururlar (Shahidi and Nacz 1995).

Hayvan deneyleri ile klinik deneylerde sarımsağın damar sertliğini tedavi edici, tansiyon düşürücü ve bilhassa LDL kolesterolü, yani kötü kolesterolü düşürücü etkileriyle, sindirim sistemi rahatsızlıklarını önleyici etkileri gösterilmiştir (Hasler 2000). Sarımsağın antimikrobiyal, antifungal, antiviral, hipokolesterolemik, hipotansif ve antioksidan etkilerinden özellikle allisinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (Lawson 1998).

Bunların yanı sıra çilek (Abuja *et al.* 1998), kiraz (Wang *et al.* 1999), ılgın (Oktay *et al.* 2007), turunçgiller (Saleh *et al.* 1998), kızılıçık (Gülçin *et al.* 2005c), kivi (Bursal and Gülçin, 2011), nane (Elmastas *et al.* 2005), defne (Elmastas *et al.* 2006a), fesleğen (Gülçin *et al.* 2007), mantar (Elmastas *et al.* 2006b), anason (Gülçin *et al.* 2003a), madımak (*Polygonum cognatum*) (Yıldırım *et al.* 2003), evelek (*Rumex crispus*) (Yıldırım *et al.* 2001), lavanta ve karanfil (Gülçin *et al.* 2004d), reyhan (Gülçin *et al.* 2007a), karabiber (Gülçin 2005), kuru erik (Donavan, 1998), ısırgan (Gülçin *et al.* 2004b), su mercimeği (Gülçin *et al.* 2009b), brokoli (Gülçin *et al.* 2004e), meyan kökü ve yaprakları (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Şerbetçi Tohma and Gülçin 2009), karnabahar (Köksal and Gülçin 2008), adaçayı (*Melisa officinalis*) (Köksal *et al.* 2011), muşmula (*Mespilus germanica*) (Gülçin *et al.* 2011), ahududu (*Rubus ideus*) (Gülçin *et al.* 2011) gibi çeşitli sebze, meyve ve bitkilerin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır.

Son zamanlarda farklı kaynaklardan saflaştırılmış veya saf haldeki bazı maddelerin antioksidan ve radikal giderme aktiviteleri de yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Bu anlamda dantrolene sodyum (Büyükokuroğlu *et al.* 2001), melatonin (Gülçin *et al.* 2002; 2003b; Gülçin 2008), serotonin (Gülçin 2008), morfin (Gülçin *et al.* 2004a), propofol (Gülçin *et al.* 2005a), kafeik asit (Gülçin 2006), L-karnitin (Gülçin 2006b), L-adrenalin (Gülçin 2009a), L-tirozin ve L-dopa (Gülçin 2007), yeni sentezlenmiş bazı dimerik fenol bileşikleri (Gülçin and Daştan 2007), kurkumin (Ak and Gülçin 2008), rezveratrol (Gülçin 2010), CAPE (Göçer and Gülçin 2011) ve eugenol (Gülçin 2011) gibi saf ve biyolojik açıdan önemli olan moleküllerin antioksidan ve radikal giderme aktiviteleri incelenmiş ve bazıları için de muhtemel mekanizmalar önerilmiştir.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmaya göre altın çilekten izole edilen 7 adet yeni alkaloidin 4 tanesinin akciğer kanseri, göğüs kanseri ile karaciğer kanseri hücrelerini artışı engelleyici tespit edilmiştir (Çelik 2011). Yine aynı araştırma birimi tarafından yapılan diğer bir çalışmaya göre altın çilekten izole edilen dört adet  $\beta$ -hiddroksivitanolit E alkaloidinin DNA hasarını ve akciğer kanser hücrelerinin büyümesini engelleyici tespit edilmiştir (Çelik 2011).

Yapılan diğer bir çalışmaya göre altın çilek yiyen yetişkinlerde yemekten bir buçuk saat sonra kan şekerinin düştüğü tespit edilmiştir (Çelik 2011).

Altın çileğin %95'lik etanol özütlerinin iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Sulu ekstresi ile karşılaştırıldığında, etanol ekstraktlarının daha iyi bir antioksidan aktivite sergilediği gözlemlenmiştir (Wu *et al.* 2006).

Ayrıca altın çilek yüksek düzeyde C vitamini, A vitamini ve B vitamini kompleksini içerir. Meyve, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (Wu *et al.* 2006).

Altın çilek (*Physalis peruviana*) ile yapılan diğer bir çalışmada ise linoleik asit içeriği, insan metabolizması için gerekli ve önemli olan demir, magnezyum ve çinko gibi çeşitli minerallerin yüksek konsantrasyonlarda olduğunu belirtilmiştir (Rodrigues *et al.* 2009).

Literatürde keten tohumuyla ilgili birçok çalışma mevcuttur. Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanları azoksimetan enjekte ettikten sonra yüksek yağlı bir diyet ve %5-10 oranında keten tohumu ilaveli diyetlerle dört hafta beslenmişlerdir. Sonuçta keten tohumu ile beslenmenin kolon kanseri riskini azalttığını tespit etmişlerdir (Senaino *et al.* 1992).

Göğüs kanserli hastaların bir kısmının kontrol kekleri, diğer bir kısmının da 25 g keten tohumu içeren kekleri üç ay boyunca tüketmeleri sağlamıştır. Sonuç olarak keten

tohumu tüketen göğüs kanserli hastalarda tümör gelişiminin azaldığı tespit edilmiştir (Thompson *et al.* 2000).

Yapılan bir diğer çalışmada günde 3 g keten tohumu yağı ile beslenen yetişkinlerde kan glukoz düzeyinin artmadığı belirlenmiştir (Curan *et al.* 2002). Diyetlerine keten tohumu ilave edilen hastalar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, hastaların toplam plazma kolesterol düzeylerinde ve HDL kolesterol düzeylerinde önemli düşüşler olduğu tespit edilmiştir (Wilkenson *et al.* 2005).

Ayrıca keten tohumunun pek çok hormonal kanserlerin (prostat, göğüs, rahim, yumurtalık v.s) oluşumunu engellediği ve antikanserojen olarak görev yaptığı rapor edilmiştir. Amerika Ulusal Kanser Enstitüsünün, kanser önleyici gıdalar arasına aldığı ve üzerinde çalışılmasını öngördüğü altı bitkisel materyalden biriside keten tohumudur (İşleroğlu vd 2005).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

2,2'-Azino-bis (3-etilbenztiyoazolin-6-sulfonik asit) (ABTS), N,N-dimetil-p fenilendiamin (DMPD), neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), riboflavin, metiyonin, nitroblu tetrazolium (NBT), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikali, 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (Ferrozin),  $\alpha$ -tokoferol, linoleik asit, galik asit, folin-ciocalteu, kuersetin ve trikloroasetik asit (TCA) Sigma-Aldrich GmbH, (Sternheim Germany)'dan satın alındı.

Fenolik bileşik içeriği tayininde kafeik asit, ferulik asit, askorbik asit, katekol, galik asit, p-kumarik asit ve kuersetin Sigma-Aldrich, sirinjik asit, elajik asit ve  $\alpha$ -Tokoferol, Fluka, p-hidroksibenzoik asit ve vanilin Merck firmalarından sağlanmıştır.

##### 3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar

Spektrofotometre	Shimadzu, UVmini-1240- UV-VIS
Derin dondurucular (-30 ve -86°C)	Sanyo, Japan
pH metre	Hanna Instrument
Hassas terazi	Scaltec SBA 41
İnkübatör	Elektro-Mag (0-300°C)
Otomatik pipetler	Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
Çalkalayıcı	Nüve SL 350
Vorteks	Fisons, Whirlimixer
Saf su cihazı	Firstream Calypso MK 1 Glass Still
Magnetik karıştırıcı	Stuart Scientific
UV-Spektrofotometre küveti	1 cm <sup>3</sup> 'lük Kuartz küvet

Liyofilizatör	Alpha 1-2 LD plus
LC (Sıvı Kromatografisi)	Zivak® HPLC
MS (Kütle Spektrometresi)	Zivak® Tandem Gold Triple Quadrupole
Evaporatör	Heidolph 94200, Bioblock Scientific

### 3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Araştırma süresince kullanılan çözeltilerin kullanılış yerleri ve hazırlanış şekilleri aşağıda belirtilmiştir.

#### 3.1.3.a. Total fenolik bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler

1. **%2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 2 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 80 ml destile suda çözüldü ve toplam hacmi destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

2. FCR satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

#### 3.1.3.b. Total flavonoit bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler

1. **%2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 2 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 80 ml destile suda çözüldü ve toplam hacmi destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

2. **Standart kuersetin çözeltisinin hazırlanması:** 25 mg kuersetin 25 ml destile etanolda çözüldü.

3. **%10'luk Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 10 gr Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> alındı ve 90 ml saf suda çözüldü.



**4. 1 M'lik CH<sub>3</sub>COOK çözeltisinin hazırlanması:** 9,9 gr CH<sub>3</sub>COOK alındı 80 ml destile suda çözüldü ve toplam hacmi destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.3.c. Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

**1. 0,2 M pH:6,6 fosfat tamponunun hazırlanması:** 6,24 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> yaklaşık 180 ml destile suda çözüldü ve pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlandı. Toplam hacim 200 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.

**2. %1'lik K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 1,5 g K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> destile suda çözüldü ve toplam hacim 150 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**3. %10'luk TCA çözeltisinin hazırlanması:** 15 g TCA destile suda çözüldü ve toplam hacmi 150 ml'ye destile suyla tamamlandı.

**4. %0,1'lik FeCl<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 165 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.3.d. Kuprak metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

**1. 0,01 M'lik CuCl<sub>2</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 47 mg CuCl<sub>2</sub> alındı ve 50 ml destile suda çözüldü.

**2. 7,5x10<sup>-3</sup> M'lik etanolik neokuprin çözeltisinin hazırlanması:** 78 mg Neokuprin alındı ve 50 ml etanolde çözüldü.

**3. 1 M'lik CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> tamponunun hazırlanması (pH:6,5):** 7,7 g CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> alındı ve 80 ml saf suda çözüldü, pH-metre ile pH'sı 6,5'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye saf su ile tamamlandı.

**3.1.3.e. FRAP indirgeme metodu ile ilgili çözeltiler**

**1. 0,3 M'lık asetat tamponunun hazırlanması:** 2,46 g  $\text{NaCH}_3\text{COO}$  alındı ve 80 ml destile suda çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 3,6'ya ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**2. 40 mM'lık HCl çözeltisinin hazırlanması:** 0,334 ml %37 lik HCl çözeltisinden alındı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**3. 10 mM'lık TPTZ çözeltisinin hazırlanması:** 0,312 g TPTZ alındı ve 100 ml 40 mM'lık HCl içerisinde çözüldü.

**4. 20 mM'lık  $\text{FeCl}_3$  çözeltisinin hazırlanması:** 0,54 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  alındı ve 100 ml destile suda çözüldü.

**5. FRAP reaktifinin hazırlanması:** 10 hacim 0,3M'lık asetat tamponu, 1 hacim 10 mM'lık TPTZ ve 1 hacim 20mM'lık  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltisinden oluşur.

**3.1.3.f. Metal şelatlama aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

**1. 2 mM'lık  $\text{FeCl}_2$  çözeltisinin hazırlanması:** 0,014 g  $\text{FeCl}_2 \cdot 3/4\text{H}_2\text{O}$  alındı ve 50 ml etanolda çözüldü.

**2. 5 mM'lık ferrozin çözeltisinin hazırlanması:** 6,2 mg ferrozin 25 ml saf etanolda tamamen çözününceye kadar karıştırıldı.

**3.1.3.g. Bipiridil reaktifi ile metal şelatlama metodu ile ilgili çözeltiler**

**1. 0,1 M'lık Tris-HCl tamponunun hazırlanması:** 1,21 g Tris alındı ve 90 ml destile suda çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 7,4'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**2. 0,2 M'lık HCl çözeltisinin hazırlanması:** 1,60 ml %37'lik HCl çözeltisinden alındı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**3. %0,2'lik bipiridil çözeltisinin hazırlanması:** 0,2 g Bipiridil alındı ve 100 ml'lık, 0,2 M'lık HCl çözeltisinde çözüldü.

**4. 2 mM'lık FeSO<sub>4</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 0,028 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O alındı ve 50 ml destile suda çözüldü.

**3.1.3.h. Süperoksit radikali giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

**1. 0,05 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması (pH:7,8):** 1,42 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> yaklaşık 180 ml destile suda çözüldü ve pH metre kullanılarak pH'sı 7,8'e ayarlandı. Toplam hacim saf su ile 200 ml olacak şekilde tamamlandı.

**2.  $1,33 \times 10^{-5}$  M'lık riboflavin çözeltisinin hazırlanması:** 12 mg riboflavin 100 ml, 0,05 M ve pH'sı 7,8 olan fosfat tamponunda çözününceye kadar karıştırıldı.

**3.  $4,46 \times 10^{-5}$  M'lık metiyonin çözeltisinin hazırlanması:** 0,665 mg metiyonin 100 ml, 0,05 M ve pH'sı 7,8 olan fosfat tamponunda çözününceye kadar karıştırıldı.

**4.  $8,15 \times 10^{-8}$  M'lık NBT çözeltisinin hazırlanması:** 6,1 mg NBT alındı ve toplam hacim 50 ml'ye fosfat tamponuyla (pH: 7,4, 0,1 M) tamamlandı.

**3.1.3.i. DPPH<sup>·</sup> serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler**

1. **10<sup>-3</sup> M'lık DPPH<sup>·</sup> çözeltilisinin hazırlanması:** 39 mg DPPH<sup>·</sup> 100 ml etanolda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

**3.1.3.j. ABTS<sup>·+</sup> giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

1. **0,1 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması (pH:7,4):** 2,84 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 180 ml destile suda çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 200 ml'ye tamamlandı.

2. **2 mM'lık ABTS çözeltilisinin hazırlanması:** 11 mg ABTS, 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3. **2,45 mM'lık potasyum persülfat çözeltilisinin hazırlanması:** 66,25 mg K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

4. **2 mM'lık ABTS<sup>·+</sup> çözeltilisinin hazırlanması:** 2 mM'lık ABTS çözeltilisinden 50 ml alındı ve bunun üzerine 50 ml 2,45 mM'lık potasyum persülfat çözeltilisi ilave edildi. ABTS<sup>·+</sup> radikallerinin oluşması için bir gece boyunca karanlıkta ve manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

**3.1.3.k. DMPD<sup>·+</sup> giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

1. **0,1 M'lık asetat tamponunun hazırlanması (pH 5,3):** 2,05 g CH<sub>3</sub>COONa 230 ml saf suda çözüldü ve pH-metre kullanılarak pH'sı 5,3'e ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

**2. 0,1 M'lık DMPD çözeltisinin hazırlanması:** 209 mg DMPD 10 ml destile suda çözülerek hazırlandı.

**3. 0,001 M'lık DMPD<sup>+</sup> çözeltisinin hazırlanması:** 0,1 M'lık DMPD çözeltisinden 1 ml alındı 100 ml'lik ve 0,1 M'lık (pH 5,3) asetat tamponuna aktarıldı. Bunun üzerine 0,2 ml ve 0,05 M'lık FeCl<sub>3</sub> ilave edilerek hazırlandı.

**4. 0,05 M'lık FeCl<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması:** 0,81 g FeCl<sub>3</sub> 100 ml saf suda çözülerek hazırlandı.

### **3.1.3.1. Total antioksidan aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

**1. 0.04 M pH:7,4 fosfat tamponu hazırlanması:** 0,48 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> alındı ve 80 ml destile suda çözüldü, pH metre ile PH'sı 7,4'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.

**2. Linoleik asit emülsiyonunun hazırlanması:** 0,017 M linoleik asit emülsiyonu hazırlamak için 265 µl linoleik asit 50 ml pH:7,4 fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.

**3. %3,5'luk HCl çözeltisinin hazırlanması:** %37'lik HCl'den 9,46 ml alınarak 100 ml'ye destile suyla tamamlandı.

**4. 20 mM FeCl<sub>2</sub> çözeltisi hazırlanması:** 281 mg FeCl<sub>2</sub>.3/4H<sub>2</sub>O, %3,5'luk HCl ile çözülerek hacim aynı çözeltiyle 100 ml'ye tamamlandı.

**5. %30'luk NH<sub>4</sub>SCN çözeltisinin hazırlanması:** 15 gr NH<sub>4</sub>SCN destile suda çözüldü, hacmi 50 ml'ye tamamlandı.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Altın çilek meyvesi ve yaprağının liyofilize su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstralarının hazırlanması

Antioksidanlar ile ilgili çalışmalarda kullanılan altın çilek meyvesi 300 g ve altın çilek yaprak 10 g tartılıp, blender cihazı ile parçalandı. Blendırda parçalanmış karışımlara 200 ml saf su ilave edildi. Daha sonra karışım tülbent bezinden süzöldü ve geriye kalan posa tekrar 100 ml saf su ile aynı şartlarda ekstrakte edilmeye devam edildi ve tülbent bezinden süzöldü. Ekstreler birleştirildikten sonra süzgeç kâğıdından süzölerek, süzöntüler balonlara alındı ve derin dondurucuda donduruldu. Dondurulmuş ekstraller 50 mm-Hg basınç altında liyofilizatörde kuruluğa kadar liyofilize edildi.

Aynı şekilde 100 g keten tohumu blenderda parçalandı Karışım ikiye ayrıldı birinci kısmına 100 ml su ilave edildi, bir gece boyunca oda sıcaklığında ekstrakte edildi ve daha sonra karışım tülbent bezinden süzöldü. Süzöntü balon içine alınarak derin dondurucuda bekletildi. Daha sonra liyofilizatörde kuruluğa kadar liyofilize edildi. İkinci kısmına alkol ilave edildi ve tülbentten süzöldükten sonra evaporatör ile çözücüsü uzaklaştırıldı.

### 3.2.2. Total fenolik bileşik miktarı tayini

Altın çilek meyvesinin ve yaprağının liyofilize su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstresinde bulunan fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile total olarak belirlendi (Singleton *et al.* 1999). Standart fenolik bileşik olarak galik asit kullanıldı. Bunun için öncelikle gallik asitten bir standart grafik hazırlandı. Altın çilek meyvesinin ve yaprağının liyofilize su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstresinin mevcut fenolik bileşik miktarını belirlemek için hazırlanmış olan stok çözelti kullanıldı. Stok çözeltiden 1000 µg ekstre alınarak bir vezin kabına konuldu ve hacim 23 ml'ye saf suyla tamamlandı. Karışıma 0,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra da 1,5 ml %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edildi. Numuneler 2 saat oda sıcaklığında

karıştırıldı. Bu süre sonunda numunelerin 760 nm'deki absorbanı, saf sudan oluşan köre karşı okundu. Numunelerin absorban değerlerine karşılık gelen gallik asit ekivalen miktarı standart grafikten elde edilen denklem yardımıyla tespit edildi. Sonuçlar gallik asit ekivalen (GAE) olarak verildi (Köksal *et al.* 2008).

### **3.2.3. Total flavonoit bileşik miktarı tayini**

Altın çilek meyvesinin ve yaprağının liyofilize su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstresinde bulunan total flavonoit miktarı Park ve arkadaşlarının (1997) yapmış olduğu metoda göre yapıldı. Bunun için bir vezin kabına 1000 µg ekstre ilave edildi. Daha sonra deney tüpüne aktarılan ekstre 0,1 ml (1 M) suda hazırlanmış CH<sub>3</sub>COOK ve 0,1 ml (%10) Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> çözeltilerini içeren 4,3 ml etanol çözeltisi ile seyreltilerek vortekste karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbanları kaydedildi. Total flavonoit konsantrasyonu tayini için kuersetin standart olarak kullanıldı ve standart kuersetin grafiğinden elde edilen denklemden total flavonoit konsantrasyonu mikrogram kuersetin ekivalen (KE) olarak belirlendi.

### **3.2.4. Altın çilek meyvesi, yaprak ve keten tohumunun liyofilize su ekstresi ve keten tohumu alkol ekstresinin fenolik asit içeriğinin belirlenmesi**

Altın çilek meyvesi, yaprak ve keten tohumunun liyofilize su ekstresi ve keten tohumu alkol ekstresinin fenolik asit içeriğinin belirlenmesi LC-MS/MS analiz metoduna göre yapıldı. LC-MS (Liquid chromatography-mass spectrometry), sıvı kromatografisinin kompleks karışımlardaki maddeleri fiziksel olarak ayırt etmesi esasına dayanan bir analitik kimya tekniğidir. Biyokimyasal maddelerin içerikleri bu metot ile analiz edilebilir.

#### **3.2.4.a. Test çözeltisinin hazırlanması**

Altın çilek meyvesi, yaprak ve keten tohumunun liyofilize su ekstresi ve keten tohumu

alkol ekstresinden 100'er mg alındı ve 5 ml etanol-su (50:50 v/v) çözeltisi içinde çözüldü. Bu çözeltiden 1 ml alınarak 5 ml'lik bir kaba aktarıldı. Diğer taraftan 100 µl <sup>13</sup>C p-hidroksibenzoik asit aynı şekilde 5 ml etanol-su (50:50 v/v) çözeltisi içinde çözüldü. Son çözeltiden 1,5 ml LC'ye yüklendi ve cihaz deney boyunca 15<sup>0</sup>C'de tutuldu.

#### **3.2.4.b. Cihazlar ve kromatografik şartlar**

Deneyler, Macherey-Nagel Nucleoder C18 Gravite kolonu (125 x 2 mm, 5 µm partikül büyüklüğü) ekipmanları ile desteklenen Zivak® HPLC ve Zivak® Tandem Gold Triple quadrupole (İstanbul, Türkiye) kütle spektrometresi ile gerçekleştirildi. Hareketli faz ise suda çözünmüş (B, %0,5 formik asit) metanol (A, %0,5 formik asit) çözeltisinden oluşmaktadır. Akış hızı hareketli faz için 0,3 ml/dk. ve kolon sıcaklığı ise 30<sup>0</sup>C'ye ayarlandı. Enjeksiyon hacmi ise 5 µl olarak alındı.

#### **3.2.4.c. HPLC metotlarının optimizasyonu ve LC-MS/MS prosedürü**

En iyi hareketli faz çözeltisi metanol ve su sisteminde asidik yapılmış bir gradiyent ile belirlendi. Böyle bir hareketli fazın bileşiklerin ayrışması ve iyonlaşmanın fazlaşması için yeterli olduğu belirlendi. Küçük ve nispeten polar antioksidanların iyi bir şekilde iyonlaşması ESI kaynağından sağlandı. Deneylerin iyonlaşma tekniği ve çarpışma enerjileri, kantitatif kütle spektrometre analizlerinde en önemli parametrelerdir. Triple quadrupole kütle spektrometre sistemi dağıtılmış iyon sabitliğinden dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Gören *et al.* 2009). Bundan dolayı triple quadrupole kütle spektrometresinin kullanılmasına karar verildi. Optimum ESI parametreleri 2.40 mTorr CID gaz basıncı, 5000 V ESI iğne voltajı, 600 V ESI koruyucu voltaj, 300<sup>0</sup>C kuru gaz sıcaklığı, 50<sup>0</sup>C API sıcaklığı, 55 psi Nebullizer gaz basıncı ve 40 psi kuru gaz basıncı olarak belirlendi.



### 3.2.5. Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi

Toplam indirgeme tayini Oyaizu yönteminin (1986) küçük bir modifikasyonuna (Gülçin 2012) göre yapıldı. Bunun için öncelikle 1 mg/ml konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözülden farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde deney tüplerine aktarıldı, hacim destile suyla 1 ml'ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2,5 ml ve 0,2 M'lık fosfat tamponu (pH:6,6) ve 2,5 ml %1'lik potasyumferrisiyanür [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] ilave edilerek karışım 50<sup>0</sup>C'de 20 dk inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 ml %10'luk (TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2,5 ml alındı ve bunun üzerine 2,5 ml destile su ve 0,5 ml %0,1'lik FeCl<sub>3</sub> ilave edildikten sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okundu. Kör olarak destile su kullanıldı. Kontrol olarak numune yerine su kullanıldı.

### 3.2.6. Cu<sup>2+</sup>-Cu<sup>+</sup> indirgeme kapasitesi (Kuprak metodu)

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin Cu<sup>2+</sup> indirgeme aktiviteleri bakır iyonları indirgeme metodunun (Apak *et al.* 2006) hafif bir modifikasyonuyla yapıldı (Ak and Gülçin 2008). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstreleri tüplere sırasıyla 0,25 ml CuCl<sub>2</sub> çözeltisi (0,01 M), 0,25 ml etanolik neokuprin çözeltisi (7,5x10<sup>-3</sup>M) ve 0,25 ml CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> tampon çözeltisi (1 M) eklendi. Yarım saat sonra 450 nm'de köre karşı absorbans değerleri ölçüldü. Kör olarak destile su kullanıldı.

### 3.2.7. FRAP indirgeme kapasitesi

Total antioksidan için hazırlanan stok çözelti bu deneyde de kullanıldı. Öncelikle deney tüplerine 10, 20 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarına denk gelecek şekilde altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi, keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstreleri ile standart çözeltiler aktarıldı. Hacimleri 0,5 ml'ye tampon çözelti ile tamamlandı. Daha sonra deney tüplerine sırasıyla 2250 µl 20 mM'lık FeCl<sub>3</sub> çözeltisi ve

2250 µl FRAP reaktifi ilave edilerek toplam hacmin 5 mL olması sağlandı. Deney tüpleri vortex'de karıştırıldı ve 10 dakika sonra 593 nm'de absorbansları kaydedildi. Kör olarak asetat tamponu kullanıldı.

### **3.2.8. Ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitesi**

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının metal şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının uyguladıkları metoda göre yapıldı (1994). Bu işlem için 2 mM'lik ve 0,05 ml FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O ve 0,35 ml saf su içeren çözelti, değişik konsantrasyonlarını oluşturacak şekilde altın çilek meyvesi ve yaprağının liyofilize edilmiş su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarını içeren 0,2 ml'lik çözeltiye ilave edildi. Son hacim 4 ml olacak şekilde etanol ilave edildi. Reaksiyon 0,2 ml ve 5 mM'lik ferrozin çözeltisi ilave edilmesiyle başlatıldı.

Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'de absorbansı etanoldan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol olarak da altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin çözeltisi hariç geriye kalan çözelti içeriği kullanıldı.

### **3.2.9. Bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesi**

Fe<sup>2+</sup> şelatlama aktivitesi Re ve arkadaşlarının belirlediği metoda göre yapıldı (1999). Bu amaçla deney tüplerine 0,25 ml FeSO<sub>4</sub> çözeltisi (2 mM) aktarıldı. Bu çözeltinin üzerine 0,12 ml altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi, keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ile standart çözelti ilave edildi. Daha sonra sırasıyla 1 ml Tris- HCl tamponu (pH:7,4) ve HCl (0,2 M) içerisinde çözülmüş 1,5 ml'lik ve %0,2'lik bipiridil çözeltisi ilave edildi. 2,5 ml etanol ve 0,63 ml saf su içeren numunenin absorbansı 522 nm'de ölçüldü. Kör olarak Tris-HCl tamponu

kullanıldı. Kontrol olarak da numune yerine Tris- HCl tamponu kullanılarak hazırlanan çözelti kullanıldı.

### **3.2.10. Süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ ) giderme aktivitesi**

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının süperoksit anyon radikali giderme etkisi, nitroblue tetrazolium (NBT) ürünün spektrofotometrik ölçümüyle belirlendi. Bu amaçla Zhishen ve arkadaşlarının (1999) kullandığı metot hafif bir modifikasyonla kullanıldı. Daha önce hazırlanan stok çözelti bu amaç için de kullanıldı. Bunun için numune ve standartların farklı konsantrasyonları oluşacak şekilde 0,05 M'lık ve pH'sı 7,8 olan fosfat tamponu ile hazırlandı. Numune içeren tampon çözeltiye riboflavin, metiyonin ve NBT'den  $1,33 \times 10^{-5}$ ,  $4,46 \times 10^{-5}$  ve  $8,15 \times 10^{-8}$  M konsantrasyonlarına denk gelen miktarları sırasıyla ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 40 dakika boyunca 20W'lık floresan ışığı ile uyarıldı. Absorbans, sudan oluşan köre karşı 560 nm'de kaydedildi.

### **3.2.11. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi**

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre yapıldı (1958). Serbest radikal olarak DPPH'nin 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak daha önce hazırlanan 1 mg/ml konsantrasyonundaki stok çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 10, 20 ve 30  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH' çözeltisinden 1 ml ilave edildi. Yarım saat oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 ml etanol ve 1 ml DPPH' çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans geriye kalan DPPH' çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

### 3.2.12. 2,2-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali giderme aktivitesi

ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının yaptığı metoda göre belirlendi (1999). Öncelikle 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiliye 2,45 nM'lık persülfat çözeltisi ilave edilerek ABTS radikalleri üretildi. ABTS radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 734 nm'de absorbanısı 0,1 M ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu ile  $0,700 \pm 0,025$  nm'ye ayarlandı. ABTS radikal giderme aktivitesine bakılacak olan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının farklı konsantrasyonlarına (10-30 µg/ml) birer ml ABTS radikal çözeltisi ilave edildi ve yarım saat inkübe edildi. Etanoldan oluşan köre karşı 734 nm'de absorbanlar kaydedildi.

### 3.2.13. N,N'-dimetil-*p*-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD) radikali giderme aktivitesi

N,N'-dimetil-*p*-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD) radikali giderme aktivitesi tayini Fogliano ve arkadaşlarının metoduna göre belirlendi (1999). Bu amaçla, ilk olarak renkli radikal katyon (DMPD<sup>+</sup>) elde edildi. Bunun için 100 ml'lik DMPD çözeltisine (pH:5,3; 100 mM) 0,05 M olacak şekilde 0,2 ml FeCl<sub>3</sub> ilavesiyle elde edildi. Bu çözeltinin 1 ml'si için 505 nm'de ölçüm yapıldı. DMPD<sup>+</sup> radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 505 nm'de optik dansitesi 0,1 M'lık ve pH'ı 5,3 olan fosfat tamponu ile  $0,900 \pm 0,100$  nm'ye ayarlandı. Günlük taze olarak hazırlanan DMPD<sup>+</sup> çözeltisinin absorbanısı 12 saate kadar kararlı kalabilir.

Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi, keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstraları ile standart antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri (10-30 µg/ml) deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 0,5 ml ye tamamlandı. Bunun üzerine 1 ml DMPD<sup>+</sup> çözeltisi eklendi. 50 dakikalık bir inkübasyondan sonra absorban değerleri 505 nm'de ölçüldü. Kör olarak tampon çözelti kullanıldı.

### 3.2.14. Total antioksidan aktivitesi

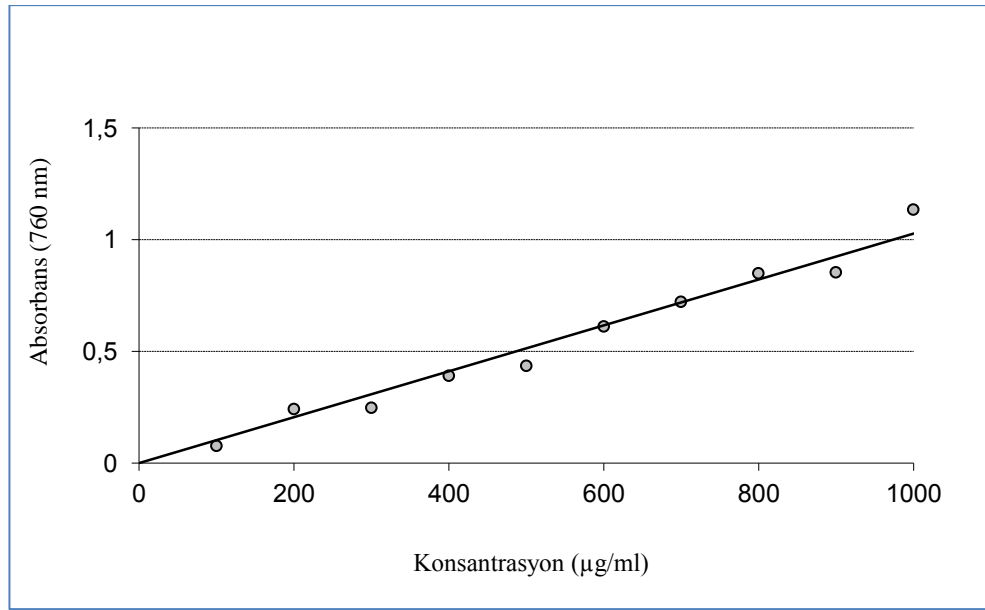
Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının total antioksidan aktivitesi tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Yen and Chen 1995). Bu amaçla daha önce hazırlanan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının stok çözeltisi kullanıldı. İstenilen miktarlara karşılık gelen hacimde stok çözelti vezin kaplarına otomatik pipetlerle aktarıldı ve toplam hacim tampon çözelti (0,01 M'lık pH:7,4) ile 2,5 ml'ye tamamlandı. Daha sonra her bir vezin kabına 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak da 2,5 ml tampon çözelti ve 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı.

İnkübasyon 37<sup>0</sup>C'de ve karanlıkta gerçekleştirildi. Her 12 saatte bir vezin kaplarından 100'er µl alınarak 4,7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu ve sırasıyla 100 µl Fe<sup>2+</sup> çözeltisi ve 100 µl SCN<sup>-</sup> çözeltisi ilave edildi. Kör numune ise 4,8 ml etanole 100 µl Fe<sup>2+</sup> çözeltisi ve 100 µl NH<sub>4</sub>SCN çözeltisi ilave edilerek hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbanları köre karşı okundu. İnkübasyon işlemine kontrol maksimum absorbansa ulaştığı noktadan sonra son verildi.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulguları

Total fenolik bileşik miktarını belirlemek için standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Bu amaçla bir standart grafik hazırlandı. Bu amaçla hazırlanan standart gallik asit grafiği Şekil 4.1’de verilmiştir. Standart grafikten elde edilen denklemden 1 mg ekstrenin içerdiği total fenolik bileşik miktarı gallik asit ekivalen (GAE) olarak hesaplandı ( $r^2$ : 0,9704).



**Şekil 4.1.** Total fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

$$\text{Absorbans} = 0,001 \times [\text{Gallik Asit}]$$

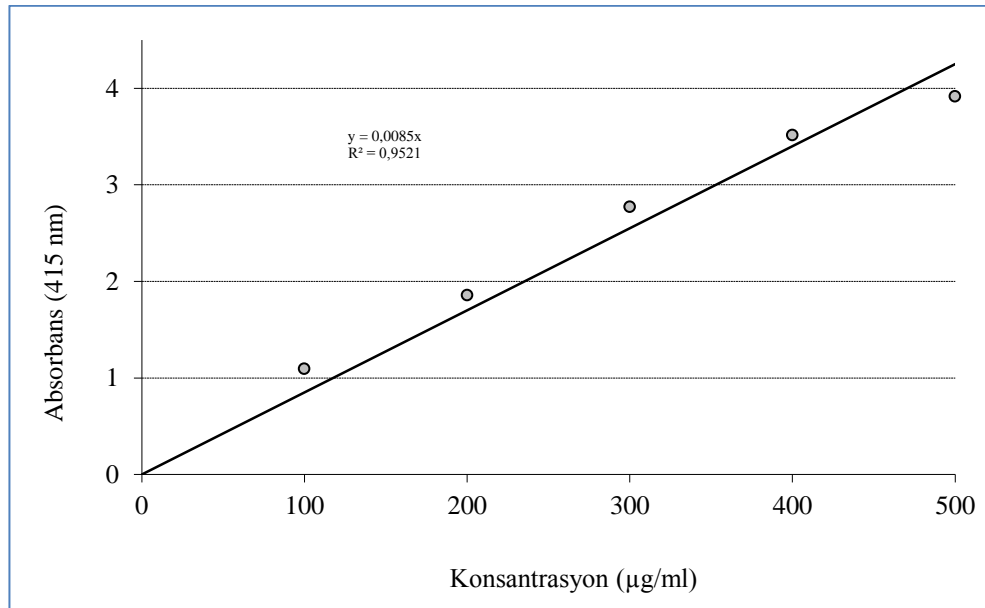
Total fenolik bileşik miktarı tayininde altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşik miktarı Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivalen (GAE) olarak miktarları

Ekstre adı	GAE/ mg ekstre
Altın çilek-Meyve	7
Altın çilek-Yaprak	26
Keten tohumu-Su	45
Keten tohumu-Alkol	167

#### 4.2. Total Flavonoit Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulguları

Total flavonoit bileşik miktarı tayini için standart bileşik olarak kuersetin kullanıldı. Standart grafikten elde edilen denklem yardımıyla altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total flavonoit miktarı kuersetin ekivalen (KE) olarak hesaplandı ( $r^2$ : 0,9521). Bu amaçla hazırlanan standart grafik Şekil 4.2’de verilmiştir.



**Şekil 4.2.** Total flavonoit miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart grafik

Hesaplamalar standart grafikten bulunan aşağıdaki formül ile yapıldı.

$$\text{Absorbans} = 0,0085 \times [\text{KE}]$$

Total flavonoit miktarı tayininde altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total flavonoit miktarları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) olarak miktarları

<b>Ekstre adı</b>	<b>KE/ mg ekstre</b>
Altın çilek-Meyve	6,23
Altın çilek-Yaprak	13,06
Keten tohumu-Su	23,30
Keten tohumu-Alkol	3,88

#### **4.3. Kullanılan Numünelerin Fenolik Asit İçeriğinin Belirlenmesi Bulguları**

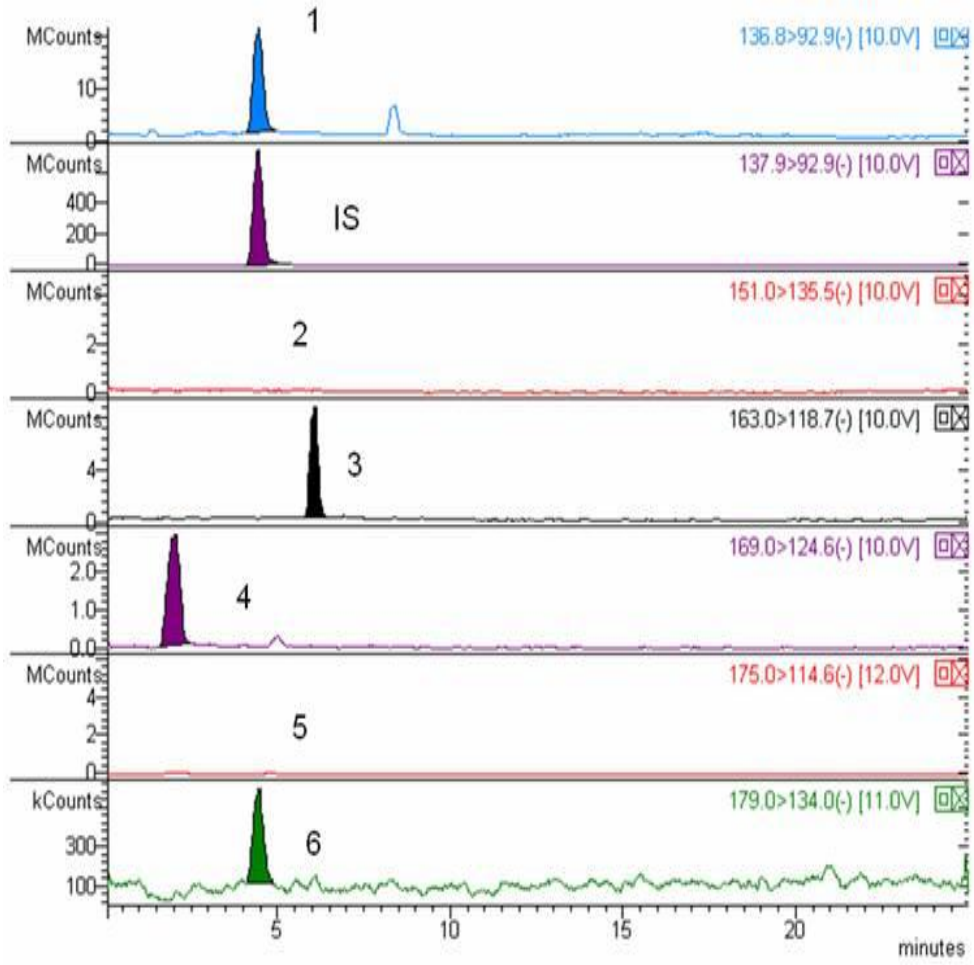
Fenolik asit içeriğinin belirlenmesi LC-MS/MS analiz metoduna göre yapıldı. Seçilen fenolik asitlerin LC-MS/MS parametreleri ile ilgili bilgiler Çizelge 4.3’te verilmiştir.



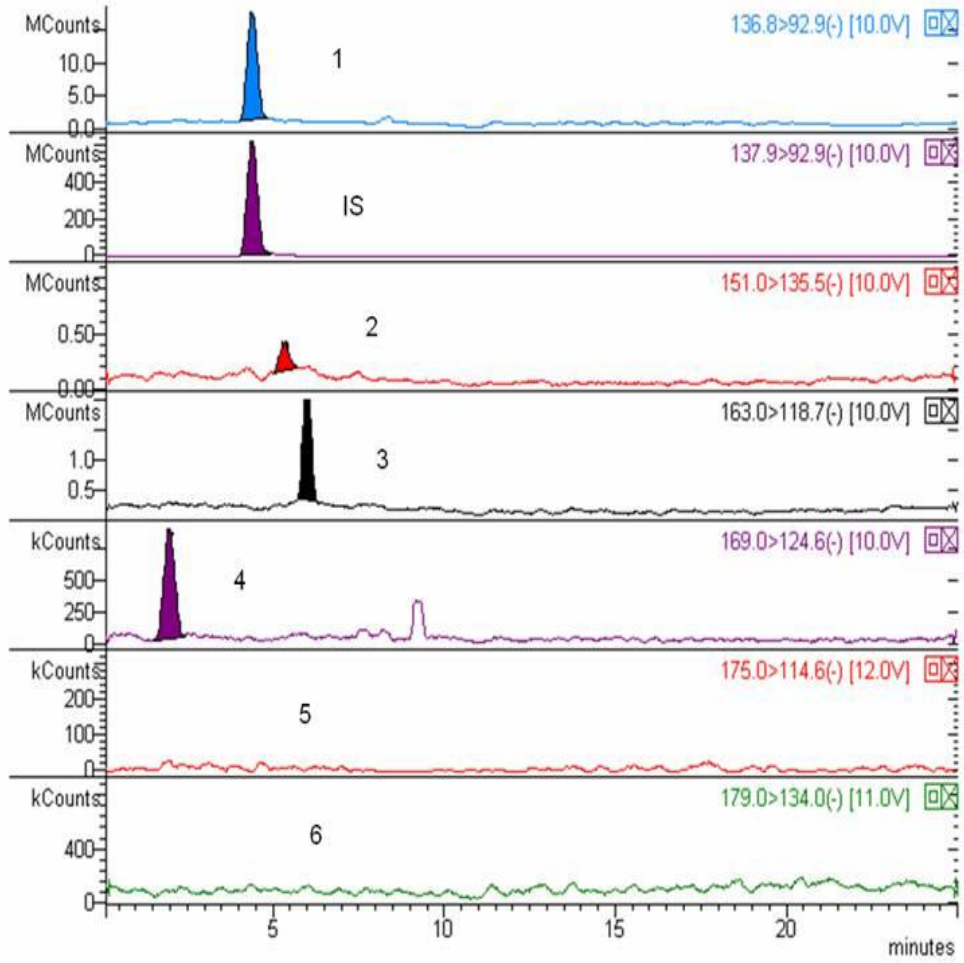
**Çizelge 4.3.** Altın çileğin meyvesi, yaprakları ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumu alkol ekstresinin kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriği için LC-MS/MS parametreleri (IS: İnternal standart)

No	Bileşik adı	Kaynak iyon	Ürün iyon	Çarpışma Enerjisi(V)
1	p-Hidroksibenzoik asit	136,8	92,9	10
2	Vanilin	151,0	135,5	10
3	p-Kumarik asit	163,0	118,7	10
4	Askorbik asit	175,0	114,6	12
5	Kafeik asit	179,0	134,0	11
6	Ferulik asit	193,0	177,5	10
7	Elajik asit	301,0	150,5	10
8	Sirinjik asit	197,0	181,6	10
9	Kuersetin	301,0	178,6	10
10	Epigenin	268,6	116,6	25
11	Keampferol	285,0	143,0	33
12	Epigallaktekin	305,0	124,0	25
13	Keampferol-3-O-glukozit	447,0	284,0	20
14	Luteolin-7-O-glukozit	447,0	284,0	20
IS	<sup>13</sup> C p-hidroksibenzoik asit	137,9	92,9	10

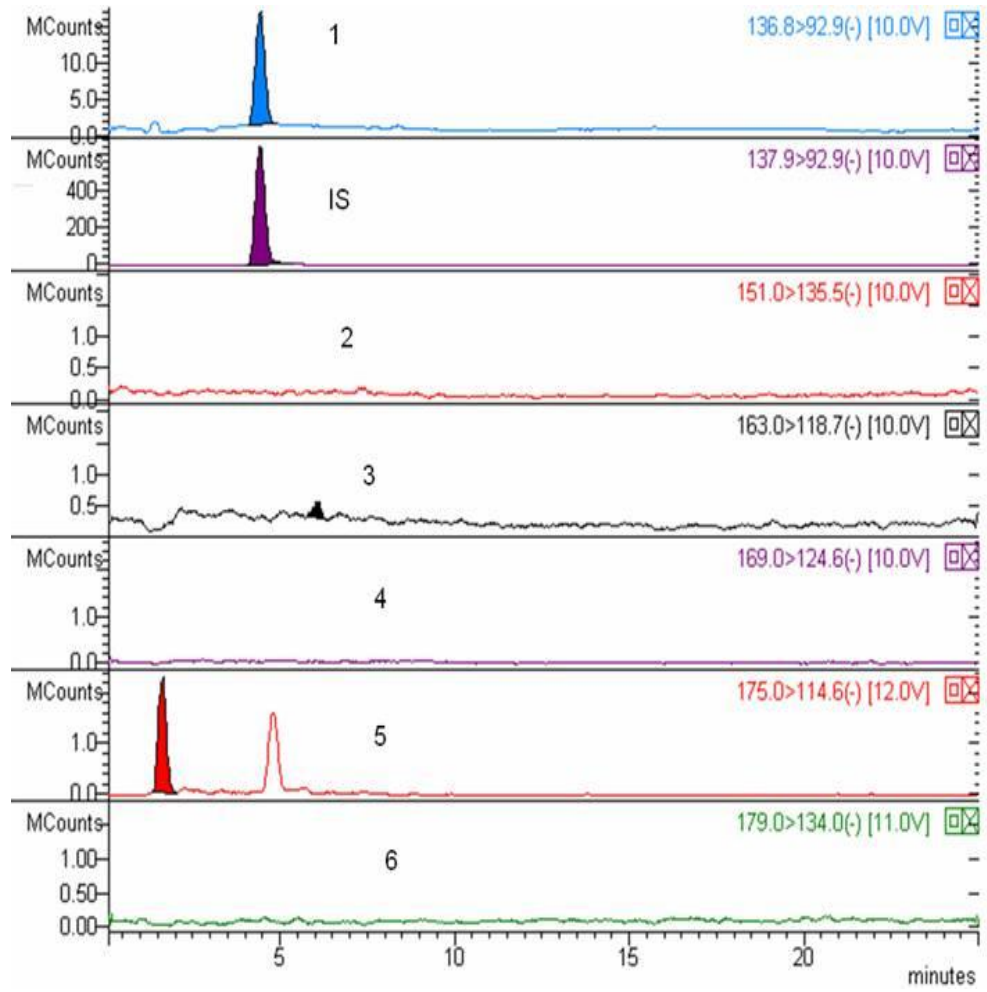
Keten tohumunu liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrere ile altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstrerelerinin LC-MS/MS (1000 mg/ml) ile yapılmış kromatogramları verilmiştir.



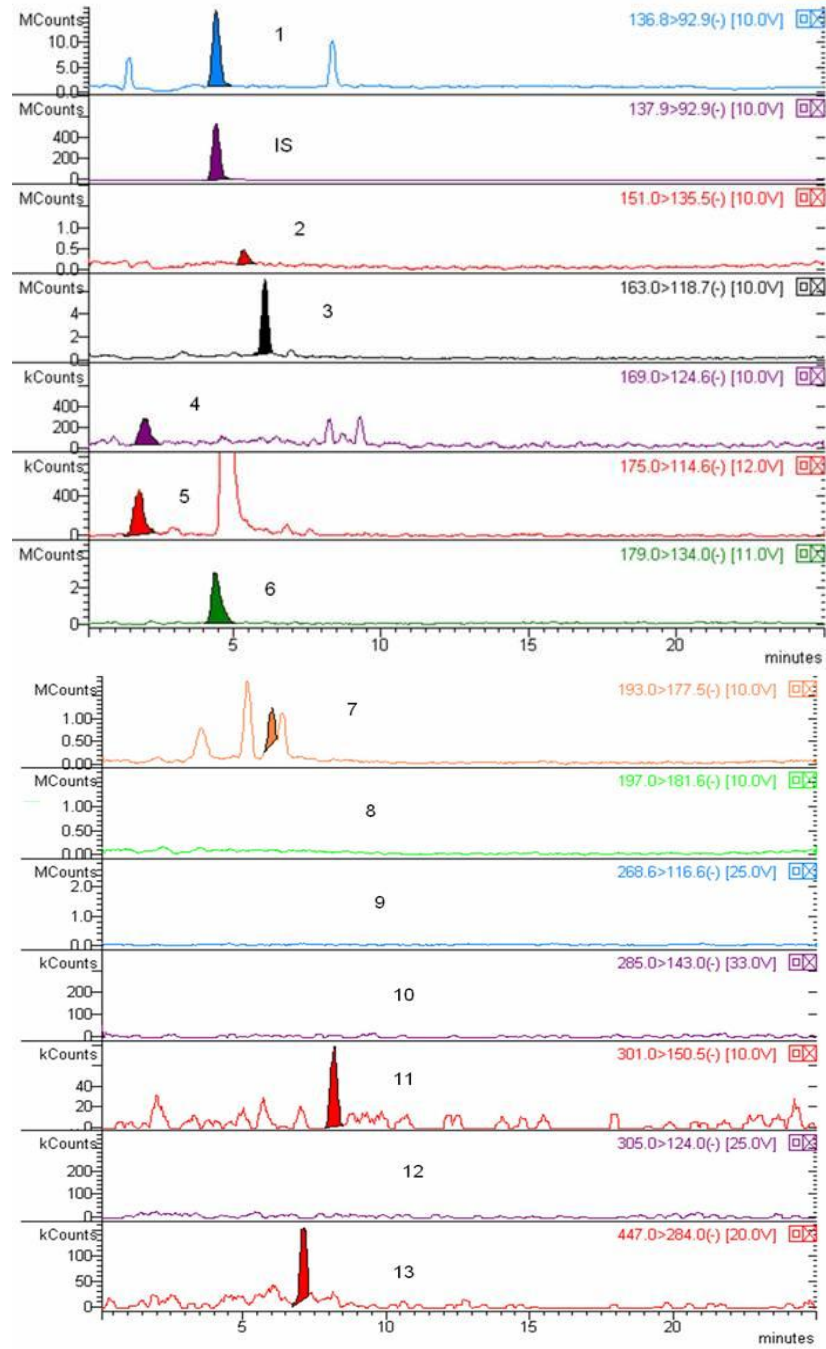
**Şekil 4.3.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar  
 (IS:  $^{13}\text{C}$  p-hidroksibenzoik asit, 1: p-hidroksibenzoik asit, 2: vanilin, 3: p-kumarik asit, 4: askorbik asit, 5: kafeik asit, 6: ferulik asit)



**Şekil 4.4.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş alkol ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar (IS:  $^{13}\text{C}$  p-hidroksibenzoik asit, 1: p-hidroksibenzoik asit, 2: vanilin, 3: p-kumarik asit, 4: askorbik asit, 5: kafeik asit, 6: ferulik asit)



**Şekil 4.5.** Altın çilek meyvenin liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar (IS:  $^{13}\text{C}$  p-hidroksibenzoik asit, 1: p-hidroksibenzoik asit, 2: vanilin, 3: p-kumarik asit, 4: askorbik asit, 5: kafeik asit, 6: ferulik asit)



**Şekil 4.6.** Altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinde kantitatif olarak belirlenen fenolik asit içeriklerini belirten kromatogramlar (IS:  $^{13}\text{C}$  p-hidroksibenzoik asit, 1: p-hidroksibenzoik asit, 2: vanilin, 3: p-kumarik asit, 4: askorbik asit, 5: kafeik asit, 6: ferulik asit, 7: elajik asit, 8: sirinjik asit, 9: kuersetin, 10: epigenin, 11: keampferol, 12: epigallaktekin, 13: keampferol-3-*o*-glukozit)

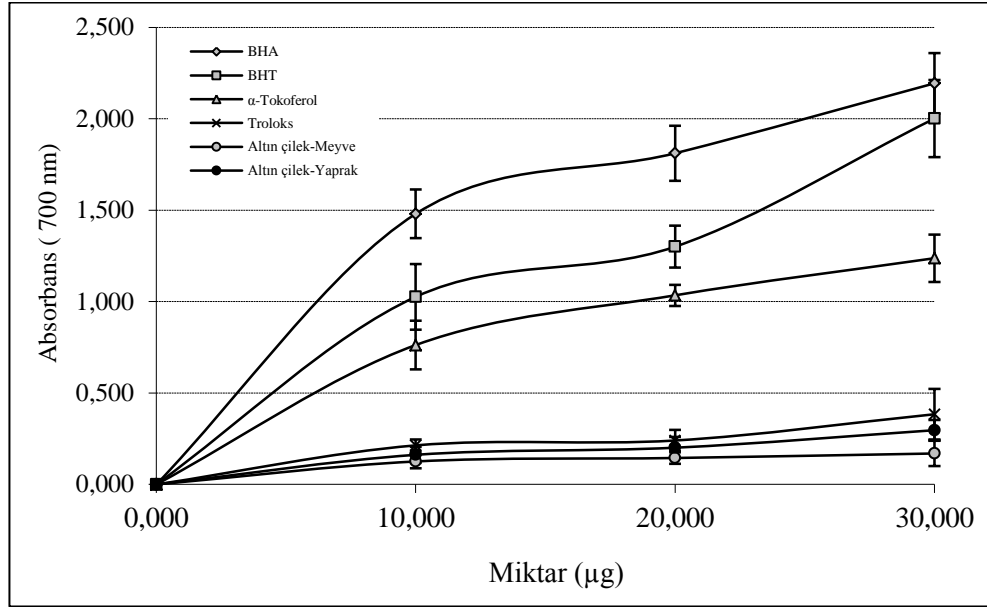
Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinde bulunan fenolik asit bileşenleri miktarları mg/kg-ekstre olarak hesaplandı. İnternal standart olarak  $^{13}\text{C}$  p-hidroksibenzoik asit kullanıldı ve sonuçlar Çizelge 4.4'te gösterildi.

**Çizelge 4.4.** Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile alkol ekstresinde mevcut fenolik asit içeriği

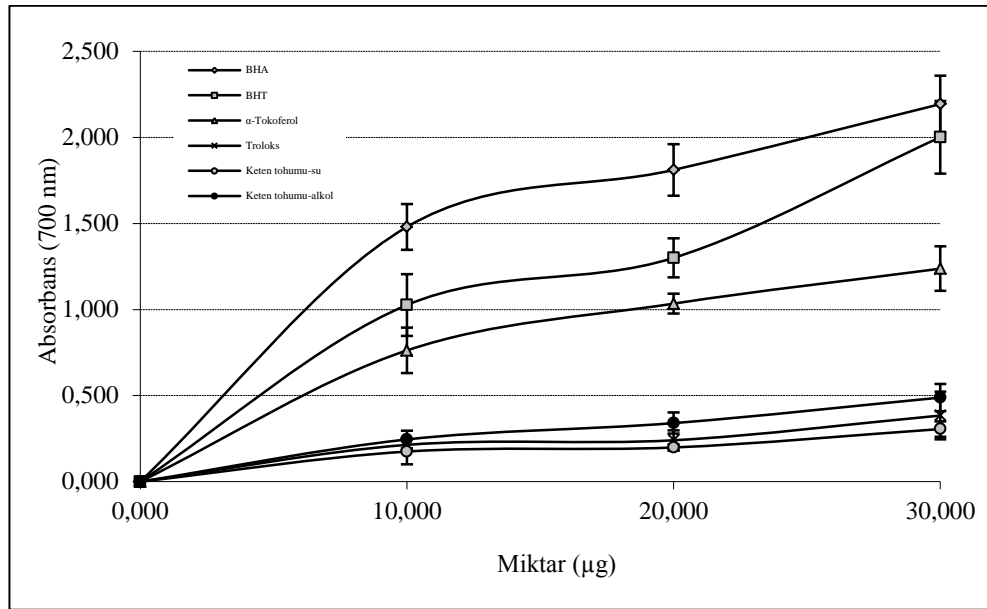
Bileşik adı	Miktarı (mg/kg-ekstre)			
	Altın çilek-Meyve	Altın çilek-Yaprak	Keten tohumu-Su	Keten tohumu-Alkol
p-Hidroksibenzoik asit	139	223	779	120
Vanilin	-	15	-	8
p-Kumarik asit	35	55	192	30
Askorbik asit	-	17	57	9
Kafeik asit	67	108	-	-
Ferulik asit	-	20	71	-
Elajik asit	-	24	85	13
Sirinjik asit	-	-	-	-
Kuersetin	-	-	-	-
Apigenin	-	-	-	-
Keampferol	-	13	-	-
Epigallaktekin	-	-	-	-
Keampferol-3- <i>o</i> -glukozit	-	44	-	-
Luteolin-7- <i>o</i> -glukozit	-	-	-	-

#### 4.4. $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{Fe}^{2+}$ İndirgeme Kuvveti Bulguları

Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin *et al.* 2006a; Gülçin 2006b). Çalışmada kullanılan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerinin indirgeme kapasitelerinin artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ile altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek indirgeme kapasiteleri belirlendi (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7.** Farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme kuvvetinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması



**Şekil 4.8.** Farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme kuvvetinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Altın çileğin meyve ve yaprakları liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi ile standart antioksidanların aktivitelerinin karşılaştırmak amacı ile bu numunelerin aynı konsantrasyonlarına (20  $\mu\text{g/ml}$ ) ait absorbans değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Yüksek absorbans değerleri yüksek indirgeme kapasitesini göstermektedir.

**Çizelge 4.5.** 20  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunda keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ile altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstralarının ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ve kuprik ( $Cu^{2+}$ ) iyonlarını indirgeme kapasitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırmaları

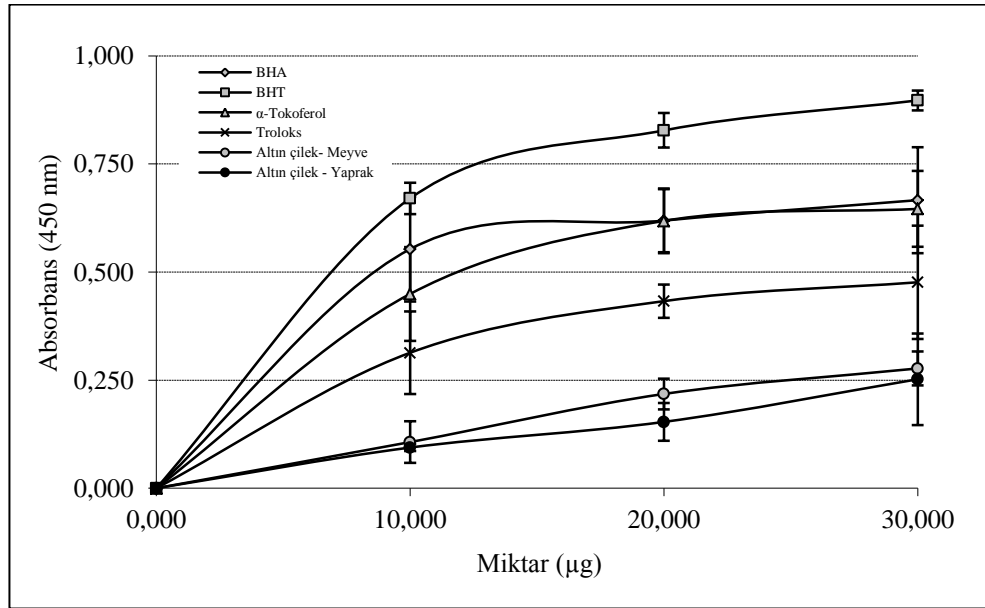
<b>Antioksidanlar</b>	<b>Absorbans (700 nm)</b>	<b>Absorbans (450 nm)</b>
BHA	1,811	0,619
BHT	1,300	0,828
$\alpha$ -Tokoferol	1,034	0,618
Troloks	0,240	0,433
Altın çilek-Meyve	0,145	0,218
Altın çilek-Yaprak	0,201	0,153
Keten tohumu-Su	0,198	0,172
Keten tohumu-Alkol	0,340	0,437

Bu sonuçlara göre bu konsantrasyonda keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstraları ve standart antioksidanların ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme sıralaması BHA > BHT >  $\alpha$ -tokoferol > keten tohumu-alkol > troloks > altın çilek-yaprak > keten tohumu-su > altın çilek-meyve şeklinde olduğu gözlemlendi.

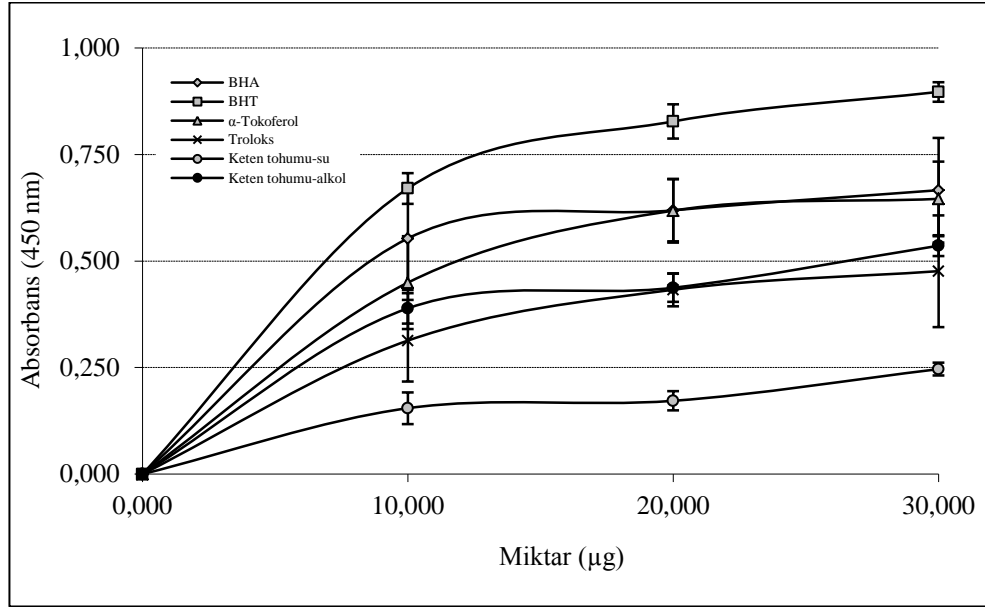


#### 4.5. $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^+$ İndirgeme Kuvveti (Kuprak metodu) Bulguları

Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ile altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstralarının kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesinin, konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı bulundu. Keten tohumunun su ve alkol ekstraları ile altın çileğin meyve ve yapraklarının su ekstralarının kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) çözeltilerinin 450 nm'deki absorpsanları ölçülerek belirlendi. Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstraları ile altın çilek meyve ve yaprağının liyofilize edilmiş su ekstralarının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme grafiği çizildikten sonra her bir numune için 20  $\mu\text{g/ml}$ 'ye karşılık gelen absorpsan değerleri Çizelge 4.5'te verilerek birbirleriyle mukayeseleri yapıldı.



**Şekil 4.9.** Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

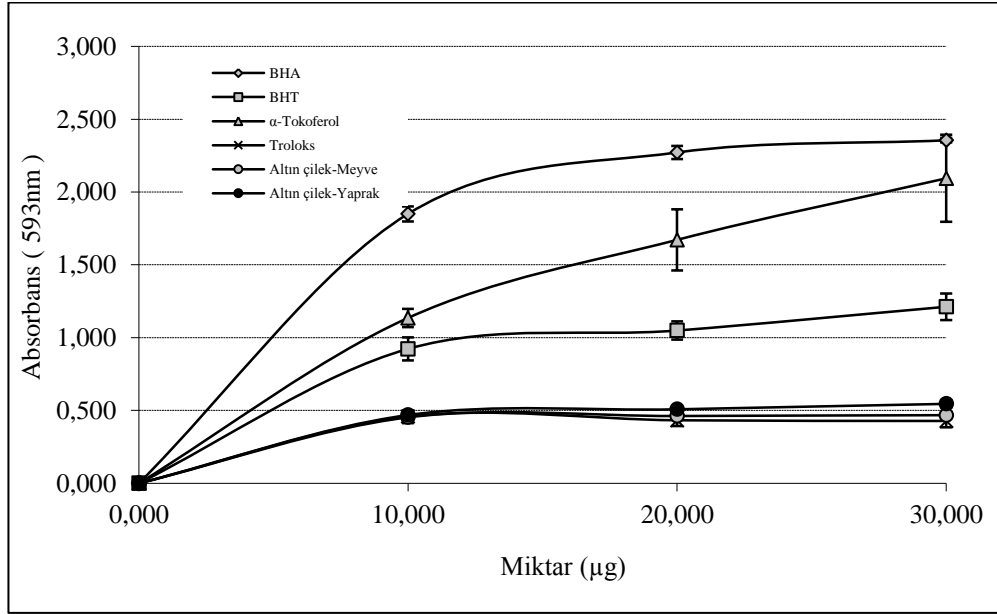


**Şekil 4.10.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

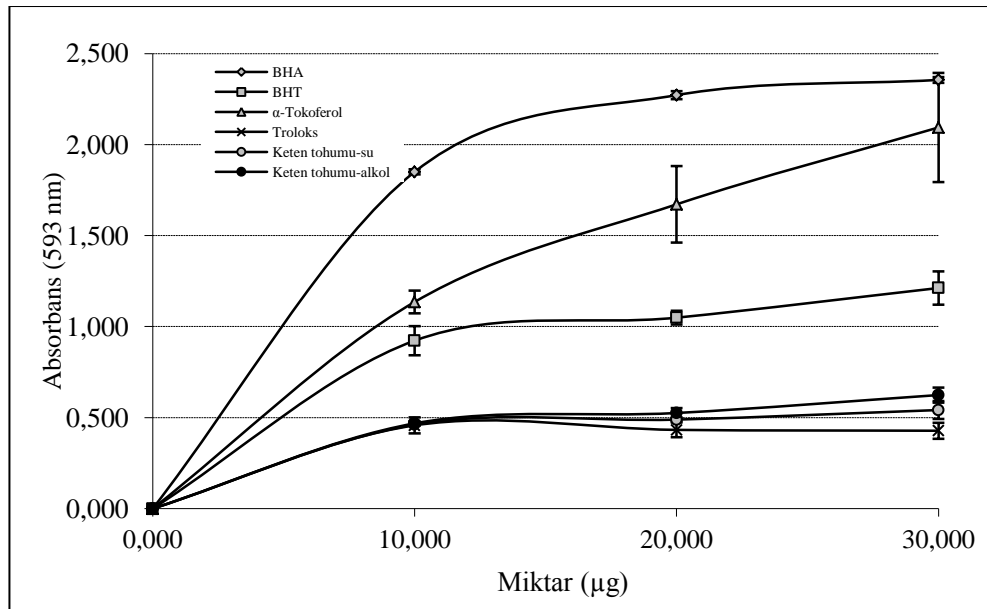
Bu konsantrasyonda altın çilek meyve ve yaprakları ile keten tohumunun su ve alkol ekstralarının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında  $\text{BHT} > \text{BHA} > \alpha\text{-tokoferol} > \text{keten tohumu-alkol} > \text{troloks} > \text{altın çilek-meyve} > \text{keten tohumu-su} > \text{altın çilek-yaprak}$  şeklinde artan bir sıralanma gözlenmektedir.

#### 4.6. Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) Bulguları

FRAP metodunda antioksidanların elektron vererek antioksidan aktivite gösterdikleri bir metottur. Bu metotta  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 'nın kullanıldığı  $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{Fe}^{2+}$  indirgeme kuvveti metodunda olduğu gibi ferrik iyonları ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $\text{Fe}^{2+}$ ) indirgenir. Oluşan ferröz ( $\text{Fe}^{2+}$ ) iyonları ise Tripiridil triazin (TPTZ) ile mavi renkli bir kompleks oluşturur. Bu mavi renkli kompleks ise 593 nm'de maksimum absorbans gösterir. Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstraları ile altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstralarının FRAP metoduna göre ferrik iyonları ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $\text{Fe}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı bulundu.



**Şekil 4.11.** Farklı konsantrasyonlardaki altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi FRAP metoduna göre indirgeme aktivitesinin standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması



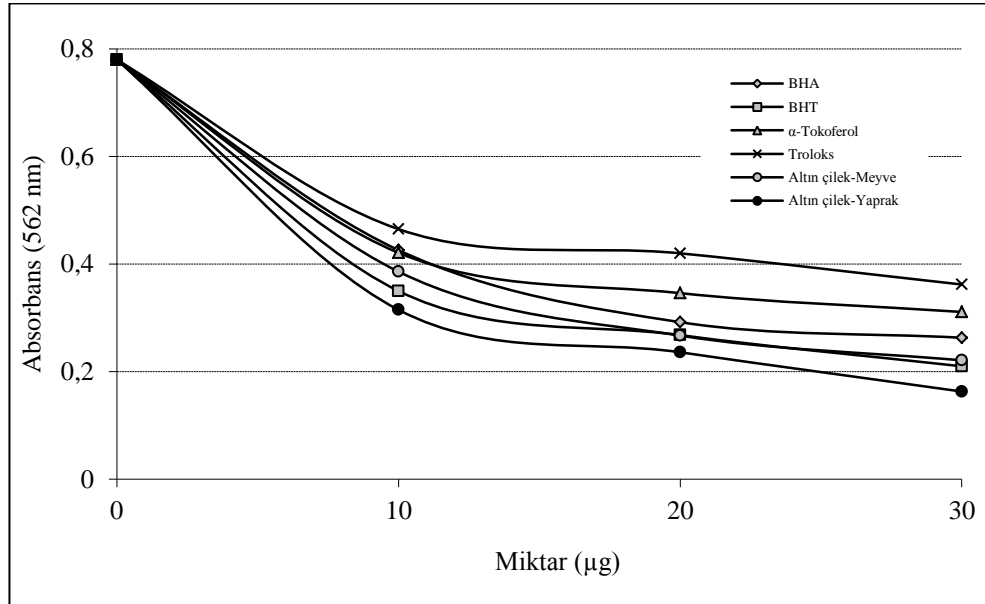
**Şekil 4.12.** Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin FRAP metoduna göre indirgeme aktivitesinin standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

#### 4.7. Ferröz İyonları ( $Fe^{2+}$ ) Şelatlama Aktivitesi Bulguları

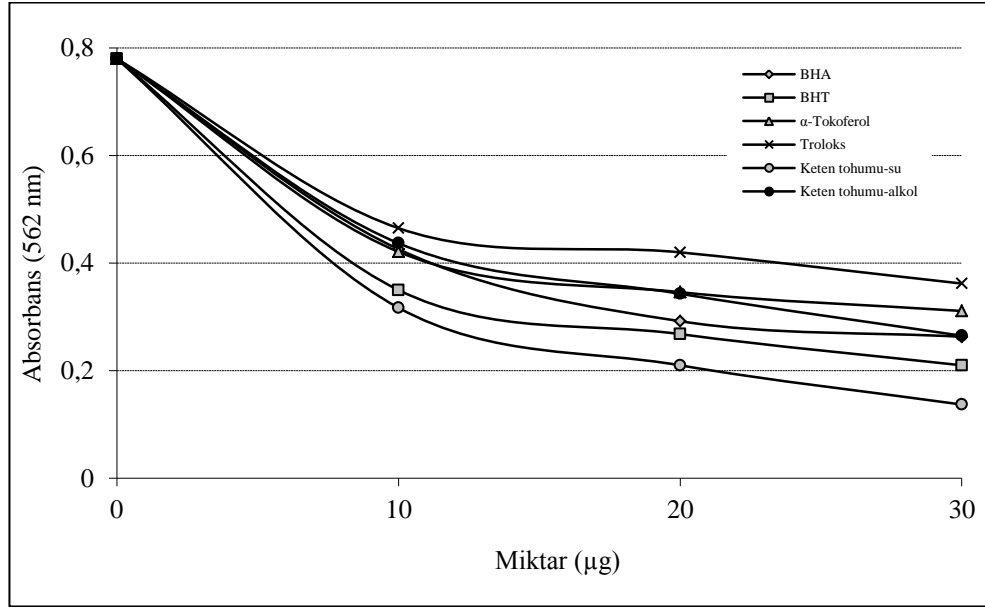
Metal şelatlama, metal iyonlarının kimyasal ligantlar ile bağlanmasıdır. Metal şelatlamada metal iyonları ferrozin ile kompleks oluştururlar. Bu metotta kontrol örneğine göre azalan absorbans ferrozin bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını gösterir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplandı.

$$\text{Ferröz iyonları } (Fe^{2+}) \text{ şelatlama } (\%) = \left( \frac{\lambda_{562-K} - \lambda_{562-N}}{\lambda_{562-K}} \right) \times 100$$

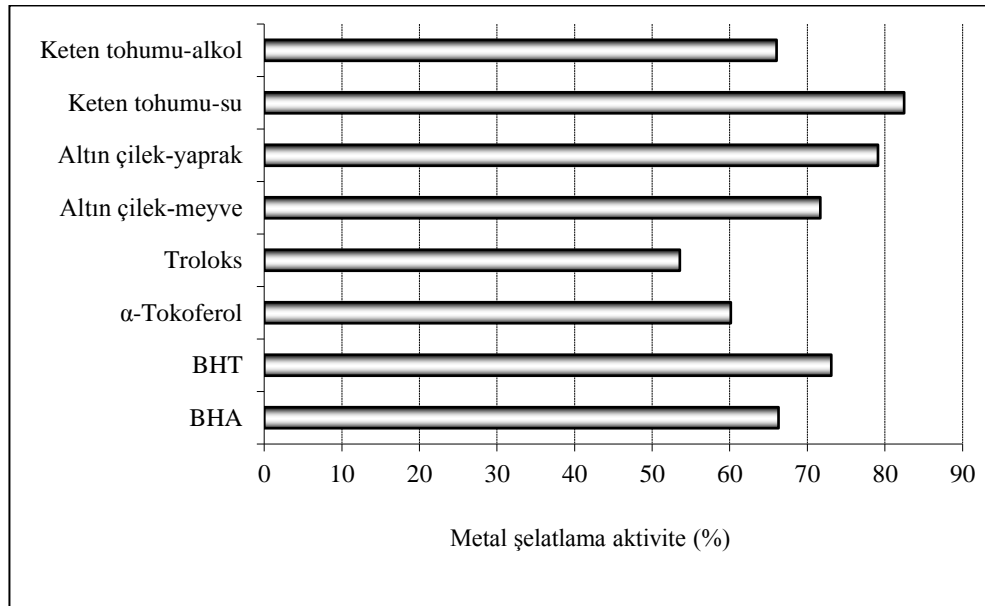
Formülde verilen  $\lambda_{562-K}$  değeri ortamda sadece kompleks oluşturan maddeler olan ferrozin ve  $Fe^{2+}$  iyonlarının varlığındaki kontrol numunesinin absorbans değeridir.  $\lambda_{562}$  ise su veya altın çilek meyve ve yaprakları ile keten tohumunun su ve alkol ekstraktlarının ya da kullanılan standart antioksidanların absorbans değerileridir (Gülçin *et al.* 2004e).



**Şekil 4.13.** Altın çileğin meyvesi ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırılması



**Şekil 4.14.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırılması

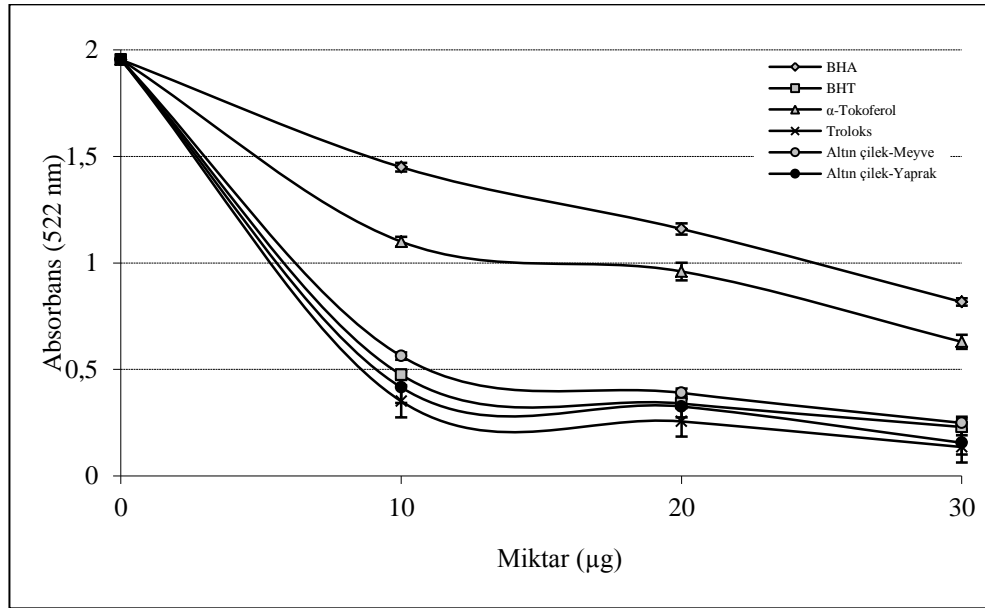


**Şekil 4.15.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstraları ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivite yüzdeleri

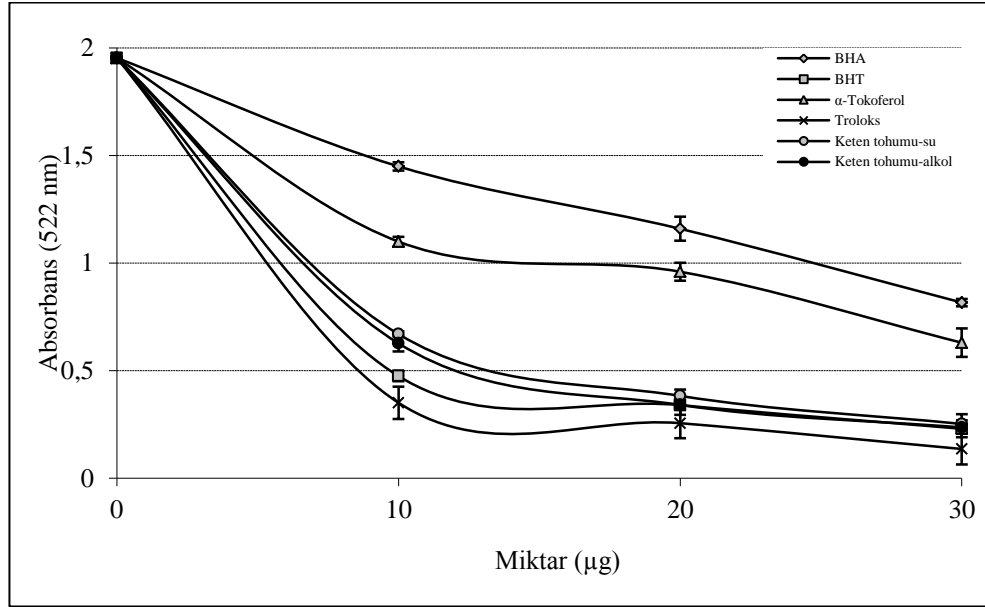
Aynı konsantrasyonda (30 µg/ml) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstreleri ve standart antioksidan moleküller sırasıyla ferröz iyonlarını ( $Fe^{2+}$ ) şelatlama kapasiteleri keten tohumu-su > altın çilek-yaprak > BHT > altın çilek-meyve > BHA > keten tohumu-alkol >  $\alpha$ -tokoferol > troloks şeklinde olduğu gözlemlendi.

#### 4.8. Bipiridil Reaktifi İle Metal Şelatlama Aktivitesi Bulguları

Metal şelatlama aktiviteleri ikinci bir metal şelatlama metodu olan bipiridil kullanılarak da belirlendi. Bu metal şelatlama tayininde ferrozin ile yapılan metal şelatlama metodunun aksine konsantrasyona bağlı olarak metal şelatlamada da artışın olduğu bir korelasyon gözlemlendi.



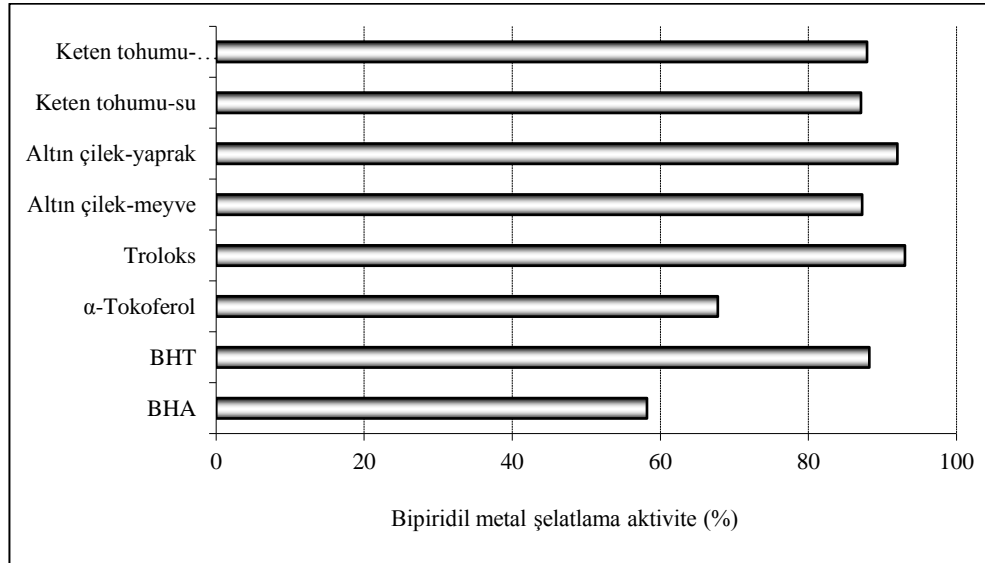
**Şekil 4.16.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve  $\alpha$ -tokoferol ile karşılaştırılması



**Şekil 4.17.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırılması

Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplandı.

$$\text{Bipiridil metal şelatlama aktivitesi (\%)} = \left( \frac{\lambda_{522-K} - \lambda_{522-N}}{\lambda_{522-K}} \right) \times 100$$



**Şekil 4.18.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdeleri

Bipiridil ile yapılan bu metal şelatlama metodunda aynı konsantrasyonda (30 µg/ml) metal iyonlarını şelatlama aktivitelerinin birbirleriyle mukayeseler troloks > altın çilek-yaprak > BHT > keten tohumu-alkol > altın çilek-meyve > keten tohumu-su > α-tokoferol > BHA şeklinde olduğu gözlemlendi.

Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun su ve alkol ekstralarının ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitelerinden elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.6.** Ferrozin reaktifi ve bipiridil reaktifi ile yapılan ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerlerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

<b>Antioksidanlar</b>	<b>Ferozin reaktifi ile (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama</b>	<b>Bipiridil reaktifi ile (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama</b>
BHA	16,25	24,75
BHT	14,14	8,56
α-Tokoferol	19,25	17,76
Troloks	23,89	7,07
Altın çilek-Meyve	14,74	9,00
Altın çilek-Yaprak	12,16	7,61
Keten tohumu-Su	11,18	9,24
Keten tohumu-Alkol	17,77	8,88

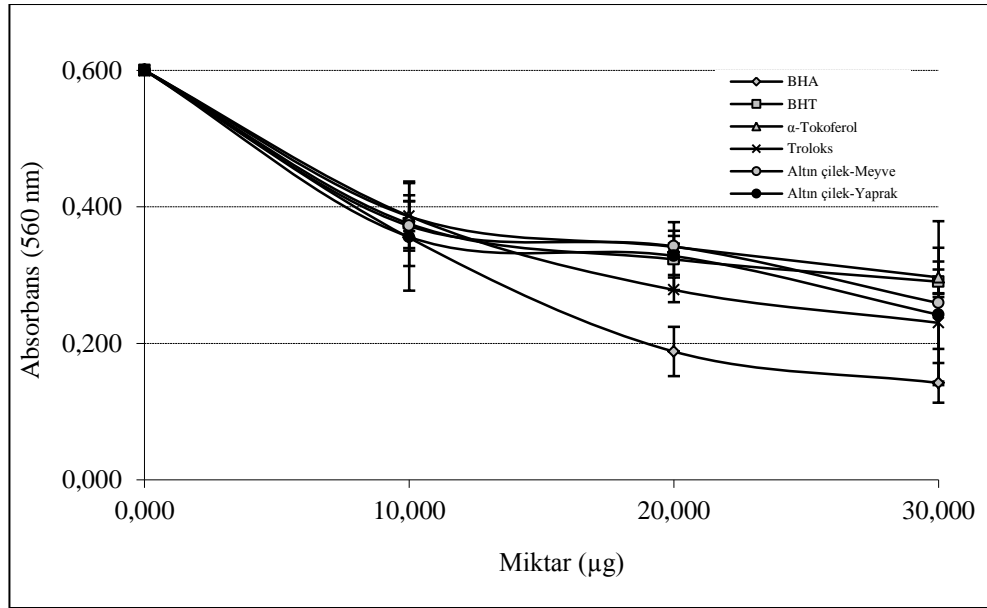
#### **4.9. Süperoksit Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları**

Süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi riboflavin/metiyonin/ışık sisteminde üretilen süperoksidin ortamdan uzaklaştırılması metoduna göre yapıldı. Ortamdan giderilen süperoksit anyon radikalleri aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplandı.

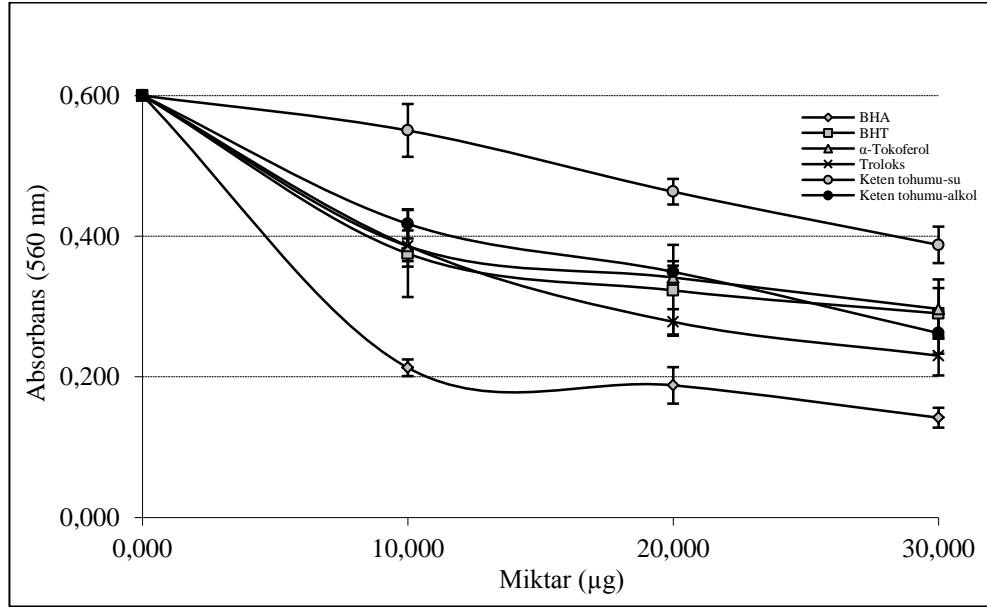


$$\text{Süperoksit giderme aktivitesi (\%)} = \left( \frac{\lambda_{560-K} - \lambda_{560-N}}{\lambda_{560-K}} \right) \times 100$$

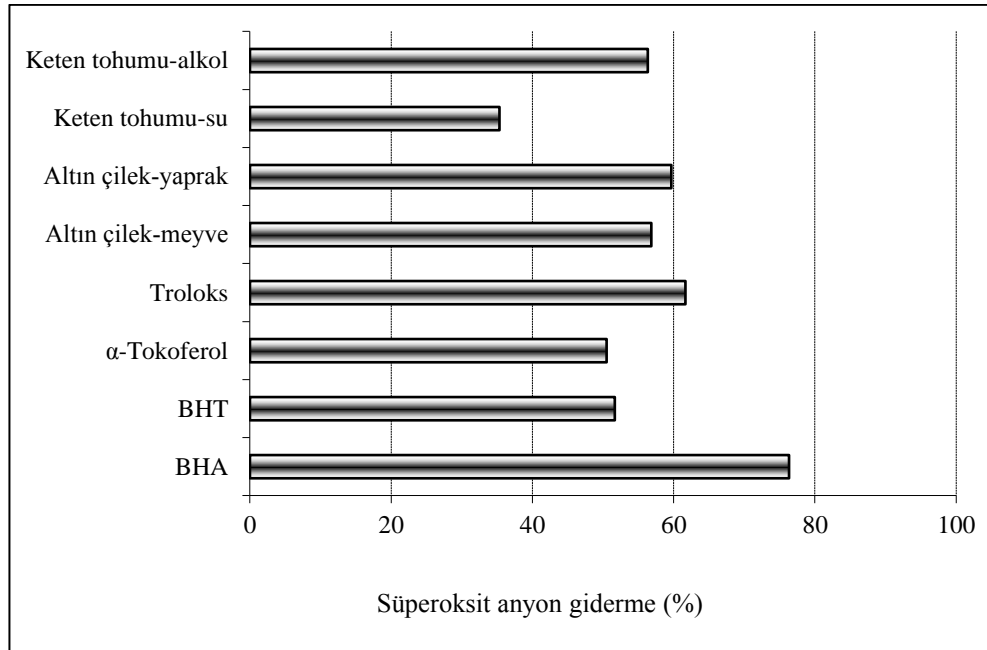
Formülde verilen  $\lambda_{560-K}$  kontrol numunesinin absorbands değeridir.  $\lambda_{560-N}$  ise çalışmada kullanılan antioksidan numunelerin absorbands değeridir (Gülçin *et al.* 2004c).



**Şekil 4.19.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırılması



**Şekil 4.20.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesinin standart birer antioksidan olan BHA, BHT, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırılması



**Şekil 4.21.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda süperoksit anyon radikalleri giderme aktivite yüzdeleri

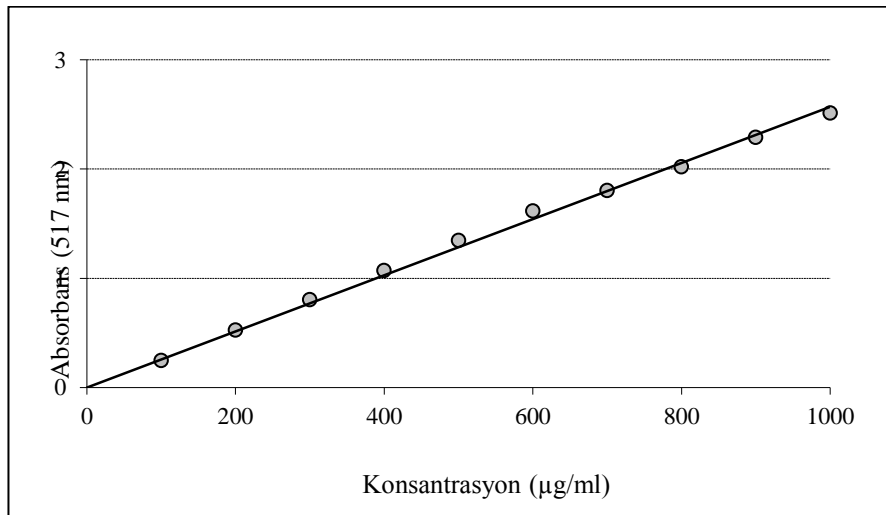
Daha önceki metotlarda olduğu gibi aynı konsantrasyonda (30 µg/ml) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstraları ve standart antioksidanların sırasıyla süperoksit anyon radikalleri giderme aktiviteleri BHA > troloks > altın çilek-yaprak > altın çilek-meyve > keten tohumu-alkol > BHT > α-tokoferol > keten tohumu-su şeklinde olduğu görüldü.

#### 4.10. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

Altın çilek meyvelerinin su ekstraları ile keten tohumunun su ve alkol ekstraları ve standart antioksidan bileşiklerin DPPH serbest radikali giderme aktivite tayinleri için öncelikle standart grafik oluşturuldu (Şekil 4.22,  $r^2$ : 0.9966).

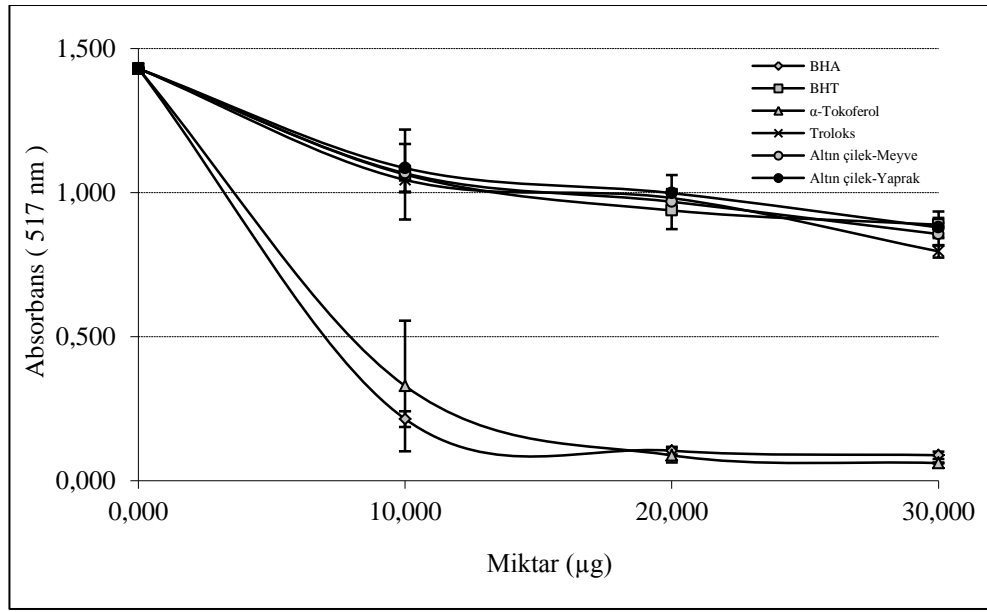
DPPH radikali giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan DPPH radikal miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklemden hesaplandı.

$$\text{Absorbans } (\lambda_{517 \text{ nm}}) = 0,0026x [\text{DPPH}]$$

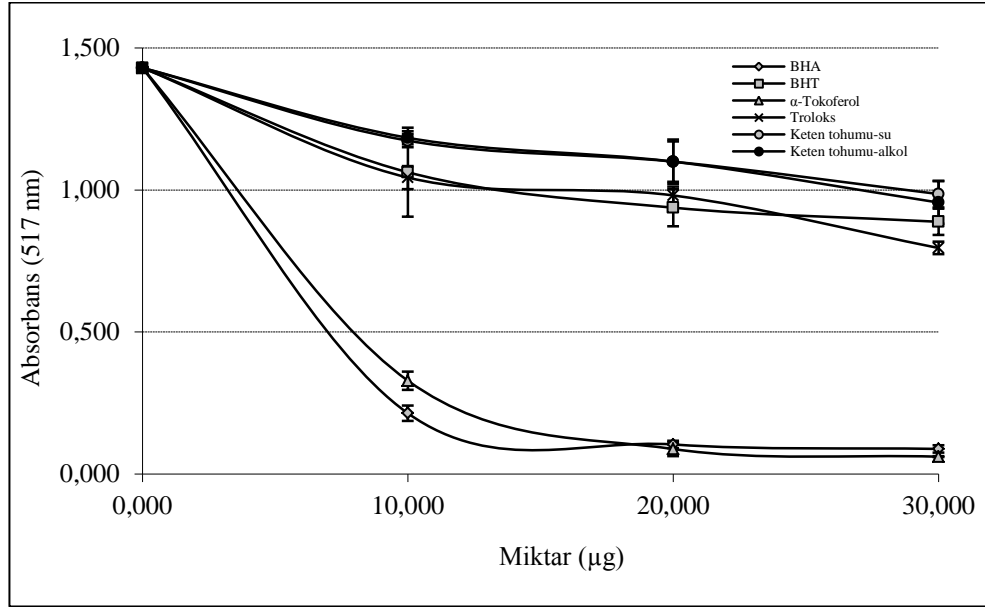


Şekil 4.22. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin (Şekil 4.23) ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin (Şekil 4.24) DPPH serbest radikali giderme aktivitesi şekillerde görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



**Şekil 4.23.** Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

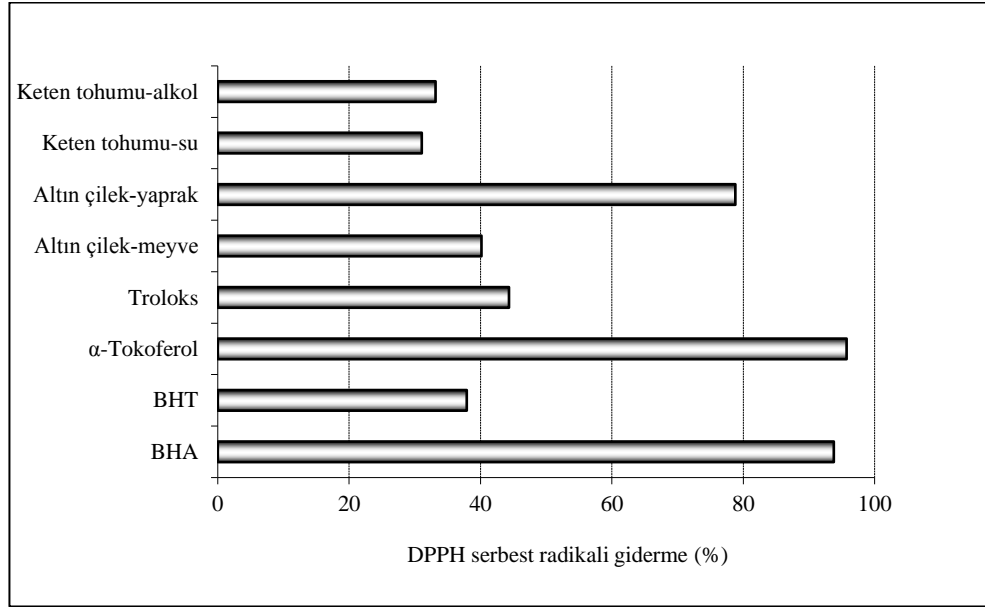


**Şekil 4.24.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

DPPH serbest radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{DPPH} \cdot \text{giderme aktivitesi (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{517-N}}{\lambda_{517-K}} \right) \times 100$$

Burada  $\lambda_{517-N}$  DPPH serbest radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değerleridir.  $\lambda_{517-K}$  ise sadece DPPH serbest radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks kullanıldı.



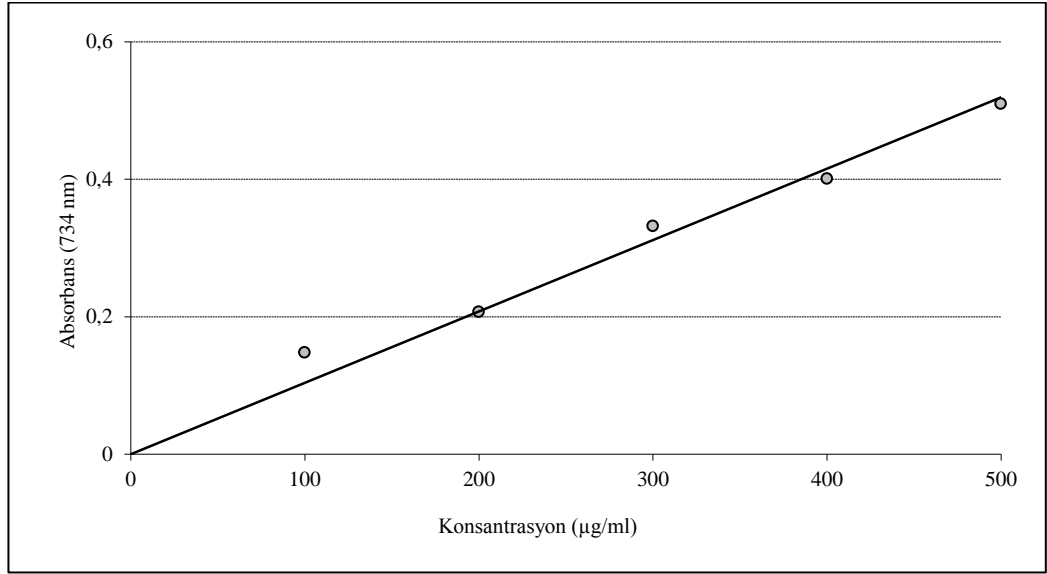
**Şekil 4.25.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunda DPPH serbest radikali giderme aktivite yüzdeleri

Kullanılan nümüne ve standartların DPPH serbest radikali giderme aktivitelerindeki sıralama  $\alpha$ -tokoferol > BHA > altın çilek-yaprak > troloks > altın çilek-meyve > BHT > keten tohumu-alkol > keten tohumu-su şeklindedir.

#### 4.11. ABTS<sup>+</sup> Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstrelerin veya saf maddelerin antiradikal aktivitelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Miller *et al.* 1996; Gülçin *et al.* 2007b).

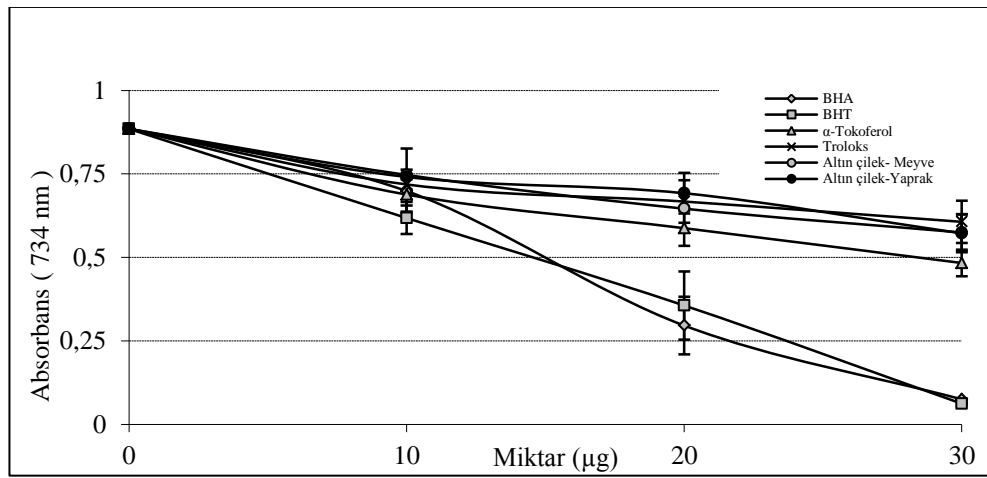
Bu amaçla öncelikle standart grafik oluşturuldu (Şekil 4.26,  $r^2$ : 0.9688).



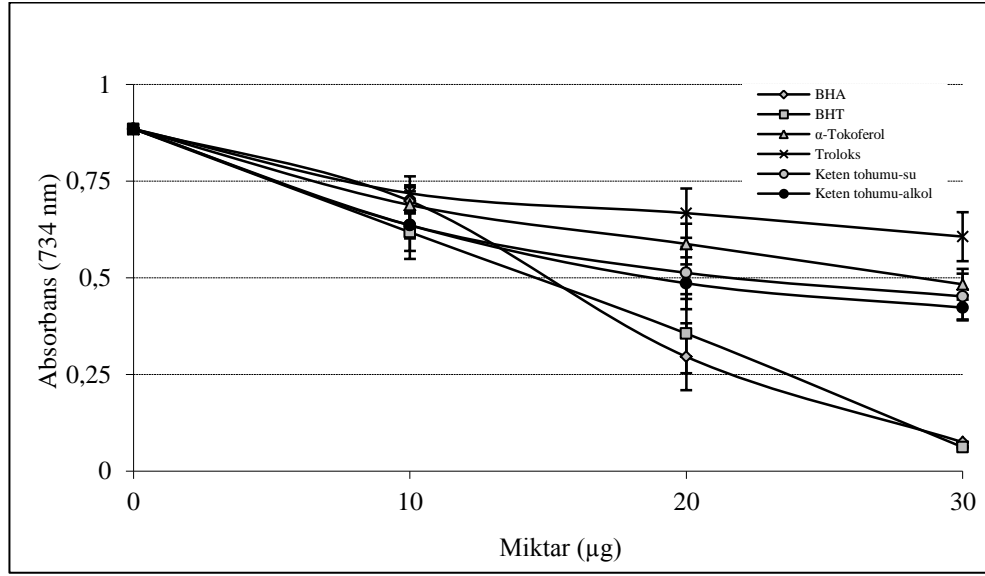
**Şekil 4.26.** ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitesi tayininde kullanılan ABTS<sup>+</sup> için hazırlanan standart grafik

ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitesi tayininde, geriye kalan ABTS<sup>+</sup> miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklemden hesaplandı.

$$\text{Absorbans } (\lambda_{734\text{nm}}) = 0.001 \times [\text{ABTS}^{\bullet+}]$$



**Şekil 4.27.** Farklı konsantrasyonlardaki altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması



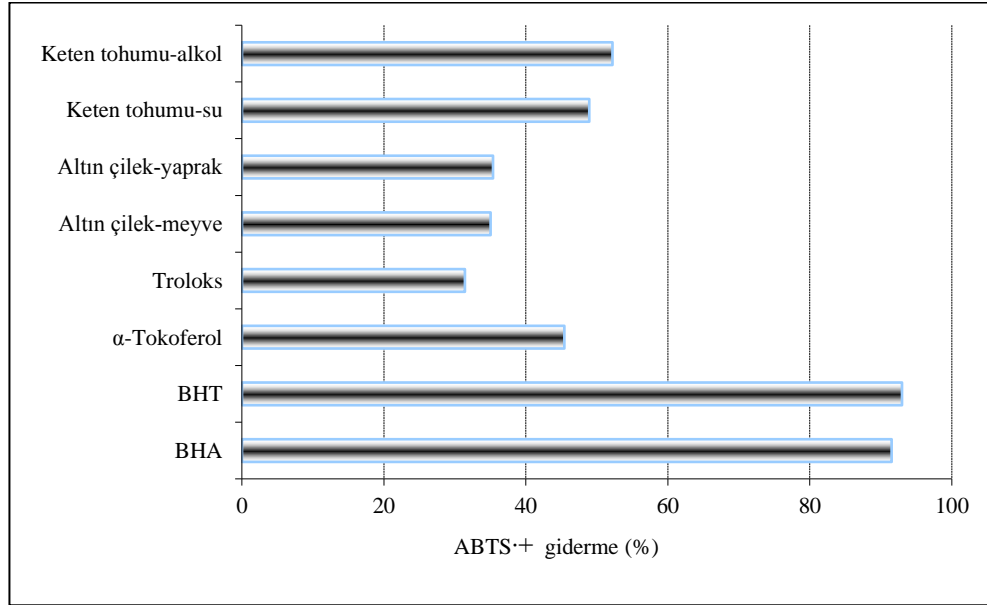
**Şekil 4.28.** Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

ABTS<sup>+</sup> giderme ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ Giderme (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{734-N}}{\lambda_{734-K}} \right) \times 100$$

Burada  $\lambda_{734-K}$  ise sadece ABTS<sup>+</sup> çözeltisi içeren kontrol numunesinin absorbansını ifade ederken  $\lambda_{734-N}$ , ABTS<sup>+</sup> çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değerini ifade etmektedir.



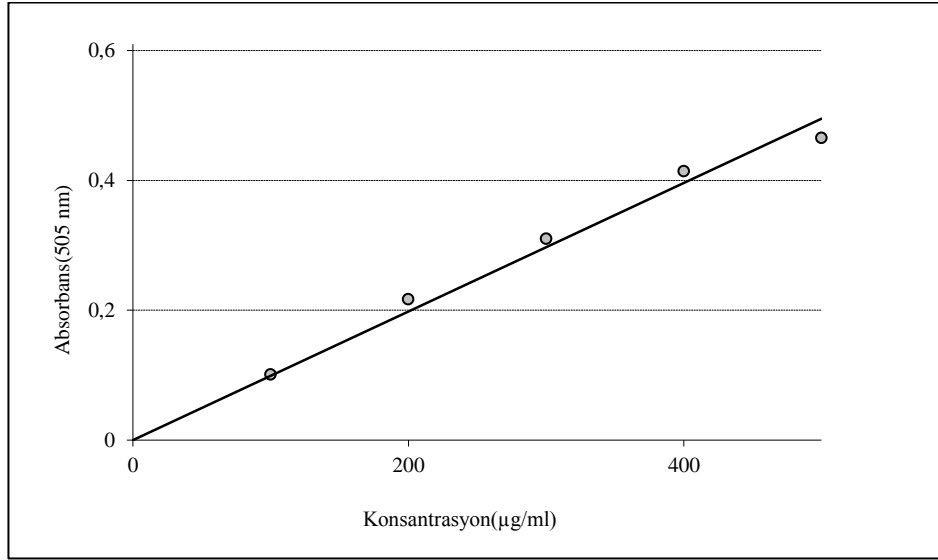


**Şekil 4.29.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi, BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloksun 30  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunda ABTS<sup>+</sup> giderme aktivite yüzdeleri

ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin büyükten küçüğe doğru sıralaması BHT > BHA > keten tohumu-alkol > keten tohumu-su >  $\alpha$ -tokoferol > altın çilek-yaprak > altın çilek-meyve > troloks şeklinde olduğu gözlemlendi.

#### 4.12. DMPD Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

DMPD<sup>+</sup> giderme aktiviteleri tayini için öncelikle standart grafik hazırlandı (Şekil 4.30,  $r^2$ : 0,9797).

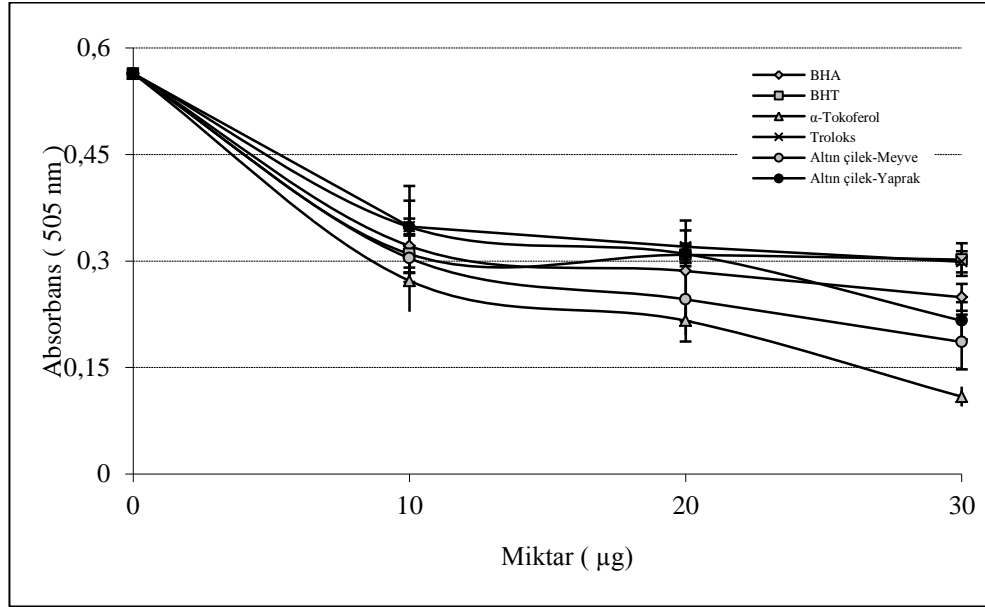


**Şekil 4.30.** DMPD<sup>+</sup> giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart grafik

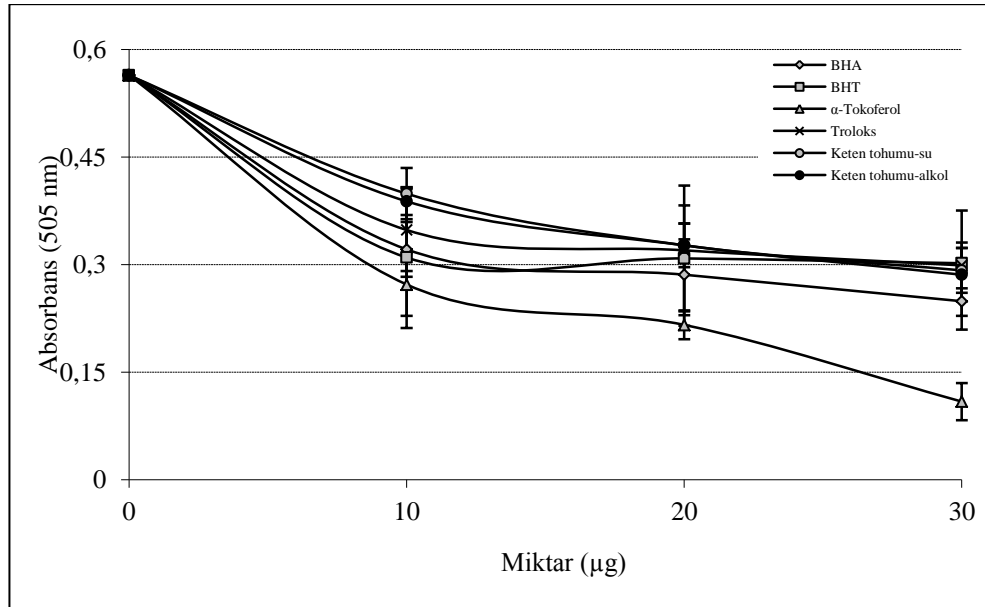
DMPD<sup>+</sup> giderme aktivitesi tayininde, geriye kalan DMPD<sup>+</sup> miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklemden hesaplandı.

$$\text{Absorbans } (\lambda_{505 \text{ nm}}) = 0,001 \times [\text{DMPD}^{\bullet+}]$$

Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresleri DMPD<sup>+</sup> giderme aktiviteleri (Şekil 4.31), keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile etanol ekstralarının DMPD<sup>+</sup> giderme aktiviteleri ise (Şekil 4.32) verilmiştir.



**Şekil 4.31.** Farklı konsantrasyonlardaki altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresleri (10-30 µg/ml) DMPD<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

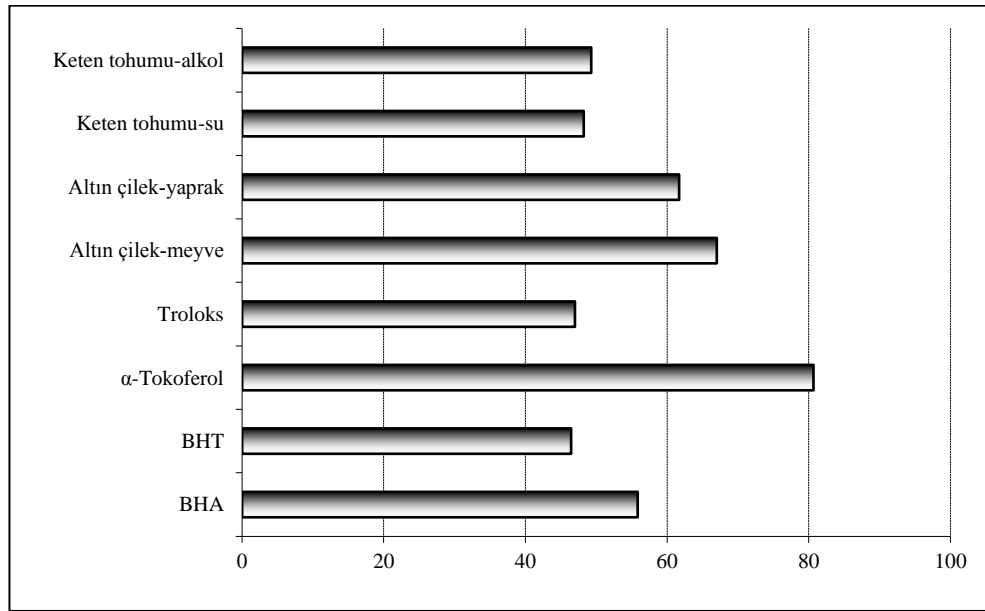


**Şekil 4.32.** Farklı konsantrasyonlardaki keten tohumu liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) DMPD<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

DMPD<sup>+</sup> miktarındaki azalma yüzde olarak aşağıda verilen eşitlikten bulundu.

$$\text{DMPD}^{\bullet+} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{505-N}}{\lambda_{505-K}} \right) \times 100$$

Burada  $\lambda_{505-N}$ ,  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  çözeltilisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri,  $\lambda_{505-K}$  ise sadece  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  çözeltilisi içeren kontrol değerinin absorbansını ifade eder.



**Şekil 4.33.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi BHA, BHT, α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  giderme aktivite yüzdeleri

$\text{DMPD}^{\bullet+}$  yüzde giderme aktivitesi.  $\alpha$ -tokoferol > altın çilek-meyve > altın çilek-yaprak > BHA > keten tohumu-alkol > keten tohumu-su > troloks > BHT şeklinde olduğu gözlemlendi.

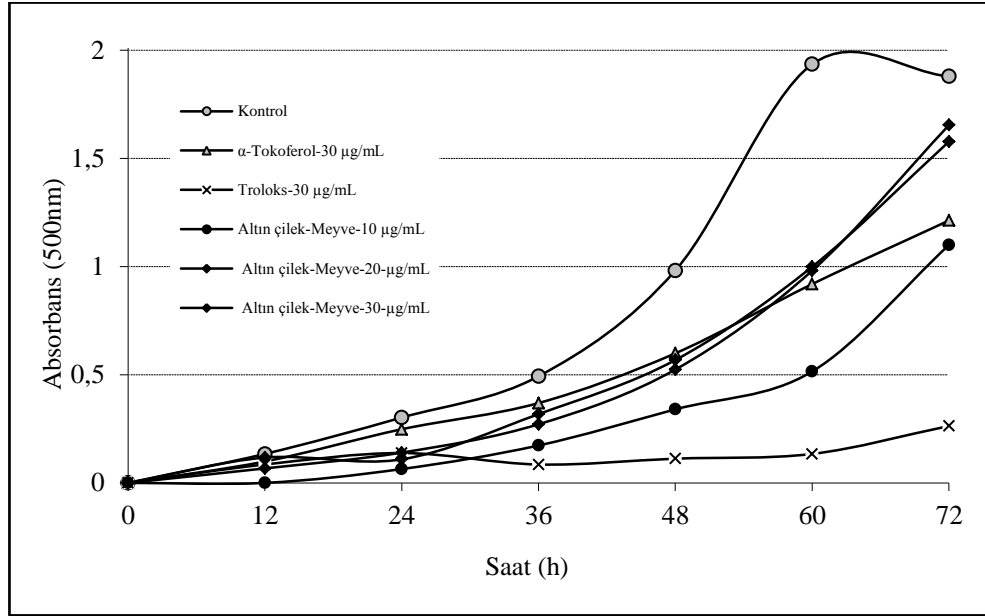
Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerinin DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>,  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  ve  $\text{O}_2^{\bullet-}$  radikali giderme aktivitesine ait  $\text{IC}_{50}$  değerleri her biri ilgili grafiklerden ayrı ayrı hesaplandı ve Çizelge 4.7’de verildi.

**Çizelge 4.7.** Numunelerin DPPH·, ABTS<sup>+</sup>, DMPD<sup>+</sup> ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikali giderme aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerlerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

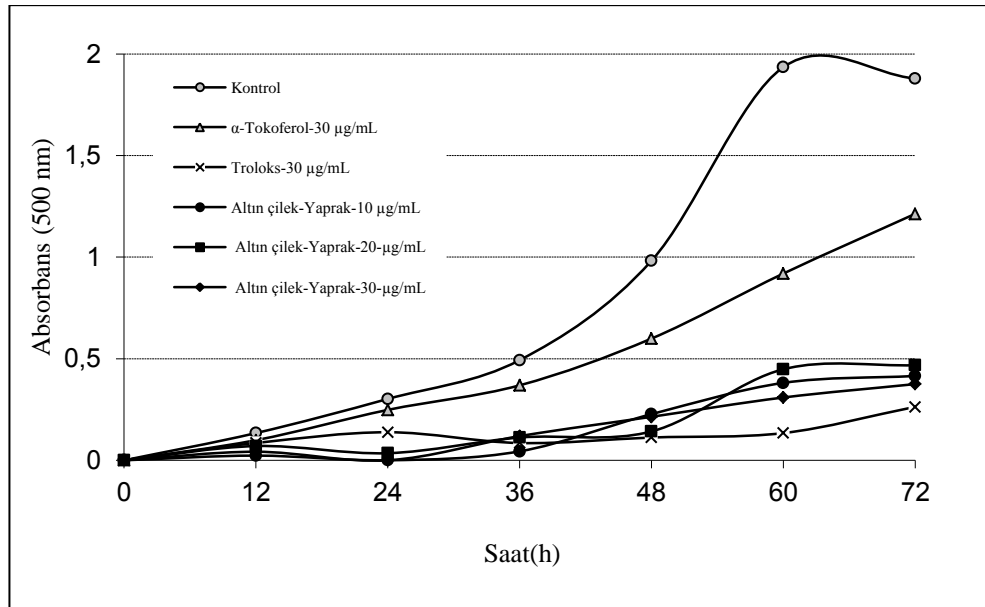
Antioksidanlar	DPPH· Giderme	ABTS <sup>+</sup> Giderme	DMPD <sup>+</sup> Giderme	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Giderme
BHA	6,42	9,90	22,35	13,59
BHT	38,50	9,49	–	23,10
α-Tokoferol	5,87	33,00	–	26,65
Troloks	34,65	49,50	21,00	19,80
Altın çilek-Meyve	36,47	46,20	17,33	23,90
Altın çilek-Yaprak	38,50	49,50	21,00	21,66
Keten tohumu-Su	53,30	27,72	28,88	49,50
Keten tohumu-Alkol	49,50	25,67	27,72	24,75

#### 4.13. Total Antioksidan Aktivitesi Bulguları

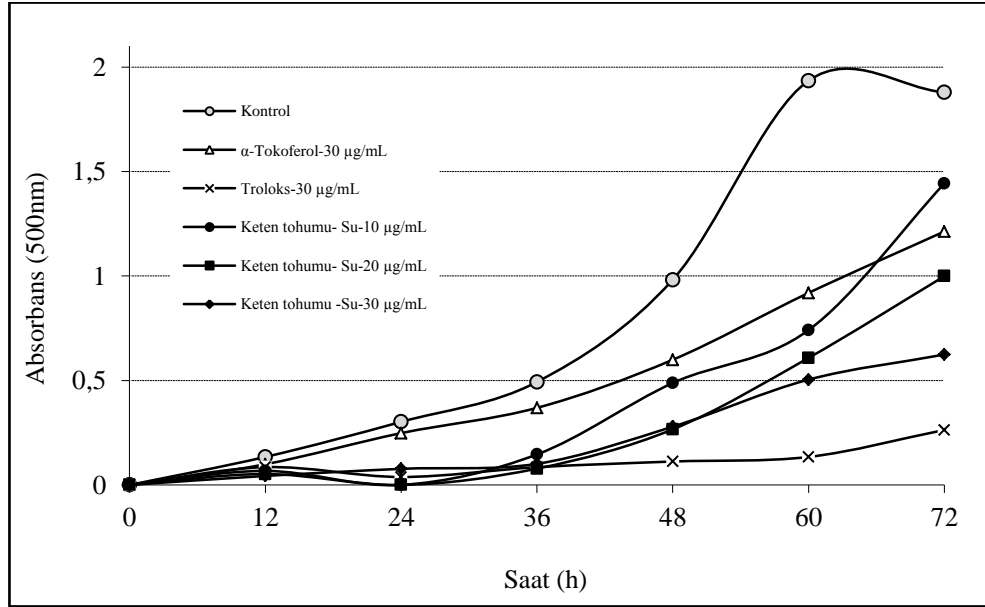
Total antioksidan aktivitesi “Tiosiyanat Metodu”na göre belirlendi. Bu metotta linoleik asit emülsiyonunun oto-oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler ferröz iyonlarını (Fe<sup>2+</sup>) ferik iyonlarına (Fe<sup>3+</sup>) yükseltger. Daha sonra yükseltgenen ferik iyonları (Fe<sup>3+</sup>) tiosiyanat (SCN<sup>-</sup>) ile Fe(SCN)<sup>2+</sup> kompleksi oluşur. Oluşan bu kompleksin ise spektrofotometrik olarak 500 nm’de maksimum absorbanans gösterir. Yüksek absorbanans, otooksidasyon sonucu oluşan peroksidasyona bağlı peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Bu metotta pozitif kontrol olarak α-tokoferol ve troloks kullanıldı.



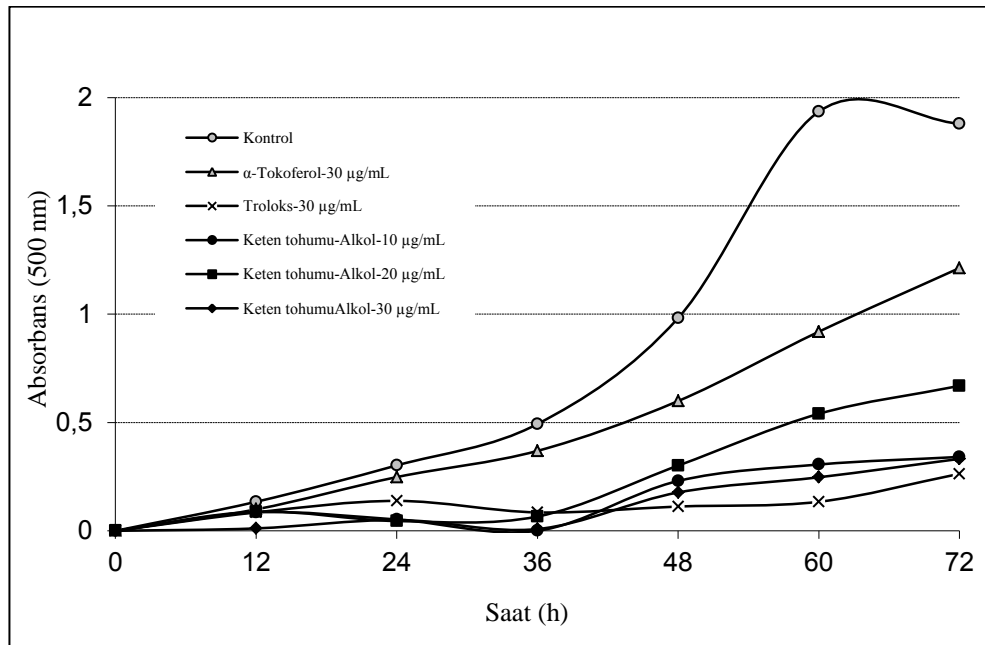
**Şekil 4.34.** Altın çilek meyvesinin liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması



**Şekil 4.35.** Altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması



**Şekil 4.36.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

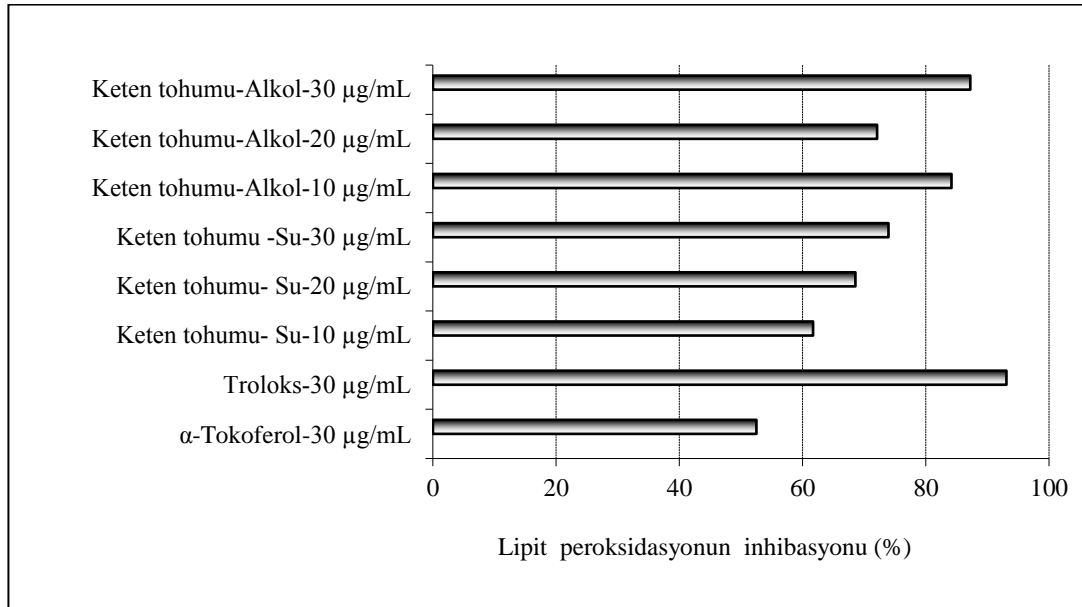


**Şekil 4.37.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keton tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile etanol ekstralarının linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme miktarı yüzde olarak aşağıda verilen eşitlikten hesaplandı.

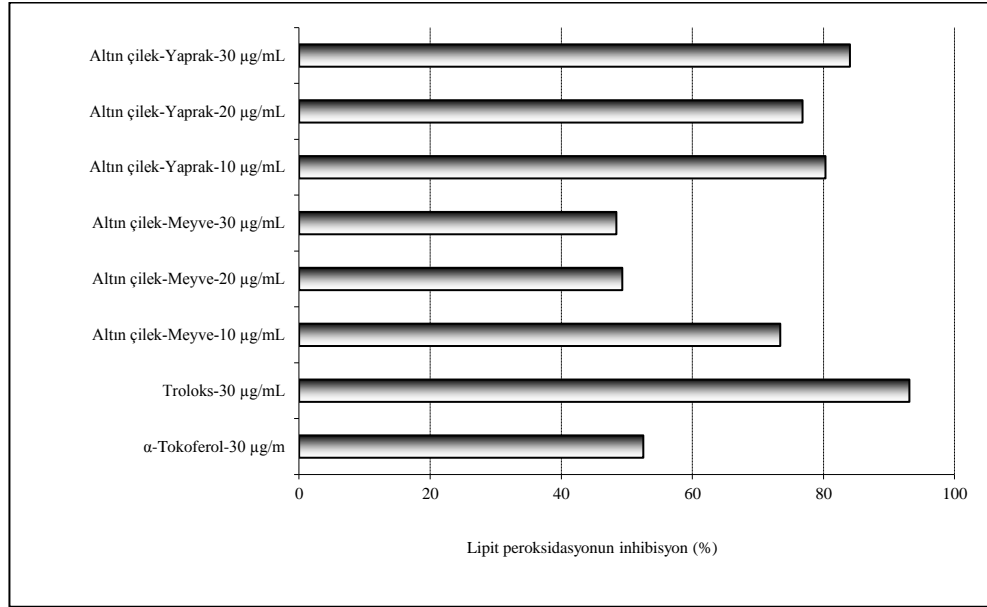
$$\text{Lipit peroksidasyonun inhibisyonu (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{500-N}}{\lambda_{500-K}} \right) \times 100$$

Burada  $\lambda_{500-N}$ , numune veya standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbands değeri,  $\lambda_{500-K}$  ise linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbands değeri ifade eder.



**Şekil 4.38.** Keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun alkol ekstresinin (10-30 µg/ml) konsantrasyonunda ve α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri





**Şekil 4.39.** Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi (10-30 µg/ml) konsantrasyonunda ve α-tokoferol ve troloksun 30 µg/ml konsantrasyonunda lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda keten tohumunun ve altın çileğin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yuksek lisans tez çalışması kapsamında yapılan bu çalışmada öncelikle tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite,  $Fe^{3+}$ - $Fe^{2+}$  indirgeme kapasitesi, kuprak metoduna göre  $Cu^{2+}$ - $Cu^{+}$  indirgeme kapasitesi, FRAP metoduna göre  $Fe^{3+}$ -TPTZ indirgeme kapasitesi, ferrozin ve bipiridil kullanarak iki farklı şekilde ferröz iyonlarını ( $Fe^{2+}$ ) şelatlama aktivitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi,  $ABTS^{•+}$  giderme aktivitesi,  $DMPD^{•+}$  giderme aktivitesi ile riboflavin-metiyonin-ışık sisteminde oluşturulan süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi total fenolik ve total flavonoit bileşik miktarları tayini gibi biyoanalitik metotlar kullanılarak numunelerin farklı konsantrasyonlarda antioksidan özellikleri belirlendi. Çalışılan antioksidan yöntemlerde bulunan aktiviteler gıda ve farmokoloji sanayinde yaygın olarak kullanılan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks gibi standart antioksidanlar ile karşılaştırmalar yapıldı.

Altın çileğin meyvesi, yaprakları ve keten tohumu numunelerinin liyofilize su ekstresi ile keten tohumunun alkol ekstresinde bulunan total fenolik ve flavonoit bileşik miktarları kalitatif olarak gallik asit ve kuersetin ekivalen olarak belirlendi. Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin 1 mg'ı kullanılarak 760 nm absorbans lld. Öncelikle standart fenolik bileşik olarak kullanılan gallik asitten standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen doğrusal denklemden ekstrelerde bulunan total fenolik bileşik miktarı eşdeğer gallik asit olarak hesaplandı. Sonuçlar izelge 5.1'de verilmiştir

$$\text{Absorbans} = 0,001 \times [\text{Gallik Asit}]$$

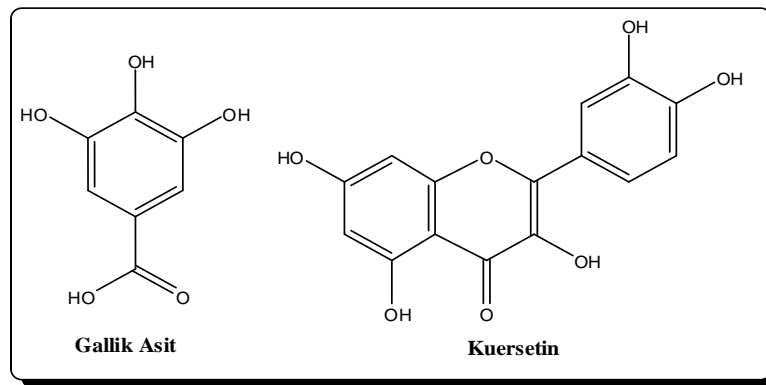
**Çizelge 5.1.** Altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivalen (GAE) ve total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) olarak miktarları

Ekstreler	Total fenolik bileşik (µg GAE /mg ekstre)	Total flavonoit bileşik (µg KE /mg ekstre)
Altın çilek-Meyve	7	6,23
Altın çilek-Yaprak	26	13,06
Keten tohumu-Su	45	23,30
Keten tohumu-Alkol	167	3,88

Altın çileğin meyve, yapraklarının ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumu alkol ekstresinde bulunan flavonoit bileşik miktarı için ise standart flavonoit bileşik olarak kullanılan kuersetinden standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen doğrusal denklemden kuersetin ekivalen (KE) olarak hesaplandı.

$$\text{Absorbans} = 0,0085 \times [\text{KE}]$$

Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin 1 miligramında bulunan total flavonoit miktarı kuersetin ekivalen (KE) olarak Çizelge 5.1’de verilmiştir.



**Şekil 5.1.** Standart fenolik bileşik olan gallik asit ile bir standart flavonoit olarak kullanılan kuersetinin açık yapıları

Polifenoller birden fazla fenol grubu içeren önemli antimikrobial ve antioksidan bileşiklerdir. Özellikle meyve ve sebzelerde bol miktarlarda bulunurlar. Katekin, gallik asit, epikatekin, kuersetin ve p-kumarik asitin en önemli flavonoit ve fenolik bileşiklerden olduğu bildirilmiştir (Bursal 2009). Bundan dolayı altın çilek meyvesi ile yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstreleri ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ile alkol ekstrelerinde bulunması muhtemel fenolik bileşiklerden p-hidroksibenzoik asit, vanilin, p-kumarik asit, askorbik asit, kafeik asit, ferulik asit, elajik asit, sirinjik asit, kuersetin, epigenin, keampferol, epigallaktekin, keampferol-3-O-glukozit, luteolin-7-O-glukozit ve <sup>13</sup>C p-hidroksibenzoik asit miktarları LC-MS/MS analiz metoduna göre belirlendi.

Bu analiz sonuçlarına göre keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinde, p-kumarik asitten 192 mg/kg, ferulik asitten 85 mg/kg, p-hidroksibenzoik asitten 779 mg/kg gözlemlendi. Diğer taraftan keten tohumunun alkol ekstresinde ise p-kumarik asit 30 mg/kg, ferulik asit 13 mg/kg, p-hidroksibenzoik asit 120 mg/kg olduğu gözlemlendi. Altın çilek meyvesinin liyofilize edilmiş su ekstresinde p-kumarik asit 35 mg/kg, askorbik asit 67 mg/kg ve p-hidroksibenzoik asit 139 mg/kg iken altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresinde ise p-hidroksibenzoik asit 223 mg/kg, p-kumarik asit 55 mg/kg, askorbik asit 108 mg/kg olarak tespit edildi.

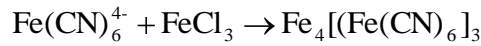
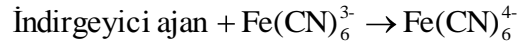
Altın çileğin meyvesinin, yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerinin çalışılan konsantrasyonlarda (10-30 µg/ml), artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak indirgeme kapasitelerinde, metal şelatlama, DPPH, ABTS, DMPD ve süperoksit anyon radikali giderme aktivitelerinde de artış gösterdiği gözlemlendi.

Antioksidan ve antiradikal çalışmaların karşılaştırılmasında BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan maddeler kullanıldı. Pek çok antioksidan analizinde eşit konsantrasyonlardaki altın çileğin meyvesi, yaprakları ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresi ve keten tohumunun alkol ekstresinin ve standart antioksidanların aktiviteleri karşılaştırıldı.

Antioksidan bileşikler antioksidan aktivitelerini geçiş metal iyonlarını bağlama, peroksitleri parçalama, hidrojen abstraksiyonunu önleme, radikal giderme gibi farklı mekanizmalar ile sağlayabilirler (Diplock 1997; Gülçin 2002).

Mevcut çalışmada ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kapasitesinin yanı sıra kuprik iyonlarını ( $Cu^{2+}$ ) kupröz iyonlarına ( $Cu^+$ ) indirgeme kapasitesi ve FRAP metoduyla  $Fe^{3+}$ -TPTZ indirgeme kapasitesi çalışıldı. Üç farklı metot ile yapılan indirgeme kapasitesi tayinlerinde altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerinin indirgeme kapasitesinin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlemlendi. İndirgeme kapasitesi bir bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesindeki en önemli etkenlerden biridir (Meir *et al.* 1995).

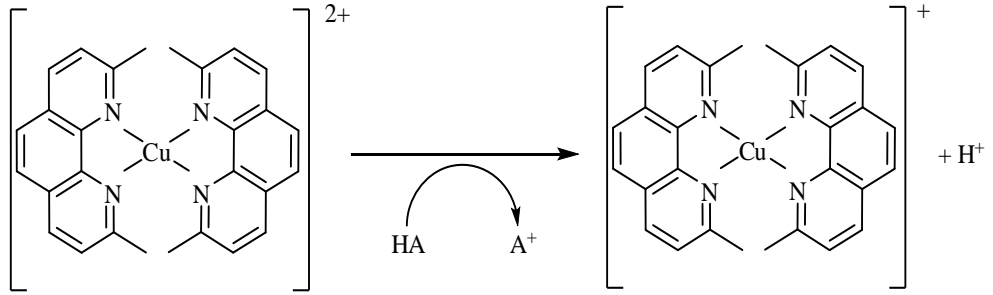
Bir bileşiğin indirgeme gücü, o bileşiğin elektron verme kapasitesi olarak bilinmektedir. ve farklı metotlar ile ölçülebilmektedir (Arabshahi-Delouee and Urooj 2006; Gülçin 2012). Bu amaçla en çok kullanılan metotlardan biri,  $Fe[(CN)_6]^{3+}$ 'nin  $Fe[(CN)_6]^{2+}$ 'ye indirgenmesi metodudur. İndirgenmiş ürüne ( $Fe[(CN)_6]^{2+}$ ) ferrik iyonlarının ( $Fe^{3+}$ ) ilavesi ile oluşan Prussian mavisi renginde bir  $Fe_4[Fe(CN)_6]$  kompleksi, 700 nm'de absorbansa sahiptir. Bu dalga boyundaki absorbans artışı, kompleksin oluşumunu ve dolayısıyla artan indirgeme kapasitesini gösterir (Bursal and Gülçin 2011).



Bu çalışmada test çözeltilerindeki sarı renk, antioksidan örneklerin indirgeme kapasitesine bağlı olarak farklı yeşil ve mavi tonlarına dönüşür (Benzie and Strain 1996).

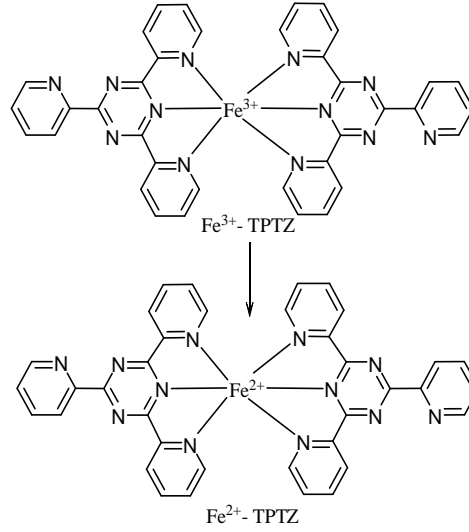
İndirgeme kapasitesinin belirlemek için kullanılan diğer bir yöntem ise Kuprak metodudur. Bu metot, son yıllarda Apak ve grubu tarafından indirgeme gücü analizi için

geliştirilen oldukça önemli bir yöntemdir (2004). Yeni bir metot olmasına rağmen son yıllarda oldukça yaygın bir kullanım alanı kazanan bu metot en çok Gülçin ve gurubu tarafından kullanılmıştır (Gülçin 2008; 2010; Gülçin *et al.* 2010). Bu yöntem, düşük maliyetli, hızlı, kararlı ve rahat uygulanabilir bir yöntemdir. Ayrıca indirgeyici maddenin türüne veya hidrofiliğine bağlı kalınsız farklı antioksidanlar için uygulanabilir bir metottur. Kuprak metodu fizyolojik pH'ya yakın bir pH'da (pH:7,0) gerçekleştirilir (Apak *et al.* 2006; Gülçin 2008; Köksal *et al.* 2009d).



**Şekil 5.2.** Antioksidan bir molekül (HA) tarafından gerçekleştirilen kuprak reaksiyonu (Gülçin 2012)

İndirgeme kapasitesini belirlemek amacıyla kullandığımız bir diğer metot, FRAP metodudur. Bu metot da diğer indirgeme metotları gibi basit, hızlı, ucuz ve özel aletler gerektirmemektedir. Düşük pH'da yani asidik ortamda ve antioksidanların varlığında  $Fe^{3+}$ -TPTZ kompleksi  $Fe^{2+}$ -TPTZ kompleksine indirgenir. Oluşan renkli çözelti 595 nm'de maksimum absorbans gösterir. Düşük pH'da  $Fe^{3+}$ 'ün  $Fe^{2+}$ 'ye indirgenmesi renkli  $Fe^{2+}$ -TPTZ kompleksinin oluşmasına yol açar. Oluşan demir kompleksi oksidan olarak kullanılır (Benzie and Strain 1996) ve redoks potansiyeli 0,70 V'tur. Bu değer  $ABTS^{+}$ 'nin redoks potansiyeline (0,68V) yakındır.  $ABTS^{+}$  ve FRAP'ın tek farkı, FRAP'ın daha asidik ortamda (pH: 3,6) gerçekleşmesidir (Huang *et al.* 2005).



**Şekil 5.3.** FRAP metoduna göre ferrik iyonlarının (Fe<sup>3+</sup>) ferröz iyonlarına (Fe<sup>2+</sup>) indirgenme reaksiyonu (Gülçin 2012)

Yapılan bu çalışmalarda indirgeme kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan her üç indirgeme metodu arasında bir ilişki olduğu belirlendi. Artan konsantrasyona bağlı olarak altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin indirgeme kapasitelerinde konsantrasyona bağlı olarak artış gözlemlendi (Çizelge 5.2). Her üç metotta kullanılan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin kullanılan standart antioksidanlar içerisinde troloksa benzer aktiviteler sergiledikleri bununla beraber bu aktivitelerin BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve BHA'dan daha düşük olduğu belirlendi.

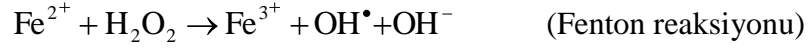
**Çizelge 5.2.** Çalışmada kullanılan altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının 20 µg/ml konsantrasyonunda ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ve kuprik iyonlarını ( $Cu^{2+}$ ) indirgeme kapasiteleri

<b>Antioksidanlar</b>	<b>Ferrik iyonlarını (<math>Fe^{3+}</math>) indirgeme (700 nm)</b>	<b>Kuprik iyonlarını (<math>Cu^{2+}</math>) indirgeme (450 nm)</b>	<b>FRAP metodu indirgeme (593 nm)</b>
<b>BHA</b>	1,811	0,619	2,272
<b>BHT</b>	1,300	0,828	1,049
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b>	1,034	0,618	1,672
<b>Troloks</b>	0,240	0,433	0,433
<b>Altın çilek-Meyve</b>	0,145	0,218	0,462
<b>Altın çilek-Yaprak</b>	0,201	0,153	0,508
<b>Keten tohumu-Su</b>	0,198	0,172	0,489
<b>Keten tohumu-Alkol</b>	0,340	0,437	0,525

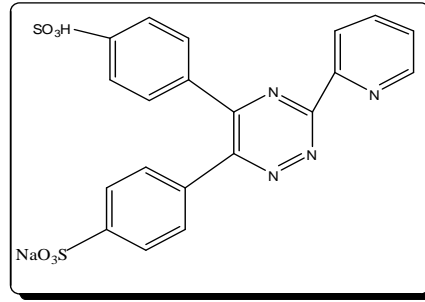
Ferröz ( $Fe^{2+}$ ) iyonu gibi iyonik türler, organizmada serbest radikal ve reaktiflerin üretimini arttırdığı için bu metalin varlığı ve buna bağlı olarak etkisi en düşük düzeye indirilmelidir. Bunu sağlamak için metal iyonlarının şelatlanması oldukça önemlidir. Metal iyonları şelatlama aktivitesi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarını önlemek veya geciktirmek amacıyla kullanılan önemli bir antioksidan yöntemidir. Geçiş metalleri içerisinde demir yüksek aktiviteye sahip olduğu için önemli bir lipid oksitleyici metaldir. Demir, organizmalar için önemli mineral olmasına rağmen aşırısı hücre hasarına kolaylıkla sebep olabilir (Gülçin 2012).

Fenton reaksiyonları sonucunda hidrojen peroksite ( $H_2O_2$ ) göre daha reaktif ve metabolizmaya daha zararlı hidroksil radikal ( $OH^{\cdot}$ ) oluşmaktadır (Halliwell and Gutteridge 1984; Gülçin 2012). Bundan dolayı ferröz iyonlarının ( $Fe^{2+}$ ) ortamdan giderilmeleri veya uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Fenton tipi reaksiyonlarda peroksitlerin ortamda bulunmaları esnasında ferrik iyonları oluşur fakat ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ), ferrik iyonlarından ( $Fe^{3+}$ ) on kata daha fazla reaktif oldukları için negatif etkiler büyük ölçüde giderilmiş olur (Miller 1996; Gülçin 2012).





Böylece ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlama kapasitesi ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) konsantrasyonunu en aza indirmekte ve oksidatif hasara neden olan serbest radikal oluşumunu inhibe etmektedir (Gülçin 2007b). Ferrozin, ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) gibi iki değerlikli metal iyonları ile kantitatif miktarda bile kompleks oluşturmaktadır. Oluşan renkli metal-ferrozin kompleksi ise 562 nm'de maksimum absorbanans göstermektedir. Metal şelatlayıcı ajanların varlığında metal-ferrozin kompleksi oluşumu bloke olur. Dolayısıyla metal şelatlama aktivitesinde 562 nm'de absorbansta meydana gelen azalma metal şelasyonunun bir göstergesidir.

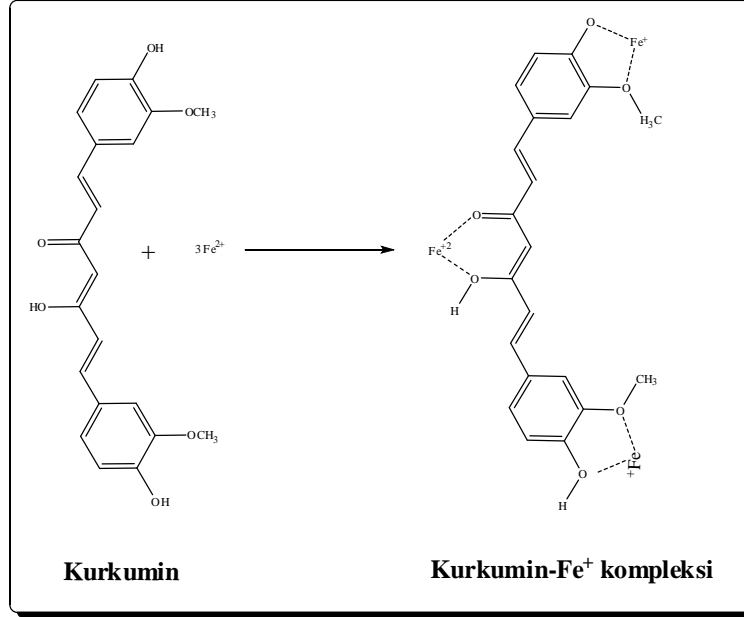


**Şekil 5.4.** Ferrozin'in açık kimyasal yapısı (Gülçin 2012)

Benzer mekanizmalar Kazazica ve arkadaşları tarafından da ileri sürülmüştür (2006). Son zamanlarda yapılan bu çalışmada kamferol gibi bir flavonoitin kuprik ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ve ferröz iyonlarını ( $\text{Fe}^{2+}$ ) fonksiyonel karboksil grupları üzerinden şelatladığı bildirilmiştir. Bununla beraber,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{H}_2\text{PO}_3$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ,  $-\text{NR}_2$ ,  $-\text{S}-$  ve  $-\text{O}-$  gibi fonksiyonel gruplardan iki veya daha fazlasına sahip olan moleküllerin metalleri kolaylıkla şelatlayabilecekleri bilinmektedir. Bu grupların bulunması antioksidan molekülün metal şelatlamada yapı-fonksiyon konfügrasyonu açısından olumlu bir durumdur (Gülçin 2009a; 2012).

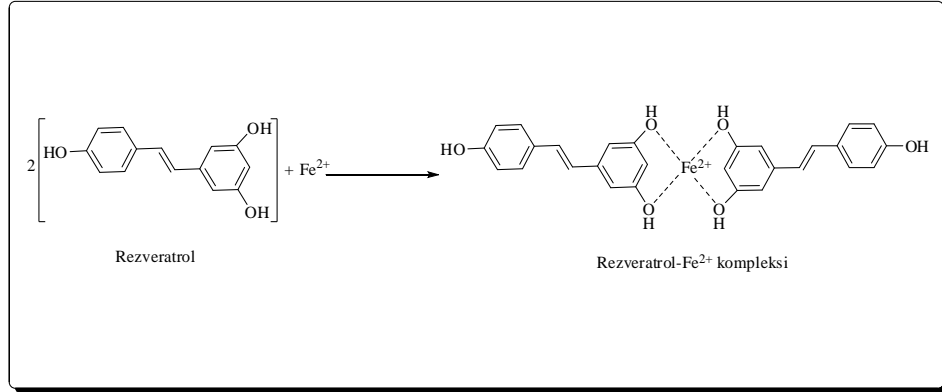
Kurkumin molekülüne bakıldığında ise daha farklı bir durum göze çarpmaktadır (Ak and Gülçin 2008). Kurkumin molekülünün içerdiği her iki aromatik halkaya bağlı

metoksi grupları ile hidroksil fonksiyonel grupları arasında ikişer adet ferröz iyonlarının ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlamasının yanı sıra hidrokarbon ara zincirindeki enol ve keto grupları tarafından da bir adet ferröz iyonlarının ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlaması da kuvvetle muhtemeldir.



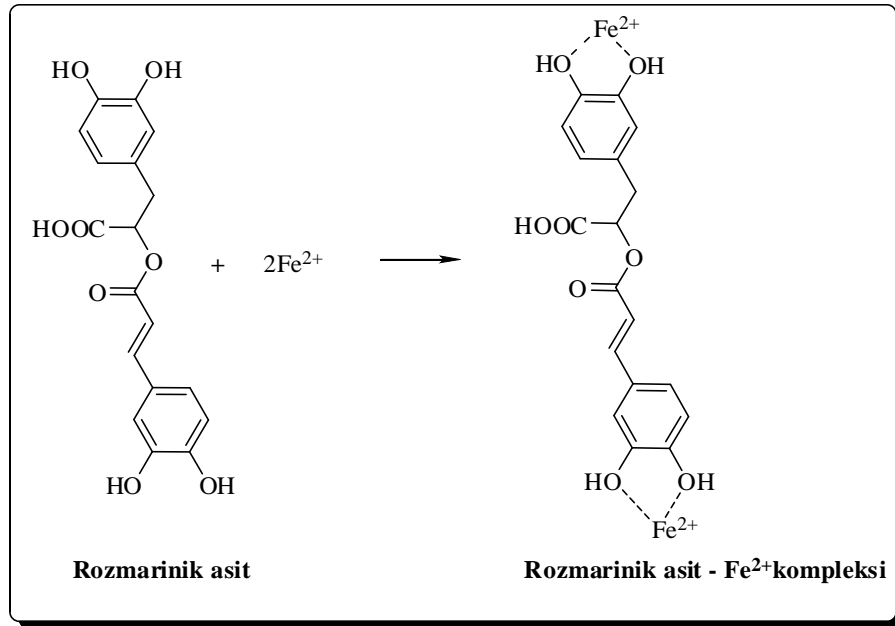
**Şekil 5.5.** Bir kurkumin molekülünün üç ferröz iyonu ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ile bağlanarak kurkumin- $\text{Fe}^{2+}$  kompleksi oluşması

Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada da üzümde oldukça fazla miktarda bulunan trifenolik bir bileşik olan rezveratrolün ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatlama aktivitesi için mümkün olan mekanizma aydınlatılmaya çalışılmıştır (Gülçin 2009b). İki rezveratrol molekülünün ihtiva ettiği her iki difenolik aromatik halkalar arasında bir adet ferröz iyonunu ( $\text{Fe}^{2+}$ ) şelatladığı gözlenmiştir (Gülçin 2012)



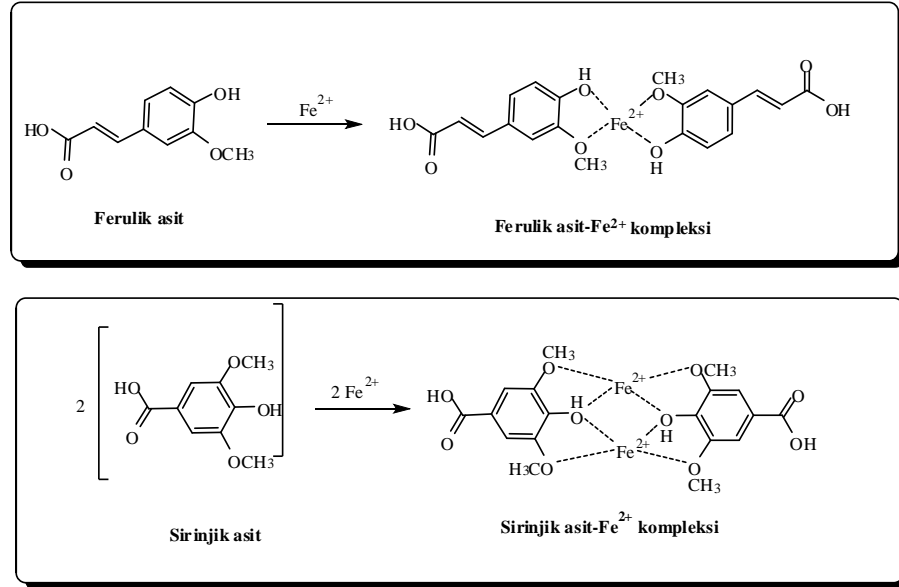
**Şekil 5.6.** İki molekül rezveratrolun bir adet ferröz iyonu (Fe<sup>2+</sup>) ile bağlanarak Rezveratrol-Fe<sup>2+</sup> kompleksi oluşturması

Bir rozmarinik asit molekülünün içerdiği her iki difenolik aromatik halkalar arasında iki adet ferröz iyonunu (Fe<sup>2+</sup>) şelatladığı gözlenmiştir (Nar 2011; Gülçin 2012).



**Şekil 5.7.** Rozmarinik asitin ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) ile oluşturduğu kompleks (Gülçin 2012)

Ferulik ve sirinjik asitlerin de benzer mekanizmalar ile metal iyonlarını bağladığı bildirilmiştir (Öztürk Sarıkaya 2009). Ayrıca diğer fenolik asitlerin de benzer mekanizmalar ile metal şelatladıkları tahmin edilmektedir.



**Şekil 5.8.** Sirinjik ve ferulik asitlerin ferröz iyonları (Fe<sup>2+</sup>) ile bağlanarak oluşturdukları kompleks

Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının ferröz iyonlarını (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre belirlendi (1994). Çalışmada kullanılan bu ekstraların metal şelatlama aktivitesinin IC<sub>50</sub> değerleri yani serbest radikalın yarısını gideren ekstre miktarı ile standart antioksidanların IC<sub>50</sub> değerleri mukayese edildiğinde ise keten tohumunun su ekstresine ait IC<sub>50</sub> değeri 11,18 µg/ml, altın çilek yapraklarının su ekstresinin 12,16 µg/ml, altın çilek meyvelerinin su ekstresinin 14,74 µg/ml, keten tohumunun alkol ekstresinin 17,77 µg/ml iken standart antioksidanlar için küçükten büyüğe doğru 14,14 µg/ml (BHT), 16,25 µg/ml (BHA), 19,25 µg/ml (α-tokoferol), 23,89 µg/ml (troloks) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.). Düşük IC<sub>50</sub> değerinin yüksek metal şelatlama aktivitesi gösterdiği unutulmamalıdır.

Yine benzer bir şekilde altın çilek meyve ve yaprakları ile keten tohumunun liyofilize su ekstraları ve keten tohumunun alkol ekstresinin bipiridil reaktifi kullanarak ferröz iyonlarını (Fe<sup>2+</sup>) şelatlama aktivitesi Re ve arkadaşlarının belirlediği metoda göre yapıldı (1999). Çalışmada kullanılan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının ve

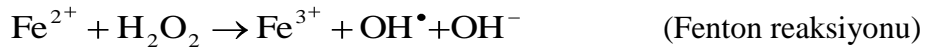
standart antioksidanların metal şelatlama aktivitesine ait IC<sub>50</sub> değerleri ise yine azalandan artana doğru sıralandığında troloks 7,07 µg/ml, altın çilek yaprak su ekstresinin 7,61 µg/ml, BHT 8,56 µg/ml, keten tohumu alkol ekstresinin 8,88 µg/ml, altın çilek meyve su ekstresinin 9,0 µg/ml, keten tohumu su ekstresinin 9,24 µg/ml, α-tokoferol 17,76 µg/ml, BHA 24,75 µg/ml, olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.). Bu sonuçlara göre altın çilek meyve ve yaprakları ve keten tohumunun liyofilize su ekstreleri ve keten tohumunun alkol ekstresinin BHT ve troloks'la yakın metal şelatlama etkisine sahip olduğu belirlendi. Ayrıca çalışılan ekstrelerin tamamının standart bir antioksidan olan BHA ve α-tokoferol'den daha etkili olduğu tespit edildi.

Antioksidan bileşiklerin radikal giderme aktiviteleri, gıda sanayinde ve biyolojik sistemlerde serbest radikallerin organizmaya verdiği hasarı gidermek açısından oldukça önemlidir. Bu sistemlerde serbest radikaller meydana gelmekte, lipit peroksidasyonunu hızlandırmakta ve dolayısıyla ürünlerin kalitesini düşürmektedir (Min 1998). Son yıllarda sentetik serbest radikallerin giderilmesi ile ilgili pek çok metot geliştirilmiştir. Bunların başında DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (Gülçin 2006b), ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitesi (Gülçin *et al.* 2006a), DMPD<sup>+</sup> giderme aktivitesi (Basile *et al.* 2006), PMS-NADH-NBT sistemi (Gülçin 2005), ksantin-ksantin oksidaz sistemi (Nagai *et al.* 2001) ve riboflavin-metiyonin-ışık sistemi (Zhishen *et al.* 1999) gibi sistemlerde oluşturulan süperoksit anyon radikalleri giderme aktiviteleri gibi radikal giderme metotları sıklıkla kullanılmaktadır.

*In vitro* analitik çalışmalarında belli bir metot seçileceği zaman reaksiyon mekanizmasının birincil faktörler dikkate alınmalıdır. Bu faktörler, oksidasyon kaynakları, konsantrasyonlar, diğer oksidan türler ve biyolojik hedefler ile etkileşimler gibi bazı bilgilerdir. Ayrıca deney ortamının bulunduğu şartlarda iyi bilinmelidir (Gülçin 2012).

Süperoksit anyon radikalleri lipit peroksidasyonunu direkt başlatan oksijen merkezli radikallerdir. Bu radikaller biyolojik makromoleküller ile etkileşip doku hasarlarına neden olurlar (Halliwell and Gutteridge 1989). Süperoksit anyon radikalleri çok reaktif

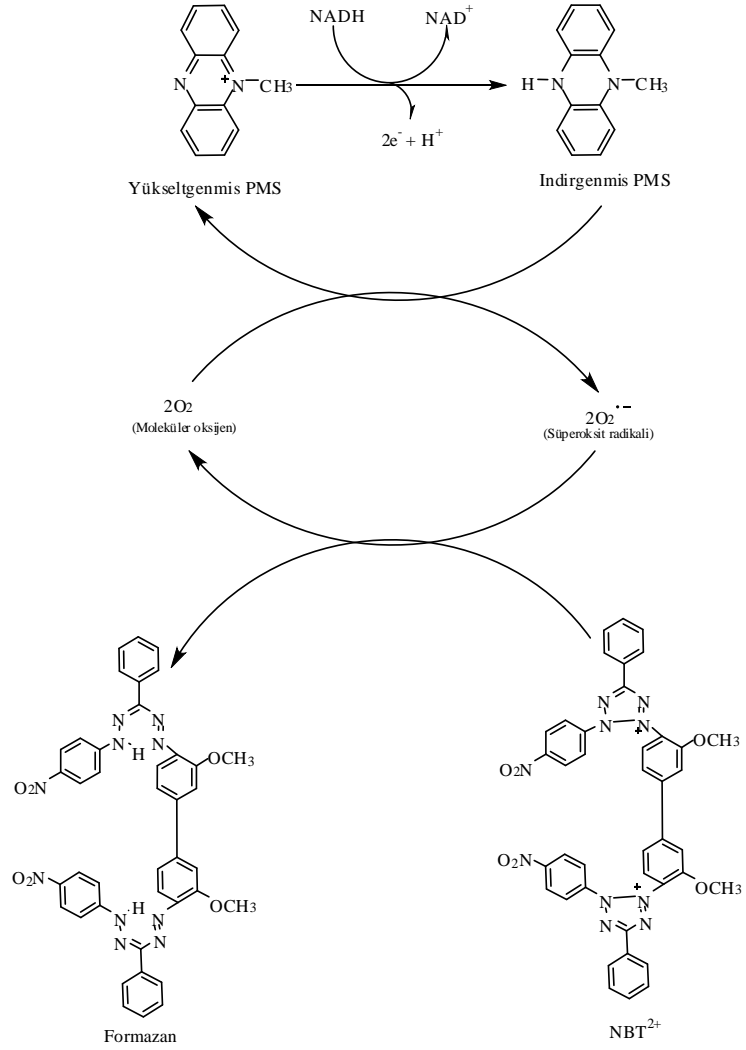
değildirler. Ancak akonitaz gibi dehidratazların demir sülfür gruplarını yükseltgeyerek inaktivasyona ve dolayısıyla  $Fe^{2+}$  iyonlarının salınımına neden olurlar.  $Fe^{2+}$  ise Fenton reaksiyonu ile oldukça reaktif olan hidroksil radikallerinin ( $OH^{\bullet}$ ) oluşumuna neden olur (Gülçin 2012). Bunun yanı sıra Haber-Weiss reaksiyonu ile doğrudan hidrojen peroksitle etkileşip hidroksil iyonu ve hidroksil radikali de oluşturabilir (Gülçin *et al.* 2007c).



Ayrıca süperoksit anyon radikalleri katalaz ve peroksidaz enzimlerini inaktive edebilir, oksihemoglobini methemoglobine yükseltgeyebilir ve eritrosit membranını parçalayabilir (Fridovich 1983; Mavi 2005). Lipit, protein ve DNA gibi biyomoleküllerde oksidatif hasara sebep olan hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunda da önemli rol oynarlar (Gülçin 2012). Ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ), Sitokrom c gibi bazı demir komplekslerini de kolaylıkla indirgeyebilir (Pietta 2000; Gülçin 2012).

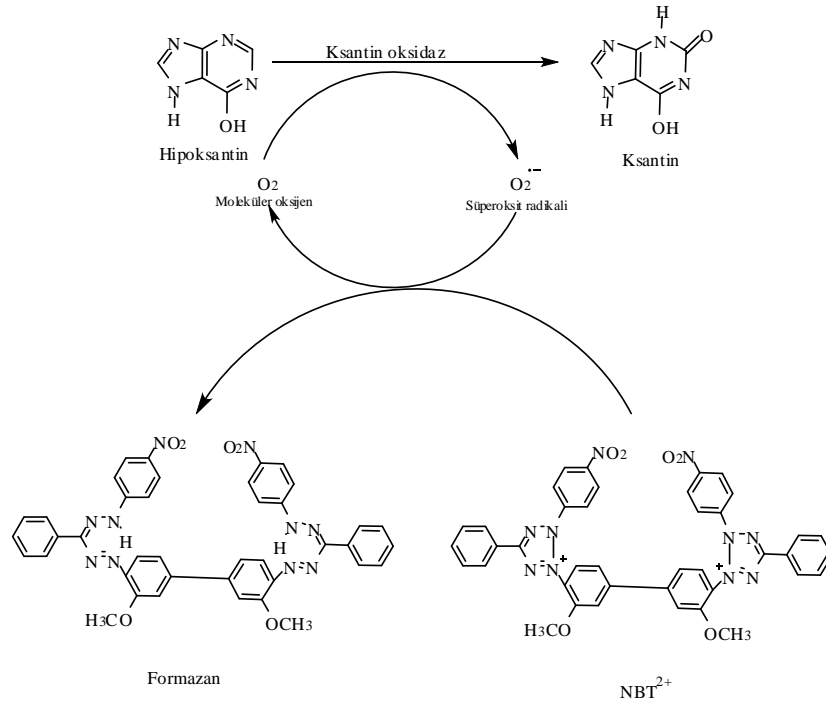
Bu sebeplerden dolayı ortamdaki süperoksit anyon radikallerinin giderilmesi gerekmektedir. Antioksidan maddeler bu fonksiyonu yapmaktadırlar. Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi riboflavin/metiyonin/ışık metoduna göre yapıldı.

Bu metotta süperoksit anyon radikalleri riboflavin/metiyonin/ışık sisteminde çözünen oksijenden elde edildi. Elde edilen süperoksit anyon radikalleri  $NBT^{2+}$ 'yi formazana yükseltger. Formazan ise 560 nm'de maksimum absorbans gösterir. Azalan absorbans süperoksit radikallerinin giderildiğinin gösterir. Şekil 5.9 ve 5.10'da NADH/PMS ortamında üretilen süperoksit radikallerinin  $NBT^{2+}$ 'yi formazana indirgenmesi görülmektedir.



**Şekil 5.9.** NADH/PMS sisteminde üretilen süperoksit anyon radikallerinin NBT<sup>2+</sup>'yi formazana yükseltmesi

Yine süperoksit anyon radikalleri benzer şekilde ksantin/ksantin oksidaz sisteminde de üretilir. Bu sistemde üretilen süperoksit anyon radikalleri Şekil 5.10'da gösterilen benzer mekanizma ile NBT<sup>2+</sup>'yi formazana yükseltir (Şekil 5.10).



**Şekil 5.10.** Ksantin/ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit anyon radikallerinin NBT<sup>2+</sup>'yi formazana yükseltmesi

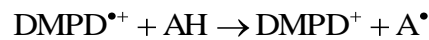
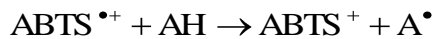
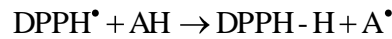
Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresi ve standart antioksidanların süperoksit anyon radikali giderme aktivitesine ait IC<sub>50</sub> değerleri azalandan artana doğru sıralandığında BHA 13,59 µg/ml, troloks 19,8 µg/ml, altın çilek yapraklarının su ekstresi 21,66 µg/ml, BHT 23,1 µg/ml, altın çilek meyvelerinin su ekstresi 23,9 µg/ml, keten tohumunun alkol ekstresi 24,75 µg/ml, α- tokoferol 26,65 µg/ml, keten tohumunun su ekstresi 49,5 µg/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 5.3). Kullanılan ekstrelerin tamamı standart antioksidanlarla benzer aktivite gösterirken keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresinin süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi diğer ekstreler ve standart antioksidanlara göre düşük olduğu gözlemlendi.



**Çizelge 5.3.** Altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, DMPD<sup>•+</sup>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> giderme aktiviteleri ile ilgili IC<sub>50</sub> (µg/ml) değerleri

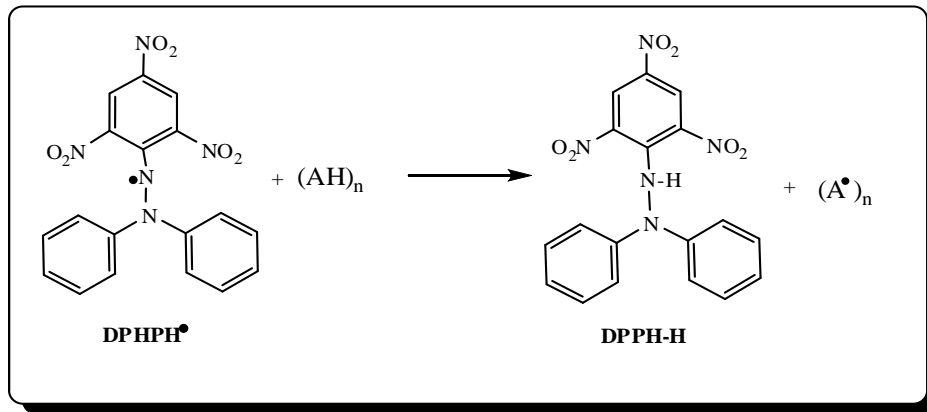
Antioksidanlar	DPPH <sup>·</sup> Giderme	ABTS <sup>•+</sup> Giderme	DMPD <sup>•+</sup> Giderme	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Giderme
BHA	6,42	9,90	22,35	13,59
BHT	38,50	9,49	–	23,10
α-Tokoferol	5,87	33,00	–	26,65
Troloks	34,65	49,50	21,00	19,80
Altın çilek-Meyve	36,47	46,20	17,33	23,90
Altın çilek-Yaprak	38,50	49,50	21,00	21,66
Keten tohumu-Su	53,30	27,72	28,88	49,50
Keten tohumu-Alkol	49,50	25,67	27,72	24,75

DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> radikallerinin kullanımına dayanan diğer radikal giderme metotları, saf maddelerin, yiyecek, içecek ve bitkisel ekstraların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için sıklıkla kullanılan spektrofotometrik metotlardır. Ayrıca DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> giderme metotları hızlı, basit, seçici ve tekrarlanabilir prosedürler olmalarından dolayı radikal giderme aktivitelerini belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Özçelik *et al.* 2003; Gülçin 2012). Bir antioksidan madde, bu radikal çözeltilerinden birine eklendiğinde; DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> oluşumunu tersine çevirir ve bu reaktif türleri indirgeyerek bir renksizleşme oluşur.



Menekşe renkli DPPH, pembe renkli DMPD<sup>+</sup> ve yeşil-mavi renkli ABTS<sup>+</sup> kromojenlerini kullanmak kolaydır. Bu metotlar yüksek duyarlılığa sahiptir ve aynı zamanda pek çok benzer çalışmanın analizinde rahatlıkla kullanılabilir (Awika *et al.* 2003).

DPPH radikali uzun ömürlü ve azot merkezli, kararlı bir serbest radikaldir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en sık kullanılan metotlardan biridir (Özçelik *et al.* 2003). Bu metotta antioksidan maddeler DPPH radikallerini, sarı renkli difenil-pikrilhidrazine indirger. Bu metodun esası hidrojen veren gruplara sahip antioksidanların varlığında, alkolde çözünen DPPH radikallerinin DPPH-H'a indirgenmesine dayanmaktadır. Şekil 5.11'de görüldüğü gibi indirgenme sonucu oluşan, 517 nm'de herhangi bir absorbans vermeyen ve radikal olmayan bir DPPH-H molekülü görülmektedir. Dolayısıyla DPPH serbest radikal miktarındaki azalma 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek aktivite tayini yapılabilir. Ortamda bulunan radikal giderici antioksidan veya antiradikal türlerin [(AH)<sub>n</sub>] varlığında DPPH serbest radikali Şekil 5.11'de belirtildiği gibi indirgenmiş DPPH-H formuna dönüşmektedir (Gülçin 2002; 2012).

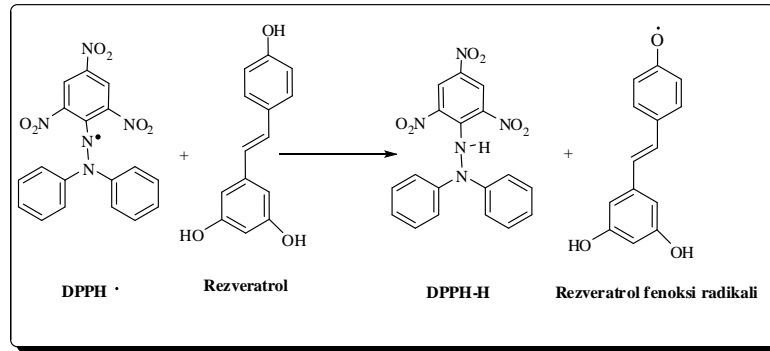


**Şekil 5.11.** Bir antioksidan [(AH)<sub>n</sub>] tarafından DPPH serbest radikallerinin giderilmesi

Çalışmada DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili sonuçlara bakıldığında çalışma kapsamında kullanılan altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin DPPH serbest

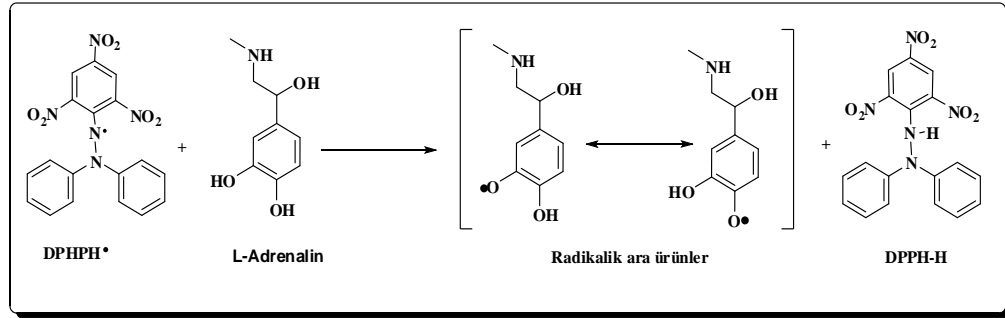
radikali giderme aktivitesi ile ilgili  $IC_{50}$  değeri sırasıyla 36,47  $\mu\text{g/ml}$ , 38,5  $\mu\text{g/ml}$ , 53,30  $\mu\text{g/ml}$ , 49,5  $\mu\text{g/ml}$  olarak bulunmuştur (Çizelge 5.3). Standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında ekstraların BHT ve troloksla benzer etki, BHA ve  $\alpha$ -tokoferol'den de düşük etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Son zamanlarda Gülçin tarafından yapılan bir çalışmada farklı moleküllerin DPPH serbest radikali ile etkileşme mekanizmalarına açıklık getirilmiştir. Bu anlamda rezveratrol ile ilgili yapılan bir çalışmada (Şekil 5.12) bir rezveratrol molekülünün birebir DPPH serbest radikalini söndürdüğü ve rezveratrol fenoksi radikali ara ürününün oluştuğu bildirilmiştir. Daha sonra oluşan bu radikalik ara ürünün radikal formunun fenolik halka tarafından dağıtıldığı bildirilmiştir (Gülçin 2009b; 2012).



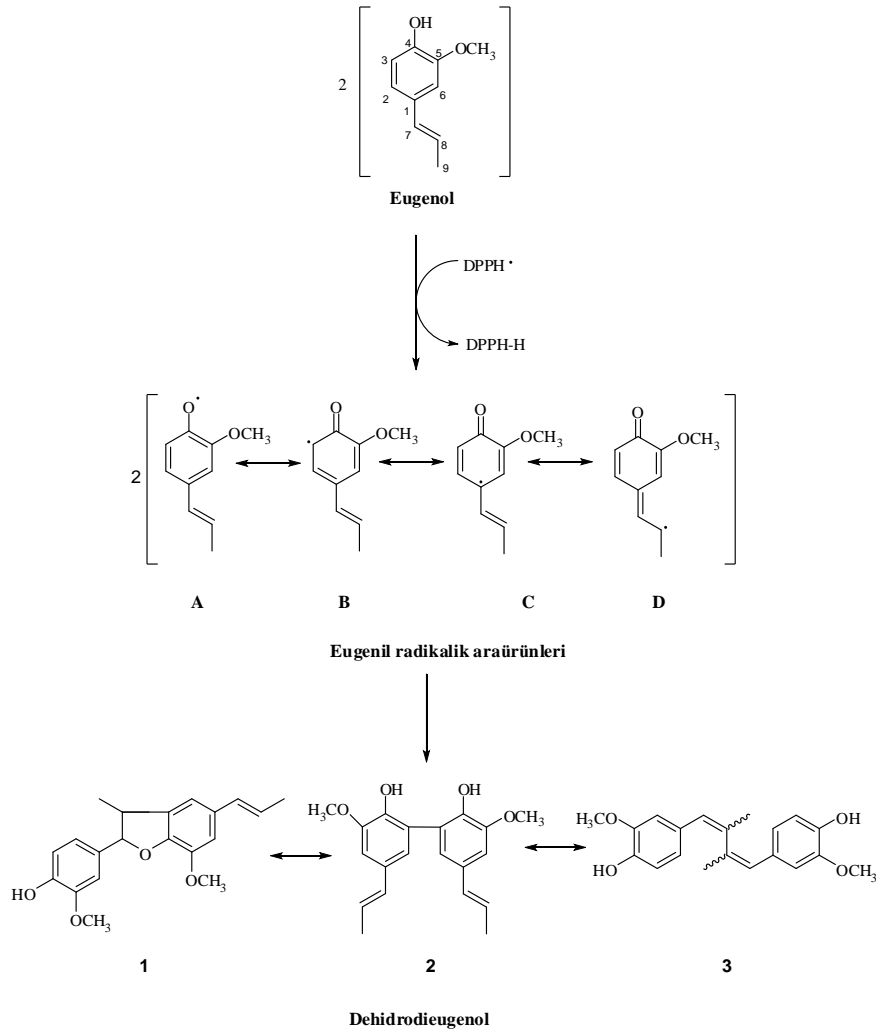
**Şekil 5.12.** Bir rezveratrol molekülünün birebir DPPH serbest radikalini söndürmesi ve rezveratrol fenoksi radikali ara ürününün oluşumu

Diğer bir çalışmada ise metabolizmada organizmayı acil harekete hazırlaması, kanın iç organlar ve deriden kaslara sevk edilmesi, karaciğerdeki glikojenin glukozaya dönüşmesi ve böylelikle acil enerji kaynağı sağlanması etkisine sahip olan L-Adrenalin için öngörülmüştür (Gülçin 2009a). Bu çalışmada L-Adrenalin'in rezveratrole benzer bir DPPH serbest radikali giderme mekanizmasına sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 5.13).



**Şekil 5.13.** Bir L-Adrenalin molekülünün birebir DPPH serbest radikalini söndürmesi ve L- Adrenalin'in radikalik ara ürünlerin oluşumu

Gülçin tarafından yapılan başka bir çalışmada karanfil (*Eugenia caryophyllata*) bitkisinin etken maddesi olan Eugenol üzerinde daha ilginç bulgular belirlenmiştir (2011). Yapılan bu çalışmada Eugenol ve İzoeugenol karmaşık bir yapıdaki dimerik türlerini de içeren kompleks reaksiyon mekanizmaları aydınlatılmıştır. Özellikle Eugenol molekülünün alifatik yan zincirinin rolü üzerinde durulmuş. Bu yan zincirdeki konjugasyon nedeniyle Eugenolün antioksidan ve radikal giderme aktivitesinin daha da arttığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada Eugenol molekülünün iki ya da daha fazla DPPH serbest radikalini giderdiği bildirilmiştir. Halbuki Eugenolün sadece bir adet aromatik hidroksil grubu mevcuttur. Şekil 5.14'de görüldüğü gibi A, B ve C molekülleri iki fenolik hidroksil grupları üzerinde dimerleşir ve bütün bu bileşikler C<sub>8</sub>-C<sub>8</sub> ve C<sub>5</sub>-C<sub>5</sub> arasındaki kapling reaksiyonları sonucu oluşur (Gülçin 2012).

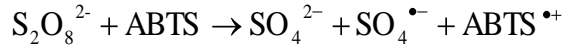


**Şekil 5.14.** Eugenol molekülünün DPPH serbest radikalini gidermesi ve radikalik Eugenil ara ürünlerinin oluşumu

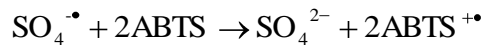
Fenolik halkaya sahip olan bu moleküllerin DPPH serbest radikali giderme ile ilgili mekanistik çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda fenolik yapıdaki bileşiklerin DPPH serbest radikalini giderme mekanizmaları tahmin edilebilir. *p*-Hidroksibenzoik asit, *p*-kumarik asit ve ferulik asit gibi mono fenoller için de muhtemel DPPH serbest radikalini giderme mekanizması aşağıdaki gibi verilebilir.



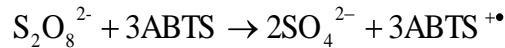
gösterir. ABTS radikal katyonu farklı oksidan maddelerle hazırlanabilir. Oksidan olarak  $K_2S_2O_8$  kullanılabildiği gibi  $MnO_2$ 'de kullanılabilir. Potasyum persülfat veya  $MnO_2$  varlığında ABTS'den ABTS radikalleri ( $ABTS^{\bullet+}$ ) meydana gelir. ABTS radikalleri  $ABTS/K_2S_2O_8$  şu şekilde oluşmaktadır.



Burada peroksidisülfatın yıkımı elektron transferinden sonra oluşabilir. Aşırı ABTS varlığında, sülfat radikali şu reaksiyona göre tepkime verir.



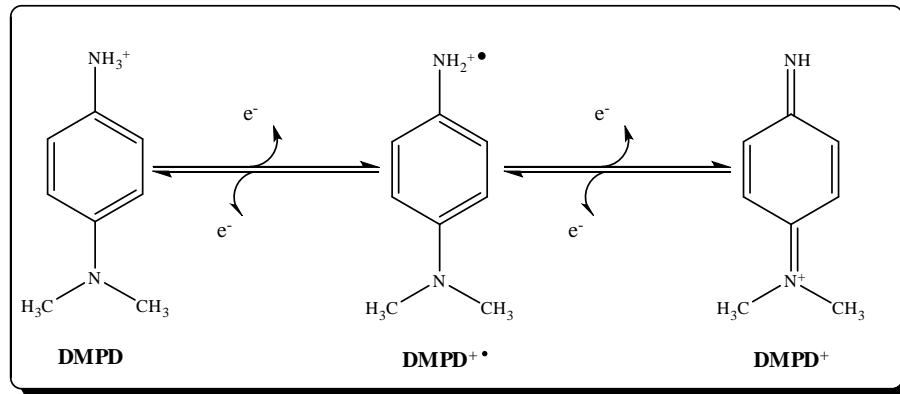
Net reaksiyon ise şöyle meydana gelir:



ABTS radikalleri DPPH radikallerinden daha reaktiftirler ve bir H atom transferini gerektiren DPPH ile reaksiyonları farklıdır. ABTS radikalleri bir elektron transferini içerir (Kaviarasan *et al.* 2006; Gülçin 2012). ABTS radikalleri giderme mekanizması, yukarıda DPPH serbest radikalleri giderme mekanizmasına benzer özellikler teşkil eder. Çizelge 5.3'deki sonuçlara bakıldığında çalışma kapsamında kullanılan ekstrelerin ABTS radikallerini giderme aktivitesine ait  $IC_{50}$  değerleri azalandan artana doğru sıralandığında keten tohumunun alkol ekstresinin 25,67  $\mu g/ml$ , keten tohumunun su ekstresi 27,75  $\mu g/ml$ , altın çilek meyvelerinin su ekstresi 46,2  $\mu g/ml$ , altın çilek yapraklarının su ekstresi 49,5  $\mu g/ml$  olarak bulunmuştur.

$ABTS^{\bullet+}$  giderme metoduna çok benzeyen diğer bir radikal giderme metodu ise  $DMPD^{\bullet+}$  giderme metodudur (Gülçin 2012).  $DMPD^{\bullet+}$  giderme metodunun esası, asidik pH ve uygun bir oksidanın varlığında ve çözelti ortamında  $DMPD^{\bullet+}$ 'nin kararlı ve renkli bir

radikal katyonu ( $\text{DMPD}^{\bullet+}$ ) oluşturması şeklinde dir.  $\text{DMPD}^{\bullet+}$ , 505 nm’de maksimum absorbans gösterir. şekil 5.16’da görüldüğü gibi  $\text{DMPD}^{\bullet+}$ ’ye bir H atomu transfer edebilen antioksidanlar rengi söndürür ve çözeltide bir renksizleşme meydana gelir. Üstelik bu metot, diğer radikal giderme metotlarında olduğu gibi düşük maliyet ve yüksek tekrar edilebilirlik firsatı sunar.



**şekil 5.17.** Kararlı bir radikal olan  $\text{DMPD}^{\bullet+}$ ’nin oluşumu ve tersinir giderilme mekanizması

Altın ilek meyvesinin liyofilize edilmiş su ekstresinin  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  giderme aktivitesi, standart antioksidan olarak kullanılan BHA ve troloks bileşiklerinin aktivitesinden daha düşük iken, altın ilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin aktivitelerinde standartlara yakın değerler gözlemlenmiştir. Bu metotta BHT ve  $\alpha$ -tokoferol gibi hidrofobik özelliğe sahip standartlar kullanıldığı zaman DMPD metodunun hassasiyeti ve tekrarlanabilirliği önemli ölçüde azalmaktadır ve net sonuçlar vermemektedir (Gülçin 2008; 2012). Bu nedenle bu iki standart antioksidan bileşik bu metotta genelde kullanılmamaktadır (Gülçin 2012).

Çalışmada total antioksidan aktivitesi ‘‘Ferrik Tiyosiyanat Metoduna’’ göre belirlendi. Bu metot, linoleik asit emlasyonunda oto-oksidasyon sonucu oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak 500 nm’de ölçülmesi esasına dayanır. Yüksek absorbans, peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Oluşan peroksit



$Fe^{2+}$ 'yi  $Fe^{3+}$ 'e yükseltger. Daha sonra  $Fe^{3+}$  ilave edilen amonyum tiyosiyanat ile kompleks oluşturarak 500 nm'de maksimum absorbans verir. Total antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında altın çilek meyvesinin yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri Çizelge 5.4'te verilmiştir.

**Çizelge 5.4.** Aynı konsantrasyondaki (30  $\mu\text{g/ml}$ ) altın çileğin meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarının linoleik asit emülsiyon peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri

Numuneler	Lipit peroksidasyonu inhibisyonu (%)
$\alpha$ -Tokoferol	52,51
Troloks	93,10
Altın çilek –Meyve	48,40
Altın çilek-Yaprak- Su	84,03
Keten tohumu- Su	73,95
Keten tohumu-Alkol	87,23

Altın çilek meyvenin liyofilize edilmiş su ekstresinde konsantrasyon artışına bağlı olarak düşüş gözlemlenmiştir. Altın çilek yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstralarında ise en yüksek lipit peroksidasyonu inhibisyon yüzde gidermesi 30  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda görülmüştür.

Sonuç olarak, bütün metotlar genel olarak değerlendirildiğinde altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ve keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstresinin indirgeme kapasitesinin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı troloks standart antioksidana benzer aktivite gösterdiği ve diğer standart antioksidanlardan ise düşük aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Numunelerin DPPH serbest radikal giderme,  $ABTS^{+}$  giderme,  $DMPD^{+}$  giderme, süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitelerinin ise standart antioksidanlara yakın aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Ayrıca radikal giderme metotlarında keten tohumunun liyofilize edilmiş alkol ekstresinin keten tohumunun liyofilize edilmiş su ekstresine göre daha

yüksek aktivite gösterdiği gözlemlendi. Metal şelatlama aktivitelerinin standart antioksidanlardan daha yüksek olduğu tespit edildi. LC-MS/MS analiz metoduna göre fenolik içeriği belirlenen altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstresi ile keten tohumunun liyofilize edilmiş su ve alkol ekstrelerin p-hidroksi benzoik asit açısından zengin olduğu belirlendi.

**KAYNAKLAR**

- Abuja, P.M., Murkovic, M., Pfannhauser, W., 1998. Antioxidant and prooxidant activities of Elderberry (*Sambucus nigra*) extract in low-density-lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4091-4096.
- Ak, T., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interaction*, 174, 27-37.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular Ofset, Konya, s106-111.
- Anonim, 2006. Bitkilerde doğal renk maddeleri ve fenolik bileşikler. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara
- Apak, R., Güçlü K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erça, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57, 292–304.
- Arabshahi-Delouee, S., Urooj A., 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102, 1233-1240.
- Arosio, B., Gagliano N., Fusaro LMP., 2000. Aloe-emodin quinone pretreatment reduces acut liver injury induced by carbon tetrachloride. *Pharmacology and Toxicology*, 87, 229-233.
- Arouma, O.I., Cuppett, S.L., 1997. Antioxidant methodology-*In vivo* and *in vitro* concepts. AOCS Press. USA, pp 141-172.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L., 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6657-6662.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Basaga, H.S., 1990. Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*, 68, 989-998.
- Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., Ritieni, A., Bruno, M., Spatuzzi, D., Rigano, D. and Vuotto, M.L., 2006. Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 240-248.
- Bates, C.J., 1995. Vitamin A. *Lancet*, 345,31-35.
- Benzie, I.F.F., Strain J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of ‘antioxidant power’: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant deteminations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199-1200.
- Bozdemir, Y., 2007. Keten tohumu (*Linum usitatissimum*) ekstraktında katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bramley, PM., 2000. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*, 54, 233-236.

- Brooks, J. D., Ward, W. E., Lewis, J. E., Hilditch, J., Nickell, L., Wong, E., Thompson, L.U., 2004. Supplementation with flaxseed Alters Estrogen Metabolism in Postmenopausal Women to a Greater Extent than does Supplementation with an Equal Amount of Soy. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 318-325.
- Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2777.
- Bursal, E., 2009. Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bursal, E., Gülçin, İ., 2011. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International*, 44, 1482-1489.
- Büyükokuroğlu, M.E., Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2001. *In vitro* antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacological Research*, 44, 491-495.
- Cadenas, E., Packer, L., 1996. Handbook of antioxidants. Marcel and Dekker Inc, 23-25, New York.
- Canfield, LM., Valenzuela, JG., 1993. Cooxidations, significance to carotenoid action in vivo. *Annual New York Academic Science*, 691, 192-199.
- Carlo, G., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 4, 337-353.
- Carter, J. F., 1993. Potential of FS oil in baked goods and other products in human Nutrition. *Cereals Foods World*, 38, 753-759.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M., 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi, meyve sebze işleme teknolojisi, 1-174. In Ed. B. Cemeroğlu, meyve sebze teknolojisi. 2. Baskı, Başkent Matbaacılık, Ankara.
- Chan, K.M., Decker, E.A., 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 34, 403.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An intruduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, 481-493.
- Cook, N.C., Samman, S., 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- Cotelle, N., Bernier, J.L., Henichart, J.P., 1992. Scavenger and antioxidant properties of ten synthetic flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 13, 211-219.
- Curan, R., Hildebrandt, L., Schoemer, S., 2002. Influence of flaxseed oil administration on glycemic response in active, healthy adults. *Topics in Clinical Nutrition*, 26.
- Çakatay, U., Kayalı R., 2006. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37, 162-167.
- Çelik, H., 2011. Altın çilek, yeni alternatif meyve, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Çınar İ., Çolakoğlu AS., 2004. Ön işlem ve depolama koşullarının portakal kabuğu karotenoidlerinin stabilitesi üzerine etkileri. Gıda Teknolojisi Derneği, Türkiye 8. Gıda Kongresi, Bursa.
- Davies, K., 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposia*, 61, 1-31.

- Dinis, T.C.P., Maderia, V.M.C., Almeida L.M., 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315, 161-169.
- Diplock, A.T., 1997. Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease. *Free Radical Research*, 27, 511-532.
- Donovan, J.L., Meyer, A.S., Waterhouse, A.L., 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1247-1252.
- Elmastas, M., Gülçin, İ., Işıldak Ö., Küfrevioğlu, Ö.İ., İbaoglu, K., Aboul-Enein, H.Y., 2006a. Antioxidant capacity of bay (*Laurus nobilis* L.) leave extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 3, 258-266.
- Elmastas, M., Türkekul, İ., Öztürk, L., Gülçin, İ., Işıldak, Ö., Aboul-Enein, H.Y., 2006b. The antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*). *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 6, 443-448.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Öztürk, L., Gökçe, İ., 2005. Investigation of antioxidant properties of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 17, 137-148.
- Ergün, A., Tuncer, Ş.D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan M.K., Küçükersan, S., Önel, A.G., Muğlalı, Ö.H., Şehu, A., 2002. Yemler, yem hijyeni ve teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Pozitif Matbaacılık, 465, Ankara.
- Flohe, R.B., Traber, M.G., 1999. Vitamin E: Function and metabolism. *The FASEB Journal*, 13, 1145-1155.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A., 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035-1040.
- Frel, B., 1994. Natural antioxidants in human health and disease, Academic Press. San Diego. Pp 387-409.
- Fridovich, I., 1983. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 23, 239-257.
- Göçer, H., Gülçin, İ., 2011. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Correlation of structure and antioxidant properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 821-825.
- Gökbulut, İ., 2009. Oksidatif strese maruz kalmış farelerin keten tohumu ile beslenmesinin çeşitli biyobelirteçler üzerine etkisi. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23, 85-89.
- Gören, A.C., Bilsel, M., Bilsel, G., 2007. Rapid and simultaneous determination of 25-OH-vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> in human serum by LC/MS/MS: Validation and uncertainty assessment. *Journal of Chemical Metrology*, 1, 1-10.
- Gören, A.C., Çıkrıkçı, S., Çergel, M., Bilsel, G., 2009. Rapid Quantitation of curcumin in turmeric via NMR and LC-tandem mass spectrometry. 1134, 1239-1242.
- Gray, J.I., 1978., Measurement of lipid oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 539-46.

- Gutierrez, F., Albi M.A., Palma R., Rios J.L., Olias J.M., 1989. Bitter taste of virgin olive oil; correlation of sensory evaluation and instrumental HPLC analysis. *Journal of Food Science*, 54, 68-70.
- Gülçin, İ., 2002. Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s114.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Oktay, M., Küfrevioğlu Ö.İ., 2002. On the *in vitro* antioxidant properties of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 33, 167-171.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2003a, Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-382.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Küfrevioğlu Ö.İ., 2003b. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 34, 278-281.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Alici, H.A., Elmastaş, M., Büyükokuroğlu M.E., 2004a. *In vitro* antioxidant properties of morphine. *Pharmacological Research*, 49, 59-66.
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M.E., 2004b. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *Journal of Ethnopharmacology*, 90, 205-215.
- Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2004d. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87, 393-400.
- Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2004e. Evaluation of the *in vitro* antioxidant properties of extracts of broccoli (*Brassica oleracea* L.), *Italian Journal of Food Science*, 16, 17-30.
- Gülçin, İ., 2005. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56, 491-499.
- Gülçin, İ., Alici, H.A., Cesur, M., 2005a. Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 281-285.
- Gülçin, İ., Berashvili, D., Gepdiremen, A., 2005b. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 287-293.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, İ.G., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2005c. Evolution of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) *Acta Alimentaria*, 34, 193-202.
- Gülçin, İ., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217, 213-220.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2006a. Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β-D-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20, 130-134.
- Gülçin, İ., 2006b. Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine. *Life Sciences*, 78, 803-811.
- Gülçin, İ., 2007. Comparison of *in vitro* antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*, 32, 431-438.

- Gülçin, İ., Daştan, A., 2007. Synthesis of dimeric phenol derivatives and determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22, 685-695.
- Gülçin, İ., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y., 2007a. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum*) assayed by different methodologies. *Phytotherapy Research*, 21, 354-361.
- Gülçin, İ., Köksal, E., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y., 2007b. Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C.KOCH var. *joannis*. *Research Journal of Biological Sciences*, 2, 372-382.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., Köksal, E., 2007c. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of Biotechnology*, 6, 410-418.
- Gülçin, İ., 2008. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23, 871-876.
- Gülçin, İ., 2009a. Antioxidant activity of L-Adrenaline: An activity-structure insight. *Chemico-Biological Interaction*, 179, 71-80.
- Gülçin, İ., 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 210-218.
- Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu H.M., Bilsel, M., Gören, A.C., 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2227-2238.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Chea, A., Topal, F., 2010. Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: cepharanthine and fangchinoline. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25, 44-53.
- Gülçin, İ., Kirecci, E., Akkemik, E., Topal, F., Hisar, O., 2010. Antioxidant and Antimicrobial Activities of an Aquatic Plant: Duckweed (*Lemna minor* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 175-188.
- Gülçin, İ., 2011. Antioxidant activity of eugenol-a structure and activity relationship study. *Journal of Medicinal Food*, 14, 975-985.
- Gülçin, İ., Topal, F., Oztürk Sarıkaya, S.B., Bursal, E., Gören, A.C., Bilsel M., 2011. Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products*, 5, 158-175.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Gören, A.C., Bilsel M., Erdoğan, U., 2011. Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis and antioxidant properties of domesticated and three wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food Science*, 76, 585-593.
- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.
- Halliwell, B., 1984. Oxygen radicals: A commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology*, 62, 71-77.
- Halliwell, B., 1989. Oxidants and the central nervous system: Some fundamental questions. *Acta Neurologica Scandinavica*, 126, 23-33.
- Halliwell, B., 1991. Drug antioxidant effects. *Drug*, 42, 569-605.
- Halliwell, B., 1994. Free Radicals and antioxidants: A personal view. *Nutritional Review*, 52, 253-265.

- Halliwell, B., 1996. Oxidative stress, nutrition and health: Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Research*, 25, 57-74.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., 1989. *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press, p.543, Oxford.
- Halliwell, B., Gutteridge, J., 1996. *Free radicals in biology and medicine* (2nd ed), pp11-21.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed., Clarendon Press Oxford, p.530-533.
- Harborne, J.B., 1994. *The Flavonoids advances in research since 1986*. Chapman and Hall/CRC, p.638, USA.
- Hasler, C.M., 2000. Plants as medicine: The role of phytochemicals in optimal health. In *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*, edited by F. Shahidi and C.T. Ho, pp.1-12. Champaign, Illinois: AOAC Press.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- İşleröğlü, H., Yıldırım, Z., Yıldırım, M., 2005. Fonksiyonel bir gıda olarak keten tohumu. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22, 23-30.
- Jacop, R., 1996. Three eras of vitamin C discovery. *Subcell Biochemistry*, 25, 1-16.
- Jittrepotch, N., Ushio, H., Ohshima, T., 2006. Effects of EDTA and a combined use of nitrite and ascorbate on lipid oxidation in cooked Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 99, 70-82.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kahyaoglu, M., Kıvanç, M., 2007. Endüstriyel atık maddelerden mikrobiyal yolla beta karoten üretimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 17, 61-66.
- Katiyar, S.K., Mukhtar, H., 1997. Tea Antioxidants in cancer chemoprevention. *Journal of Cellular Biochemistry Supplement*, 27, 59-67.
- Kehre, J.P., Smith J.V., 1994. Free radicals in biology: sources, reactivities and roles in etiology of human diseases; in Frei B(ed): *natural antioxidants in human health and disease*. San Diego, Academic Press, 25-62.
- Knight, J., 1998. Free radicals: their history and current status in aging and disease. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 28, 331-46.
- Köksal, E., 2007. Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Köksal, E., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32, 65-78.
- Köksal, E., Gülçin, İ., Öztürk Sarıkaya, S.B., Bursal, E., 2009d. On the *in vitro* antioxidant activity of silymarine. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24, 395-405.
- Köksal, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoğlu, F., Gülçin, İ., 2011. Antioxidant activity of *melissa officinalis* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 217-222.



- Lai, L.S., Chou, S.T., Chao, W.W., 2001. Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsoa (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49, 963-968.
- Lawson, LD., 1998. Garlic: A review of its medicinal effects and indicate active compounds. In *Phytomedicines of Europe, Chemistry and Biological Activity*, edited by L.D. Lawson and R. Bauer, pp.176-209. Washington, DC: American Chemical Society.
- Lee, S., Decker, E.A., Faustman, C., Mancini, R.A., 2005. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in *n*-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science*, 70, 683-689.
- Mavi, A., 2005. İnsan eritrosit ve lökositlerinden süperoksit dismutaz enziminin saflaştırılması ve bazı ilaçların enzim üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Mazza, G., and Oomah, B.D., 1998. Flaxseed products for disease prevention, *Functional Foods Biochemical and Processing Aspects*, Technomic Publishing, Lancaster, PA, 91-138.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., Hadas, S.P., 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1813-1819.
- Miller, D.D., 1996. Mineral. *Food Chemistry*, Fennema, O.R. (Ed.), Dekker: New York, pp. 618-649.
- Min, D.B., 1998. Lipit oxidation of edible oil. In *Food Lipits chemistry, nutrition, and biotechnology*, Akoh, C.C., Min, D.B., (Eds), Marcel Dekker, New York, pp. 283-296.
- Molnár, P., Deli, J., Matus, Z., Tóth, G., Steck, A., Pfander, H., 2000. Isolation and characterization of mutatoxanthin-epimers from red paprika (*Capsicum annuum*). *European Food Research Technology*, 211, 396-399.
- Moreau, N., Dufraisse C., 1922. *Comptes Rendus des Seances et Memoires de la Societe de Biologie*, 86, 321-326.
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C., 2001. Natural antioxidants from residual source. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Mukai, K., Kanasaki, Y., Egawa, Y. and Nagaoka S.I., 2000. Free radical-scavenging action of catechin and related compounds in homogeneous and micellar solutions. In *phytochemicals and phytopharmaceuticals*, edited by F. Shahidi and C.-T. Ho, pp. 222-238. Champaign, Illinois: AOAC Press.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, R.A., Rodwell, V.W., 1996. Fizyolojik öneme sahip lipidler. N. Dikmen, T. Özgünen. *Harper'ın Biyokimyası*, Yirmidördüncü baskı, Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N., 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*, 75, 237-240.
- Nar, M., 2011. Rozmarinik asitin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve insan karbonikanhidraz izoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) üzerine inhibisyon etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Oktay, M., Yıldırım, A., Bilaloğlu, V., Gülçin, İ., 2007. Antioxidant activity of different parts of isgın (*Rheum ribes* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 19, 3047- 3055.
- Özcelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., 2003. Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants. *Journal of Food Sciences*, 68, 487-490.
- Öztürk Sarıkaya, S.B., 2009. Bazı fenolik asitlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Packer, L., Hiramatsu, M., Toshikawa, T., 1999. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, San Diego: Academic Press, 255-268.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L., 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia*, 40, 97-106.
- Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- Pratt, D.E., Hudson, B.J.F., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants.; Hudson B.J F.; Ed.; Elsevier; Amsterdam, 17-192.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- Prior, R.L., Cao, G., 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: Diet and health implications. *Horticulture Science*, 35, 588-592.
- Puente, L., Pinto-Muñoz C., Castro E., Cortés M., 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*.
- Ramadan, MF., 2011. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44, 1830-1836.
- Rauha, J.P., Tammela, P., Summanen, J., Vuorela, P., Kahkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Kujala, T., Pihlaja, K., Törnquist, K., Vuorela, H., 1999. Action of some plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds on calcium fluxes in clonal rat pituitary GH<sub>4</sub>C<sub>1</sub> cells. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 9, 66-69.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956.
- Rio, DD., Stewart, AJ., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease*, 15, 316-328.
- Rodrigues, E., Rockenbach, I.V., Cataneo, C., Gonzaga, L.V., Chaves, E.S., Fett, R., 2009. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos Campinas*, 29, 642-645.

- Sağıroğlu, A., Özcan, H.M., 2007. Bitki ekstraktlarındaki flavonoid aglikonlarının tayini. 21. Ulusal Kimya Kongresi, Malatya.
- Saija, A., 1995. Flavonoids as antioxidant agents. *Free Radical Biology and Medicine*, 19, 481-486.
- Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., 1998. Influence of different penetration enhancers on *in vitro* skin permeation and *in vivo* photoprotective effect of flavonoids. *International Journal of Pharmaceutics*, 175, 85-94.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
- Saleh, M.M., Hashem, F.A.E., Glombitza, K.W., 1998. Study of Citrus *aitensis* and radical scavenger activity of the flavonoids isolated. *Food Chemistry*, 63, 397-400.
- Sarıca, S., 2003. Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine etkileri ve tavuk etinin omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmesi. *Hayvansal Üretim*, 44, 1-9.
- Serafini, M., Del Rio, D., 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool. *Redox Report*, 9, 145-152.
- Serraino, M., Thompson L.U., 1992. Flaxseed Supplementation and Early Markers of Colon Carcinogenesis. *Cancer Letters*, 63, 159-165.
- Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D., 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67-103.
- Shahidi, F., Naczk, M., 1995. Food phenolics sources chemistry effects applications. Technomic Publication, p 235-277, USA.
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82, 291-295.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89, 191.
- Smirnoff, N., 2001. L-Ascorbic acid biosynthesis. *Vitamin and Hormon*, 61, 241-66.
- Southorn, P.A., 1988. Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 53, 381-389.
- Stahl, W., Sies, H., 2002. Introduction: Reactive oxygen species. *Research Monographs*, 1-2.
- Stamler, JS., Singel, DJ., Loscalzo, J., 1992. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, 258, 1898-1902.
- Stadtman, E., 1992. Protein oxidation and aging. *Sciences*, 257, 1220-1224.
- Steven, S., 1995. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annual Review of Physiology*. 57, 737-769.
- Summanen, J., Vuorela, P., Rauha, J.P., Tammela, P., Marjamaki, K., Pasternack, M., Törnquist, K., Vuorela, H., 2001. Effects of simple aromatic compounds and flavonoids on Ca<sup>2+</sup> fluxes in rat pituitary GH<sub>4</sub>C<sub>1</sub> cells. *European Journal of Pharmacology*, 414, 125-133.
- Şerbetçi Tohma, H., Gülçin, İ., 2009. Antioxidant and radical scavenging activity of aerial parts and roots of Turkish liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *International Journal of Food Properties*, 13, 657-671.

- Tee, E.S., 1992. Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31, 103-163.
- Thomas, M.J., 1995. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 35, 21-39.
- Thompson, L.U., Li, T., Chen, J., Goss, P.E., 2000. Biological of Dietary Flaxseed in Patients with Breast Cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 64, 50.
- Tüzün, C., 1996. *Organik Kimya*, Ankara: Palme Yayıncılık, 597-598.
- Vallance, P., Collier, J., 1994. Biology and clinical relevance of nitric oxide. *British Medical Journal*, 13, 453-462.
- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, J.I., DeWitt, DL., 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62, 294-296.
- Wilkenson, P., Leach, C., Ah-Sing E.E., Hussain, N., Miller G.J., Millward D.J., Griffin, B.A., 2005. Influence of linolenic acid and fish-oil on markers of cardiovascular risk in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Atherosclerosis*. 181, 115-124.
- Wu, S-J., Ng, L-T., Huang, Y-M., Lin, D-L., Wang, S-S., Huang, S-N., Lin, C-C. 2005. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 963-966.
- Yanbeyi, S., 1999. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Doktora Tezi, Samsun.
- Yen, G.C., Chen, H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their mutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27-32.
- Yildirim, A., Mavi, A., Kara, A.A., 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49, 4083-4089.
- Yildirim, A., Mavi, A., Kara, A.A., 2003. Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 64-69.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents on mulberry and their scavenging effects on superoxide radical. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- Zor, M., 2007. Depolamanın ayva reçelinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurumda tamamladı. 2005-2006 Eğitim-Öğretim yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, Kimya Öğretmenliği Bölümünden 2010 yılında dereceyle mezun oldu. 2010-2011 Eğitim-öğretim yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.