

**MEYAN KÖKÜ (*GLYCYRRHIZA GLABRA*) VE
KARANFİL (*SYZYGIUM AROMATICUM*)
BAHARATLARINDAN ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN İNVİTRO ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zerrin KUTLU

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU

Yüksek Lisans Tezi - 2013

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEYAN KÖKÜ (*GLYCYRRHIZA GLABRA*) VE KARANFİL
(*SYZYGIUM AROMATICUM*) BAHARATLARINDAN ELDE
EDİLEN EKSTRAKTLARIN İN VİTRO ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zerrin KUTLU

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU

ERZURUM
2013

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MEYANKÖKÜ (*GLYCYRRHIZA GLABRA*) VE KARANFİL (*SYZYGIUM AROMATICUM*) BAHARATLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN İN VİTRO ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Zerrin KUTLU

Tez Savunma Tarihi : 18. 07. 2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU



Jüri Üyesi : Prof. Dr. Cavit KAZAZ



Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mesut B. HALICI



Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Baharat	5
2.1.1. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>)	8
2.1.2. Meyan Kökü (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	11
2.2. Antioksidanlar	14
2.2.1. Serbest Radikaller	14
3. MATERYAL VE METOT	40
3.1. DeneYlerde Kullanılan Kimyasallar	40
3.2. DeneYlerde Kullanılan Cihazlar	40
3.3. DeneYlerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	40
3.4. DeneY Bitkileri	41
3.4.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	42
3.4.2. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	42
3.4.3. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi	43
3.4.4. Bitki Ekstraktlarının İndirgeme Güçlerinin Belirlenmesi	44
3.5. İstatistiksel Analizler.....	44
4. BULGULAR	45

4.1. Karanfilin (<i>Syzygium aromaticum</i>) antioksidan özellikleri:	45
4.2. Meyan Kökünü (<i>Glycyrrhiza glabra</i>) antioksidan özellikleri.....	51
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR.....	64
EKLER.....	80
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	80
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	81

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalıŐmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aŐamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU' na en derin saygı ve Őukranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalıŐmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Zerrin KUTLU

ÖZET

Glycyrrhiza glabra ve *Syzygium aromaticum* Baharatlarından Elde Edilen Ekstraktların İn Vitro Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması

Amaç: Bu araştırmada deney materyali olarak dünya çapında ve ülkemizde yaygın kullanım gösteren baharatlardan karanfil ve meyan kökü isimli türler antioksidan aktivite, fenolik bileşik miktarı ve indirgeme yetenekleri yönünden araştırılması.

Materyal ve Metot: Baharat örneklerinin her bir türünün su, etanol-su ve metanol ekstraktları literatüre uygun yöntemler kullanılarak elde edildi.

Bulgular: Antioksidan aktivite düzeylerinin, karanfil ve meyan kökü etanol-su ekstraktlarında en yüksek antioksidan aktivite olduğu tespit edildi. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları ve indirgeyici güçlerinin yine en yüksek etanol-su ekstraktlarında olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Deney materyali olarak kullanılan baharat türlerinin sahip oldukları antioksidan potansiyel, fenolik bileşik miktarları ve indirgeme yetenekleri gözönüne alınarak, çeşitli *in vivo* ve *in vitro* biyolojik aktivite çalışmalarında öncelikli olarak değerlendirilebilecekleri kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, fenolik bileşikler, indirgeyici güç, karanfil, meyan kökü

ABSTRACT

The Determination of the Antioxidative Properties of Extracts Obtained from *Glycyrrhiza glabra* and, *Syzygium aromaticum*, in vitro

Aim. In this research; as experiment material, also spices such as *Syzygium aromaticum* and *Glycyrrhiza glabra* widespread using in our country were investigated. The water, ethanol-water and methanol extracts of each type of spices samples were produced using appropriate methods according to literature.

Material and Method. We determined the antioxidant activities, phenolic compound amounts and reducing powers of these extracts. Results were presented to compared with control groups, were discussed as comparative with literatures.

Results. The antioxidant activity assay showed that it is the highest levels in ethanol-water extracts of *Syzygium aromaticum* and *Glycyrrhiza glabra*. Our results; of reducing power assays and total phenolic compounds showed the highest levels in ethanol-water extract of *Syzygium aromaticum* and *Glycyrrhiza glabra* extracts.

Conclusion. As a result; in this study, the all of species spices which we used as experimental material, demonstrated potentially antioxidative properties. Further, these results will be primarily developed leading to biological activity studies.

Key Words. Antioxidant activity, *glycyrrhiza glabra*, phenolic compounds, reducing power, *syzygium aromaticum*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin di fosfat
AA	: Araşidonik asit
CAT	: Katalaz
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ETS	: Elektron taşıma sistemi
FAD	: Flavin adenin difosfat
GAE	: Gallik Asit eşdeğeri
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutasyon
GST	: Glutasyon s-transferazlar
GPx	: Glutasyon peroksidaz
İG	: İndirgeyici güç
KESE	: Karanfil etanol-su ekstresi
KSE	: Karanfil su ekstresi
KME	: Karanfil metanol ekstresi
LPO	: Lipid peroksidasyonunu

LO	: Lipooksijenaz
LT	: Lökotrienler
MDA	: Malondialdehit
MPx	: Miyeloperoksidaz
MESE	: Meyan kökü etanol-su ekstresi
MME	: Meyan kökü metanol ekstresi
MSE	: Meyankökü su ekstresi
NAD	: Nikotinamid adedin dinükleotid
NADHP	: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
PG	: Prostaglandinler
PLGPx	: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAA	: Total antioksidan aktivite
TFB	: Total fenolik bileşik
TX	: Tromboksanlar
XD	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>SayfaNo</u>
Şekil 2.1. Karanfil' in doğal ortamında çekilmiş resmi	11
Şekil 2.2. Meyan kökü' nün doğal ortamda çekilmiş resmi	14
Şekil 3.4. Toplam fenolik bileşik miktarını belirlemede kullanılan gallik asit standart grafiği.	44
Şekil 4.5. KSE' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	46
Şekil 4.6. KESE'nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	48
Şekil 4.7. KME' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	50
Şekil 4.8. MKSE' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	52
Şekil 4.9. MKESE'nin antioksidant aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel üç ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	54
Şekil 4.10. MKME' nin antioksidan aktiviteleri. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.....	56

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

- Tablo 3.1.** Baharat örneklerinden elde edilen ekstraktlarının % verimi (100 g baharatdan elde edilen net ekstrakt miktarı). 42
- Tablo 4.2.** Karanfil su ekstraktı (KSE)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeyici gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması. 46
- Tablo 4.4.** Karanfil metanol ekstraktı (KME)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik miktarının (TFB) karşılaştırılması. 50
- Tablo 4.5.** Meyankökü su ekstraktı (MKSE)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması. 52
- Tablo 4.6.** Meyan kökü etanol-su ekstraktının (MESE) total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması. 54
- Tablo 4.7.** Meyankökü metanol ekstraktının (MKME) total antioksidant aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması. 56

1. GİRİŞ

Birçok hastalığın yanı sıra kanser ve kardiovasküler hastalıklara yakalanma riskinin azalmasına çeşitli baharat, bitki, meyve ve sebze tüketiminin sebep olduğu literatürlerde belirtilmiştir.¹⁻⁵ Besinlerin bu özelliği ise içerdiği antioksidan maddelerden kaynaklanmaktadır.⁶⁻⁸ Antioksidan maddeler, besinlerin korunmasında, depolanmış besinlerin raf ömrünü uzatmasında etkili olduğu için besin endüstrisi tarafında ticari avantaj sağladığından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.⁹

Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Antioksidanlar “serbest radikaller” olarak isimlendirilen bu moleküllere karşı etki gösterirler. Bu maddeler bir elektrona ihtiyaç duydukları için yüksek derecede reaktiftirler. Organizmalarda hücre membranında bulunan karbonhidrat, lipitler, proteinler gibi önemli olan bu moleküllerden ve bu molekülleri bulunduran organellerden serbest radikaller elektron çalabilir.^{10,11} Hücre içinde veya dışında bu şekilde oluşan bir radikal molekül kendi elektron eksikliğini tamamlamaya çalışırken elektronunu radikale kaptıran molekül veya organel de, kaybettiği elektronu karşılamak için, kendisi bir radikal olarak davranma eğilimine girer ve böylece hücrenin radikaller tarafından yönlendirilen zincirleme bir reaksiyon serisi başlar.⁶⁻⁸ Bunu hücre içinde veya dışında, redoks dengesinin bozulması izler.¹¹ Kısaca, serbest radikallerin ROS (reaktif oksijen türleri) ve metal iyonları (örneğin, Fe⁺³) üretimi antioksidantlar tarafından engellenmezse “oksidatif stres” olarak isimlendirilen anormal metabolik durum ortaya çıkar. Oksidatif stresin hastalıkların büyük bir çoğunluğu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir.^{12, 13} Serbest radikallerden kaynaklanan patolojik durumların ortaya çıkmaması için antioksidantlar (radikal süpürücüler, redükleyici ajanlar, prooksidant metallerin potansiyel kompleksörleri, singlet oksijen söndürücüler gibi.) devreye girer ve organizmayı korur.^{14, 15} Bu yüzden organizmaların antioksidant potansiyelinin yüksek

olması daha avantajlıdır. Organizmalar; bu avantajlarını sürdürebilmek için bir taraftan kendi ürettikleri antioksidanları artırma yoluna giderlerken, diğer taraftan da antioksidan ihtiyaçlarını dış kaynaklardan temin etme yolunu tercih edebilirler.^{6-8, 12, 13} Günümüzde, organizmalarda; radikal üreten faktörlerin sayısı ve türü, teknolojik üretim ve tüketimin artmasına bağlı olarak, çeşitlendirilerek aşırılaştırılmıştır. Bu durumdaki organizmalar, ihtiyaç duydukları antioksidanları yeterince üretemedikleri için, dışarıdan antioksidanları temin etme yoluna giderler. Bu amaçla hem ilaç sanayii hemde besin endüstrisi, bu ihtiyacın karşılanmasına yönelik alternatifler oluşturmuştur.^{6-8, 12, 13} İlaç sanayii, gelişmiş teknolojileri kullanılarak, çok sayıda antioksidan içerikli ilacı piyasalara sunmuştur.¹⁶ Bu ilaçların bir bölümü protestan tıpta kullanılmak üzere doktorlar tarafından reçete edilirken diğer bir bölümünde alternatif tıp ürünleri olarak eczacıların önerisi ile kişilerin tercihine bağlı olarak tüketilmektedir.^{17,18} Diğer yandan, besin endüstrisi önceleri yalnızca ürünlerinin raf ömrünü artırmak için antioksidanları kullanırken, günümüzde besinlerin antioksidan özelliklerini öne çıkararak, işlem görmemiş besinlerin tüketilmesine yönelik tedbirler almaya başlamıştır. Bu amaçla piyasalarda, firma garantisi öncelikli olmak üzere, organik ürünlerin üretilmesini ve daha sağlıklı koşullarda tüketilmesini hedefleyen yeni bir besin endüstrisi kolu oluşmaktadır.¹⁹⁻²¹ Ayrıca, ‘aktarlık kurumu’ da gıda sanayiinin yeni bir kolu olarak gelişmesine devam etmektedir. Gıdaları modern anlamda teknolojiye bağlı bir şekilde üretime ve tüketime hazırlayan bu endüstri kolu, besinlerin organik katkıları olmadan doğal prosesle üretilmesini ve taze olarak tüketilmesini önermektedir. Bunun anlamı; gıdaların sahip olduğu besleyici özelliklerinin, vitamin ve mineral içeriklerinin korunması ve bunların etiketlere işlenmesini gerekli olduğudur. Diğer yandan, insanların doğal antioksidanları ilaçlardan daha çok tercih ettikleri gerçeği gözardı edilmemelidir. İnsanlar sentetik antioksidant maddeler hakkında kuşku duymaktadır. Bugün, antioksidan ihtiyaçların karşılanması konusunda doğal ürünler daha

çok tercih edilmektedir.²² Bu bağlamda, gıdaların antioksidan potansiyellerinin önceden belirlenmiş olması bu gıdaların hem üretimine hemde tüketimine yönelik tavsiyeler verebilir. Böylelikle gıdaların ve drogların daha kontrollü olarak kullanımı sağlanabilir. Besinlerde ki kimyasal bileşimlerin ve sahip oldukları hastalık tedavi edici özelliklerinin belirlenmesi, onların daha bilinçli olarak tüketilmesini beraberinde getirecektir.

Gıda maddelerinin antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi için öncelikle ekstrakt hazırlanması gerekir. Bu ekstraktlar hazırlanırken çözücülerin çözeceği maddelerin kimyasal karakterleri birbirleri ile uyumlu olmalıdır. Bu nedenle gıdaların antioksidan potansiyeli araştırılırken geniş bir çözücü yelpazesinde ekstraktlarının hazırlanması daha net bilgiler verecektir. Antioksidan potansiyelin etkin olarak belirlenmesinde en dikkat çekici parametreler indirgeme gücü ve fenolik madde miktarlarıdır.^{6-8, 23} Fenolik maddelerin miktarı ve indirgeme gücü, tür ve çeşide bağlı olarak antioksidan potansiyel ile uyumluluk gösterir. Bu yüzden, pek çok bitki ekstraktında antioksidan aktivitenin ekstraktta ki fenolik maddelerden kaynaklandığı görüşü yaygın olarak kabul edilmektedir.^{6-8, 12, 13} Yüksek bitkilerdeki antioksidan maddeler hakkında günümüzde çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen enteresan özelliklere sahip olan baharatlarda araştırmalar sınırlı kalmıştır. Baharat “çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, yaprak gibi kısımlarının bütün halde ve/veya parçalanması, kurutulması, öğütülmesi ile elde edilen; gıdalara renk, tat ve lezzet verici olarak katılan doğal bileşikler veya bunların karışımları” olarak tanımlanmaktadır.¹⁷ Baharatlara ait ilk kayıtların yaklaşık 50.000 yıllık olduğu tahmin edilmektedir.²⁴ Çok uzun ve köklü bir geçmişe sahip olan baharatlar, ilk başlarda dini törenlerde, koku maddeleri üretiminde ve bitkisel tedavi amaçlı kullanılmışlardır. Daha sonra bu kullanım alanlarına gıdaları korumak ve dayanıklılıklarını artırmak ve lezzet vermek gibi alanlar da eklenmiştir.^{17,24}

Baharatların biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve kullanım alanlarının tespit edilmesine yönelik bazı araştırmalarda literatürler de kaydedilmiştir. Baharatların; antimikrobiyal, antioksidatif, antihipertansif, antispazmolitik, antienflamatuvar, antiallerjik, antiülserojenik, antipiretik, sedatif, anestejik, anti-tümör, antikolesterolemik ve antiseptik etkileri rapor edilmiştir.^{1,3-5,25-27} Ayrıca karanfil ve meyan kökü isimli baharatlar hakkında da bazı literatür kayıtları vardır. Karanfilin antiseptik, antifugal, antiviral, lokal anestejik, antioksidan^{28,29} antitrombotik antienflamatuvar³⁰ antikarsinojenik³¹ özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Diğer yandan histamin kaynaklı ülserasyon inhibisyonu dahil olmak üzere, detoksifikasyon, antitrombosi,³² laksatif, antipiretik³³ etkileri ateroskleroz, hiperlipidemi, hipoglisemik, hipokolesterolemik, antiaterojenik, hepatoprotektif ve hafıza güçlendirici³⁴ ile meyan kökü hakkında da bazı kaynaklar vardır.

Bu araştırmada antioksidan potansiyellerini ve diğer antioksidan potansiyel belirteçleri olan fenolik bileşik ve indirgeyici güç miktarlarını ölçmek suretiyle, bazı baharatların tüketilmelerine ışık tutmak amaçlandı. Bu doğrultuda insanların yaygın olarak tükettiği gıdalardan bir grup olan baharatların antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ile daha bilinçli olarak tüketilmelerine ışık tutulabilir. Mevcut tez kapsamında planlanan araştırmamızda, ülkemizde tüketilen karanfil ve meyan kökü isimli baharatlar üzerinde çalışılacak olup, bu baharatlardan elde edilen su, etanol-su, ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ve indirgeyici güçleri belirlenecek, ekstraktların antioksidan potansiyelleri ile toplam fenolik bileşikleri arasındaki ilişki gösterilmeye çalışılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Baharat

Bitkilerin gerek Anadolu’ da gerekse tarihteki diğer eski yerleşim bölgelerinde ilaç olarak kullanımı milattan önceki yıllara kadar uzanmaktadır. Hakkari’ nin güneyindeki Şanidar Mağarası’ nda ortaya çıkartılan Neanderthal mezarlar içerisinde bulunan bitki örnekleri, Anadolu insanının Paleolitik (Yontmataş) çağından beri bitkileri tedavi amacı ile kullanıldığını göstermektedir.

Tarihte bilinen en eski reçete kalıplarından biri Hititlere aittir. Ancak Sümerlerden ve Mısırlılardan kalan tablet ve yazıtlarda da şifalı bitkiler hakkında bilgiler bulunabilmektedir. Eski çağlarda hem yabani bitkiler hem de özellikle kültürleri yapılarak üretilen bitkilerden ilaç yapımında faydalanılmıştır. 20. yüzyılın başlarında sentetik kimyanın farmakolojide oluşturduğu ilerleme bitkilere tedavi amaçlı yönelmeyi azaltsa da, aynı yüzyılın sonlarına doğru daha ucuz daha kolay ulaşılabilir olmaları, toksik ve yan etkilerinin daha az olması ve doğal olmaları sebebiyle bitkisel ilaçlar ‘alternatif tıp’ ve benzeri isimler altında yeniden popüler olmuşlardır.³⁵ Son zamanlarda dünyanın iyi bir popülasyonu özellikle gelişmiş ülkelerde bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan hastalıkları tedavi etmek için bitkilere güvenmesi ve etnomedikal kullanımlarından dolayı antimikrobiyal ajanların kaynağı olarak bitkilere ilgi artmıştır. Yan etkilerinin olmadığı antik çağlardan beri kabul edilmiştir.³⁶

Bitkinin çeşitli kısımları (kök, yumru, rizom, soğan, sap, kabuk, yaprak, çiçek, meyve, tohum ve salgı) baharat olarak kullanılmaktadır. Baharat, yiyecek ve içeceklerle farklı amaçlarla katılan aromatik bitkisel ürünlerdir.³⁷ Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) baharat ve çeşnileri gıdalara renk ve koku kazandırmak için kullanılan doğal bitkisel ürünler ya da bunların karışımı şeklinde tanımlanmaktadır. Baharat, 13. yüzyılda altın kadar kıymetli ve dolayısıyla para olarak kullanılan, milletleri

yeni ticaret yolları araştırmak için birbirleriyle yarıştıran, hatta bu nedenle birbirleriyle savaştıran, yeni kıtaların keşfedilmesine sebep olan, doğu ve batı uygarlıklarının birbirine karışmasını sağlayan bir gıda katkı maddesi olarak tanımlanmıştır. Baharatlar, yaprak ve sebze baharatlar (kırmızıbiber, yeşilbiber, süs biberi, nane, dereotu, tere, kekik vb), kök baharatlar (çöven otu, salep), meyve ve tohum baharatlar (rezene, çörek otu, kişniş, hardal, vanilya, karabiber, hindistan cevizi, kimyon, yenibahar, mahlep, sumak), çiçek ve dal baharatlar (tarçın, karanfil, ihlamur) olarak sınıflandırılmaktadır. *Labiatae*, *Umbelliferae*, *Zingiberaceae*, *Liliaceae*, *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Cruciferae* gibi bitki grupları daha çok baharat içerir.³⁸

Günümüzde insanların minimal düzeyde işlem görmüş, kimyasal katkı maddeleri kullanılmamış gıdalara yönelmesinden dolayı, baharat ve özütlerinin gıdayı koruma amaçlı kullanılmalarının önemi oldukça artmıştır. Çabuk bozulabilen nitelikteki gıdaların raf ömrünün doğal katkılarla uzatılabilmesinin büyük önem taşıdığı bilinmektedir. Daha önceleri özellikle koruyucu ve lezzet arttırıcı etkileri nedeniyle gıdalarda baharat kullanımı, gıda teknolojisinin ve koruyucu amaçlı yeni katkı maddelerinin geliştirilmesiyle daha sınırlı hale gelmiş, baharatlar sadece lezzet ve aromayı zenginleştirmek ve gıdanın görünümünü iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır.

Gerek kimyasal katkı maddelerinin insan sağlığı üzerine çeşitli zararlarının ortaya çıkması, gerekse baharat niteliğindeki maddelerin faydalarını ortaya koyan çeşitli çalışmalara paralel olarak, gıdalarda baharat kullanımı daha büyük önem kazanmıştır. Baharatın farklı özellikleri ve kullanımı antik toplumlarda bile bilinmekteydi. İlk çağlardan beri, gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan baharatların ve bileşenlerin, var olduğu bilinen antimikrobiyal etkileri üzerinde bilimsel araştırma sonuçları 19. yüzyıldan itibaren rapor edilmeye başlanmıştır. Gıdaların korunmasında baharatların kullanımı ile ilgili ilk laboratuvar çalışması 1911 yılında Hoffman ve arkadaşları

tarafından yapılmıştır. Son yıllarda baharatın gıdalara lezzet verici, bakterisidal, bakteriostatik, fungostatik, tansiyon düşürücü, antioksidatif, diüretik etkileri ve diğer fonksiyonlar için farklı kullanımları üzerine birçok araştırma yapıldığı görülmektedir.³⁹

Baharatın temel kimyasal bileşimi baharat tipine göre önemli değişiklik gösterir. Su oranı % 5-14, protein oranı ise % 5- 20 arasında değişir. Bazı tiplerinde % 30' a varan oranda lipid bileşikleri vardır.^{37, 38} Bunların dışında karbonhidrat niteliğinde bileşikler, glikozitler (flavon, senevol, siyanojen, saponin, fenol, kumarin) alkaloidler, tanenler, organik asitler, vitaminler, enzimler, pigmentler, minareller, antimikrobiyal maddeler, reçineler, uçucu yağlar, belli oranlarda bulunurlar. Tat ve aroma açısından uçucu yağlar (esanslar, eterik yağlar) özellikle önemlidir. Diğer bileşik gruplarıysa uçucu özellikte olmamakla birlikte, tat ve rengi oluştururlar.³⁸

Baharatlar kurutulmuş şekilde yemeklerde besinin kalitesini sürdürmek ve zıyan olmasını önlemek, besinin bileşimindeki besin öğeleri kaybını önlemek, besin dış görünüşünü güzelleştirmek, renk vermek ve şeklini düzeltmek, besinin tat ve kokusunu daha hoş a gider duruma gelmesini sağlamak ve besin değerini yükseltmek amacıyla kullanıldığı gibi antimikrobiyal (sarımsak, hardal, kekik, kırmızıbiber, tarçın, karanfil, yenibahar) antioksidatif (biberiye, adaçayı, kekik, sumak, karanfil), tansiyon düşürücü (sarımsak), gaz söktürücü (anason), kuvvet verici (çemen otu), afrodisyak (vanilya), ağrı kesici (karanfil), ve yatıştırıcı (adaçayı) olarak ta kullanılmaktadır. Doğrudan kullanılmalarının yanında gıda, parfümeri, kozmetik, eczacılık ve diğer sanayi kollarında baharat ürünleri kullanılmaktadır. Ayrıca baharat düşük kalorili olması nedeniyle de diyet programlarında da kullanılır. Baharatların tüketim miktarı diğer gıda ürünlerine oranla daha az olmasına karşın fiyatlarının yüksek olmasından dolayı oldukça değerlidirler. Türkiye' de en çok kullanılan baharatlar; karabiber, kimyon, kekik, tarçın, karanfil, zencefil, yenibahar, nane, kırmızıbiber, ve anason gibi baharatlardır.³⁸

Bazı baharat çeşitleri küflerin oluşturduğu toksin yapısında maddeler olan mitotoksinlerin oluşumunu önleyici bir rol üstlenmektedir. Ayrıca baharatın barsak florası üzerindeki etkilerinin kanser oluşum riskini azalttığı konusunda görüşler vardır. Bunlardan başka ortak özellik uyarıcı, sindirici, idrar artırıcı ve iştah açıcı olmalarıdır. Ancak bazı baharatın fazla kullanımı içerdiği toksik bileşiklere bağlı olarak zararlı olabilir.³⁷

2.1.1. Karanfil (*Syzygium aromaticum*)

Karanfil Magnoliopsida sınıfı, Myrtales takımı, Myrtaceae familyası, *Syzygium* cinsine aittir. Magnoliopsida yani çift çenekliler embriyonlarında çift çenek (kotiledon) bulunan bir çiçekli grubudur. Tek yıllık, çift yıllık ve çok yıllık olabilir. Yaprakları geniş olup ağsı damarlanma gösterirler. Çiçek parçalarının sayısı değişiktir. Çiçek örtüsü (periant), sepal (çanak yaprak) ve petal (taç yaprak) olarak farklılaşmıştır. Tohumları iki çenek (kotiledon) bulundurduğu için dikotil olarak adlandırılmışlardır. Ana kök iyi gelişmiştir ve sekonder kökler gelişmiştir.⁴⁰

Syzygium cinsi Myrtaceae familyası içerisindeki 75 cinsten biridir. Bu cinsin tıptaki farklı kullanımları rapor edilmiştir. Birçok farmakolojik aktivitelerinin geniş olmasından dolayı çalışmalar *Syzygium*' un farklı türlerinde yapılmıştır.⁴¹ *S. cumini* ve *Eugenia jambolano* antigastrik ülser aktiviteleri, antidiabetik, antioksidan, antihiperlipidemik, antitümör, antifugal ve antimikrobiyal etkileri, *S. samarangense*' nin sitotoksik, *S. aromaticum*' un radikal süpürücü, *S. aqueum*' un antioksidan aktiviteleri, *S. anisatum*' un ferik indirgeyici güç ve total kapasite azalması, *S. jambas*' in antiülserojenik aktivite, *S. cumini*, *S. aromaticum*, *S. jambolanum* ve *J. jambas* çoğunlukla farmakolojik çalışmalarda kullanılır. Bu türler diabet, enflamasyon, antikonvülzan, sedatif olarak ayrıca dizanteri, antihipertansif, herpes virüslerine karşı antimikrobiyal ve histamin salınım inhibitörü olarak görev yaparlar.⁴²

Karanfilin bilimsel ismi *Syzygium aromaticum*' dur. Karanfil baharatı, *Syzygium aromaticum* ağacından, karanfil çiçekleri ise *Dianthus petraeus* bitkisinden elde edilir. Karanfil çiçeklerine karanfil ile benzer kokuya sahip olduğu için bu ad verilmiştir. Karanfil ağacı dört mevsim yeşil kalır ve boyu 10- 20 m uzunluğuna erişebilir. İlk olarak Molluk adalarında bulunmuştur. Anavatanı Endonezya olup, tüm dünya mutfaklarında baharat olarak kullanılır. Adı Fransızca clou (çivi)' den gelir. Çünkü tomurcuklar belli belirsiz küçük düzensiz tırnak biçimi andırır. Karanfiller öncelikle Zengibar, Endonezya ve Madagasgar' da hasat edilir. Aynı zamanda Hindistan ve Sir Lanka' da yetiştirilir. Afrika, Asya ve dünyanın diğer bölgelerinde de yaygın olarak kullanılır. Çiçek tohumları başlangıçta soluk renklidir ve dereceli olarak yeşile dönüşürler. Karanfiller boy uzunluğu 1.5- 2 cm iken hasat edilir. Karanfil ağacının tohumlarından elde edilen baharat, odunmsu, siyah renkli ve güzel kokuludur. Acımsı ve ekşi bir tada sahiptir.²⁸ Avrupa' da daha çok turşu ve reçellere çeşni katmak amacıyla, bazen de tatlılar da kullanılır. Milattan önce 3. yüzyılda Çin imparatorları ve aristokrasisi, bütün ziyaretçilerine ağız kokuları için karanfil ikram etmeden görüşmezlerdi. Eski Romalılar da karanfili baharat olarak kullanıyorlardı. 17. ve 18. yüzyıl İngiltere' sinde karanfil, yüksek fiyatı sebebiyle altın ile eş değerdi. 15. yüzyıldan itibaren karanfil, Avrupa' da tanındı. Hollandalılar, karanfil ticaretinde kartel oluşturarak, hayli zenginleştiler. Amsterdam ve Rottedam hala büyük karanfil pazarlarından sayılmaktadır. Karanfil öğütülerek baharat olarak kullanılabilir.

Karanfil ailesi, diüretik, karminatif, stimülant aktivitelerinden dolayıda Halk tıbbında kullanılır. Karanfilden elde edilen yağ ve öjenol, antiseptik, antifugal, antiviral, lokal anestezi, antioksidan^{28, 29, 41, 43} geniş spektrumlu antimikrobiyal⁴⁴ antitrombotik^{28, 29, 43} antienflamatuvar³⁰ sitotoksik⁴⁵ antihelmintik, antiprotozoal⁴⁶ antikarsinojenik, afrodisyak, sinirleri yatıştırıcı solunum bozukluklarında, diyare, sindirim sistemi rahatsızlıklarında son zamanlarda bulaşıcı hastalık olarak tanımlanan Giardiasis' e karşı

terapötik potansiyeli⁴⁷ ve böcek kovucu etkileri bilinmektedir.^{28, 29, 43, 48} Diş ağrısı sedasyonunda, diş enfeksiyonlarında^{43,45,46,48,49} diş hiperaljezi ve pulpitislerde⁴⁶ ağız parfümleri ve diş macunları olarak ta kullanılır.^{31,45} Geleneksel olarak ülser, yara, artrit, romatizma, burkulma, astım, bronşit, kolik, hazımsızlık, bulantı, minör enfeksiyonlar, antispazmodik ve vazodilative olarak kullanılır.⁴⁸ Cilt bakımı antiseptik özelliğinden dolayı akne tedavisinde ve yara iyileştirici olarak, antiviral özelliğinden dolayı uçuk tedavisinde kullanılmaktadır. Soğuk kompres; alın, şakak ve enseye tatbik edilerek baş ağrısı ve şişliklerde kullanılmaktadır. Ayrıca soğuk kompres olarak romatizma ve kas ağrılarında kullanılmaktadır. Vücuda çok fazla alındığında ishal, bulantı, bilinç kaybı, baş dönmesi, yüksek veya düşük tansiyon etkisi yaptığı görülmüştür. Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye’ de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Bitkilerin organizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır.⁴³ Karanfil yağı Hindistan’ da Ayurveda tedavisinde, karminatif, anestezi, boğaz ağrısı, deri ve ağız enfeksiyonları için antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Oral ve vajinal mantar enfeksiyonlarının tedavisi için ev ilaçları olarak tavsiye edilmiştir. Bu tür enfeksiyonların tedavisi için bu temel yağlar dünyanın pek çok yerinde kullanılmaktadır.³⁶

S. aromaticum’ un major bileşeni öjenoldür. Yapılan birçok çalışmada öjenolün anafilatik ve antibakteriyel etkisi belirlenmiştir. Ayrıca in vivo, in vitro mast hücreleri tarafından salınan histamin inhibisyonu öjenol vasıtasıyla hipersensitiviteyi azaltarak astım ve alerjik rahatsızlıklara yardım eder.⁴⁸ *S. aromaticum*’ da bulunan sesquiterpenler antikanserojen ajanlardır.⁵⁰



Şekil 2.1. Karanfil' in doğal ortamında çekilmiş resmi

2.1.2. Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra*)

Meyan kökü Antik tıp tarihinin en geniş kullanımlı bitkisidir. Botanik ismi *Glycyrrhiza glabra* olmakla birlikte birçok ülke tıbbında likoris adı altında kullanılır. Latince karşılığı tatlı kök demektir. Vatanı Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Ukrayna, Rusya, Türkistan olan meyan bitkisi çok yıllık bir bitki olup sulak ve nemli yerlerde yabani olarak yetişir. *Glycyrrhiza* cinsinin dünya üzerinde 12 türü bulunmaktadır. Türkiye' de ise Güney, Orta ve Doğu Anadolu' da yaygınlık gösteren meyan bitkisinin 6 türü ve bu türlerden birine ait 2 varyete vardır.^{51,52} Fabaceae (Baklagiller) familyasından yer alan meyan kökünün ülkemizde yetişen türleri, *G. asymmetrica* Hub., *G. iconica* Hub., *G. aspera* Pall., *G. flavescens* Boiss, *G. echinata* L., *G. glabra* L. var. *Glabra*, *G. glabra* L. var. *Glandulifera*' dır. Tıbbi ve endüstriyel amaçlı en çok kullanılan tür ise *Glycyrrhiza glabra*' dır.⁵² Boyu 50-200 cm arasında değişir. Yaprakları kanat, yaprakçıkları eliptik

şekilde, bütün kenarlı, üstü koyu, altı grimsi yeşil ve tüylüdür. Pembe, leylak ve mor renkli çiçekleri kelebek şeklinde ve altılı başak görünümündedir. Meyveleri, esmerimsi kırmızı, fasulye kapsülü şeklinde olup içinde 3-6 adet esmer tohum bulunur. Kazık şeklindeki kökleri ana gövde ve sürgünlerden oluşur. Meyan bitkisi yan kökleriyle çevresine yayılır. Boyu bazen metreleri bulan yan kökler grimsi esmer veya esmerimsi kırmızı arası renktedir.⁵¹

Yapılan analizler sonucu içinde bulunan etken bileşikler; % 2-5 triterpenik saponin, özellikle % 2-12 glisirizin (glisirizik asit= glisiritik asit potasyum, amonyum ve kalsiyum tuzları) ve 24- hidroksigliserizin (sakarozdan 50 ve 100 kat daha tatlıdır steroller, flavonoidler, isoflavonoidler, flavonlar, kumarinleri⁵³, glabiridin⁵⁴ içerir.

Meyan kökünün ana maddesini *Glycrrhizin* adlı bir glikozit teşkil etmektedir. *Glycrrhizin*, çay şekerinden 50, sükrozdan 150 kat daha tatlı bir maddedir, dolayısıyla daha az miktarda çok daha yoğun tat elde edildiği için yüzyıllar boyu birçok ülkenin mutfağında ve gıda sanayisinde yer almıştır. Çin ve Asya tıbbında M.Ö. 2000 yıllarından beri kullanıldığına dair kayıtlar mevcuttur. Yüzyıllar boyunca Çin imparatorlarının bu maddenin ekstresini ‘canlandırıcı tonik’ olarak senenin belirli dönemlerinde rutin olarak kullandıkları söylenir. Hititler (M.Ö. 1500) devrinde ise kullanılan droglar içerisinde Meyan kökü de geçmektedir ve bu madde bugün birçok drogun terkbine girmiş durumdadır.⁵²

Bitkinin kökleri, meyan kökü olarak tanınmakta ve kullanılmaktadır. Meyan kökü geleneksel hekimlikte yüzyıllardır kullanılan bir bitkidir. Kök ve rizomlar antienflamatuvar, antiviral, antialerjik ve antioksidan etkilere sahiptir.^{51,55} Son yıllarda yapılan araştırmalarda meyan kökünden elde edilen glisirizinin SARS’ a karşı kullanılan ribavirin maddesinden çok daha etkili olduğuna ve HIV-1 (AIDS virüsü)^{51,55} hepatit C virüsüne, kansere karşı⁵⁵ kemopreventif özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir.⁵¹ Meyan

kökü üst solunum yolları ve bronşit için mukolitik etkili ekspektorandır. Sindirim sistemi problemlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Gastrik ve mide ülserinde, peptik ülser profilaksisinde ve tedavisinde antifilojistik spazmolitiktir.⁵⁵ Farmakolojik etkisini içeriğinde bulunan glisirhizin, glisirizinik asit ve glisiretik asit aracılığıyla meydana getirmektedir. Glisirizik asit immün sistem üzerine, glisirizinik asit ve glisiretik asit ise drogun mineralokortikoit etkilerinden sorumludur. Spazmolitik etkisi ise içeriğinde bulunan flavonoidlerden ileri gelmektedir. Bu sebeple yaygın olarak farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilerek kullanılmaktadır.

Fazla alınması durumunda yan etkileri arasında kan basıncı artışı, aritmi sodyum retansiyonu, karaciğer enzimlerinden CYP3A4' ün metabolik aktivitesini artırıp birçok ilacın metabolizmasını değiştirmesi, trombosit agregasyonunu inhibe edilmesi sayılabilir. Ayrıca diüretiklerle beraber alındığında olabilecek en belirgin hipopotasemi nedeniyle kalp durması geliştiği literatürlerde belirtilmiştir.⁵⁶ Bugün bile antimikrobiyal, antikuagülatif, anksiyolitik ve diğer birçok farmakolojik özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalarda meyan kökünün antidepresan, siroz, antidiabetik tedavisinde kullanıldığını göstermektedir.⁵³

Geleneksel tıpta renovasküler, kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner, göz ve deri (egzama, atopik dermatit,) hastalıklarda da kullanılır.⁵⁷ Meyan kökünün histamin kaynaklı ülserasyon inhibisyonu dahil olmak üzere, detoksifikasyon, antitrombosit³² laksatif, antipiretik³³ etkileri de vardır. Şimdilerde ise meyan kökü, ateroskleroz, hiperlipidemi, hipoglisemik, hipokolesterolemik, antiaterojenik, hepatoprotektif ve hafıza güçlendirici olarak ta kullanılmaktadır. Meyan kökünden elde edilen belirli flavonoidler araşidonik asit (AA) metabolizması üzerine etkisi vardır. Meyan kökünde antioksidan özelliğe sahip iki flavonoid bileşik vardır. Bunlar glabrene ve glabridin' dir.³⁴ Meyan kökünden izole edilen isoliquiritigenin antiallerjenik gibi biyolojik aktiviteleri

vardır. Siklooksijenaz-2 (COX-2) ve 5-lipooksijenaz (5-LO) her ikisinde AA metabolizmasında anahtar enzimdir. Prostaglandinler (PG) ve tromboksanlar (TXS) karakteristik enflamasyon semptomlarından sorumlu ve inflamasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan COX tarafından üretilir. Glabridin' in COX üzerine inhibitör etkisi vardır. *Glycyrrhizin*' in LO ve COX üzerine inhibitör etkisi yoktur. *Glycyrrhizin*' in antienflamatuvar etkisi vardır.⁵⁸



Şekil 2.2. Meyan kökü' nün doğal ortamda çekilmiş resmi

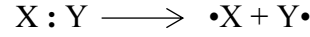
2.2. Antioksidanlar

2.2.1. Serbest Radikaller

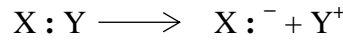
Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Elektronlar atomlar içerisinde orbital olarak bilinen bölgelerde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumda bulunmaktadır. Demir, bakır, mangan gibi geçiş metalleri yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezken bazı atom kombinasyonları (nitrit dioksit, nitrik oksit) bir orbitalinde tek elektron bulduran dağılımları nedeni ile radikal özellik gösterirler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron dizilişlerinin yanında

termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirilmelidir. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir.⁵⁹

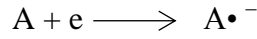
1) Hemolitik bağ ayrılması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu hemolitik bağ ayrılmasıdır.



2) Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atom veya atom gruplarının birinde kalır.



3) Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu oluşan serbest radikaller.

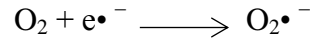


Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimi ile de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum

yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar.⁸

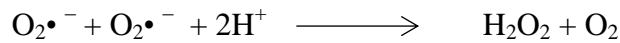
Serbest radikal çeşitleri:

Süperoksit Radikali (O₂•⁻): Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur.

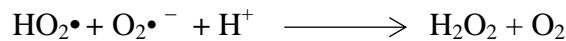


Süperoksit radikali (O₂•⁻) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşunu artırdığı binmektedir.^{8,60} Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olurlar. Çünkü süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H₂O₂) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda hidrojen peroksit ve peroksil (HO₂•) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar. Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır.⁶¹

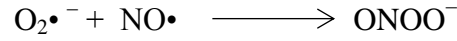
İki süperoksit radikalının bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



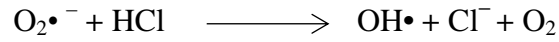
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Süperoksit radikalının nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu peroksinitrit meydana gelir.⁶²



Hidroklorik asit (HCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hidroklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan hidroksil (OH•) radikalinin oluştuğu görülmüştür.⁶³

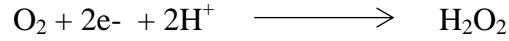
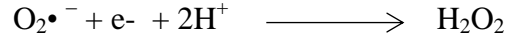


Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c' yi indirger. Redüktan olarak görev yaptığında ferrisitokrom c' nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidasyonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir.⁶⁰ Diğer taraftan geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir.

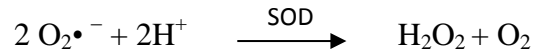


Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir.⁶⁴

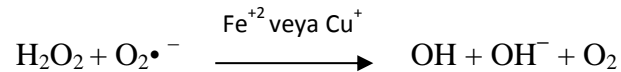
Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksit' in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.⁶⁵



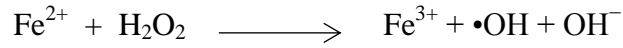
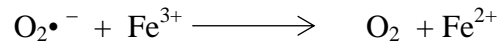
Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalının dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca ürat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek hidrojen peroksit oluştururlar.



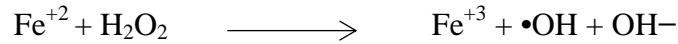
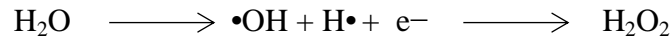
Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidant özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabılır. Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmadığı halde ROS içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.⁶⁵



Bu reaksiyona “**Haber - Weiss Reaksiyonu**” adı verilir. Haber- Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demir’ e (Fe^{+2}) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten OH ve OH^- üretilir.^{66,67} Reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.



Hidroksil Radkali ($\bullet OH$): Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında yani fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif oksidan radikaldir. Hidroksil radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldıran ve oluştuğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça hareketli bir oksidandır.⁶⁸



Hidroksil radikali birçok biyolojik molekülden hidrojen atomu koparır. Bunlardan birisi de tiollerdir.



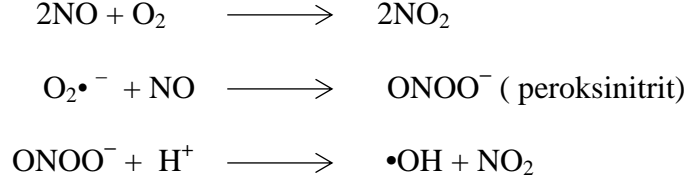
Meydana gelen sülfür radikali oksijenle birleşerek tiyol peroksil (RSO_2) ve sülfenil ($RSO\bullet$) gibi oksisülfür radikallerini meydana getirir. Bu radikaller de biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahiptir.

Bekli de hidroksil radikali en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu (LPO) stimüle etmesidir. Bu durum hidroksil radikallerinin membrana yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipid zincirinin yağ asidi tabakasına atak yapması ile meydana gelir. Ayrıca hidroksil radikalının AA gibi doymamış yağ asitlerine olan ilgisinin de fazla olduğu ileri sürülmektedir.

Singlet Oksijen (1O_2): Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer ROS' ler ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir.

Nitrik oksit ($NO\bullet$) ve Nitrojen dioksit ($NO_2\bullet$): Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. Nitrojen dioksit oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır. Oksijen redüksiyonu sırasında Nitrojen dioksite maruz kalması durumunda AA metabolizmasının nitrojen dioksit konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda nitrojen dioksitin AA metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir.^{65,69,70} Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden in vivo olarak üretilmektedir. Nitrik oksit; kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Son yıllarda radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik

şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.^{65,70,71}



Diğer Serbest Radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R•), peroksil radikalleri (ROO•), alkoksil radikalleri (RO•), tiyol radikalleri (RS•) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO•) veya tiyol peroksil (RSO₂•) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.⁷²

Serbest Radikal Kaynakları:

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamını sürdürmesi için gerekli olan metabolik faaliyetlerini devam ettirmesi için gerekli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi stres ve radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen radikal kaynakları olmak üzere ikiye ayrılır.

A) Eksojen Radikal Kaynakları:

- 1) İlaç oksidasyonları
- 2) Radyasyon
- 3) Güneş ışığı, Ultra viyole-ışınları
- 4) Sigara dumanı, egzoz gazları
- 5) Kükürtdioksit

6) Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.

7) Stres: Stresin katekolamin düzeyi artırması ve katekolaminlerin oksidasyonu ile serbest radikal oluşumu gözlenir.^{73,74,75}

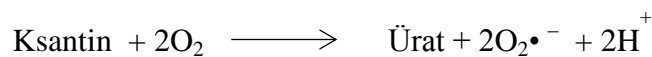
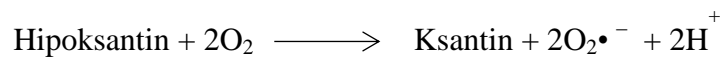
B) Endojen radikal kaynakları:

1) Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu:

Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otoksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur.^{76,77}

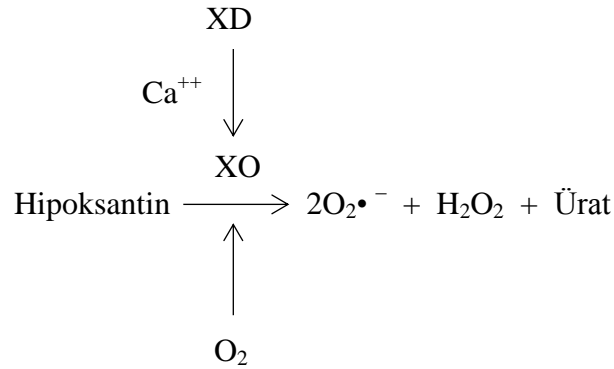
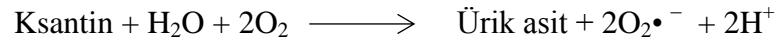
2) Enzimler ve Proteinler:

Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar.^{73,78} Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat, in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürat' a oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir.^{73,72,79}



Hipoksantin- ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir. Fakat yapılan araştırmalar ksantin oksidaz enziminin barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu

gözlenmiştir.^{80,81} Normalde NAD bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal oluşumuna neden olmaz. Ancak ilk iskemi atağından sonra hücre membranı sahte sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın (XD) ksantin oksidaz (XO)' ya dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda XD enzimi dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit radikalinin üretimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri hızlı bir şekilde hidrojen peroksite dönüşür. Hidrojen peroksit güçlü bir radikal olmasa da, Fe⁺² varlığında fenton reaksiyonu oluşturarak güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur.^{13,12,59,82}



Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.⁸³

3) Mitokondriyal Elektron Taşınması:

Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS' den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)-dehidrogenaz basamağında, ikincisi olarak koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS' nin son basamağında elektronların oksijene taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin % 97-99' unu harcayarak suya indirger. Ancak oksijenin % 1-3' ü, ETS' den sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini arttırır. Böylece NAD⁺ bağlı substratlar, süksinat, adenzin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder.^{12,13,73,72,84}

4) Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Elektron Transport Sistemleri:

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b₅, doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.

5) Peroksizomlar:

Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit anyonunun üretmeden, bol miktarda hidrojen peroksit üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar hidrojen peroksit geçtiği bilinmemektedir.^{8,85}

6) Plazma Membranı:

Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden çabuk etkilenirler. LPO veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir.^{8,73,86,87}

Hidrojen peroksit membranları neredeyse su kadar kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu nedenle proteinlerin ve lipidlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir.^{73,88}

LO ve COX gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ile mikrozomlar tarafından serbest radikal üretimi, bu enzimlerin predominant substratı olan AA metabolizması ile ilişkili pek çok yeni buluş ve biyolojik açıdan önemli ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir. Bu ürünler PG' leri, TX' leri, lökotrienleri (LT) ve anafilaksinin slow-reakting substratını içerir. Son zamanlarda araşidonat metabolizmasında yer alan bu enzimatik proseslerin otokatalitik LPO öncülük etmesi bu konuya olan ilgiyi artırmıştır.

Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır.^{85,89} Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.

1) Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir. Örneğin toksik bir madde olan karbontetra klorür (CCl₄) karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil (CCl₃)

serbest radikale dönüştürülür. Bu radikalın oksijenle reaksiyona girmesi neticesinde meydana gelen peroksil radikali güçlü LPO başlatıcıdır.

2) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Bunun en basit örneği paraguattır.

3) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürebilir. Parasetamol karaciğerde sitokrom P-450 tarafından glutatyon (GSH) ile reaksiyona girip miktarını azaltan bir ürün oluşturur.

Serbest Radikallerin Etkileri:

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan deoksiribo nükleik asit (DNA), yağlar ve proteinlere saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbeset radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.^{12,13,73,90,91}

Membran Lipidleri Üzerine Etkileri: Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek LPO'yu başlatmaları olarak bilinir. LPO, polidoymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden birçok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. LPO membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan hidroksil radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.^{12,13,73,90,92}

LPO'yu başlatan ilk hareket membran ya da polidoymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan (-CH₂-) bir hidrojen (H) atomunun çıkartılması ile başlar. Böylece tek elektron içeren hidrojenin (H•) uzaklaştırılması sonucu karbon merkezli -•CH- lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir. Bir dizi

değişikliğe uğrayarak molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer polidoymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan bir elektrona sahip hidrojen ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşür ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam ederek zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur.^{12,13,65,73,75}

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonlarında bozukluklar meydana gelir. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizörlüğünde yıkılması sonucu çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE)' dir. MDA ölçümü ile LPO' nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarlı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler.^{89,93,94}

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder.⁶⁵ LPO sonucunda membran yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelir. Bunlar kısaca⁹⁵

- 1) Membran üzerindeki yağ asiti miktarında azalma meydana gelir.

2) LPO sırasında oluşan lipid hidroperoksitleri biomembranlar üzerinde yerleşmiş halde bulunan bazı enzimleri inhibe eder.

3) Tiyol gruplarını oksidasyona uğratarak membran üzerindeki protein-lipid ilişkisini bozar.

4) Membranın yapı taşlarından olan lipitlerin akışkanlığını bozar.

5) LPO sonucu oluşan serbest radikaller membran dışında da çeşitli yapısal moleküllerde bozulmalara neden olurlar.

Proteinler Üzerine Etkileri: Proteinler, lipitlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikaller ile reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin (PCO) ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar meydana gelir.^{12,13,73,96} Proteinlerin çok farklı şekillerde modifikasyona uğramasına bağlı olarak, protein oksidasyonunun tek bir evrensel belirteci yoktur. Bazı oksidatif protein modifikasyonları, hem oksidasyona uğrayan amino asit miktarı, hem de oluşturulan ürünler bakımından gayet spesifiktir. Bazı oksidatif protein modifikasyonları ise geniş çaplı özellik taşır ve çok sayıda amino asitte değişikliğe yol açarak, yine çok sayıda ürün oluşturabilir. Spesifik modifikasyonlara tirozin' nin ditirozine dönüşümü, geniş çaplı modifikasyonlara ise arginin, lizin ve tirozin amino asitlerinin yan zincirlerinin, 4-

hidroksi-2-nonenal ile reaksiyonu sonucunda oluşan karboniller örnek olarak gösterilebilir.^{97,98}

DNA Üzerine Etkileri: İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin ROS ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucunda DNA' da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca LPO sonucu oluşan MDA' nın nadirde olsa DNA' da mutasyona sebep olduğu, beslenme ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir.^{99,100} Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA' nın yakınında meydana gelirse mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara hidrojen katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer ve DNA hasarına neden olurlar. Hidroksil radikali singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.^{101,102} Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. ROS' lerin, DNA' nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis ve çeşitli hastalıklar görülebilir.^{8,12,13,73,103,104}

Antioksidan Savunma Sistemleri

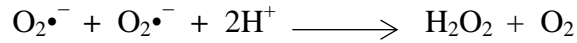
Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranının da etki gösteren birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar gerek radikal üretimini engelleyerek gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır. İşte canlı organizmaların oluşturduğu bu sisteme “antioksidan savunma sistemi” veya kısaca “antioksidanlar” denilmektedir.

Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler.^{8,12,13,73}

A) Endojen (Doğal) Antioksidanlar:

1) Primer Antioksidanlar (Enzimler):

Süperoksit Dismutaz (SOD): Bu enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD' nin aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. SOD yaklaşık olarak bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-ZnSOD, ekstraselüler etki gösteren ECSOD ve mitokondri de bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD' nin Fe ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD' nin tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷



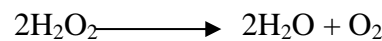
Süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmış ve daha sonraki çalışmalarda insan eritrositlerinde de tesbit edilmiştir. Birçok deney sisteminde çalışılan bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom c' nin indirgenmesini inhibe ettiği görülmüştür. Hemen hemen bütün canlılarda bulunan ve süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD' nin canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.^{8,12,13,73,108,109} Cu-Zn SOD; ilk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer

alan enzimin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32.000 Daltondur. Birbirinin aynı olan iki alt üiteden meydana gelir. Her alt üitede bir Cu atomu ve bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir asetilenmiş terminal amino grubu bulunduğu tesbit edilmiştir.^{76,108}

Mn-SOD; prokaryotik hücreler molekül ağırlığı 40.000 Dalton olan, birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom Mn bağlı olan enzimdir. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80.000 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının pek çok ortak özelliği primer yapıları da birbirine çok benzerdir. Ancak aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur.¹¹⁰

Bazı bakteriler birden fazla SOD içerirler. Bunlardan biri bütün prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre sitoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD (FeSOD) bulundurur.¹¹¹ Serbest radikallerin incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik türlerinden biridir ve CAT tarafından birikimi önlenmektedir.^{8,109,112}

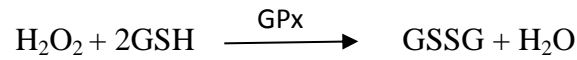
Katalaz (CAT): CAT, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren ve her bir alt grubu 60.000 Dalton ağırlığında olan enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.^{12,13,73,109,113,114}



CAT enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT' ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.^{85,115,116}

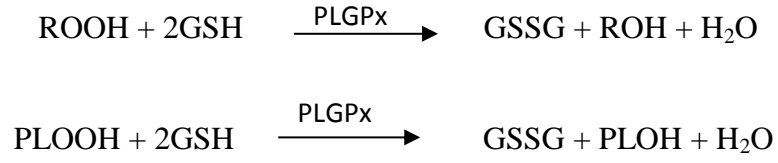
Glutasyon peroksidaz (GPx): Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85.000 Dalton' dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir.^{8,12,13,73,117,118}

Enzim aktivitesinin % 60-75' i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40' ı ise mitokondridedir. GPx, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur.^{119,120} GPx, aşağıdaki reaksiyonları katalizler.^{8,117,121}



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGPx) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGPx membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar.^{122,123}

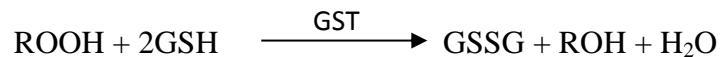




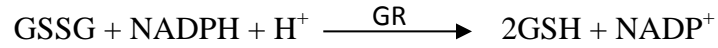
Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen okside glutatyon (GSSG), az sonra anlatacağımız glutatyon redüktazın (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH' ye dönüşür. GPx' in, hücredeki dağılımı, GR' ye bağımlıdır. Her iki enzim de en yüksek konsantrasyonlarda sitozolde bulunur.¹²³

Glutatyon-s-Transferaz (GST): “Selenyuma bağlı olmayan GPx” olarak adlandırılır. GST' ler, sisteinin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofillere glutatyonu aktaran proteinlerdir. *E.coli*' den insana kadar çok çeşitli türlerden GST saflaştırılabilirken en çok da rat karaciğerinden saflaştırılmıştır.¹²⁴ GST' ler başta araşidonik ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere LPO' lara karşı Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi koruyucu mekanizma oluştururlar.¹²⁵

GST' ler antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahip GST' lerin tüm canlı hücrelerde bulunması hayati önemlerinin bir göstergesidir. Hem detoksifikasyon yaparlar, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak, yabancı maddeleri glutatyonda ki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir ve daha ileri bir ürüne metabolize olabilirler. GSH' den glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asitlere dönüştürülür.¹²⁵

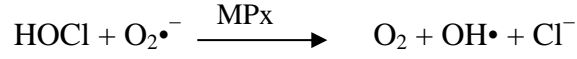
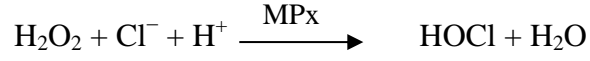


Glutasyon redüktaz (GR): GR 50.000 Daltonluk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH' dan gelen elektronlar okside glutasyonun disülfid bağına direkt olarak transfer edilemezler. Sıklıkla önce NADPH' dan sıkıca bağlı bulunan flavin adenin difosfat (FAD)' a transfer edilirler. Daha sonraki alt birimlerdeki 2 sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyona aktarılmış olurlar. Her bir subunit 3 tane yapısal alan içerir, bunlar: FAD bağlayıcı alan, NADPH bağlayıcı alan ve ara yüz alanıdır. FAD alanı ve NADP⁺ alanı birbirine benzer ve diğer dehidrojenazlardaki nükleotid bağlayıcı alanlara benzerler. FAD ve NADP⁺'nin izoalloksozin ve nikotinamid halkaları birbirine geçecek şekilde geniş ölçüde aralarında bağlanırlar. Oksidize glutasyon için bağlayıcı alanın bir alt biriminin FAD alanı ile diğer alt birimin ara yüz alanından meydana geldiği belirtmek gerekir.¹²⁶



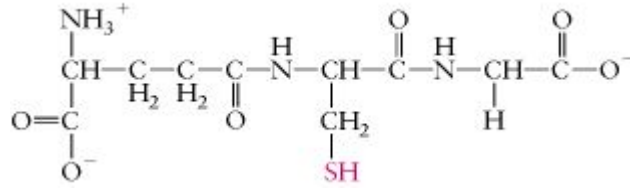
Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu ise, GR' nin GSSG' yi GSH' ye çevrimi için gereken NADPH' ı sağlar.¹²⁷

Miyeloperoksidaz (MPx): Nötrofil granüllerde bol miktarda bulunan MPx enzimi hidrojen peroksitten hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etki eder. Asidik pH oluşumuna bağlı olarak MPx aktivitesi artmakta ve membranı kolayca geçen hidrojen peroksit bakteriyeye toksik etki yapmakta ya da hidroksil radikaline dönüşmektedir. Bu tepkimede hipoklorik asit yer almaktadır. Hidrojen peroksit ile MPx klor iyonlarını kullanarak hidrojen peroksiti hipoklorik asite dönüştürmektedir. Çok reaktif olan hipoklorik asit birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir.^{60,127,128}

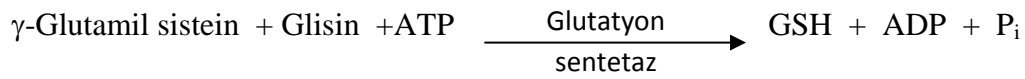
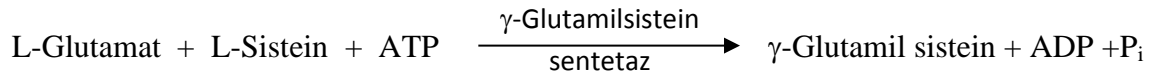


2) Sekonder Antioksidanlar (Enzim Olmayanlar):

Glutasyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır.



Şekil 2.3. GSH' nin molekül yapısı



GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür. Eritrosit hücrelerinde GSH/GSSG oranı yaklaşık 500' dür. İndirgenmiş glutasyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi katalizörlüğünde hidrojen peroksit ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve hidrojen

peroksiti alyuvarlardan uzaklaştırır. Hidrojen peroksit birikmesi hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime çok önemlidir. Ayrıca alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken diğer dokularda ise bu sitokrom P-450 redüktaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerle oluşur.^{8,127,129,130}

GSH, hidrojen peroksidi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfit-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPx' e substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH' ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.^{60,131}

Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur. Örneğin GPx ve CAT, reaktif oksijen ara ürünlerini suya indirger. İkinci mekanizma ise oksijen radikallerini kimyasal olarak inaktive eden askorbik asit, α - tokoferol ve β -karoten gibi diyetle alınan antioksidanlarla ilgilidir.^{8,12,13,73,132} Birçok enzimin şayet sistein tiyol grubu (-SH) oksitlenecek olursa inaktive ya da inhibe olur. GSH, Gama-glutamilsisteinilglisin, duyarlı ve esansiyel -SH gruplarını içeren enzimlerin doğal aktivatörüdür. Glutatyon; hücrede bir koenzimden ziyade var olan amino asit öncüllerinden kolayca sentezlenen doğal bir antioksidandır. Fenilalanin ve tirozinin oksidatif yıkımında görev alan maleilasetoasetat izomeraz da dahil olmak üzere glutatyon çok az sayıda enzim için spesifik bir koenzimdir. Glutatyonun hücre içi derişimi kontrol edilerek birçok enzimin aktivitesi düzenlenebilir.¹³¹

3) Diğer Sekonder Antioksidanlar:

Canlı vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına rağmen vitaminlerin vücuttaki görevleri oldukça fazladır. Vitaminlerin bir bölümü, besinlerle aldığımız karbonhidrat, yağ ve proteinden enerji ve hücrelerin oluşması ile ilgili biyokimyasal olayların düzenlenmesine yardımcı olurlar. A, E ve C vitaminleri vücut hücrelerinin serbest radikallerin meydana getirebileceği hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmeleri ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında (antioksidan etki) yardımcı olurlar. Antioksidanlar, hücremizi, serbest radikalleri nötrleştirerek korurlar. Bunlar uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar. β -karotenin, askorbik asitin ve tokoferolün antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir. β -karoten organizmada A vitamininin parsiyal oksijen öncülü olmasının yanı sıra bir antioksidan olarak görev yapar. Bununla beraber, 15 torr' da 150 torr' dan daha iyi antioksidan olduğu, 760 torr' da ise prooksidan olarak davrandığı bildirilmiştir. Hücrelerin dışında β -karoten nöbet tutarken; hücre duvarından, içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitaminini üstlenmiştir.^{73,133} Suda çözünen vitaminlerden birisi olan askorbik asit yapı itibariyle en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. Yüksek yapılı hayvanların pek çoğu ve bitkiler kolayca askorbik asidi glukozdan sentezleyebilmektedirler. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallere son darbeyi vurmakta ve bu şekilde radikallerin tesirleri ortadan kaldırılmaya çalışmaktadır. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup temel görevi lipitleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce barsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur.^{12,13,73, 127,134}

B) Ekzojen Antioksidanlar:

1) Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürmol, folik asit ve pterin aldehit.

2) Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

3) NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil ve difenilin iyodoniyum.

4) Recombinant süperoksit dismutaz.

5) Troloks-c: E vitamini analogu.

6) Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: GPx aktivitesini artırır.

Bunlar; Ebselen ve asetil sisteindir.

7) Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin

8) Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin.

9) Nötrofil adezyon inhibitörleri.

10) Sitokinler:

-Tümör Nekroz Faktör (TNF)

-Interlökin 1

11) Barbitüratlar

12) Demir şelatörleri.^{73,135}

C) Gıda Antioksidanları:

1) Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)

2) Butillenmiş hidroksianisol (BHA)

3) Sodyum benzoat

4) Etoksiguin

5) Propilgalat

6) Fe - superoksid dismutaz.^{73,135}

Antioksidan Etki Tipleri:

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.^{8,12,13,60,73,133,135}

1) Toplayıcı etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

2) Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen atarak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren etkiye bastırıcı etki denir.

3) Onarıcı etki (repair etki): Genellikle DNA' daki hasarların tamir edilmesinde bu etki sürekli geçerlidir.

4) Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir.

Serbest radikaller ve bunları etkisizleştirmek için kullanılan veya üretilen antioksidanlar hakkında mevcut bilgiler arttıkça bunlara olan ilgi de bilim adamları tarafından her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda hemen her sahada yapılan çalışmaların antioksidan özellikler ile birlikte değerlendirme çalışmaları da ön plana çıkmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan bütün kimyasal malzemeler Sigma Chemicals Company (Germany)' den temin edilmiştir.

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

UV-Visible Spektrofotometre	: Thermo Spectronic-HELIOS β
pH metre	: Schott CG 842
Hassas terazi	: Scaltec SPB 31
Derin dondurucu	: Sanyo MDF - 235
Magnetik karıştırıcılar	: Boeco MSH 300
Otomatik pipetler	: Eppendorf
Buzdolabı	: Profilo
Saf su cihazı	: GFL 2012
Çalkalayıcılı su banyosu	: Memmert
Döner Buharlaştırıcı (Evaporatör)	: BSI

3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

1) 0.2 M Fosfat Tamponu, (pH=7) (Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ölçmek için gereken homojenat tampon): 2.72 g KH_2PO_4 90 ml saf suda çözüldü ve pH=7.0' a ayarlandıktan sonra son hacim 100 ml' ye tamamlandı.

2) Linoleik asit çözeltisi (Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ölçmek için gereken çözelti): 0.2804 g linoleik asit, 0.2804 g Tween 20 ve 45 ml homojenat tamponu karıştırıldı ve pH =7.0' a ayarlandıktan sonra son hacim 50 ml' ye tamamlandı.

3) % 30 Amonyum tiyosiyanat çözeltisi (Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ölçmek için gerekli çözelti): 4.5 g amonyum tiyosiyanat 15 ml saf suda çözüldü.

4) 0.02 M Fosfat Tamponu, pH= 6.6 (Bitki ekstraktlarının indirgeme kuvvetlerini ölçmek için gereken homojenat tampon): 2.72 g KH_2PO_4 90 ml saf suda çözüldü ve pH=6.6' ya ayarlandıktan sonra son hacim 100 ml' ye saf su ile tamamlandı.

5) %1 Potasyum ferrisiyanit çözeltisi (Bitki ekstraktlarının indirgeme kuvvetlerini ölçmek için gereken çözeltisi): 0.505 g potasyum ferrisiyanit 50 ml saf suda çözüldü.

6) % 10 TCA çözeltisi (Bitki ekstraktlarının indirgeme kuvvetlerini ölçmek için gereken çözeltisi): 5 g TCA 50 ml saf suda çözüldü.

7) % 0.1 Demir III klorür, FeCl_3 , çözeltisi (Bitki ekstraktlarının indirgeme kuvvetlerini ölçmek için gereken çözeltisi): 0.1 g FeCl_3 100 ml saf suda çözüldü.

8) % 7.5 Na_2CO_3 çözeltisi (Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşiklerini ölçmek için gereken çözeltisi): 7.5 g Na_2CO_3 100 ml saf suda çözüldü.

10) Folin Ciocalteu Çözeltisi (Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşiklerini ölçmek için gereken çözeltisi): Orijinal ambalajdan hazır olarak kullanıldı

3.4. Deney Bitkileri

Bu araştırma döneminde çalışma materyali olarak kullandığımız baharat çeşitleri (karanfil ve meyan kökü) ülkemizin önde gelen sanayii kuruluşlarından ve en önemli baharat üreticilerinden biri olan “Bağdat Baharatları” isimli firmadan temin edilmiştir.

3.4.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Baharat örnekleri bir havanda sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Her birinden 100 g örnek tartılarak bir Soxhlet cihazı balonuna yerleştirildi. Bir çalkalayıcı su banyosunda iki gün süreyle ekstrakte edildi. Her baharat örneği için su, etanol- su ve metanol olmak üzere 3 farklı çözücü sistemi (50 °C, 250 ml x 4) kullanıldı. Ekstraktlar süzüldü ve çözücü içeriği döner buharlaştırıcı (evaporatör) da düşük basınç ve düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı. Ekstraktlar 5 µm-Hg basınç altında liyofilize edildi. Ekstraktların % verimleri (g liyofilizat /100 g baharat) tartılmak suretiyle belirlendi ve Tablo 1’ de verildi. Elde edilen ekstraktların kısaltmaları Tablo 1’ de ayrı bir sütun olarak belirtildi. Ekstraktlar deneyler yapıncaya kadar -20 °C’ ta muhafaza edildi.

Tablo 3.1. Baharat örneklerinden elde edilen ekstraktlarının % verimi (100 g baharatdan elde edilen net ekstrakt miktarı).

Baharat örneği	Ekstraktlar	Ekstraktların kısaltılmış isimleri	% verim (g liyofilizat/ 100 g baharat)
Karanfil	su	KSE	8.58
	etanol-su	KESE	7.15
	metanol	KME	18.53
Meyan kökü	su	MKSE	32.3
	etanol-su	MKESE	8.77
	metanol	MKME	14.2

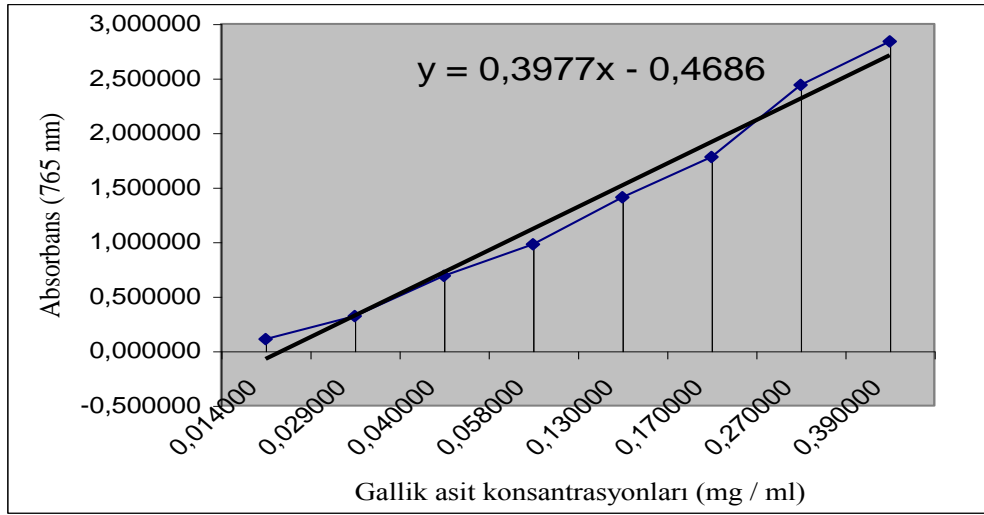
3.4.2. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Baharatlardan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi Mitsuda ve arkadaşları tarafından belirtilen prosedüre göre tiyosiyanat yöntemi kullanılarak ölçüldü.¹³⁶ 1 mg ekstrakt 1 ml saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 4 ml fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ve 5 ml linoleik asit çözeltisi ilave edildi ve daha sonra 37 °C’ ta inkübasyona bırakıldı. Inkübasyonun başlatılmasını müteakip her 10

saatte bir % 75 etanol ve % 30 amonyum tiyosiyanat çözeltilerine 0.1 ml inkübasyon karışımı ilave edilerek vortekslendi. Karışıma % 35 HCl içerisinde 0.02 M FeCl₂ çözeltisi ilave edilerek absorbanslar 500 nm' de köre karşı ölçüldü. Kontrol için aynı işlemler yalnızca linoleik asitli karışımda, kör için ise 0.1 ml saf su ilave edilerek tekrarlandı. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaşması neticesinde son verildi. İnkübasyon karışımından her seferinde 6 tekerrür ile sonuçlar verildi.

3.4.3. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi

Baharat ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşiklerin miktarları, Slinkard ve Singleton tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak Folin-Coicalteu çözeltisi kullanılarak belirlendi.¹³⁷ 0.5 mg liyofilizat 0.5 ml saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 ml Folin-Coicalteu çözeltisi ilave edildi ve 30 °C' ta 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra bu karışımın üzerine 2 ml Na₂CO₃ ilave edilerek 30 °C' ta 90 dakika süreyle yeniden inkübasyona bırakıldı. 90. dakikanın sonunda 765 nm' de absorbanslar ölçüldü. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg Gallik Asit ekuvalenti(GAE) / g liyofilizat şeklinde verildi.



Şekil 3.4. Toplam fenolik bileşik miktarını belirlemede kullanılan gallik asit standart grafiği.

3.4.4. Bitki Ekstraktlarının İndirgeme Güçlerinin Belirlenmesi

Baharat ekstraktlarının indirgeyici güçleri Yen ve Chen tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak ölçüldü.¹³⁸ 0.5 mg ekstrakt 0.5 ml saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 ml fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 ml % 1' lik potasyum ferrisiyanür çözeltisi eklendikten sonra 50 °C' ta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. % 10' luk TCA çözeltisinden 2.5 ml ilave edilip 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Bu karışımın üzerine 2.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2.5 ml % 0.1' lik FeCl₃ ve 2.5 ml saf su ilave edildikten sonra 700 nm' de absorbans ölçüldü. Yüksek absorbans, yüksek indirgeyici gücü temsil etmektedir.

3.5. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 software programı kullanılarak yapıldı. Bütün ölçümlerde istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri one-way variance analyzes (ANOVA) testi ile belirlendi ve p<0.05 seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.

4. BULGULAR

Yaptığımız çalışmalardan elde ettiğimiz antioksidan aktivite deneylerine ait veriler, kontrollerle mukayese edilmiş % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Deneysel verilere ait tablonun hemen altında deney grupları arasındaki farkın daha iyi görülmesi amacıyla, verilerin ortalamalarına göre hazırlanan grafikler sunulmuştur.

4.1. Karanfilin (*Syzygium aromaticum*) antioksidan özellikleri:

Karanfilin (*Syzygium aromaticum*) su ekstraktı (KSE): KSE' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.2 ve Şekil 4.5' de gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir. Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.5' de ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.4' de sunuldu. Tablo 4.2 ve Şekil 4.5' den görülebileceği gibi KSE' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA' sı sırasıyla 0.271 ± 0.001 , 0.250 ± 0.002 , 0.242 ± 0.001 ve 0.636 ± 0.008 0.166 ± 0.001 , olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.2' ye göre, kontrolle karşılaştırıldığında KSE' nin üç dozunun sırasıyla % 80.0, % 82.0, % 82.0, ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 53.0 ve % 88.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında KSE' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aktivitenin doz artışına bağlı olduğu belirlenmiştir.

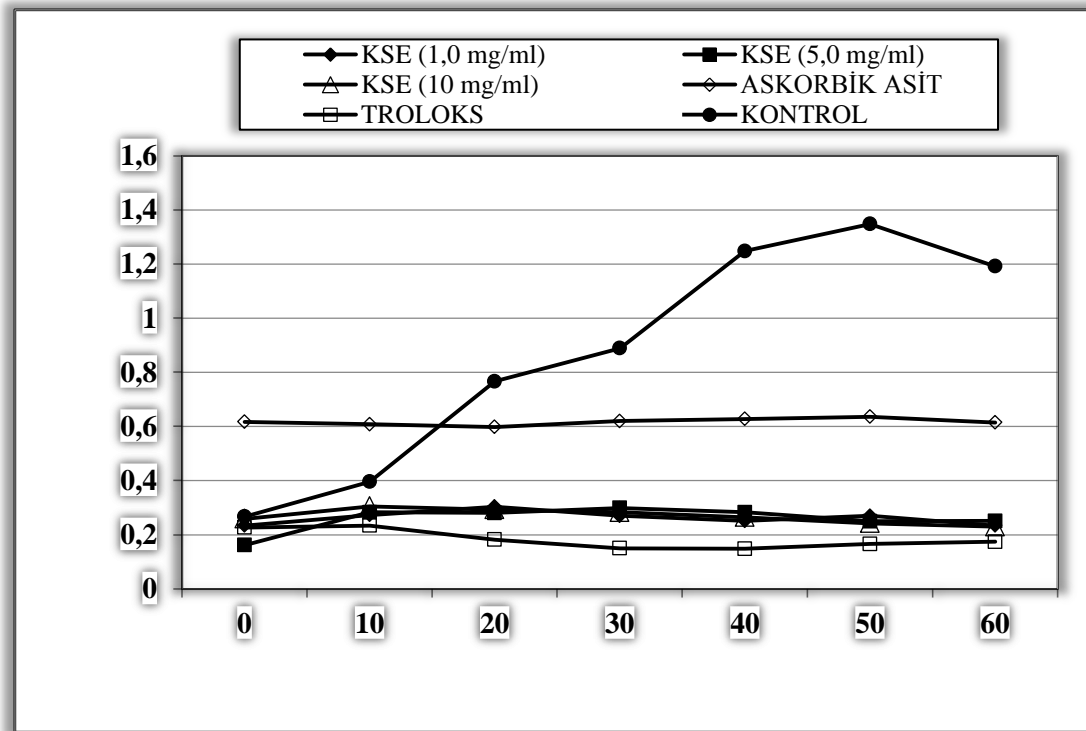
Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan KSE' nin İG' si ise doza bağlı olarak 1.672 ± 0.001 , 3.703 ± 0.003 , 3.734 ± 0.001 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının antioksidan özelliklerinde genellikle içerdikleri fenolik maddeler sorumludur. Bu nedenle KSE ekstraktının TFB içeriği tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 1.979 ± 0.008 , 3.904 ± 0.001 , 3.913 ± 0.003 GAE/g liyofilizat' a tekabül ettiği

bulunmuştur (Tablo 4.2). Bu sonuç bize KSE' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Tablo 4.2. Karanfil su ekstraktı (KSE)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeyici gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (50. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
KSE	1	0.271±0.001c	80.0	1.672±0.001a	1.979±0.008a
	5	0.250±0.002b	82.0	3.703±0.003b	3.904±0.001b
	10	0.242±0.001b	82.0	3.734±0.001c	3.913±0.003c
Askorbik asit	1	0.636±0.008d	53.0	—	—
Troloks	1	0.166±0.001a	88.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.348±0.002e	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler *Duncan* testine göre istatistiksel açıdan farksızdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.5. KSE' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

Karanfilin (*Syzygium aromaticum*) etanol-su ekstraktı (KESE): KESE' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.3 ve Şekil 4.6' da gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir.

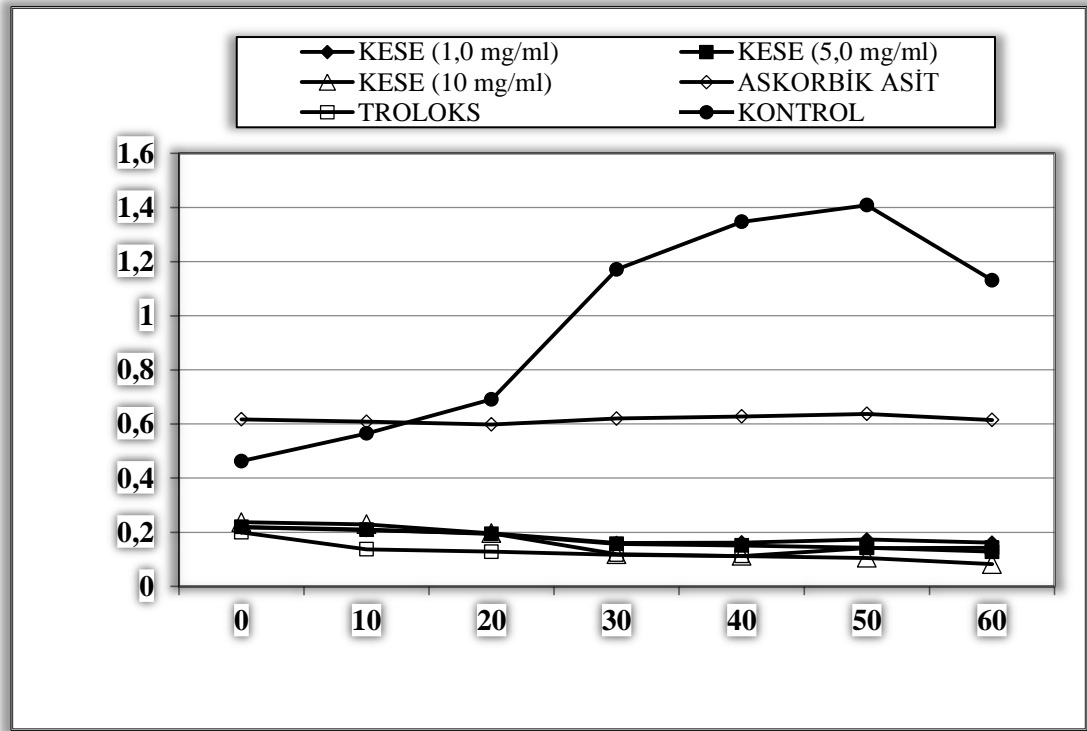
Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.6' da ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.3 'de sunuldu. Tablo 4.3 ve Şekil 4.6' dan görülebileceği üzere KESE' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA' sı sırasıyla 0.173 ± 0.001 , 0.143 ± 0.003 , 0.105 ± 0.002 , 0.637 ± 0.010 ve 0.142 ± 0.001 olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.3' e göre, kontrole karşılaştırıldığında KESE' nin üç dozunun sırasıyla % 88.0, % 90.0, % 92.0 ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 55.0 ve % 90.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında KESE' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aktivitenin doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivitenin arttığı hatta 10mg/ml dozda çok güçlü bir antioksidan olan troloksdan daha fazla bir antioksidan özellik göstermiştir.

Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan KESE' nin İG' si ise doza bağlı olarak 2.057 ± 0.002 , 3.699 ± 0.001 , 3.809 ± 0.003 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının genellikle antioksidan özelliğinden içerdikleri fenolik maddeler sorumludur. Bu nedenle KESE ekstraktının TFB içeriği tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 3.705 ± 0.001 , 3.798 ± 0.002 , 3.896 ± 0.002 GAE/g liyofilizat' a tekabül ettiği bulunmuştur (Tablo 4.3). Bu sonuç bize KESE' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiği yüksek fenolik madde içeriğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Tablo 4.3. Karanfil etanol-su ekstraktını (KESE)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeyici gücünün (İG) ve toplam fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (50. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
KESE	1	0.173±0.001c	88.0	2.057±0.002a	3.705±0.001a
	5	0.143±0.003b	90.0	3.699±0.001b	3.798±0.002b
	10	0.105±0.002a	92.0	3.809±0.003c	3.896±0.002c
Askorbik asit	1	0.637±0.010d	55.0	—	—
Troluks	1	0.142±0.001b	90.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.408±0.002e	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler *Duncan* testine göre istatistiksel açıdan farklıdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.6. KESE'nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

Karanfilin (*Syzygium aromaticum*) metanol ekstraktı (KME): KME' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.7' de gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir.

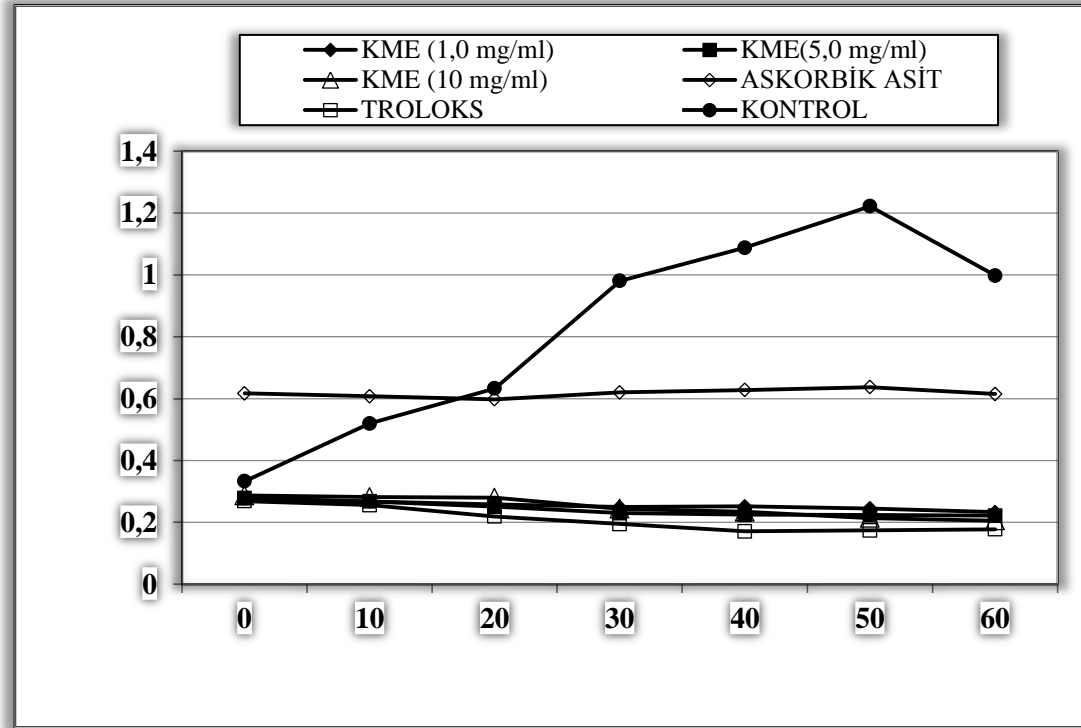
Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.7' de ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.4' de sunuldu. Tablo 4.4 ve Şekil 4.7' den görülebileceği gibi KME' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA' sı sırasıyla 0.245 ± 0.002 , 0.224 ± 0.001 , 0.214 ± 0.001 , 0.636 ± 0.001 ve 0.174 ± 0.001 olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.4' e göre, kontrolle karşılaştırıldığında KME' nin üç dozunun sırasıyla % 80, % 82.0, % 83.0 ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 48.0 ve % 86.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında KME' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve güçlü antioksidan olan troloksa yakın bir değer göstermiştir.

Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan KME' nin İG' si ise 1.366 ± 0.002 , 3.551 ± 0.002 , 3.631 ± 0.052 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının genellikle antioksidan özelliğinden içerdikleri fenolik maddeler sorumlu olmasından yola çıkarak KME ekstraktının TFB içeriği tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 3.507 ± 0.002 , 3.873 ± 0.002 , 3.975 ± 0.001 GAE/g liyofilizat'a tekabül ettiği bulunmuştur (Tablo 4.4). Bu sonuç bize KME' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiği yüksek fenolik madde içeriğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Tablo 4.4. Karanfil metanol ekstraktı (KME)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik miktarının (TFB) karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (50. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
KME	1	0.245±0.002d	80.0	1.366±0.002a	3.507±0.002a
	5	0.224±0.001c	82.0	3.551±0.002b	3.873±0.002b
	10	0.214±0.001b	83.0	3.631±0.052b	3.975±0.001c
Askorbik asit	1	0.636±0.008e	48.0	—	—
Troluks	1	0.174±0.001a	86.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.222±0.002f	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harflere sahip olan değerler *Duncan* testine göre istatistiksel açıdan farklıdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.7. KME' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

4.2. Meyan Kökünün (*Glycyrrhiza glabra*) antioksidan özellikleri

Meyan kökünün (*Glycyrrhiza glabra*) su ekstraktı (MKSE): MKSE' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.5 ve Şekil 4.8' de gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir.

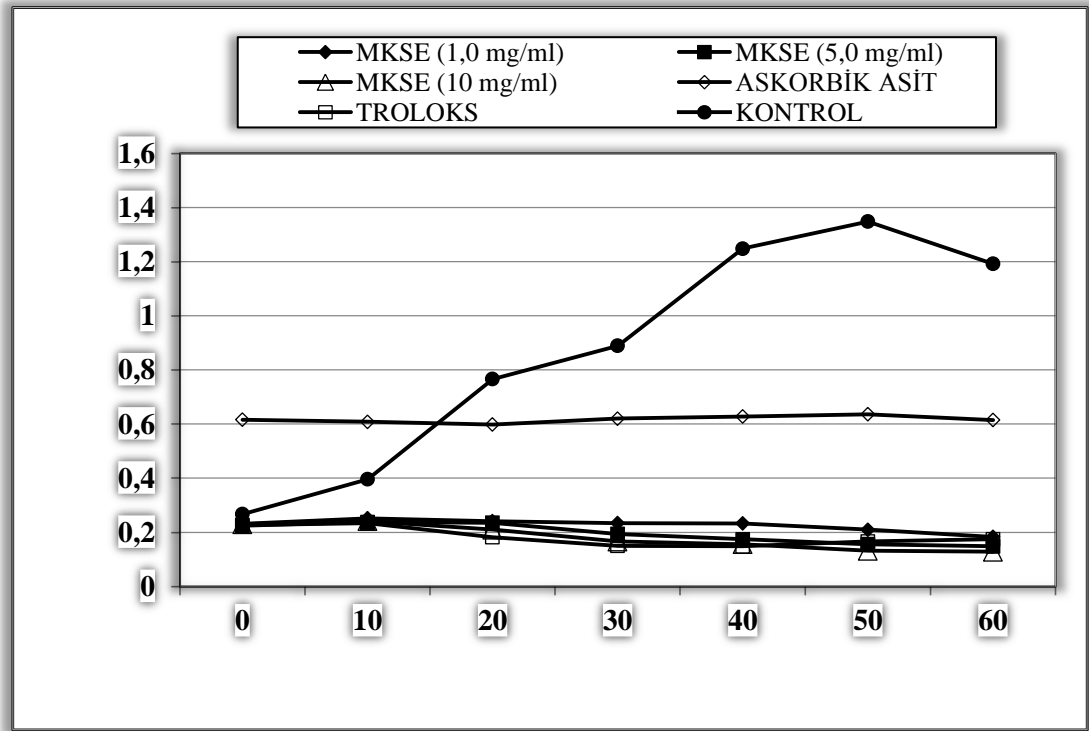
Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.8' de ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.5' de sunuldu. Tablo 4.5 ve Şekil 4.8' den görülebileceği gibi MKSE' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA sırasıyla 0.210 ± 0.002 , 0.156 ± 0.002 , 0.132 ± 0.002 , 0.636 ± 0.001 ve 0.166 ± 0.001 ve olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.5' e göre, kontrolle karşılaştırıldığında MKSE' nin üç dozunun sırasıyla % 85.0, % 88.0, % 91.0 ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 53.0 ve % 88.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında MKSE' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğunu doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivite artışı söylenebilir.

Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan MKSE' nin İG' si ise 0.672 ± 0.001 , 3.704 ± 0.003 , 3.734 ± 0.001 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının antioksidan özelliklerinde genellikle içerdikleri fenolik maddeler sorumludur. Bu nedenle MKSE' nin TFB' si tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 0.371 ± 0.001 , 1.173 ± 0.001 , 1.992 ± 0.001 GAE/g liyofilizat' a tekabül ettiği bulunmuştur (Tablo 4.5). Bu sonuç bize MKSE' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiği yüksek fenolik madde içeriğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Tablo 4.5. Meyankökü su ekstraktı (MKSE)' nin total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (60. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
MKSE	1	0.210±0.002c	85.0	1.672±0.001a	0.371±0.001a
	5	0.156±0.002b	88.0	3.704±0.003b	1.173±0.001b
	10	0.132±0.002a	91.0	3.734±0.001c	1.992±0.001c
Askorbik asit	1	0.636±0.008d	53.0	—	—
Troloks	1	0.166±0.001b	88.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.348±0.002e	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler *Duncan* testine göre istatistiksel açıdan farklıdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.8. MKSE' nin antioksidan aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

Meyan kökünün (*Glycyrrhiza glabra*) etanol-su ekstraktı (MKESE): MKESE' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.6 ve Şekil 4.9' da gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir.

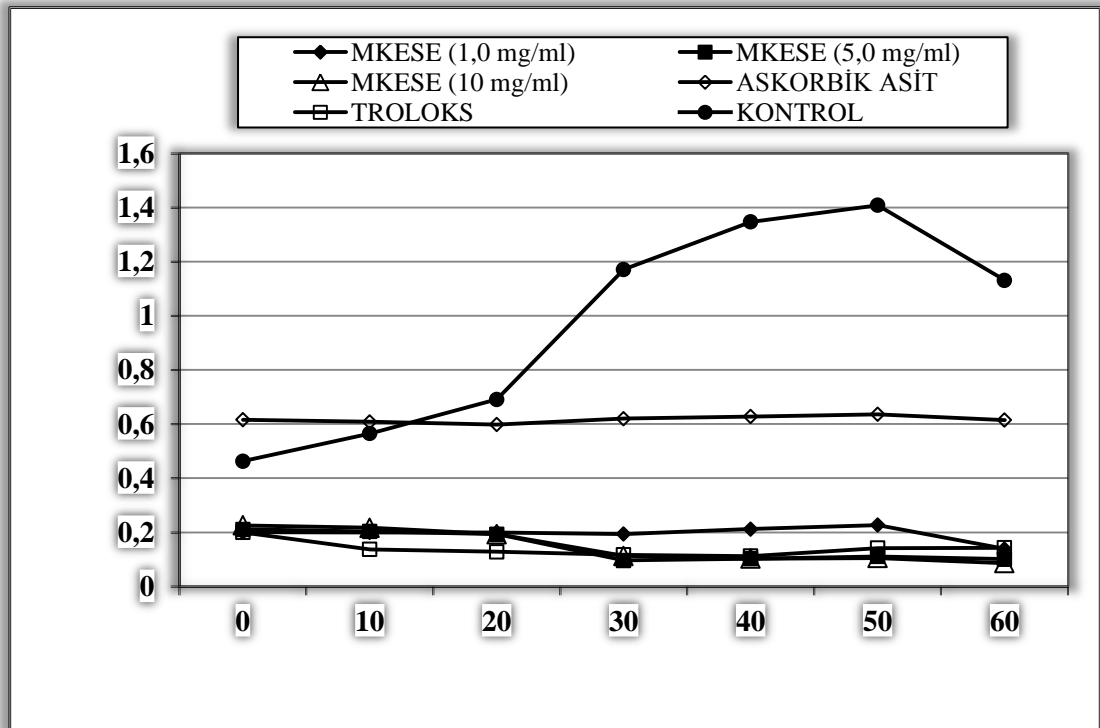
Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.9' da ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.6' da sunuldu. Tablo 4.6 ve Şekil 4.9' dan görülebileceği gibi MKESE' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA' sı sırasıyla 0.227 ± 0.002 , 0.111 ± 0.002 , 0.105 ± 0.001 , 0.636 ± 0.001 ve 0.142 ± 0.001 olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.6' ya göre, kontrolle karşılaştırıldığında MKESE' nin üç dozunun sırasıyla % 84.0, % 92.0, % 92.0 ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 55.0 ve % 90.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında MKESE' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğunu doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivite artışı söylenebilir.

Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan MKESE' nin İG' si ise 0.329 ± 0.001 , 0.933 ± 0.001 , 1.762 ± 0.002 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının genellikle antioksidan özelliğinden içerdikleri fenolik maddeler sorumludur. Bu nedenle MKESE ekstraktının TFB içeriği tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 0.430 ± 0.002 , 1.463 ± 0.001 , 2.472 ± 0.001 GAE/g liyofilizat' a tekabül ettiği bulunmuştur (Tablo 4.6). Bu sonuç bize MKESE' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiği yüksek fenolik madde içeriğinden kaynaklanabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.6. Meyan kökü etanol-su ekstraktının (MESE) total antioksidan aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (50. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
MKESE	1	0.227±0.002c	84.0	0.329±0.001a	0.430±0.002a
	5	0.111±0.002a	92.0	0.933±0.001b	1.463±0.001b
	10	0.105±0.001a	92.0	1.762±0.002c	2.472±0.001c
Askorbik asit	1	0.636±0.010d	55.0	—	—
Troloks	1	0.142±0.001b	90.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.408±0.002e	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklıdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.9. MKESE'nin antioksidant aktivitesi. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel üç ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

Meyankökünün (*Glycyrrhiza glabra*) metanol ekstraktı (MKME): MKME' nin total antioksidan aktivitesi (TAA), toplam fenolik bileşik (TFB) miktarı ve indirgeme gücü (İG) belirlenerek sonuçlar Tablo 4.7 ve Şekil 4.10' da gösterilmiştir. TAA' ya ait sonuçlar, pozitif kontroller (troloks ve askorbik asit) ile mukayese edilerek verilmiştir.

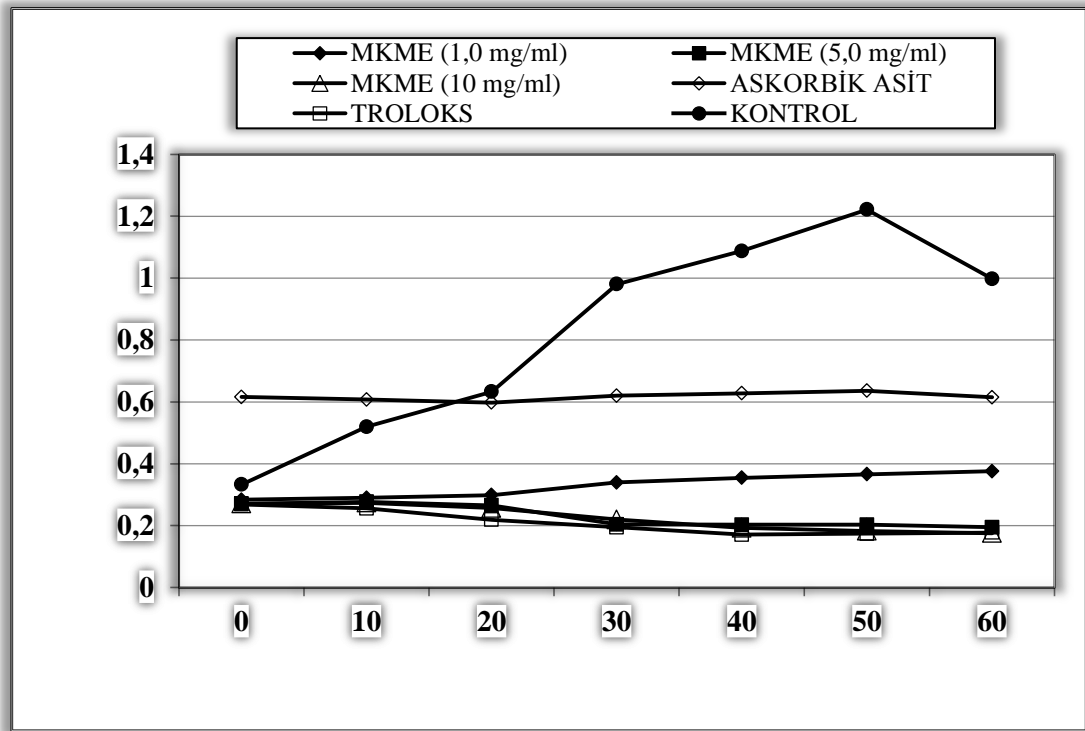
Her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren Şekil 4.10' da ki veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen TAA' lar Tablo 4.7' de sunuldu. Tablo 4.7 ve Şekil 4.10' da görülebileceği gibi MKME' nin üç dozu, askorbik asit ve troloks' un TAA' sı sırasıyla 0.366 ± 0.003 , 0.203 ± 0.001 , 0.183 ± 0.001 , 0.636 ± 0.008 ve 0.174 ± 0.001 olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.7' ye göre, kontrolle karşılaştırıldığında MKME' nin üç dozunun sırasıyla % 70.0, % 83.0, % 85.0 ve pozitif kontroller askorbik asit ve troloks' un ise % 59.0 ve % 86.0 oranında peroksit oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında MKME' nin üç dozunda antioksidan aktiviteye sahip olduğunu doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivite artışı söylenebilir.

Farklı bir antioksidan özellik göstergesi olan MKME' nin İG' si ise doza bağlı olarak 0.264 ± 0.002 , 0.864 ± 0.003 , 1.112 ± 0.008 (ort. abs.) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının genellikle antioksidan özelliğinden içerdikleri fenolik maddelerin sorumlu olduğundan yola çıkılarak MKME ekstraktının TFB' si tespit edilmiş ve fenolik madde içeriğinin 0.421 ± 0.001 , 3.507 ± 0.001 , 3.871 ± 0.001 , GAE/g liyofilizat' a tekabül ettiği bulunmuştur (Tablo 4.7). Bu sonuç bize MKME' nin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiği yüksek fenolik madde içeriğinden kaynaklanabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.7. Meyankökü metanol ekstraktının (MKME) total antioksidant aktivitesinin (TAA), indirgeme gücünün (İG) ve total fenolik bileşik (TFB) miktarının karşılaştırılması.

Örnekler	Doz (mg/ml)	Total antioksidan aktivite		İndirgeme gücü Ort. Absorbans (700 nm)	Fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g liyofilizat)
		Ort. Absorbans (50. saat, 500 nm)	% İnhibisyon		
MKME	1	0.366±0.003c	70.0	0.264±0.002a	0.421±0.001a
	5	0.203±0.001b	83.0	0.864±0.003b	3.507±0.001b
	10	0.183±0.001a	85.0	1.112±0.008c	3.871±0.001c
Askorbik asit	1	0.636±0.008d	59.0	—	—
Troloks	1	0.174±0.001a	86.0	—	—
Kontrol (su)	—	1.222±0.001e	—	—	—

Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ($p < 0.05 \pm$ standart hata) olarak verilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler *Duncan* testine göre istatistiksel açıdan farksızdır ($\alpha = 0,05$).



Şekil 4.10. MKME' nin antioksidan aktiviteleri. Sonuçlar, her 10 saatte bir paralel altı ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Bitkilerin insan sağlığı için kullanılması insanlık ile başlamıştır. Yüzyıllardan beri bitkiler, tüm dünyada gıdaların tat ve aromasının artırılmasında¹³⁹ gıdalarda istenmeyen kokuların giderilmesinde¹⁴⁰ daha önemlisi tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Uzun yıllar geleneksel şeklide devam eden bu kullanım şekilleri 20.yüzyıl başlarında sentetik kimyanın farmakolojide oluşturduğu ilerleme sayesinde bitkilere tedavi amaçlı yönelmeyi azaltsa da, bu yüzyılın sonlarına doğru ucuz ve kolay ulaşılabılır olması, toksik ve yan etkilerinin az olması, doğal olması sebebiyle bitkiler popüler olmuşlardır.³⁵ Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ)' nün raporuna göre 20.000 civarında bitki; baharat ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır.¹⁴¹ Günümüzde insanların az işlem görmüş, kimyasal katkı maddeleri kullanılmamış gıdalara yönelmesinden dolayı baharat ve özütlerinin gıdayı koruma amaçlı kullanılmalarının önemi oldukça artmıştır. Hem kimyasal katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki zararlarının ortaya çıkması, hem de baharat niteliğindeki maddelerin faydalarını ortaya koyan birçok çalışmanın yapılmış olması, gıdalarda baharat kullanımı daha büyük önem kazanmıştır.^{1, 5,39,139,140,142,143} Çeşitli baharatların, bitkilerin, sebze ve meyvelerin tüketiminin pek çok hastalığın yanı sıra kanser ve kardiyovasküler hastalıklara da yakalanma riskini azalttığı literatürde kaydedilmiştir.¹⁻⁵

Bitki sebze ve meyvelerin bu özelliği içerdikleri antioksidan maddelerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Antioksidan maddeler hem besinlerin korunmasını artırırken, hem de çabuk bozulabilen nitelikteki gıdaların raf ömrünün uzatılmasında büyük önem taşımaktadır. Bu yüzden çok sayıda antioksidan madde besin endüstrisinde ticari değeri yüksek olarak kullanılmaktadır.^{7,39} Antioksidanlar 'serbest radikaller' olarak isimlendirilen maddelere karşı etki gösterirler. Bu maddeler bir elektrona ihtiyaç duyarlar ve bu yüzden de yüksek derecede reaktiftirler. Serbest radikaller organizmalarda hücre membranında lipitler gibi kritik yapılardan ve organellerden elektron çalabilir ve böylece

elektronunu kaybeden bileşen serbest radikal gibi davranmaya başlayıp zincirleme bir reaksiyonu başlatacaktır. Bu sürecin devamında organizmda redoks dengesi bozulacaktır.¹⁰ Organizmanın antioksidanları tarafından ROS' ler ve metal iyonları (örneğin Fe⁺³) gibi serbest radikallerin üretimi engellenmezse oksidatif stres olarak adlandırılan anormal bir durum ortaya çıkacaktır. Oksidatif stresin hastalıkların büyük bir çoğunluğu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir.⁷³ Oksidatif stres durumunda yaygın olarak görülen mekanizma polidoymamış yağ asitlerinin oksidasyona (LPO) uğramasıdır.¹⁴⁴ Antioksidanlar (radikal süpürücüler, redükleyici ajanlar, prooksidan metallerin kompleksörleri, singlet oksijen söndürücüler gibi) bu patolojik durumun ortaya çıkmasını önleyerek organizmayı korurlar.^{14,15}

Antioksidan potansiyel etkinin belirlenmesinde en önemli parametrelerden biri fenolik maddelerdir.²³ Antioksidan kapasitesi fenolik maddenin çeşidine bağlı olarak değişmesine rağmen, bir ekstraktın toplam fenolik içeriği ekstraktın antioksidan aktivitesi ile genellikle uyumluluk gösterir. Bundan dolayı pek çok bitki ekstraktının antioksidan aktivitesinin ekstrakta bulunan fenolik maddelerden kaynaklandığı görüşü yaygın olarak kabul edilmiştir.^{7,60,136,138} Günümüzde sentetik antioksidanlar hakkındaki kuşkulardan dolayı, insanlar doğal antioksidanları (bitkilerde bulunan) tercih etmektedir.²² Bu yüzden bitkilerle beraber baharat ekstraktlarının antioksidan etkilerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır.^{1,4,5,24-26,142, 143,145-150} Yapılan bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak kullanılan baharatlardan meyan kökü ve karanfilin antioksidan aktivite, fenolik bileşik miktarı ve indirgeyici güçleri yönünden araştırıldı. Baharat örneklerinin her bir türü için su, etanol-su, metanol ekstraktları literatüre uygun yöntem kullanılarak elde edildi ve her ekstrakt ayrı ayrı deneylere alınarak değerlendirildi.

Karanfil; Myrtaceae familyasından anavatanı Endonezya olan, tek yıllık, çift yıllık ve çok yıllık olabilen bir ağaç cinsidir.⁴⁰ Karanfil ağacı dört mevsim yeşil kalır. Karanfil

ağacının tohumlarından elde edilen baharat, odunumsu, siyah renkli ve güzel kokuludur. Acımsı ve ekşi bir tada sahiptir. Bu baharatın biyolojik aktiviteleri konusunda literatürde bazı bilgilere ulaşılmıştır. Bu türün antioksidan etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir^{28,29,44} Bulgularımızda bu araştırmacıların bulguları vasıtasıyla desteklenmektedir.

Yapılan çalışmada karanfilin her üç ekstraktının antioksidan etkiye sahip olduğu belirlendi. Antioksidan aktivite en yüksek etanol-su, su ekstresi, orta düzeyde ise metanol ekstresinde olduğu belirlendi. Doza bağımlı olarak su ekstresinde % 80.0, 82.0, 82.0, etanol-su ekstresinde % 88.0, % 90.0 ve % 92.0 metanol ekstresinde % 80.0, 82.0, 83.0 ise sırasıyla oranında antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve Şekil 4.5, 4.6, 4.7). Bu sonuçlardan anlaşılacağı üzere bu türün özellikle etanol-su ekstraktı doza bağımlı olarak yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu baharatlardan elde edilen ekstraktlar içerisinde antioksidan aktivite metanol < su < etanol-su şeklinde sıralanabilir. Fenolik bileşik miktarları su, etanol-su ve metanol ekstraktlarında sırasıyla 1.979 ± 0.008 , 3.904 ± 0.001 , 3.913 ± 0.003 ; 3.705 ± 0.001 , 3.798 ± 0.002 , 3.896 ± 0.002 ; 3.507 ± 0.002 , 3.873 ± 0.002 , 3.975 ± 0.001 olarak tespit edildi (Tablo 4.2, 4.3, 4.4). Görüldüğü gibi karanfilin su, etanol-su ve metanol ekstraktları fenolik bileşik miktarı bakımından zengindir. Ekstraktlar arasındaki toplam fenolik bileşik miktarları sıralandığında su < metanol < etanol-su şeklinde gösterilebilir. Diğer yandan İG; su, etanol-su ve metanol ekstraktları için sırasıyla 1.672 ± 0.001 , 3.703 ± 0.003 , 3.734 ± 0.001 ; 2.057 ± 0.002 , 3.699 ± 0.001 , 3.809 ± 0.003 ; 1.366 ± 0.002 , 3.551 ± 0.002 , 3.631 ± 0.052 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2, 4.3, 4.4). Görüldüğü gibi karanfilin su ve etanol-su ekstraktları toplam fenolik bileşik miktarı açısından oldukça zengindir ve en yüksek antioksidan potansiyelde bu ekstraktlar tarafından belirlenmiştir. Yüksek antioksidan aktivitenin tespit edildiği etanol-su ekstraktında belirlenen İG' de diğer

ekstraktlardan daha yüksek bulunmuştur. Yani antioksidan aktivite, TFB miktarına ve İG'ye sıkı sıkıya bağlıdır. Bu durum literatürlerde de benzer şekilde kaydedilmiştir.

Meyan kökü Fabaceae familyasından olup, vatanı Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Ukranya ve Rusya'dır. Çok yıllık bir bitki olup sulak ve nemli yerelerde yabani olarak yetişir.⁵² Yapılan analizler sonucunda % 2-5 triterpenik saponin, steroller, flavonoidler, isoflavonoidler, flavonlar, kumarinler ve glabiridin içerirler.^{53,54} Bu baharat ekstraktlarında gözlenen çok yüksek fenolik bileşik miktarlarının bu bitkinin sahip olduğu flavonitlerden ileri geldiği söylenebilir. Bu baharatın içerdiği ana madde *Glycyrrhizin* adlı glikozit çay şekerinden 50, sükrozdan 150 kat daha tatlı bir maddedir. Diğer yandan bu baharatın biyolojik aktiviteleri konusunda da literatürlerde bazı bilgilere ulaşılmıştır. Birçok çalışmada meyan kökünün, üst solunum yolları ve bronşit için mukolitik etkili ekspektoran⁵⁵ antimikrobiyal, antikuagülatif, anksiyolitik,⁵³ antidepresan, antidiabetik, renovasküler, kardiyovasküler, gastrointestinal, genitouriner, göz, deri ve diğer hastalıklarında kullanılır.⁵⁷

Yapılan bu çalışmada meyan kökünün her üç ekstraktı içinde yüksek antioksidan aktivite gözlenirken, metanol ekstraktında bu aktivite biraz düşüktü. Doza bağlı olarak sırasıyla su ekstraktı % 85.0, 88.0, 91.0; etanol-su ekstraktında % 84.0, 92.0, 92.0; metanol ekstraktında % 70.0, 83.0, 85.0 oranında antioksidan etki gösterdiği belirlendi (Tablo 4.5, 4.6, 4.7 ve Şekil 4.8, 4.9, 4.10). Bu sonuçlardan anlaşılacağı üzere meyan kökü yüksek dozda antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu baharatlardan elde edilen ekstraktlar içerisinde de en yüksek etanol-su en düşük ise metanol ekstraktlarıdır. Bu sonuçlara bakılarak su, etanol-su ve metanol ekstraktlarında doza bağlı olarak antioksidan aktivitede artış gözlenmektedir. Aralarındaki ilişki ise metanol < su < etanol-su şeklinde gösterilebilir. TFB miktarları ise su, etanol-su ve metanol ekstraktları için sırasıyla 0.371±0.001, 1.173±0.001, 1.992±0.001; 0.430±0.002, 1.463±0.001, 2.472±0.001;

0.421±0.001, 3.507±0.001, 3.871±0.001 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5, 4.6, 4.7) Diğer yandan İG; su, etanol-su ve metanol ekstraktları için sırasıyla 1.672±0.001, 3.704±0.003, 3.734±0.001; 0.329±0.001, 0.933±0.001, 1.762±0.002; 0.264±0.002, 0.864±0.003, 1.112±0.008 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5, 4.6, 4.7). Bunlar arasındaki ilişki de metanol < etanol-su < su şeklinde gösterilebilir. Meyan kökü ekstraktlarına bakıldığında fenolik bileşik miktarları ile antioksidan aktivite arasında bir paralellik gözlemlendi.

Antioksidan potansiyelin etkin belirlenmesinde en dikkat çekici parametrelerden birisi fenolik maddelerdir. Fenolik maddelerin çeşide bağlı olarak antioksidan kapasiteyi değiştirebilmesine rağmen bir ekstraktın toplam fenolik içeriği ekstraktın antioksidan aktivitesi ile genellikle uyumluluk gösterir. Bizim bulgularımız da literatürdeki verilerle uyum içerisindedir. Nitekim deneylerimizde yüksek antioksidant aktivite belirlediğimiz ekstraktlardaki fenolik madde içeriklerinin de diğerlerinden daha yüksek olduğunu tespit ettik. Aynı şekilde indirgeyici güç miktarlarında fenolik içerik ve antioksidant aktivite miktarlarıyla benzer olarak ilişki içerisindeydi.

İG; bir bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesinde önemli bir etken olabilir.¹⁵¹ Bizim deneylerimizde antioksidan aktivitenin yüksek olduğu bazı ekstraktlardaki İG' nin de yüksek olduğu gözlemlendi. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan ekstraktların İG' nin yüksek olabileceği literatürlerde kaydedilmiştir.¹⁵² İG' den kasıt elektron verme veya elektronu radikal moleküle aktarabilme potansiyelini ifade eder. İG' si yüksek olan bir ekstraktın antioksidan potansiyelinde yüksek olmasının beklenmesi ise gayet doğal olarak karşımızda durmaktadır.

Mevcut araştırmaya göre, antioksidan aktivitenin düşük olduğu ekstraktlarda, indirgeme gücünün ve fenolik miktarlarında da düşük olabileceğini söylemek

mümkündür. Ancak bazı ekstraktlarımız için de böyle bir ilişkiden söz edemeyiz. Nitekim; bitki ekstraktlarındaki yüksek antioksidatif etki, elbette ekstraktın içerdiği antioksidatif özellikteki moleküllerden ileri gelmektedir. Antioksidan bileşikler, antioksidatif etkinliklerini değişik mekanizmalarla (geçiş metallerini bağlayabilirler, peroksitleri parçalayabilirler, hidrojen koparılmasını engelleyebilirler, moleküllerin radikal özelliklerini ortadan kaldırabilirler. v.s.) ortaya koyabilirler. Bir ekstraktın antioksidan aktivitesini çok değişik faktörlerin etkileyebilmesi, antioksidan aktivitenin ana kaynağının ve diğer faktörlerin katkısının tespitini zorlaştırmaktadır. Ana etkenin ne olduğunun tespiti için ekstrakttaki her bir bileşik hakkında çok sayıda veriye (indirgeme gücü, serbest metal bağlayabilme, radikal giderebilme, peroksit giderebilme, süperoksit giderebilme yetenekleri) ihtiyaç vardır. Bu amaçla TFB miktarı ve İG' lerinin tespit edilmesi antioksidan aktivitenin kaynağı hakkında bize bilgi verecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Dünya çapında ve ülkemizde yaygın kullanım gösteren baharatlardan karanfil ve meyan kökü isimli türler antioksidan aktivite, fenolik bileşik miktarı ve indirgeyici güç yetenekleri yönünden araştırıldı.
2. Baharat örneklerinin her bir türü için su, etanol-su ve metanol ekstraktları literatürlerdeki uygun yöntemler kullanılarak elde edildi ve her ekstrakt ayrı ayrı deneylere alınarak değerlendirildi.
3. Baharat örneklerinden elde edilen ekstraktlardaki antioksidan aktivite en yüksek düzeyde karanfil ve meyan kökünün etanol-su ekstraktlarında, diğer ekstraktlarda da buna yakın düzeyde olduğu belirlendi.
4. Ekstraktlarda toplam fenolik bileşiklerin miktarı antioksidan aktivite ile paralel olarak arttığı belirlendi. İndirgeyici güçlerinin ise fenolik bileşiklerin miktarları ile sıkı sıkıya bağlantılı olduğu tespit edildi.
5. Bu araştırmada deney materyali olarak kullanılan baharat türlerinin sahip oldukları antioksidan potansiyel, fenolik bileşik miktarları ve indirgeme yetenekleri gözönüne alınarak, çeşitli *in vivo* ve *in vitro* biyolojik aktivite çalışmalarında öncelikli olarak değerlendirilebilecekleri kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Nadooshan MJ, Ghazanfari T, Taghizadeh M, Astaneh SD. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. *Journal of Food Science*, 2010, 75: H54-61.
2. Heinonen MI, Meyer AS, Frankel EN. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 46: 4107-4112.
3. Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53: 7749-59.
4. Gruenwald J, Freder J, Armbruester N. Cinnamon and health. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 2010, 50: 822-34.
5. Gürson O, Özçelikay G. Tarçının Tarih Boyunca ve Günümüzdeki Kullanımı. *OTAM*, 2005, 18: 171-183.
6. Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Suleyman H, Karagoz Y, Halici M, Bayir Y. Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. . *Phytother Res 2004b*, 18 938-18941.
7. Odabasoglu F GM, Cakir A, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Yazici K. . Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of three lichen species growing in Turkey. 19th European Workshop on Drug Metabolism 2004a. October 03-08. Antalya, Turkey.
8. Halıcı M. Ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde “Usnea longissima” dan elde edilen su ekstresinin antiülserojenik ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri

üzerine etkilerinin araştırılması. Sağ Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Erzurum. 2003.

9. Lee KY, Weintraub ST, Yu BP. Isolation and identification of a phenolic antioxidant from *Aloe barbadensis*. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28: 261-265.
10. Zhang D, Yasuda T, Yu Y, Zheng P, Kawabata T, Ma Y, Okada S. Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 1996, 20: 145-150.
11. Osawa T. Protective role of dietary polyphenols in oxidative stress. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1999, 111: 133-139.
12. Odabasoglu F. Antioksidan vitaminler. *Pharma Şark 2006b*, 1: 19-21.
13. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacine-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology 2006a*, 103: 59-65.
14. Przybylski R, Lee Y, Eskin NAM. Antioxidant and radical-scavenging activities of buckwheat seed components. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1998, 75: 1595-1601.
15. Xing. Y, White PJ. Identification and function of antioxidants from oat groats and hulls. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1997, 74: 303-307.
16. Ommaty R. Vademecum. *İstanbul: Pelikan Yayınları: Yayınevi Genel Dizisi, İstanbul, 2010.*
17. Altun R, Özden A. Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp. *Güncel Gastroenteroloji 2004*, 8: 12
18. Topuz E. Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp: Onkoloji Tedavisindeki Güncel Durum. *İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü İstanbul, 2005.*

19. Özçandır S, Yetim H. Akıllı Ambalajlama Teknolojisi ve Gıdalarda İzlenebilirlik. *Electronic Journal of Food Technology*, 2010, 5: 1-11.
20. Uncu EB, Veliöglu YS. Ambalajlamanın Raf Ömrü Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 2008, 6: 27-34.
21. Şahin M. Gıda Kalitesi ve Gıda Güvenliği. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitirme Tezi Samsun, 2001.
22. Schwarz K, Bertelsen G, Nissen LR, Gardner PT, Heinonen MI. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research Technology*, 2001, 212: 319-328.
23. Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del-Rio JA. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L-leaves. *Food Chemistry*, 2000, 68: 457-462.
24. Baytop A. Farmasötik Botanik. *İstanbul, Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dilek Matbaası Yayınları.*, 1983: 3158.
25. Kurokawa M, Kumeda CA, Yamamura J, Kamiyama T, Shiraki K. Antipyretic activity of cinnamyl derivatives and related compounds in influenza virus-infected mice. *European Journal of Pharmacology*, 1998, 348: 45-51.
26. Pamuk A. Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. *İstanbul: Pamuk Yayıncılık ve Matbaacılık*, 1998, 656.
27. Doll. Vd. Spices: Quality control and standards. *Perfumer and Flavorist*, 1981, 5: 3-10.
28. Adefegha SA, Oboh G. In vitro inhibition activity of polyphenol-rich extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Clove) buds against carbohydrate

hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat pancreas. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012: 774-781.

29. Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C, Salgueiro L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 2009, 58: 1454-1462.
30. Nassar MI, Gaara AH, El-Ghorab AH, Farrag ARH, Shen H, Huq E, Mabry TJ. Chemical Constituents of Clove and their Antioxidant Activity. April 2007.
31. Tangke AE, Eri M, Wijaya IK, Edi S, Kuniyashi S, Ryuichino K. Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. *Fitoterapia*, 2011, 82: 198-202.
32. Liao WC, Lin YH, Chang TM, Huang WY. Identification of two licorice species, *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra*, based on separation and identification of their bioactive components. *Food Chemistry*, 2012, 132: 2188-2193.
33. Dhingra D, Parle M, Kulkarni SK. Memory enhancing activity of *Glycyrrhiza glabra* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004, 91: 361-365.
34. Vaya J, Belinky PA, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, 23: 302-313.
35. Gürsoy OV, Gürsoy UV. Anadolu'da Diş Ve Dişeti İle İlgili Hastalıkların Tedavisinde Halk Arasında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler, Kullanım Şekilleri Ve Bitkisel Özellikleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2004, 7: 10
36. Khan MSA, Ahmad I. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 140: 416-423.

37. Üner Y, Aksu H, Ergün Ö. Baharatın Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2000, 26: 1-10.
38. Yıldız G, Kılınç E, Ülküseven S. Rize'nin Bazı İlçelerinde (Pazar, Ardeşen,Çayeli) Yaşayan Ailelerin Baharat Kullanım Alışkanlıkları Üzerine Bir Araştırma *MYO-ÖS 2010- Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu*, 21-22 Ekim 2010.
39. Çoşkun F. Gıdalarda Kullanılan Bazı Baharat ve Baharat Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Akademik Gıda*, 2010, 8: 41-46.
40. Kaya Y. Tohumlu Kitabı. Erzurum, 1999: 313-315.
41. Ivanovic J, Dimitrijevic S, Misic D, Ristic M, Zizovic I. Evaluation and improvement of antioxidant and antibacterial activities of supercritical extracts from clove buds. *Journal of Functional Foods*, 2012, 13
42. D. Av-Pa, N. Pn, Quintero L, Su'arez-Roca H. Antinociceptive activity of Syzygium jambos leaves extract on rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111: 380–385.
43. Panahi Y, Akhavan A, Sahebkar A, Hosseini SM, Taghizadeh M, Akbari H, Sharif MR, İmami S. Investigation of the effectiveness of Syzygium aromaticum, Lavandula angustifolia and Geranium robertianum essential oils in the treatment of acute external otitis: A comparative trial with ciprofloxacin. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2012.
44. Mishra RK, Singh SK. Safety assessment of Syzygium aromaticum flower bud (clove) extract with respect to testicular function in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 3333–3338.
45. Machado M, Dinis AM, Salgueiro L, Custódio JBA, Cavaleiro C, Sousa MC. Anti-Giardia activity of Syzygium aromaticum essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Experimental Parasitology*, 2011, 127: 732–739.

47. Al-Sohaibani S, Murugan K, Lakshimi G, Anandraj K. Xerophilic aflatoxigenic black tea fungi and their inhibition by *Elettaria cardamomum* and *Syzygium aromaticum* extracts *Saudi Journal of Biological Science*, 2011, 18: 387-394.
48. Shukri R, Mohamed S, Mustapha NM. Cloves protect the heart, liver and lens of diabetic rats. *Food Chemistry*, 2010, 122: 1116 -1121.
49. Prashar A, Locke IC, Evans CS. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*, 2006, 39: 241-8.
50. Abdel -Wahhab MA, Aly SE. Antioksidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Physiology*, 2005, 25: 218-223.
51. Çınar İ. Sıcaklık ve Sürenin Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Ekstraksiyonuna Etkisi ve Ekstraksiyon Kinetiğinin Modellenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 2012, 7: 21-30.
52. Akan H, Balos MM. GAP Bölgesi'nden Toplanan Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Taksonunun İhracat Durumu, Etnobotanik Özellikleri ve Tıbbi Önemi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 2008, 20: 233-241.
53. Khattak FM, Simpson JT. Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical scavenging activities of *Glycyrrhiza glabra* root. *Radiation Physics and Chemistry*, 2010, 79: 507-512.
54. Ojha S, Golechha M, Kumari S, Bhatia J, Arya DS. *Glycyrrhiza glabra* protects from myocardial ischemia-reperfusion injury by improving hemodynamic, biochemical, histopathological and ventricular function. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2013, 65: 210-227.
55. Montoro P, Maldini M, Russo M, Postorino S, Piacente S, Pizza C. Metabolic profiling of roots of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) from different geographical areas

- by ESI/MS/MS and determination of major metabolites by LC-ESI/MS and LC-ESI/MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, 54: 535-544.
56. Gürün MS, Süzer Ö. *Bitkisel ilaçlar*, 3. baskı, Ankara, Klinisyen Tıp Kitabevleri, 2005: 533-540.
57. Cheel J, Antwerpen PV, Tumova L, Onofre G, Vokurkova D, Zouaoui-Boudjeltia K, Vanhaeverbeek M, Neve J. Free radical-scavenging, antioksidan and immunostimulating effects of a licorice infusion (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Food Chemistry*, 2010, 122: 508-517.
58. Chandrasekaran CV, Deepak HB, Thiagarajan P, Kathiresan S, Sangli GK, Deepak M, Agarwal A. Dual inhibitory effect of *Glycyrrhiza glabra* (GutGard) on COX and LOX products. *Phytomedicine*, 2011, 18: 278-284.
59. Rucker RB, Steinberg F. Vitamin C. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 2004, 4: 367-371.
60. Halıcı M. Bazı Likenlerden İzole Edilen Maddelerin Sıçanlarda İndometazin ile Oluşturulan Ülser Modelinde Antiülser Mekanizmalarının Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi Erzurum, 2008.
61. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2003, 2: 7.
62. Tuncer ŞD. Vitaminler. *Pozitif Yayıncılık, Ankara*, 2006: 117-118.
63. Fox PF, McSweeney PLH. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, 5th ed. London, 1998: 289-291.
64. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College Nutrition*, 2003, 22: 18-35.

65. Malo C, Wilson JX. Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. *Journal Nutrition*, 2000, 130: 63-69.
66. Rose RC, Choi JL. Intestinal absorption and metabolism of ascorbic acid in rainbow trout. *Am J Physiol*, 1990, 258: 1238-1241.
67. Olson JA, Hodges RE. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1987, 45: 693-703.
68. Huges DA. Dietary antioxidants and human immune function. *British Nutrition Foundation*, 2000, 25: 35-41.
69. Wu CC, Dorairajan T, Lin TL. Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000, 74: 145-152.
70. Perdue SL, Thaxton JP, Brake J. Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. *Journal of Applied Physiology*, 1985, 58: 1511-1516.
71. Iqbal K, Khan A, Khattak MMAK. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health. *Pakistan Journal Nutrition*, 2004, 3: 5-13.
72. Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, Banerjee RK. Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 40: 1397-1408.
73. Vatn S, Sjaastad OV, Ulvund MJ. Histamine in lambs with abomasal bloat, haemorrhage and ulcers. *Journal Veterinary Medicine. A Physiology, Pathology Clinical Medicine*, 2000, 47: 251-5.
74. Sullivan M, Yool DA. Gastric disease in the dog and cat. *The Veterinary Journal*, 1998, 156: 91-106.

75. Halpern SL. Quick reference to clinical nutrition a guide for physicians. *Philadelphia (USA)*, 1979: 175-176.
76. Belaiche J, Burette A, De Vos M, Louis E, Huybrechts M, Deltenre M. Observational survey of NSAID-related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 2002, 65: 65-73.
77. Brendan JRW. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 500: 427-439.
78. Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA, Motilva V, Herrerias JM, Martin MJ. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response. *Life Science*, 2004, 74: 873-884.
79. Jainu M, Devi CS. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chemical Biological Interactions*, 2006, 161: 262-270.
80. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports and Online*, 2007, 59: 247-258.
81. Burke A, Smyth E, Fitz Gerald GA. In Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. *Laurence L. Brunton, Ed.; Mc Graw-Hill Companies: New-York*, 2006, 11: 671-717.
82. Simon LS. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *American Journal of Medicine*, 1999, 106: 37-42.
83. Maricic N, Ehrlich K, Gretzer B, Schuligoi R, Respondek M, Peskar BM. Selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors aggravate ischaemia-reperfusion injury in the rat stomach. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 128: 1659-1666.
84. İmik H, Fidancı UR, Sel T. Ankara Keçisi oğlaklarında C ve E vitaminlerinin metabolik strese karşı etkisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1999, 15: 47-53.

85. Hawkey CJ. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Practical Research Clinical Gastroenterology*, 2001, 15: 801-820.
86. Laine L. Gastrointestinal effects of NSAIDs and coxibs. *Journal of Pain and Symptom Management*, 2003, 25: 32-40.
87. McCorkle F, Taylor R, Stinson R, Day EJ, Glick B. The effects of a mega level of vitamin C on the immune response of the chicken. *Poultry Science*, 1980, 59: 1324-1329.
88. Takeuchi K, Kagawa S, Mimaki H, Aoi M, Kawauchi S. COX and NOS isoforms involved in acid-induced duodenal bicarbonate secretion in rats. *Digestive Disease and Sciences*, 2002, 47: 2116-2124.
89. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 219: 1-14.
90. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayın*, 2000: 1-35.
91. Weis SJ, LoBuglio AF. Biology of disease: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory investigation*, 1982, 47: 5-18.
92. Akkuş T. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. 1. Baskı, *Konya, Mimoza Yayınları*, 1995: 1-80.
93. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 2007: 1-9.
94. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radic Biology and Medicine*, 1985, 1: 3-25.
95. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.

96. Szabo S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. *Scand Journal of Gastroenterology Supplement*, 1987, 127: 21-8.
97. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions. *Molecular Biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
98. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of Royal Society Medicine*, 1989, 82: 747-752.
99. Auroma O. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 5: 53-63.
100. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceeding of the National Academy Sciences of the United States of America*, 1993, 90: 7915-7922.
101. Robison TW, Murphy JK, Beyer LL, Richters A, Forman HJ. Depression of stimulated arachidonate metabolism and superoxide production in rat alveolar macrophages following in vivo exposure to 0.5 ppm NO₂. *Journal of Toxicol Environment Health*, 1993, 38: 273-292.
102. Aslan R, Dündar Y. Bir fizyolojik eleman ve radikal olarak azot oksit. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 1998, 8: 34-38.
103. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1984, 4: 1089-1095.
104. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 1991, 37: 1932-1937.
105. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 412-426.

106. Georgieva NV. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 8: 1-11.
107. Baccanari DP. Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1978, 191: 351-357.
108. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Archives Pharmcal Research*, 2007, 30: 1426-1434.
109. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Office Journal of the Turkish Nephrology Association*, 1997: 3-4: 92-95.
110. Prichard M, Ducharme NG, Wilkins PA, Erb HN, Butt M. Xanthine oxidase formation during experimental ischemia of the equine small intestine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1991, 55: 310-314.
111. Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, Costello RB. Free radicals: the pros and cons of antioxidants. Executive summary report. *Journal of Nutrition*, 2004, 134: 3143-3163.
112. Doctor RB, Mandel LJ. Minimal role of xanthine oxidase and oxygen free radicals in rat renal tubular reoxygenation injury. . *Journal of the American Society of Nephrology*, 1991, 1: 959-69.
113. Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, Freeman BA. Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. Kinetic characterization and oxidative impairment of nitric oxide-dependent signaling. *J Biol Chem*, 1999, 274: 4985-4994.
114. Hirata F, Hayaishi O. Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3-dioxygenase reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 1971, 246: 7825-7826.

115. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985, 312: 159-163.
116. Hung-Hai K, Brunk UT, Sohal RS. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology and Medicine*, 1993, 15: 621-627.
117. Ersoy A, Dilek K. Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1999, 1: 1-4.
118. Jana AK, Agarwal S, Chatterjee SN. Membrane lipid peroxidation by ultrasound: Mechanism and Implications. *Journal of Bioscience*, 1990, 15: 211-215.
119. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of American Society of Nephrology*, 2003, 14: 221-226.
120. Comporti M. Biology of disease: lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Laboratory investigation*, 1985, 53: 599-623.
121. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett*, 1991, 281: 9-19.
122. Panduri V, Weitzman SA, Chandel NS, Kamp DW. Mitochondrial-derived free radicals mediate asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis. *American Journal Physiology Lung Cellular Molecular Physiology*, 2004, 286: 1220-1227.
123. Davies KJA, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.
124. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Annals Emergency Medicine*, 1986, 15: 1075-1083.

125. Goulart M, Batoreu MC, Rodrigues AS, Laires A, Rueff J. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 2005, 20: 311-5.
126. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181-182: 219-22.
127. Hudson N, Everitt S, Edwards T. Elevation of gastric mucosal leukotriene B4 levels of patients on long-standing NSAID therapy. *Gastroenterology*, 1991: 100-A86.
128. Long CA, Bislskl HJ. Rate of Reaction of Superoxide Radical with Chloride-Containing Species. *The Journal of Physical Chemistry*, 1980, 84: 555-557.
129. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. . *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.
130. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrah Paşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 140-149.
131. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 2003, 329: 23-38.
132. Simpson JA, Narita S, Gieseg S, Gebicki S, Gebicki JM, Dean RT. Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochemical Journal*, 1992, 282: 621-624.
133. Epe B, Ballmaier D, Adam W, Grimm GN, Saha-Möller CR. Photolysis of N-hydroxypyridinethiones: a new source of hydroxyl radicals for the direct damage of cell-free and cellular DNA. *Nucleic Acids Research*, 1996, 24: 1625-1631.
134. Jornot L, Petersen H, Junod AF. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochemical Journal*, 1998, 335: 85-94.

135. Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo*, 1996, 19: 210-214.
136. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Endology and Viticulture*, 1977, 28: 49-55.
137. Yen GH, Chen HY. Antioxidant activity of a various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 43: 27-32.
138. Shelef LA. Antimicrobial effects of spices. 1983; 6: 29-44. *Journal of Food Safety*, 1983, 6: 29-44.
139. Giese J. Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. *Food Technology*, 1994, 48: 87-98.
140. Kalaycıoğlu A, Öner CTJB. Bazı bitki ekstraksiyonlarının antimutajenik etkilerinin Amest-Salmonella test sistemi ile araştırılması. *Turkish Journal of Botany*, 1994, 18: 117-122.
141. Aran N. Baharatın antimikrobiyal etkileri. 20. *Diyabet ve Beslenme Günleri*, 5. *Diyabet Yıllığı*, 16-18 Haziran, İstanbul, 1988: 383-387.
142. Akgül A. Baharatlar: Lezzet, koku ve renk dünyası. *Gıda Sanayii*, 1997, 48:27-34. .
143. Cos P, Calomme M, Sindambiwe J, De Bruyne T, Cimanga K, Pieters L, Vlietinck AJ, Vanden BD. Cytotoxicity and lipid peroxidation-inhibiting activity of flavonoids. *Planta Medica*, 2001, 67: 515-519.
144. Aruna K, Sivaramakrishnan VM. Anticarcinogenic effects of some Indian plant products. *Food and Chemical Toxicology*, 1992, 30: 953-956.
145. Kurucu S, Koyuncu M, Güvenç KA, Başer KHC, Özek T. The essential oils of *Rhus coriaria* L. (sumac). *Journal of Essential Oil Research*, 1993, 5: 481-486.
146. Bettaieb I, Bourgou S, Wannes WA, Hamrouni I, Limam F, Marzouk B. Essential Oils, Phenolics, and Antioxidant Activities of Different Parts of Cumin(*Cuminum*

- cuminum L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(19): 10410-10418. .
147. Pruthi JS. *Spices and Condiments: Chemistry, Microbiology, Technology*. Academic Press London and New York, 1980: 449.
148. Mathew S, Abraham TE. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, 94: 520-528.
149. Başoğlu F, Cemeroglu B. Sumak'ın kimyasal bileşimi üzerine araştırma. *Gıda*, 1984, 84: 167-172.
150. Meir S, Kanner J, Akiri B, Philosoph-Hadas S. Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43: 1813-1819.
151. Lugasi A, Dworschák E, Latif S, Barna E, al. GAe. Comparison of characteristic components from chickens of different genotype kept in intensive and extensive farming systems. *Nahrung*, 1994, 40: 319-325.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

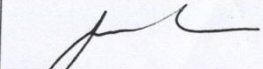
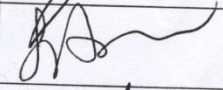
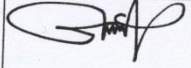
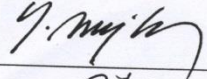
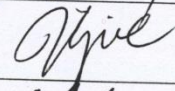
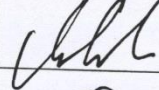
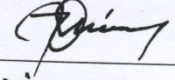
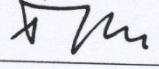
Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı: Zerrin KUTLU Doğum tarihi: 21.01.1983 Doğum yeri: Erzurum Medeni hali: Bekar Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0442 231 55 43 Faks: 0442 236 09 65 E-mail: kutluzerrin@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p>Lise: Atatürk Lisesi (2002) Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi (2003-2007) Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2011-2013) Doktora:Üniversitesi Fakültesi, Anabilim Dalı (-)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce: Orta derecede (65.00, Ekim 2008)</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU

"2013. 1.1/1 "SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 25.01.2013

1.1/ 1 - Enstitümüz Biyokimya(Eczacılık) Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Zerrin KUTLU'nun " Meyankökü (Glycyrrhiza Glabra) Ve Karanfil (Syzygium Aromaticum) Baharatlarından Elde Edilen Ekstraların İn Vitro Antioksidant Özelliklerinin Araştırılması " tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Doç. Dr. Ayşe OKANLI	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. Samih DIYARBAKIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Ahmet YILDIZ	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr.Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr. İlhan ŞEN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi ve Raportör	
Yrd.Doç.Dr.Engin SAYGIN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı