



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
KİM-YL-2011-0001**

**DOĞAL VE SENTETİK ANTIOKSİDAN
BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN
KAPASİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Rukiye YAVAŞER

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

AYDIN

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
KİM-YL-2011-0001**

**DOĞAL VE SENTETİK ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİN
ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**




Rukiye YAVAŞER

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Rukiye YAVAŞER tarafından hazırlanan “Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması” başlıklı tez, 04.08.2011 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Bengi ERDAĞ	ADÜ	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

08/08/2011

Rukiye YAVAŞER

ÖZET

DOĞAL VE SENTETİK ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Rukiye YAVAŞER

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Arife Alev KARAGÖZLER
2011, 104 sayfa

Bu çalışmada sentetik ve doğal antioksidan bileşiklerin beş farklı yöntemle *in vitro* antioksidan aktiviteleri ölçülmüş ve karşılaştırılmıştır. Sentetik antioksidanları temsil etmek üzere bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), etoksikuin ve propil gallat, doğal antioksidan bileşiklere örnek olarak epikatekin, fisetin, flavon, gallik asit, kaempferol, kafeik asit, karnosol, klorojenik asit, kuersetin, luteolin, mirisetin, naringenin, rutin, sinnamik asit, siyanidin klorür, taksifolin, Vitamin A, Vitamin C ve Vitamin E bileşikleri seçilmiştir. Antioksidan aktivite tayinleri olarak Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC), DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini, İndirgeme Gücü Tayini, Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) ve Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) yöntemleri kullanılmıştır. FTC yöntemi sonucu sentetik antioksidanlar BHT>BHA>etoksikuin>propil gallat sırasıyla aktivite gösterirken doğal antioksidanlardan luteolin, kuersetin, karnosol, ve Vitamin E birbirine yakın; DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde etoksikuin>propil gallat>BHA>BHT sırasıyla aktivite gösterirken kaempferol, taksifolin, karnosol, Vitamin C birbirine yakın bulunmuştur. İndirgeme gücü ve TEAC yöntemlerinde sentetik antioksidanlar propil gallat>BHA>etoksikuin>BHT bulunurken; doğal antioksidanlardan fisetin, mirisetin, gallik asit ve kuersetin birbirine yakın; CUPRAC yönteminde propil gallat>BHA>BHT>etoksikuin sırasıyla aktivite gösterirken, doğal antioksidanlardan fisetin, gallik asit, kafeik asit ve luteolin birbirine yakın bulunmuştur. Sonuç olarak besinlere koruyucu ve katkı maddesi olarak katılan sentetik antioksidanların yerine kullanılmak üzere aynı düzeyde aktivite gösteren luteolin, kuersetin, karnosol, gallik asit ve fisetin gibi doğal antioksidanların iyi birer aday olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sentetik antioksidan, doğal antioksidan, total antioksidan aktivite, DPPH, TEAC, CUPRAC, indirgeme gücü.

ABSTRACT**COMPARISON OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF NATURAL AND SYNTHETIC ANTIOXIDANT COMPOUNDS**

Rukiye YAVAŞER

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. Arife Alev KARAGÖZLER
2011, 104 pages

In this work, *in vitro* antioxidant activity of various synthetic and natural antioxidant compounds were measured and compared using five different antioxidant activity methods. Butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), ethoxyquin and propyl gallate were selected as representatives of synthetic antioxidants. The natural antioxidants were epicatechin, fisetin, flavone, gallic acid, kaempferol, caffeic acid, carnosol, chlorogenic acid, quercetin, luteolin, myricetin, naringenin, rutin, cinnamic acid, cyanidin chloride, taxifolin, Vitamin A, Vitamin C and Vitamin E. The antioxidant measurement methods used were Total Antioxidant Activity Assay by Ferric Thiocyanate Method (FTC), DPPH Radical Scavenging Activity Method, Reducing Power Assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay (TEAC) and Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity Assay (CUPRAC). Synthetic antioxidants followed BHT>BHA>ethoxyquin>propyl gallate order, natural antioxidants luteolin, quercetin, carnosol and Vitamin E showed similar activities when measured by FTC. In DPPH method ethoxyquin>propyl gallate>BHA>BHT showed activity orderly and for natural ones kaempferol, taxifolin, carnosol and Vitamin C were similar. In reducing power assay and TEAC, synthetic antioxidants followed the order propyl gallate>BHA>ethoxyquin>BHT and natural antioxidants fisetin, myricetin, gallic acid and quercetin were similar. By CUPRAC, propyl gallate>BHA>BHT>ethoxyquin and for natural ones fisetin, gallic acid, caffeic acid and luteolin activities were similar. In conclusion, judging from the high antioxidant capacities of natural antioxidants it can be said that luteolin, quercetin, carnosol, gallic acid and fisetin are good candidates as food preservatives and additives to be used in place of synthetic antioxidants.

Key words: Synthetic antioxidant, natural antioxidant, total antioxidant activity, DPPH, TEAC, CUPRAC, reducing power.

ÖNSÖZ

Bu çalışmada doğal ve sentetik antioksidan moleküllerin antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Bunun için besin endüstrisinde kullanılan sentetik antioksidanlar ile bitkilerden elde edilen ve moleküler özelliklerine göre seçilmiş doğal antioksidanların belirlenen beş ayrı antioksidan yöntemi ile antioksidan kapasite tayinleri yapılmış ve derişime bağlı kapasiteleri ile birlikte karşılaştırılmıştır.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca engin bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, maddi ve manevi destekleri ve ilgilerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım süresince gerek bilimsel gerekse maddi ve manevi katkılarından dolayı sevgili hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN'a; laboratuvar çalışmalarım ve tezimin yazılması sırasında sabır ve anlayış göstererek benden yardımlarını esirgemeyen Kimya Bölümü Arş. Gör. Murat UYGUN'a ve manevi desteğinden dolayı sevgili arkadaşım Kimya Bölümü Arş. Gör. Nevra ÖZTÜRK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin gerçekleştirilmesinde ve yazımındaki her türlü desteği ve ilgisinden dolayı değerli arkadaşım İsmail BAYRAKTAR'a ve yardımlarından dolayı arkadaşlarım Fatma ÇETİNYÜREK ve Çağdaş SUNNA'ya teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmaya "Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması" başlıklı FEF-10011 No'lu araştırma projesi olarak maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve olanaklarından yararlandığım Kimya Bölümü'ne teşekkür ederim.

Çalışmalarım, eğitimim ve daha da önemlisi hayatım boyunca beni anlayış ve hoşgörü ile karşılayan, maddi ve manevi yardımları ile destek olan aileme minnettar olduğumu belirtmek isterim.

Rukiye YAVAŞER

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxv
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	2
1.2. Antioksidanlar	4
1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	6
1.2.1.1. Doğal Antioksidanlar	7
1.2.1.2. Sentetik Antioksidanlar	15
1.3. Doğal ve Sentetik Antioksidanların Karşılaştırılması	15
1.4. Çalışmada Kullanılan Sentetik Antioksidan Moleküller	16
1.4.1. BHA (Bütillenmiş hidroksianisol)	16
1.4.2. BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen)	17
1.4.3. Etoksikuin	17

1.4.4. Propil Gallat	18
1.5. Çalışmada Kullanılan Doğal Antioksidan Moleküller	18
1.5.1. Epikatekin.....	18
1.5.2. Fisetin	18
1.5.3. Flavon	19
1.5.4. Gallik asit	19
1.5.5. Kaempferol	20
1.5.6. Kafeik Asit	20
1.5.7. Karnosol	20
1.5.8. Klorojenik Asit	21
1.5.9. Kuersetin	21
1.5.10. Luteolin	22
1.5.11. Mirisetin	22
1.5.12. Naringenin	23
1.5.13. Rutin	23
1.5.14. Sinnamik asit	24
1.5.15. Siyanidin klorür	24
1.5.16. Taksifolin	24
1.5.17. Vitamin A	25
1.5.18. Vitamin C (Askorbik asit)	25
1.5.19. Vitamin E (α -tokoferol)	26

1.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	28
1.6.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)	29
1.6.2. DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Tayini	29
1.6.3. İndirgeme Gücü Tayini	30
1.6.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)	31
1.6.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)	33
2. KAYNAK ÖZETLERİ	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM	42
3.1. Kimyasal ve Cihazlar	42
3.2. Yöntem	42
3.2.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi İle Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)	42
3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	43
3.2.3. İndirgeme Gücü Tayini	44
3.2.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)	44
3.2.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)	45
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	46
4.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC) Sonuçları	46
4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları	49
4.3. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları	61

4.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) Sonuçları	70
4.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları	80
5. SONUÇ	91
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	103

SİMGELER DİZİNİ

ABAP	2,2'-azobis-(2-amidinopropan)
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
CAT	Katalaz
CUPRAC	Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ET	Elektron Transferi
FRAP	Demir İyonlarını İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi
FTC	Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-S-Transferaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
HAT	Hidrojen Atom Transferi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (redükte)

ORAC	Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
SD	Standard Sapma
SOD	Süperoksit dismutaz
TBHQ	Tersiyer bütihidroksikinon
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini
TRAP	Radikal Tutuklama Antioksidan Parametresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması	7
Şekil 1.2. Polifenolik bileşiklerin sınıflandırılması	10
Şekil 4.1. Linoleik asit peroksidasyonunun çalışma kapsamındaki doğal ve sentetik antioksidan bileşikler tarafından inhibisyonunun zamana bağlı gelişimi	46
Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan sentetik ve doğal antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması.....	48
Şekil 4.3. Farklı derişimlerdeki BHA molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	49
Şekil 4.4. Farklı derişimlerdeki BHT molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	50
Şekil 4.5. Farklı derişimlerdeki etoksikuin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	50
Şekil 4.6. Farklı derişimlerdeki propil gallat molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	50
Şekil 4.7. Farklı derişimlerdeki epikatekin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	51
Şekil 4.8. Farklı derişimlerdeki fisetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	51
Şekil 4.9. Farklı derişimlerdeki flavon molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	51
Şekil 4.10. Farklı derişimlerdeki gallik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	52

Şekil 4.11. Farklı derişimlerdeki kaempferol molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	52
Şekil 4.12. Farklı derişimlerdeki kafeik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	52
Şekil 4.13. Farklı derişimlerdeki karnosol molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	53
Şekil 4.14. Farklı derişimlerdeki klorojenik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	53
Şekil 4.15. Farklı derişimlerdeki kuersetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	53
Şekil 4.16. Farklı derişimlerdeki luteolin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	54
Şekil 4.17. Farklı derişimlerdeki mirisetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	54
Şekil 4.18. Farklı derişimlerdeki naringenin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	54
Şekil 4.19. Farklı derişimlerdeki rutin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	55
Şekil 4.20. Farklı derişimlerdeki sinnamik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	55
Şekil 4.21. Farklı derişimlerdeki siyanidin klorür molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	55
Şekil 4.22. Farklı derişimlerdeki taksifolin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	56
Şekil 4.23. Farklı derişimlerdeki Vitamin A molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	56

Şekil 4.24. Farklı derişimlerdeki Vitamin C molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	56
Şekil 4.25. Farklı derişimlerdeki Vitamin E molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi	57
Şekil 4.26. BHA molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi.....	59
Şekil 4.27. BHT molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	60
Şekil 4.28. Etoksikuin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	60
Şekil 4.29. Propil gallat molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	60
Şekil 4.30. Epikatekin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	61
Şekil 4.31. Fisetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	61
Şekil 4.32. Flavon molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi.....	61
Şekil 4.33. Gallik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	62
Şekil 4.34. Kaempferol molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	62
Şekil 4.35. Kafeik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	62
Şekil 4.36. Karnosol molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi ..	63
Şekil 4.37. Klorojenik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	63
Şekil 4.38. Kuersetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi	63

Şekil 4.39. Luteolin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi...	64
Şekil 4.40. Mirisetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi...	64
Şekil 4.41. Naringenin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	64
Şekil 4.42. Rutin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	65
Şekil 4.43. Sinnamik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	65
Şekil 4.44. Siyanidin klorür molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	65
Şekil 4.45. Taksifolin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	66
Şekil 4.46. Vitamin A molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	66
Şekil 4.47. Vitamin C molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi.....	66
Şekil 4.48. Vitamin E molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi	67
Şekil 4.49. Çalışmada kullanılan sentetik ve doğal antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması	68
Şekil 4.50. ABTS radikal kationunun UV-görünür bölge absorpsiyon spektrumu	69
Şekil 4.51. Troloks için TEAC standart çalışma grafiği	70
Şekil 4.52. BHA molekülü için TEAC aktivitesi	70
Şekil 4.53. BHT molekülü için TEAC aktivitesi	70
Şekil 4.54. Etoksikuin molekülü için TEAC aktivitesi	71

Şekil 4.55. Propil gallat molekülü için TEAC aktivitesi	71
Şekil 4.56. Epikatekin molekülü için TEAC aktivitesi	71
Şekil 4.57. Fisetin molekülü için TEAC aktivitesi	72
Şekil 4.58. Flavon molekülü için TEAC aktivitesi	72
Şekil 4.59. Gallik asit molekülü için TEAC aktivitesi	72
Şekil 4.60. Kaempferol molekülü için TEAC aktivitesi	73
Şekil 4.61. Kafeik asit molekülü için TEAC aktivitesi	73
Şekil 4.62. Karnosol molekülü için TEAC aktivitesi	73
Şekil 4.63. Klorojenik asit molekülü için TEAC aktivitesi	74
Şekil 4.64. Kuersetin molekülü için TEAC aktivitesi	74
Şekil 4.65. Luteolin molekülü için TEAC aktivitesi	74
Şekil 4.66. Mirisetin molekülü için TEAC aktivitesi	75
Şekil 4.67. Naringenin molekülü için TEAC aktivitesi	75
Şekil 4.68. Rutin molekülü için TEAC aktivitesi	75
Şekil 4.69. Sinnamik asit molekülü için TEAC aktivitesi	76
Şekil 4.70. Siyanidin klorür molekülü için TEAC aktivitesi	76
Şekil 4.71. Taksifolin molekülü için TEAC aktivitesi	76
Şekil 4.72. Vitamin A molekülü için TEAC aktivitesi	77
Şekil 4.73. Vitamin C molekülü için TEAC aktivitesi	77
Şekil 4.74. Vitamin E molekülü için TEAC aktivitesi	77
Şekil 4.75. Troloks için CUPRAC standart çalışma grafiği.....	79

Şekil 4.76. BHA molekülü için CUPRAC aktivitesi	80
Şekil 4.77. BHT molekülü için CUPRAC aktivitesi	80
Şekil 4.78. Etoksikuin molekülü için CUPRAC aktivitesi	80
Şekil 4.79. Propil gallat molekülü için CUPRAC aktivitesi	81
Şekil 4.80. Epikatekin molekülü için CUPRAC aktivitesi	81
Şekil 4.81. Fisetin molekülü için CUPRAC aktivitesi	81
Şekil 4.82. Flavon molekülü için CUPRAC aktivitesi	82
Şekil 4.83. Gallik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi	82
Şekil 4.84. Kaempferol molekülü için CUPRAC aktivitesi	82
Şekil 4.85. Kafeik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi	83
Şekil 4.86. Karnosol molekülü için CUPRAC aktivitesi	83
Şekil 4.87. Klorojenik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi	83
Şekil 4.88. Kuersetin molekülü için CUPRAC aktivitesi	84
Şekil 4.89. Luteolin molekülü için CUPRAC aktivitesi	84
Şekil 4.90. Mirisetin molekülü için CUPRAC aktivitesi	84
Şekil 4.91. Naringenin molekülü için CUPRAC aktivitesi	85
Şekil 4.92. Rutin molekülü için CUPRAC aktivitesi	85
Şekil 4.93. Sinnamik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi	85
Şekil 4.94. Siyanidin klorür molekülü için CUPRAC aktivitesi	86
Şekil 4.95. Taksifolin molekülü için CUPRAC aktivitesi	86
Şekil 4.96. Vitamin A molekülü için CUPRAC aktivitesi	86

Şekil 4.97. Vitamin C molekülü için CUPRAC aktivitesi	87
Şekil 4.98. Vitamin E molekülü için CUPRAC aktivitesi	87

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Oksidatif strese neden olan reaktif türler	4
Çizelge 1.2. Antioksidan aktivitesi incelenen bileşikler ve yapısal özellikleri	27
Çizelge 1.3. Çalışılan antioksidan aktivite tayin yöntemleri	34
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamındaki antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri	47
Çizelge 4.2. DPPH radikal süpürücü aktiviteleri incelenen antioksidan bileşiklerin IC_{50} değerleri	58
Çizelge 4.3. Çalışma kapsamındaki antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü değerleri	67
Çizelge 4.4. Antioksidan bileşiklerin TEAC yöntemi ile hesaplanan $TEAC_{ABTS}$ değerleri	78
Çizelge 4.5. Antioksidan bileşiklerin CUPRAC yöntemi ile hesaplanan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri	88

1. GİRİŞ

Reaktif oksijen türlerinin aşırı miktarda üretilmesi durumunda organizmaların doğal antioksidan savunma sistemleri devreye girerek canlıyı bu durumdan kurtarmak üzere antioksidan bileşikler üretir (Rice-Evans vd., 1997). Sekonder metabolit olarak adlandırılan bu bileşikler özellikle bitkiler tarafından bolca üretilir. Genel olarak fenolik bileşikler sınıfında olan bu metabolitler insanlar tarafından beslenme yoluyla tüketildiğinde antioksidan aktivitelerini insan vücudunda da gösterebilirler (Chaudiere ve Iliou, 1999). Bu nedenle son yıllarda insanlar tarafından besin kaynaklı doğal antioksidanların alınması özendirilmektedir. Öte yandan antioksidan bileşikleri bolca içeren bitki ekstraktlarının (Karagözler vd., 2008) besin endüstrisinde koruyucu madde olarak kullanılması da son yıllarda oldukça sık rastlanan bir uygulamadır. Bununla beraber, besin teknolojisinde besinlerin uzun süre dayanıklılığını sağlamak için katkı maddesi olarak sentetik antioksidanlar da kullanılır. Bu sentetik antioksidanların koruyucu özellikleri çok yüksek olmakla birlikte doğal olmamaları nedeniyle insan sağlığı açısından zararlı olabilecekleri konusunda da tartışmalar vardır (Pokorny, 2007). Doğal antioksidanların antioksidan özelliklerinin moleküler yapılarıyla alakalı olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Rice-Evans vd.,1997; Pannala vd., 2001; Apak vd.,2007).

Antioksidanlar serbest radikalleri giderme/uzaklaştırma yetenekleri nedeniyle son yıllarda insan beslenmesinde incelenen önemli araştırma konularından birini oluşturmaktadır. Ayrıca besin teknolojisinde besinlerin uzun süre bozunmadan saklanabilmesi için sentetik ve doğal antioksidanlarla muamele standart bir işlem olarak uygulanmaktadır. Besinlere ilave edilen antioksidan özellikli bileşikler sentetik (BHT, BHA gibi) olabileceği gibi genellikle bitkilerden elde edilen doğal antioksidan bileşikler (rutin, katekol gibi) de olabilir. Bu bileşiklerin hem besin koruma özellikleri hem de metabolizmaya girdikten sonra antioksidan olarak davranıp hücreyi oksitleyici maddelere karşı koruma özellikleri bilinmektedir.

Bileşiklerin antioksidan özelliklerini belirlemede çeşitli analitik yöntemler uygulanır. Bu yöntemlerde kimyasal prensipler geçerli olup bir antioksidan, seçilen bir ölçme yöntemi ile yüksek antioksidan aktivite gösterirken aynı antioksidan diğer bir yöntemle daha düşük bir aktivite gösterebilir. Bu nedenle sentetik veya doğal antioksidanların antioksidan kapasitelerinin tespitinde ve karşılaştırmalarda en az iki yöntem kullanılarak çalışılmalıdır.

Antioksidan kapasiteyi ölçmek için geliştirilmiş yirmi civarında analitik yöntem mevcuttur. Önceki literatür çalışmaları bir antioksidan bileşiğin bir yöntemle ölçülen antioksidan kapasitesinin diğer bir yöntemle ölçülene kıyasla farklı olabileceğini göstermektedir (Huang, 2005). Bu nedenle, bir bileşiğe ‘antioksidan kapasitesi yüksek’ özelliği yakıştırabilmek için birden fazla yöntemle tayininin yapılması ve diğer bileşiklerle karşılaştırılması gerekir.

Karşılaştırma sentetik ve doğal antioksidanlar arasında yapıldığında, daha ucuz ve daha kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle besin endüstrisinde çokça kullanılan sentetik antioksidanlar yerine kullanılacak doğal antioksidanların tespit edilmesi mümkün olabilir.

Bu tezin amacı besin endüstrisinde kullanılan sentetik antioksidanlar ile belirli bileşik sınıflarını temsilen seçilen doğal antioksidan bileşiklerin seçilmiş antioksidan tayin yöntemleri ile antioksidan kapasitelerini belirlemek ve karşılaştırmaktır.

1.1 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller atomik ya da moleküler orbitallerde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip atom ya da moleküllerdir. Bu ortaklanmamış elektron(lar) serbest radikale büyük ölçüde reaktivite kazandırır. Serbest radikaller küçük moleküllerdir, düşük aktivasyon enerjisine sahiptirler ve kısa ömürlüdürler. Boyutlarının küçük olması hücre membranlarından kolaylıkla geçmelerine olanak sağlar (Jensen, 2003).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir ve bu dengesizlik hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilir.

Oksidatif stresin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Metabolik yollarla ya da dış kaynaklı faktörlerin etkisi ile vücutta oluşan süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türleri ile enzimatik ya da enzimatik olmayan antioksidan bileşikler arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur.

Oksijen aerobik yaşam için en önemli elementtir. Bununla birlikte, bir dizi toksik kimyasal reaksiyonda da yer almaktadır. Oksijenden türeyen radikaller canlı

sistemlerde oluşan radikal türlerin en önemli sınıfıdır ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılmaktadır. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil (OH^{\bullet}) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) formundaki reaktif oksijen türleri normal metabolik reaksiyonlar ya da eksojen faktörler ve ajanlar ile de oluşturulabilir.

Oksidatif fosforilasyon solunum döngüsünün sonucu olarak salınan serbest oksijen radikalleri DNA, protein, lipid ve karbohidratlar gibi makromoleküllere saldırarak, sonuçta hücre yaşlanması, kardiyovasküler hastalıklar, mutajenik değişiklikler ve kanserli tümörlerin büyümesi gibi zararlı etkilere yol açabilirler. Antioksidanlar, reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller ile reaksiyona girmeleri nedeniyle bu tür istenmeyen değişiklikler ve sağlık riskleri ile savaşmanın en etkili yoludur.

Atmosferik oksijen ile bir organik bileşik arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyon genelde 'otooksidasyon' olarak tanımlanır. Otooksidasyon lipid içeren besin maddelerini etkiler. Lipid peroksidasyonu besin maddelerinin işlenmesi, dağıtımı ve depolanması sırasında organoleptik bozunmanın temel nedenidir. Bu yüzden besinlerin bu tür bozunmaya karşı korunması besin endüstrisi için ekonomik ve besinsel açıdan büyük önem taşımaktadır (van den Berg vd., 1999).

Diyete (doymamış yağ asitleri tüketimi, sebze ve meyve bakımından fakir beslenme gıdaların uygun koşullarda hazırlanmaması vb.) ve çevresel faktörlere (sigara, hava kirliliği, radyasyon gibi) bağlı olarak vücutta oksidatif strese neden olduğu bilinen radikal ve radikal olmayan karakterdeki reaktif türler Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir:

Çizelge 1.1. Oksidatif strese neden olan reaktif türler (Halliwell, 2001)

Radikaller	Radikal olmayanlar
<i>Reaktif oksijen türleri (ROS)</i>	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Süperoksit (O ₂ ^{•-})	Hipobromöz asit (HOBr)
Hidroksil (OH [•])	Ozon (O ₃)
Hidroperoksil (HO ₂ [•])	Singlet oksijen (O ₂ ¹)
Lipid peroksil (LO ₂ [•])	Lipid peroksitler (LOOH)
Lipid alkoksil (LO [•])	Maillard reaksiyonu ürünleri
<i>Reaktif klorür türleri (RCS)</i>	Hipokloröz asit (HOCl)
Atomik klor (Cl [•])	Nitril klorür (NO ₂ Cl)
	Kloraminler
<i>Reaktif azot türleri (RNS)</i>	Nitröz asit (HNO ₂)
Nitrik oksit (NO [•])	Nitrozil katyonu (NO ⁺)
Azot dioksit (NO ₂ [•])	Nitroksil anyonu (NO ⁻)
	Diazot tetraoksit (N ₂ O ₄)
	Diazot trioksit (N ₂ O ₃)
	Peroksinitrit (ONOO ⁻)
	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Nitril katyonu (NO ₂ ⁺)
	Alkil peroksinitritler (ROONO)
	Nitril klorür (NO ₂ Cl)

1.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen vd., 1999). Antioksidanlar, yükseltgenen substratlara oranla daha düşük derişimlerde, substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu ciddi derecede engeller ya da geciktirirler.

Prooksidanlar (reaktif oksijen ve azot türleri, serbest radikaller) ise lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara yol açan toksik maddelerdir. Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidanları önemli kılmaktadır (Cao ve Prior, 1999). Çünkü antioksidanlar, prooksidanları etkin bir şekilde indirgeyerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürürler.

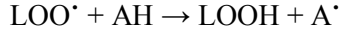
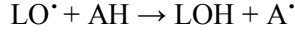
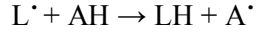
Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır (Güçlü vd., 2009). Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Bu bileşikler oksidatif sistemde farklı şekillerde davranabilirler. Örneğin; singlet oksijeni sönmeye uğratarak oksijen derişimini düşürebilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri tutma özelliğini kullanarak zincir reaksiyonlarının başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar (Shahidi, 1996).

Antioksidanlar yükseltgenen maddeler olduğundan zincir reaksiyonlarını (örneğin lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikal zincir reaksiyonunu) koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yükseltgenen maddeyi (örneğin biyolojik makromolekülleri) yalnız sınırlı bir zaman için koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri genellikle onların serbest radikal tutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir (Güçlü vd., 2009).

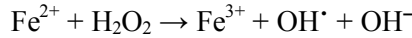
Zincir koparıcı antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde antioksidanın hem molekül başına verebildiği elektron ya da giderebildiği serbest radikal sayısı (yani reaksiyon stokiyometrisi), hem de reaksiyon hızı (kinetik) önemlidir (Rice-Evans vd., 1997).

Zincir koparıcı antioksidan aktivite şu mekanizma ile gerçekleşir:



Radikalik reaksiyonun başlaması veya uzaması antioksidan molekül (AH) tarafından inhibe edilmektedir. Burada L[•] lipid, LO[•] alkoksil, LOO[•] ise peroksil radikallerini simgelemektedir. Bu mekanizma üzerinden etkinlik gösteren antioksidanlar 'primer antioksidanlar' olarak adlandırılırlar.

Diğer yandan 'sekonder antioksidanlar' olarak adlandırılan bileşikler ise oksidasyon hızını düşürürler ve genellikle Fenton-tipi reaksiyonları inhibe etmeye çalışırlar (Apak vd., 2007). Fenton reaksiyonu hidroksil radikallerinin oluşmasına neden olan bir reaksiyondur (Graf vd., 1984).

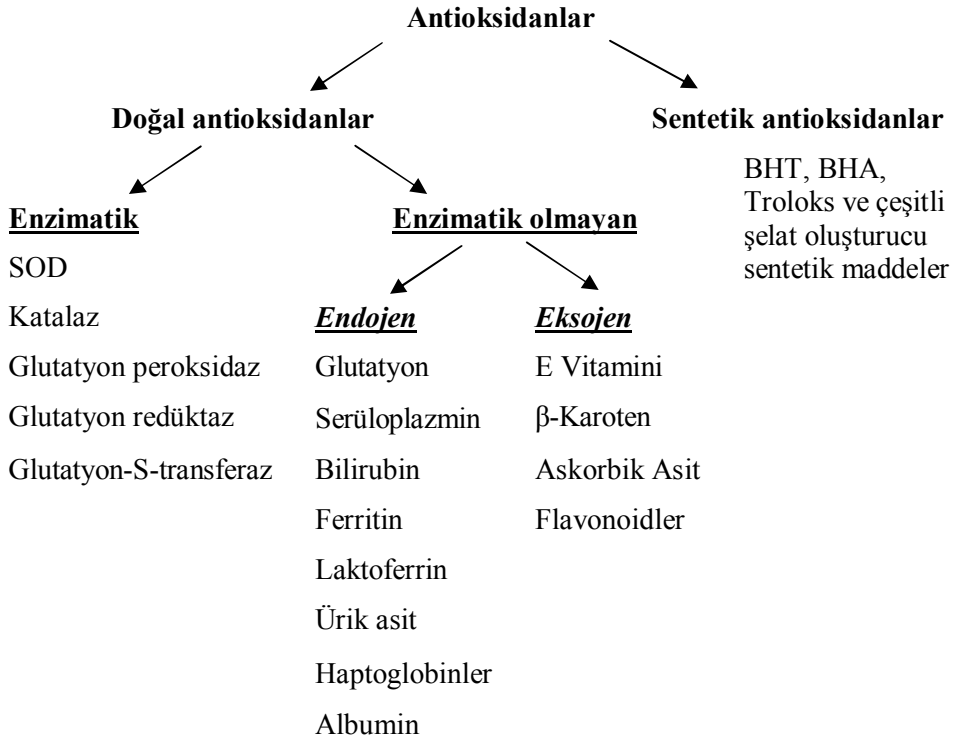


Bir antioksidanın aktivitesi şu faktörler ile belirlenir:

1. Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktivite (Genelde indirgeme potansiyeline bağlıdır).
2. Antioksidandan türeyen radikalın akıbeti.
3. Diğer antioksidanlarla etkileşim yeteneği.
4. Geçiş metali şelatlama potansiyeli (Rice-Evans vd., 1997).

1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Normal fizyolojik koşullarda hücreler, oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur (Rice-Evans vd, 1997). Bu sistemler aşağıda gösterildiği gibi doğal ve sentetik antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar:



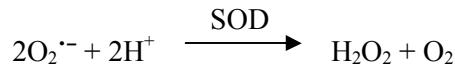
Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Doğal antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve non-enzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir.

1.2.1.1. Doğal Antioksidanlar:

Enzimatik antioksidanlar: Hücre içinde çeşitli mekanizmalarla oluşan radikaller bazı enzimler tarafından giderilir. Pek çok enzim doğrudan veya dolaylı olarak serbest radikalleri giderme mekanizmasına katkıda bulunursa da bunların içinde en önemlilerinin çalışma mekanizmaları aşağıdaki gibidir:

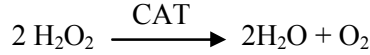
Süperoksit Dismutaz (SOD) : Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1) süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene tek elektronlu dismutasyonunu katalizler (Chaudiere ve Iliou, 1999).



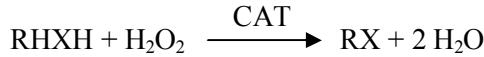
İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren Cu-Zn-SOD ile manganez iyonu içeren mitokondrial Mn-SOD olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur.

Katalaz (CAT): Katalaz (E.C.1.11.1.6) enzimi dört alt üniteden oluşmuş, her bir alt ünitesinde bir hem [Fe(III)-protoporfirin] grubu bulunduran 240,000 dalton molekül ağırlığında tetramerik yapıya sahip bir proteindir. Her aerobik hücre bu enzimi bulundurur. Karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositler katalazın en fazla aktivite gösterdiği yerlerdir. CAT, % 80 oranında peroksizomlarda ve % 20 oranında sitozolde bulunur (Özkan vd., 2000).

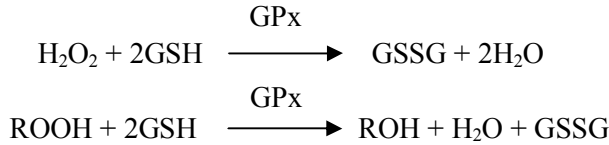
Katalaz enzimi hidrojen peroksidi, su ve oksijene dönüştürerek etkisiz hale getirir. SOD aktivitesi sonucu oluşan H_2O_2 bir radikal olmamasına rağmen en reaktif tür olan OH^\cdot radikalinin öncüsü olduğu için oksidatif hasara neden olabilir. Bu yüzden katalaz, hidrojen peroksitin iki elektronunun su ve oksijene dismutasyonunu katalizleyerek hidrojen peroksit derişimini azaltmaya çalışır.



Ayrıca düşük hidrojen peroksit derişiminde askorbat ve fenol gibi indirgeyici ko-substratları kullanarak peroksidaz olarak davranır.



Glutasyon Peroksidaz (GPx): Selenoenzimler sınıfından olan glutasyon peroksidaz (E.C.1.11.1.4), H_2O_2 varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Bu reaksiyonda hidrojen peroksit suya ve organik hidroperoksitler alkole indirgenirken, glutasyon (GSH) ise okside glutasyona (GSSG) yükseltgenir (Chaudiere ve Iliou, 1999).



Glutasyon Redüktaz (GR) : Glutasyon redüktaz (E.C.1.8.1.7), GPx vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutasyona (GSH) dönüşümünü katalize eder (Pektaş, 2009).



Glutasyon-S-Transferaz (GST): Glutasyon-S-transferazlar (E.C. 2.5.1.18) başta araşidonic asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bunların hem detoksifiye edici hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır (Pektaş, 2009).



Non- Enzimatik (Enzimatik Olmayan) Antioksidanlar

Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar, bitki veya hayvan dokularında bulunan ya da bitkisel veya hayvansal kaynaklı bileşiklerin pişirilmesi veya işlem görmesi sonucu oluşan maddelerdir. Hemen hemen tüm bitkilerde, mikroorganizmalarda ve bazı hayvansal dokularda bulunurlar (Görünmezoğlu, 2008).

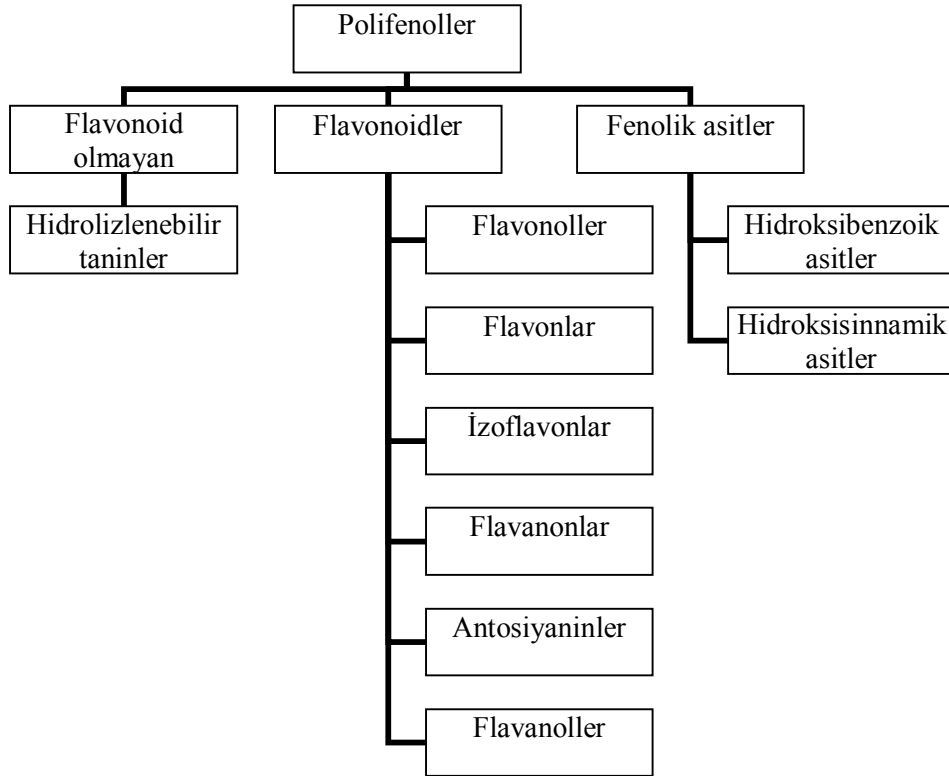
Doğal antioksidanların çoğu fenolik bileşiklerdir ve en önemlileri arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidler bulunmaktadır.

Askorbik asit (C Vitamini): Suda çözünebilir düşük molekül ağırlıklı bu antioksidan kollajen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin indirgenmiş durumunun korunmasında gereklidir (Antmen, 2005). C Vitamini, suda çözünen bir vitamindir. Bu nedenle idrarla atılır ve vücutta depolanmaz dolayısıyla her gün dışarıdan alınması gereken vitaminlerdendir.

Tokoferoller (E Vitamini): Doğada α , β , γ , δ olmak üzere dört farklı formda bulunur. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini şekli d- α -tokoferoldür. Yağda çözünen fakat suda çözünmeyen bu bileşikler oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklıdır. Eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve indirgeyebilen hidroksil grubu içerir. Radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etkiye sahiptir (Antmen, 2005).

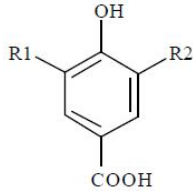
Karotenoidler: Bitkilerde ve hayvansal dokularda bulunan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Karotenoidlerin bitkilerde çiçek ve meyvelere rengini verme ve fotosenteze yardımcı pigment olmak üzere iki ana fonksiyonu vardır. Karotenoidler oldukça kompleks yapılı moleküllerdir, sekiz tane beş karbonlu izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşan 40 C'lu polienlerdir. Doğada karotenoidlerin çoğu antioksidan aktivite göstermektedir (Çöllü, 2007).

Polifenoller: Bitkiler aleminde ve insan beslenmesinin tamamında yer alan en geniş fitokimyasal kategorileri arasında yer alır. Diyetle alınan fenolik bileşikler fenolik asitler, fenolik polimerler (genelde taninler olarak bilinir) ve flavonoidleri içerir. Bu bileşiklerin yapıları aşağıda gösterilmiştir.

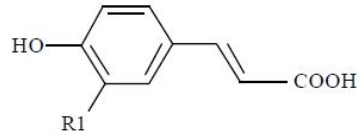


Şekil 1.2. Polifenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitleri içeren bir grup oluştururlar. Hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde az miktarda bulunurlar. Bunlar gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisinnamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısındadırlar. Fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve *o*-kumarik asitlerdir.

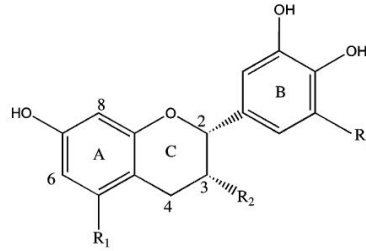


Hidroksisinnamik asit



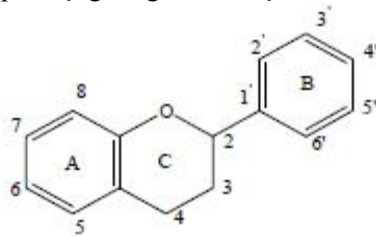
Hidroksibenzoik asit

Fenolik polimerler (örneğin kondanse-yoğunlaştırılmış taninler) yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir.



Tanin

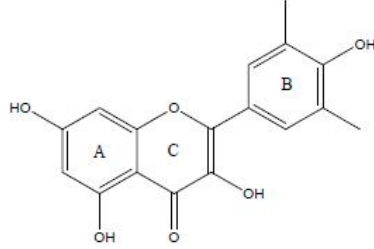
Flavonoidler bitki fenollerinin en geniş ve en çok çalışılmış grubunu oluştururlar. Flavonoidlerin genel yapısı aşağıda gösterilmiştir:



Günümüzde 4000'den fazla flavonoid belirlenmiştir. Flavonoidler C6-C3-C6 karbon iskeleti ile karakterize edilirler (Peterson ve Dwyer, 1998). Molekül yapılarında bir aromatik halka (A), bir heterosiklik halka (C) ve buna bağlı ikinci bir aromatik halka (B) bulundurlar. Aromatik halkalara bağlı çok sayıda hidroksil grubu içerebilirler ki bu gruplar flavonoidlerin antioksidan aktivitelerini

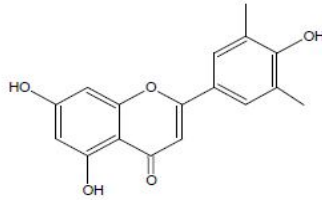
belirlemektedir. Ayrıca orto-pozisyonunda ikinci bir hidroksil grubunun bulunması katekol halkası oluşturmakta ve $-OH$ bağı disosiasyon (ayrışma) entalpisini düşürerek peroksil radikallerine hidrojen atomu transfer hızını artırmaktadır.

Flavonoidlerin en yaygın sınıfı flavonollerdir ve en önemli bileşikleri kuersetin, kuersetin glikoziti olan rutin, kaempferol, mirisetin ve izoramnetindir.



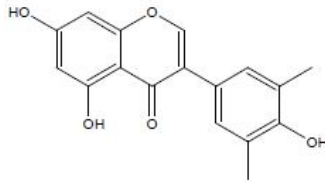
Flavonol

Flavon sınıfına ait temel bileşikler apigenin, luteolin ve krisindir. Maydanoz, kereviz ve zeytinde bol miktarda bulunmaktadır. Yüksek derişimlerde bulduklarında ya da metal iyonları ile kompleks oluşturduklarında bitkiye renk vermektedirler (Peterson, vd., 1998).



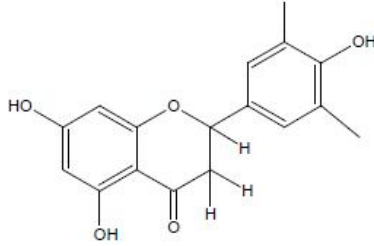
Flavon

Flavonların izomeri olan izoflavonların en bilinen bileşikleri genistein ve daidzein olup baklagiller ve soya fasüyesinde fazla miktarda bulunmaktadır.



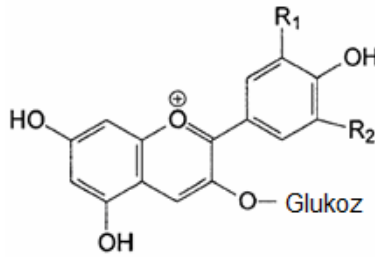
İzoflavon

Flavonların dihidro türevleri ise flavanonlardır. Greyfurt ve portakalda bol miktarda bulunurlar.



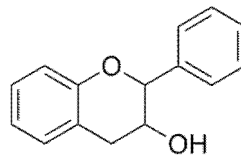
Flavanon

Antosiyaninler, çiçek, meyve ve sebzelerde bulunan ve bitkilere kırmızı, mavi ve mor renk veren pigmentlerdir. Üzüm ve kıvılcık gibi meyvelerde yüksek oranda bulunan antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleridir. Bitkilere verdikleri renk tonu ve yapıları pH ve ko-pigmentlere bağılı olarak değişmektedir (Clifford, 2000).



Antosiyanin

Flavanoller (flavan-3-oller) ise flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri katekin ve epikatekindir. Katekin ve epikatekinin gallik asitle kombinasyonları sonucu bu bileşiklerin gallatları oluşur. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil çay, kırmızı şarap, şeftalide fazla miktarda, ayrıca beyaz şarap ve elmada bulunurlar.



Flavanoller

Aşağıdaki özelliklerden bir ya da daha fazlasına sahip yapıda olan flavonoidler oldukça yüksek antioksidan etki gösterirler.

a) Radikal formun daha yüksek kararlılığını sağlayan ve elektron delokalizasyonuna katılan, B halkasındaki *o*-dihidroksi yapısı (Aynı zamanda bu yapıdan kararlı 3',4'-dikinonlar oluşur.).

b) 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çift bağ, C halkasının 4. karbon atomunda keto grubunun oluşmasını sağlar ve bu da B halkasında radikalın elektron delokalizasyonunu artırır. Antioksidan güç, aromatik çekirdeğin elektron delokalizasyonuna bağlıdır. Bu bileşikler serbest radikallerle reaksiyona girdiğinde üretilen fenoksil radikalleri aromatik çekirdeğin rezonans etkisiyle kararlı hale getirilir. 2,3-çifte bağ, tüm moleküldeki rezonansı artırır.

c) C halkasının 4. karbon atomunda keto grubu ile beraber C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları maksimum radikal süpürme potansiyeli için gereklidir. Aynı zamanda 5-hidroksi-4-keto grubu güçlü bir metal şelatlayıcı olarak da antioksidan etkinliğe katkıda bulunur (Cos vd., 1998; Yıldız, 2007).

1.2.1.2. Sentetik Antioksidanlar

Biyomolekülleri oksidatif hasardan koruyan ve organizmanın kendisinin sentezlediği ya da dışarıdan alınan antioksidanlara olan ilgi son yıllarda giderek artmaktadır. Birçok araştırmacı antioksidan aktivitesi yüksek ve organizmaya zararı olmayan sentetik bileşiklerin arayışı içerisinde.

Yağların oksidasyon mekanizmalarının anlaşılması ile birlikte oksidasyonu önlemek amacıyla antioksidan üretimi konusunda pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla tokoferoller ve askorbik asidin doğala özdeş formları veya türevleri laboratuarda sentezlendiği gibi doğal yapı ile ilgisi olmayan yapay antioksidanlar da üretilmiştir. 1940'lı yıllardan beri yüzlerce yapay antioksidan madde sentezlenmesine karşın, bunların ancak az bir kısmı günümüzde kullanılmaktadır (Eken, 2007).

Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanların sadece bir analogunu (tipini) oluştururlar ve doğal antioksidanın en etkin analogunu taklit edecek şekilde geliştirilirler. Örneğin E vitamininin doğada 4 adet analogunun bulunduğu bilinmektedir. Bunlar α , β , γ ve δ formlarıdır. Tüm izomerlerin birlikte bulunması

E vitamininin çözünürlüğünü artırır ve daha fazla antioksidan aktivitenin gerçekleşmesini sağlar. Bu olaya 'sinerjizm' adı verilmektedir. Bu yüzden doğal antioksidanlar analog ya da izomerler grubu olarak bulunmaktadırlar.

1.3. Doğal ve Sentetik Antioksidanların Karşılaştırılması

Besinlerde ve besinler alındıktan sonra canlı içinde oluşan serbest lipid radikallerinin yüksek derişimi nedeniyle antioksidanlar insan beslenmesinin en önemli konularından birisi haline gelmiştir.

Gıdalarda kullanılacak antioksidanların sahip olması gereken temel özellikler şunlardır:

- ◆ İnsan sağlığı için zararsız olmalı,
- ◆ Çok küçük miktarlarda kullanılmalı, böylece maliyeti arttırmamalı,
- ◆ Gıdanın doğal koku, görünüş ve tadını bozmamalı,
- ◆ Koruyacağı madde içinde çözünmeli veya iyice karışmalı,
- ◆ Normal üretim sırasında etkisini kaybetmemelidir (özellikle yüksek sıcaklık uygulamalarında) (Sezgin, 2006).

Depolama, ısıtma ve sindirim sonucu lipid serbest radikallerin miktarı da artmaktadır. Antioksidanlar, lipid oksidasyonunu engellemekte veya geciktirmektedir.

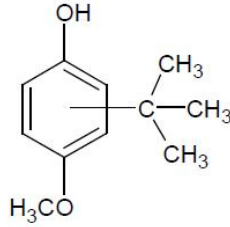
Böylece hem gıdaların kalitesi korunmakta hem de raf ömrü uzamaktadır. Bu amaçla gıdalara bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve tersiyer bütihidroksikinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar eklenmektedir.

Ancak, son yıllarda elde edilen bulgular sentetik antioksidanların toksisite gösterebileceğini, yüksek maliyet gerektirdiğini ve doğal antioksidanlara göre daha az etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle özellikle besinlerle alınabilecek doğal antioksidanlar hem ekonomik hem de daha fazla antioksidan aktivite gösterdiğinden bu bileşiklere yönelik arayış oldukça artmıştır. Günümüzde

besin ve ilaçlara ilave edilen stabilize edici sentetik antioksidan bileşiklerin kullanımı zararlı etkilerinden dolayı yasal olarak sınırlanmakta ve bunların yerine doğal antioksidan bileşikler tercih edilmektedir. Ayrıca sentetik antioksidanların karaciğer, akciğer ve bağırsak hasarlarına neden olduğu (Wanasundara ve Shahidi, 1998) ve karsinojenik etkiye sahip olduğu gözlenmiş ve bu nedenle doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır. Sentetik bileşikler yerine doğal ürünlerin kullanılmasına yönelik ilginin giderek artması bitkiler üzerindeki çalışma sayısının artmasına neden olmuştur.

1.4. Çalışmada Kullanılan Sentetik Antioksidan Moleküller

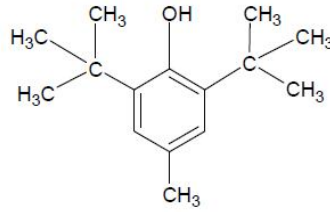
1.4.1. BHA (Bütillenmiş hidroksianisol)



Sentetik bir antioksidan olan BHA, (2- tersiyer-bütül-4-hidroksianisol ve 3- tersiyer-butül-4-hidroksianisol karışımı; $C_{11}H_{16}O_2$), beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip, hem hayvansal hem de bitkisel yağlarda çözünebilen ancak suda çözünemeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır.

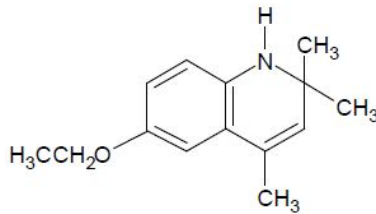
Bu antioksidanın gıdalarda kullanımına ilk olarak 1948 yılında ABD’de izin verilmiş olup günümüzde pek çok ülkede gıda olarak tüketilen katı ve sıvı yağlarda kullanılmaktadır. Yapısındaki hidroksil grubuna karşı orto- veya meta-pozisyonunda yer alan tersiyer bütül grup nedeni ile BHA’ya ‘engelleyici fenol’ adı verilmektedir. Bu sterik engellemenin, tersiyer bütül grubun fenolik yapının antioksidatif aktivitesi ile girişim meydana getirmesi ve bu nedenle BHA’nın bitkisel yağlarda etkisinin az olmasına neden olduğu öne sürülmektedir (Eken, 2007).

1.4.2. BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen)



Bütillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılan antioksidanlardandır. BHT ilk defa soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünleri tayin edilerek fark edilmiştir. BHT yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda okside olmuş lipidlerle verdiği reaksiyon sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder (Çöllü, 2007).

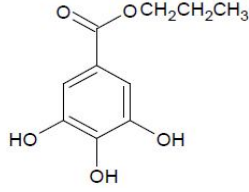
1.4.3. Etoksikuin



Etoksikuin (1,2-dihidro-6-etoksi-2,2,4-trimetilkuinolin; $C_{14}H_{19}NO$) lipid peroksil radikallerini süpürme yeteneğinden dolayı özellikle katı yağlar ve hayvan gıdalarında stabilize edici olarak kullanılırlar. Fakat aşırı derecede kullanıldığında ransidite ve otoksidasyona neden olur.

Bu sentetik antioksidan bileşiğin kimyasal faktörlerin neden olduğu kansere karşı koruma sağlamasına rağmen, hayvanlarda ve insanlarda yan etkilere de yol açtığı rapor edilmiştir (Bohne vd., 2008).

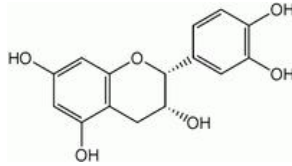
1.4.4. Propil Gallat



Propil gallat (propil 3,4,5-trihidroksibenzoat; $C_{10}H_{12}O_5$) beyaz ve kokusuz toz halde bulunan bir maddedir. Yiyeceklerin, yağların ve medikal preparatların tazeliğini, besin değerini, aromasını ve rengini korumak ve dengelemek için yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Etanolde yüksek oranda çözünürken, suda az çözünür. Yapılan çalışmalar sonucu propil gallatın mide-bağırsak yolunda absorplandığı belirlenmiştir (Zurita vd., 2007).

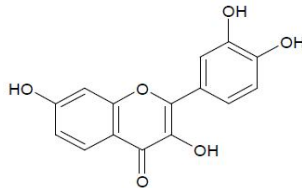
1.5. Çalışmada Kullanılan Doğal Antioksidan Moleküller

1.5.1. Epikatekin



Daha çok yeşil çayda bulunan katekinler sınıfından bir flavanol olan epikatekin antioksidan, anti-obezite, hipolipidemik ve antikanserojen aktivitesi ile oldukça büyük ilgi çekmektedir. Protein tirozin birimlerini peroksinitritlere karşı korumaktadır (Schroeder vd., 2001).

1.5.2. Fisetin

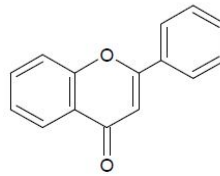


Bir flavonol olan fisetin [2-(3,4-dihidroksifenil)-3,7-dihidroksikromenon-4-on; $C_{15}H_{10}O_6$] yiyeceklerde bulunuşu ve biyolojik aktivitesi ile göze çarpar.

Antioksidan aktivitesini, insanlardaki düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in oksidasyonunu *in vitro* koşullarda inhibe ederek gösterir.

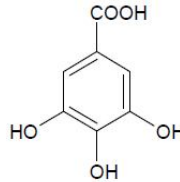
Fisetin lipolizde doz ve zamana bağımlı bir artış gösterir. Ayrıca antiinflamatuvar özellikte olduğu tespit edilmiştir. Fisetin, lizozomal enzim salgılanmasını ve rat nötrofillerinde araşidonik asit salımını engelleyen potansiyel bir inhibitördür. Memelilerdeki 5-lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimlerini inhibe eder (Jimenez vd., 1998).

1.5.3. Flavon



2-Fenil-4H-1-benzopiran-4-on olarak adlandırılan flavon, flavonoidlerin temel yapısını oluşturmaktadır. Fakat yapısında hidroksil grubu bulundurmadığı için antioksidan aktivite gösterememekte ve bunun için genellikle türevleri sentezlenmektedir.

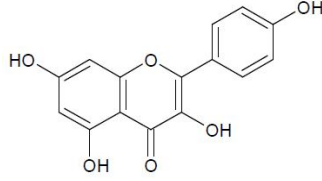
1.5.4. Gallik asit



Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit; $C_7H_6O_5$), hidroksibenzoik asitler sınıfındandır ve taninlerin asidik veya bazik hidrolizi ile elde edilebilir.

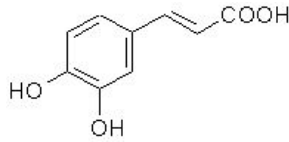
Gallik asit özellikle yeşil çay olmak üzere bitkilerden ekstrakte edilebilen doğal bir antioksidandır. Gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetikte lipid peroksidasyonu ve çürümenin neden olduğu bozulmaları engellemek için kullanılmaktadır (Curcio vd., 2009). Ayrıca gallik asitin antimikrobiyal aktivite gösterdiği de göz önüne alınarak başlangıç maddesi gallik asit olan yeni gıda katkı maddeleri geliştirilmektedir (Strlic vd., 2002).

1.5.5. Kaempferol



Doğal bir antioksidan bileşik olan kaempferol, (3,3',5,7,tetrahidroksiflavon; $C_{15}H_{10}O_6$), flavonol sınıfında yer alır. Yeşil çayda ve dutu meyvelerde bulunur.

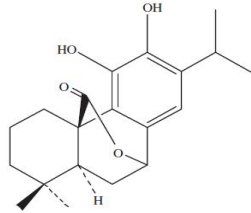
1.5.6. Kafeik Asit



Kafeik asit (3,4-dihidroksisinnamik asit; $C_9H_8O_4$) ayçiçeği tohumlarında ve ay çekirdeğinde en fazla bulunan hidroksisinnamik asittir ve bitki proteininin çözünürlüğünü oldukça fazla etkilemektedir. Ayrıca patatestede bulunur ve patatestede enzimatik esmerleşme reaksiyonundan sorumludur ve antioksidan olarak davranır (Chen ve Ho, 1997).

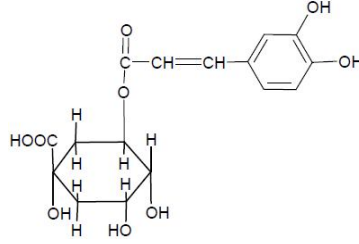
Kafeik asidin, düşük yoğunluklu lipoproteindeki α -tokoferölü koruduğu düşünülmektedir. Kafeik asit ve türevleri polifenol oksidazlar için iyi birer substrattır ve uygun koşullar altında bitki dokularında oksitlenebilirler (Gülçin vd., 2006).

1.5.7. Karnosol



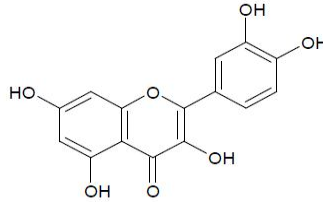
Karnosol [(epoksümetano)fenantren-12-on; $C_{20}H_{26}O_4$], bir diterpen laktondur ve çeşitli biyolojik aktiviteler gösterir. Antiseptik ve antiinflamatuvar etkilerinin yanı sıra antikanserojen özellikleri ile birlikte güçlü antioksidan özellikler gösterir (Luxenburger, 2003).

1.5.8. Klorojenik Asit



Klorojenik asit [1,3,4,5-tetrahidroksisikloheksankarboksilik asit 3-(3,4-dihidroksisinnamat); $C_{16}H_{18}O_9$] meyve, sebze, siyah çay ve bazı Çin ilaçlarında bulunan bir tür hidroksisinnamik asit türevidir. Sadece antioksidan fonksiyonuna sahip olmayıp; aynı zamanda hipertansiyonu önleyici, bitkilerin çiçeklenmesini tetikleyici ve tripsin, amilaz ve bazı diğer enzimlerin aktivitelerini etkileyici özelliklere sahiptir. Klorojenik asit çığ kahvenin acı tadını oluşturan başlıca bileşendir. Çeşitli tattaki hazır kahvelerin yapımında klorojenik asidin eliminasyonu etkili olmaktadır (Wang vd., 2007).

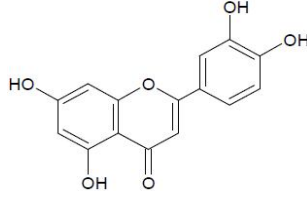
1.5.9. Kuersetin



Doğal bir flavonol türevidir olan kuersetin [2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-kromen-4-on; $C_{15}H_{10}O_7$] iyi bilinen bir antioksidandır. Oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı hücreyi korumada reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi ve metal katyonlarının şelatlanması üzerinden etkilidir (Sakanashi vd., 2008).

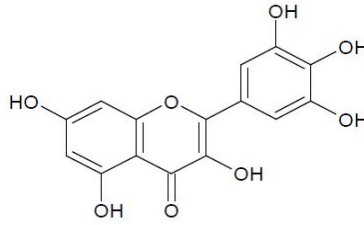
Doğada en bol bulunan flavonoidlerden biri olan kuersetin 6-31 mg/gün düzeyinde diyetle alınabilir. Kuersetin soğan, elma, lahana ve çayda yüksek miktarda bulunmaktadır.

1.5.10. Luteolin



Bitkisel kökenli bir polifenolik bileşik olan luteolin [2-(3,4-dihidroksifenil)-5,7-dihidroksi-4-kromenon; $C_{15}H_{10}O_6$], flavonoidlerin flavon alt sınıfına aittir ve genellikle kereviz, yeşilbiber, perilla (biftekotu) yaprağı ve papatya çayında glikozillenmiş formda bulunur. Antimutajenik, tümör oluşumunu engelleyici, pıhtılaşmayı önleyici, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin yanında antibakteriyel etkilere de sahiptir (Lv vd., 2009).

1.5.11. Mirisetin

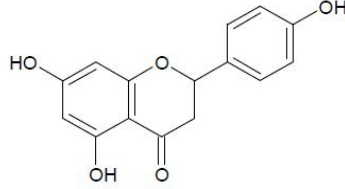


Yukarıda molekül formülü verilen mirisetin [3,5,7-trihidroksi-2-(3,4,5-trihidroksifenil)-4-kromenon); $C_{15}H_{10}O_8$] hidroksil grupları ile süstitüe olmuş doğal bir flavonoldur. Doğada yaygın olarak çay, meyve, sebze ve medikal bitkilerde bulunur. Meyve, sebze ve dutsu meyvelerde serbest aglikonlardan ziyade glikozitler formundadır ve meyvedeki oranı meyve olgunlaştıkça artar.

Mirisetin günlük hayatta çay, şarap, meyve ve sebze tüketimi ile alınmaktadır. Alınan mirisetinin bir kısmı gastrointestinal sistemde absorplanırken kalan kısmı gastrointestinal flora tarafından metabolize edilir.

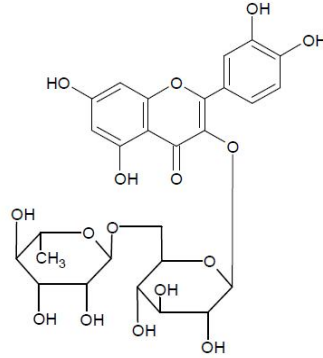
Yıllar boyunca araştırmacılar tarafından mirisetinin antiinflamatuvar ve antikarsinojik etkileri, antioksidan potansiyeli, terapötik uygulamaları ve trombosit pıhtılaşmasını (platelet agregatlaşması) önlemedeki etkileri üzerinde çalışılmıştır. Mirisetinin medikal uygulamaları antioksidan özelliğini ortaya koymaktadır. Mirisetinin gerek enzimatik gerekse non-enzimatik sistemler yoluyla oluşan radikalleri süpürebildiği bildirilmiştir (Ong ve Khoo, 1997).

1.5.12. Naringenin



Naringenin turunçgillerde bol miktarda (meyve suyunda 8 mg/L) bulunan bir flavanondur. Zayıf bir antioksidan olarak bilinen bu bileşik fenil halkasında C3 pozisyonunda hidroksil grubu bulundurmaz. Bu konumdaki hidroksil grubu flavonol oksidasyonunun başlama safhaları için önemlidir. Yapı-fonksiyon ilişkisi göz önüne alındığında bu durum naringenin antioksidan aktivitesinin düşük olduğunu açıklamaktadır (Prasetyo vd., 2011).

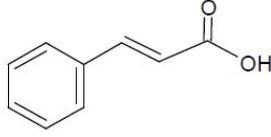
1.5.13. Rutin



Rutin (kuersetin-3-ramnozil glikozit; $C_{27}H_{30}O_{16}$) doğal bir flavonol türevidir. 19. yüzyılda karabuğdayda keşfedilmiştir. Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan düşük molekül ağırlıklı bir polifenolik bileşiktir. Karabuğdayın rutin alımı için majör besin olduğu düşünülmektedir.

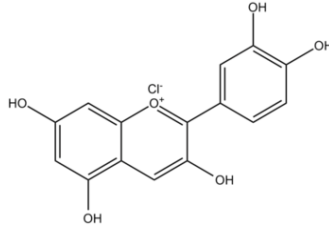
Rutin antialerjik, antiinflamatuvar ve vasoaktif, antitümör, antibakteriyel, antiviral ve antiprotozoal özellikleri gibi farmakolojik aktiviteleri dolayısıyla tedavi amaçlı olarak oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Yang vd., 2008).

1.5.14. Sınnamik asit



3-fenil-2-propenoik asit (*trans*-sınnamik asit; C₉H₈O₂) olarak da adlandırılan bu fenolik asit, bitkilerde şeker, organik asit veya yağlarla birleşmiş veya esterleri halinde bulunur ve aralarında etkili bir dönüşüm görülmektedir. Meyve, sebze, çiçek, tohum ve şarap, çay, kahve, zeytinyağı gibi bitki türevli ürünlerde bulunmaktadır (Herrmann, 1989).

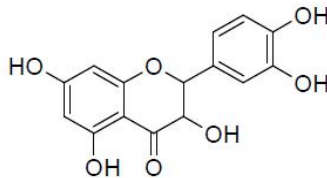
1.5.15. Siyanidin klorür



Siyanidin klorür, 3,5,7,3',4'-pentahidroksi-1-benzopirilyum klorür bileşiminde bir antosiyanidin olup bunun 3 ve 5 nolu karbon atomlarına bağlı hidroksil gruplarının β-glikozitler halinde şeker gruplarına bağlanmasıyla bir antosiyanin olan siyanidin klorür oluşur ki bu sonuncu bileşik kırmızı gül ve gelincik yapraklarında ve diğer birçok çiçekte bulunur (Kebiroğlu, 2006).

Siyanidinler bitkilerde en yaygın bulunan antosiyaninlerdir. Tahıl, meyve, sebze ve kırmızı şarapta yaygın olarak bulunuşları nedeniyle bitkisel temelli diyetle önemli oranda tüketilmektedirler (Galvano vd., 2004).

1.5.16. Taksifolin

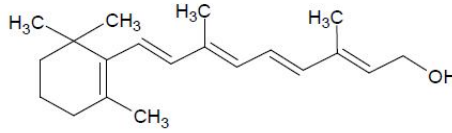


Taksifolin [(2*R*, 3*R*)-2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-2,3-dihidro kromen-4-on; C₁₅H₁₂O₇] bir flavanondur. Vücuttaki serbest radikalleri yok eder, kılcal

damarların geçirmezlik özelliğini ve elastisitesini etkili bir şekilde artırır. Taksifolin diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında fark edilebilir derecede yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Hayvansal ve bitkisel yağların, süt tozunun ve şekerlemelerin raf ömrünü uzatmaktadır.

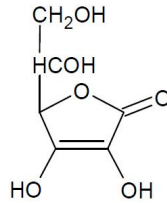
Taksifolin embriyotoksik değildir. Sakatlığa, aşırı duyarlılık ya da mutasyonlara yol açmaz. Taksifolinin ayrıca antiviral etkileri de rapor edilmiştir. Dahası, taksifolin insan karaciğerinde yağ sentezini engellemekte ve fosfodiesterazı aktive etmektedir. Taksifolin türevleri kalorisiz tatlandırıcılar olarak kullanılır. Besin endüstrisinde yaygın olarak doğal antioksidan katkı maddesi olarak kullanılır (Wang vd., 2011).

1.5.17. Vitamin A



$C_{20}H_{30}O$ kapalı formülüne sahip olan Vitamin A yumurta sarısında bol bulunuşu ile araştırılmış ve lipidde çözünebilir bir fraksiyonunun olduğu belirlenmiştir. Başta balıkyağı ve karaciğer olmak üzere, böbrek, süt, yumurta sarısı, buğday, havuç, mantar, baklagiller, fıstık, ceviz ve domates gibi besinlerle alınabilir. Vitamin A yapısal olarak karotenlerle ilişkilidir. Karotenler karaciğerde A vitaminine dönüştürülür (Palace vd., 1999).

1.5.18. Vitamin C (Askorbik asit)

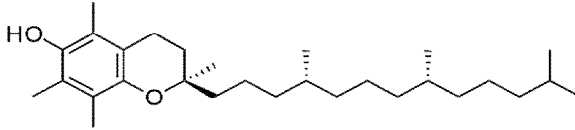


Vitamin C (askorbik asit; $C_6H_8O_6$) altı karbonlu bir laktondur. Memelilerde insan hariç çoğu hayvan bu vitamini karaciğerde ya da böbreklerde (kuşlar ve sürüngenler) glukozdan sentezler. Çilek, portakal, kivi, kırmızı ve yeşilbiber, domates ve patates iyi birer C vitamini kaynağıdır.

Vitamin C elektron donörüdür. Bir antioksidan veya indirgeyici ajan olarak C3-C4 bağından iki elektron verir ve serbest askorbat radikalini oluşturur. Bu radikal kararlı değildir ve diğer bileşiklerle reaksiyona girmez. Bu özellikler Vitamin C'yi ideal bir elektron donörü kılar.

Askorbik asit memelilerde sekiz farklı enzimin, mayada ise üç farklı enzimin kofaktörü olarak görev alır. İntraselüler olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesi, mRNA translasyonu, intraselüler proteinlerin oksidatif hasara karşı korunması gibi antioksidatif etkileri vardır. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu *in vitro* koşullarda önler. Plazmada sulu fazdaki peroksil radikallerinin süpürülmesi ve lipid peroksidasyon ürünlerinin uzaklaştırılması için birincil antioksidan olarak sayılabilir (Padayatty vd., 2001).

1.5.19. Vitamin E (α -tokoferol)



Yukarıda kimyasal yapısı gösterilen E vitamini hücrelerde bulunan ve lipitte çözünebilen bir antioksidandır. Doğada yan zincirlerinin doygunluğu ve metilasyonu bakımından birbirinden farklı α , β , γ , ve δ -tokoferol ile α , β , γ , ve δ -tokotrienol isminde 8 tip Vitamin E bulunur. Plazmada baskın olarak bulunan ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olanı ise α - tokoferoldür.

Vitamin E, insan vücudu için esansiyel olan bir antioksidan bileşiktir ve bu nedenle dışarıdan alınması gerekir. Hücre membranının yapısı ve fonksiyonu açısından önemli olan doymamış yağ asitlerinin korunmasında rol oynar (Çaylak, 2011).

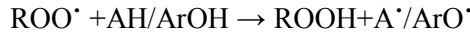
Çizelge 1.2. Antioksidan aktivitesi incelenen bileşikler ve yapısal özellikleri

Antioksidan	Sınıfı	Türü	Referans
BHA	Fenolik bileşik	Sentetik	Hocman, 1988.
BHT	Fenolik bileşik	Sentetik	Hocman, 1988.
Etoksikuin	Fenolik bileşik	Sentetik	Bohne vd., 2008.
Propil gallat	Fenolik bileşik	Sentetik	Ni vd., 2000.
Epikatekin	Flavanol	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Fisetin	Flavonol	Doğal	Jimenez, 1998.
Flavon	Flavon	Doğal	Skerget vd., 2005.
Gallik asit	Hidroksibenzoik asit	Doğal	Strlic vd., 2002.
Kaempferol	Flavanol	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Kafeik asit	Hidroksisinnamik asit	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Karnosol	Lakton	Doğal	Luxenburger, 2003.
Klorojenik asit	Hidroksisinnamik asit	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Kuersetin	Flavanol	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Luteolin	Flavon	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Mirisetin	Flavonol	Doğal	Ong ve Khoo, 1997.
Naringenin	Flavanon	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Rutin	Flavon	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Sinnamik asit	Hidroksisinnamik asit	Doğal	Natella, 1999.
Siyanidin klorür	Antosiyanin	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Taksifolin	Flavanon	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Vitamin A	Vitamin	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Vitamin C	Vitamin	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.
Vitamin E	Vitamin	Doğal	Rice-Evans vd., 1997.

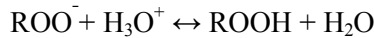
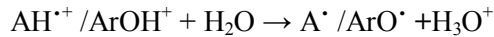
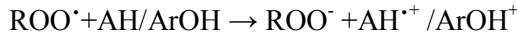
1.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanların önemlerinin anlaşılması ile bu konuda yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artış göstermiştir. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri iki temel prensibe dayanır. Bunlardan birincisi ‘Hidrojen Atom Transferi’ni (HAT) temel alan analizler, ikincisi ise ‘Elektron Transferi’ni (ET) temel alan analizlerdir. HAT reaksiyon mekanizmasına dayalı başlıca analizler oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) ve radikal-tutuklama antioksidan parametresi (TRAP)’dir. ET reaksiyon mekanizmasına dayalı başlıca analizler ise, ferrik tiyosiyanat (FTC) yöntemi ile total antioksidan aktivite tayin yöntemi, Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi (ABTS/TEAC), kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC), demir iyonlarını indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi (FRAP) ve DPPH radikal süpürücü aktivite tayini ve toplam fenolik madde miktarı analizi için uygulanan Folin-Ciocalteu yöntemidir (Apak vd., 2007).

HAT’ne dayanan yöntemler antioksidanın H-atomu vererek serbest radikalleri (genellikle peroksil radikallerini) süpürme yeteneğini ölçer. Antioksidan etki fenolden (Ar-OH) bir hidrojen atomunun (H^{\bullet}) peroksil radikaline (ROO^{\bullet}) transferi ile gerçekleşir.



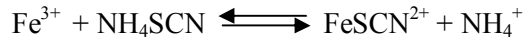
ET mekanizmasına dayanan yöntemlerin etki mekanizmasında gerçekleşen reaksiyonlar ise şunlardır:



ET yöntemleri HAT yöntemlerine göre daha yavaş gerçekleşir ve çözücü-pH faktörlerinden etkilenir. Spektrofotometrik ET yöntemleri indirgendiği zaman renk değiştiren oksidanın antioksidan tarafından ne kadar güçlü indirgenebildiğini ölçer. Renk değişimi çalışılan dalga boyunda absorbanın artması ya da azalması ile ifade edilebilir (Apak vd., 2007).

1.6.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)

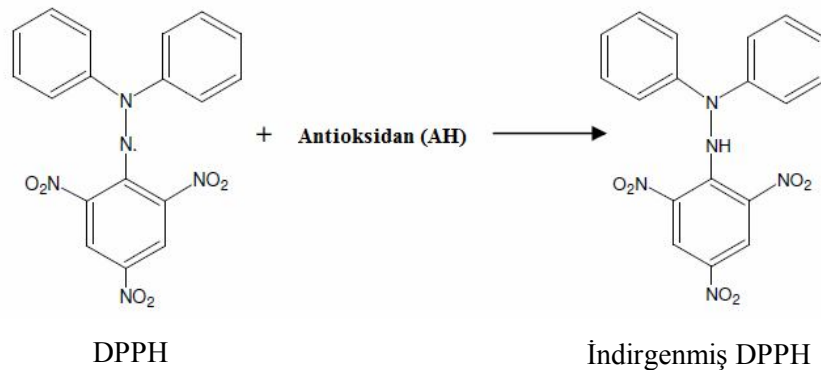
Bu metot doymamış bir yağ asidi olan linoleik asidin fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyon ortamında 40°C’de oksijen ile inkübasyonunda oluşan lipid peroksidin miktarının ölçümüne dayanmaktadır. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Ortamda bir antioksidan maddenin varlığında lipid peroksit ürünü oluşamaz ve derişimi dolayısıyla absorbansı düşük çıkar. Aşağıdaki reaksiyonda gösterilen yolla oluşan kırmızı-pembe renkli FeSCN^{2+} kompleksinin 500 nm’de absorbansının ölçülmesi ile antioksidan bileşiğin lipid peroksidasyonunu ne derecede etkilediği belirlenebilir.



1.6.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından öne sürülmüştür. Bitki örnekleri için en yaygın kullanılan antioksidan yöntemlerinden biridir. DPPH \cdot (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) hidrojen atomu verebilen bileşiklerle tepkimeye girebilen kararlı bir radikaldir ve 517 nm’de maksimum absorbans oluşturmaktadır.

Aşağıda DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan ile verdiği reaksiyon görülmektedir:



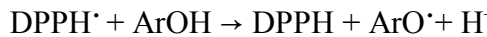
Antioksidanlarla muamele, DPPH''ten kaynaklanan mor rengin şiddetinin azalmasına ve absorbansın düşmesine sebep olacaktır. Farklı örnek derişimleri ile muamele edilen DPPH''in absorbansındaki değişim ölçülerek derişime karşılık gelen absorbanslarla grafik çizilerek $y=ax+b$ denkleminde DPPH' derişimini yarıya düşüren örnek miktarı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden belirlenmekte ve IC_{50} değeri olarak ifade edilmektedir.

Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50 azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC_{50} (etkin derişim) değeri ile verilir (Brand-Williams vd., 1995).

DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde antioksidan etkinlik ortam sıcaklığında ölçülür ve bu nedenle test edilen moleküllerin termal bozunma riski ortadan kaldırılmış olur. Bununla birlikte antioksidan ve DPPH radikali arasındaki reaksiyon mekanizması antioksidanın yapısal konformasyonunun değişmesine dayanır (Bondet vd., 1997).

Bu metodun önemli bir dezavantajı ise büyük antioksidan moleküllerin sterik engellenmeye maruz kalmaları nedeniyle inaktif olarak test edilmeleridir. Bu metotta antioksidan molekülün yapısı ve boyutu test sonucunu etkilemektedir.

Bazı bileşikler içerdikleri hidroksil grubu sayısına göre DPPH' ile çok çabuk etkileşirler. Fakat incelenen bileşiklerin çoğunda reaksiyonların daha yavaş ve mekanizmanın daha kompleks olduğu sanılmaktadır. DPPH' ile antioksidan bileşik arasında gerçekleşen reaksiyon aşağıdaki gibidir:



1.6.3. İndirgeme Gücü Tayini

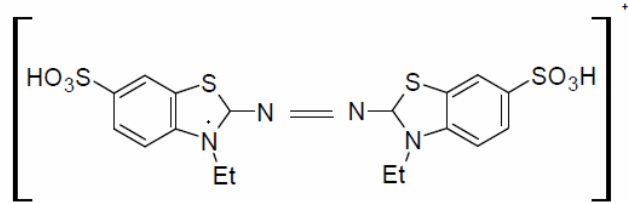
Oyaizu (1986) tarafından ortaya konan bu metoda göre indirgeme gücü, incelenen bileşiğin dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermektedir. Aşağıdaki reaksiyonda gösterildiği gibi $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ indirgenmesi ile meydana gelen renk değişimi 700 nm'de takip edilerek belirlenir. Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılmak suretiyle yorumlanır.



1.6.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)

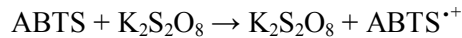
TEAC yöntemi orijinal olarak 1993'de Miller vd. tarafından uzun ömürlü radikal anyonların süpürülmesine dayanarak belirlenmiştir. Bu yöntemde hidrojen peroksit varlığında metmiyoglobinin peroksidaz aktivitesi ile ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)] radikalleri oluşturulur ve antioksidan etkisiyle radikal oluşumundaki azalma 734 nm'de ölçülür (van den Berg vd., 1999). Orijinal yöntemde ABTS radikal katyonu, H₂O₂ ve metmiyoglobinin reaksiyona girmesiyle oluşan ferrilmiyoglobin ile ABTS arasındaki etkileşim sonucu oluşmaktadır. ABTS^{•+} radikal katyonunun karakteristik absorpsiyon spektrumu 660, 734, 820 nm'de maksimum vermektedir (Rice-Evans ve Miller, 1984).

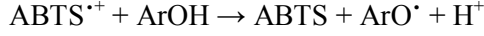
TEAC yöntemi daha sonra Re vd. (1999) tarafından modifiye edilmiştir. Bu geliştirilmiş metot, ABTS ve potasyum persülfat arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu mavi/yeşil ABTS^{•+} kromoforunu oluşturur. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşturulmaktadır. Aşağıda molekül yapısı verilen ABTS radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 gün dayanıklıdır.



Geliştirilen metodun orijinal metottan farkı hem lipofilik hem hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolorizasyon (renk giderimi) yöntemi olmasıdır.

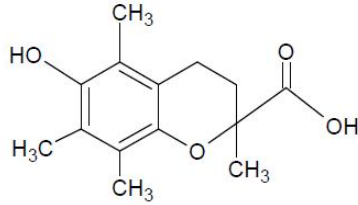
ABTS radikal katyonunun oluşumu ve ortama antioksidan ilave edilmesi ile gerçekleşen reaksiyon şöyledir (Apak vd., 2007):





Troloks [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], E vitamininin suda çözünür eşdeğeridir (Re vd., 1999). Troloks canlı sistemlerde doğal olarak bulunan bir bileşik olmamakla birlikte pek çok antioksidan aktivite tayin yönteminde standart olarak kullanılır. Genellikle belli bir derişim aralığında Troloks antioksidan olarak kullanılarak bir standart çalışma grafiği hazırlanır ve incelenen bileşimin antioksidan aktivitesi bu grafikten yararlanılarak Troloks eşdeğeri olarak hesaplanır (Ardağ, 2008).

Troloks bileşiminin moleköl yapısı aşığıda verilmiştir:

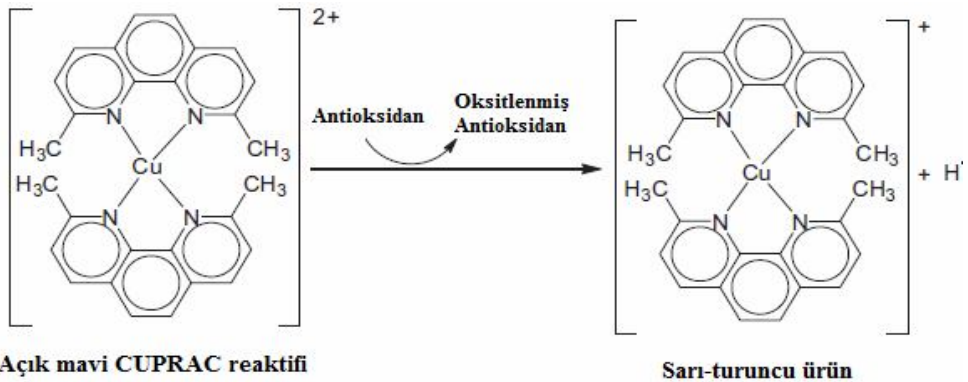


TEAC metodunun diğer bir modifikasyonu van den Berg vd. (1999) tarafından geliştirilmiştir. Bu çalışmada bir azo bileşimi olan 2,2'-azobis-(2-amidinopropan) HCl (ABAP) kullanılarak ABTS^{•+} radikal anyonu oluşturulmuştur.

Yöntemde antioksidanlar radikalın oluşmasından önce eklenmektedir. Böylece radikal oluşumuna etki edecek bileşiklerin girişimi önlenmektedir. Bu yöntemde de hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidan kapasite ölçülebilmektedir.

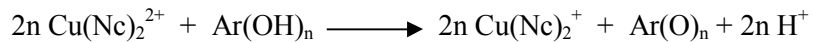
1.6.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

CUPRAC yönteminde kromojenik indirgeyici ajan bis(neokuproin) bakır(II) şelatıdır. Bu reaktif pH 7,0'de kullanışlıdır. Polifenollerin oksidasyonu ile Cu(II)-neokuproin şelatı 450 nm'de maksimum absorbanı veren Cu(I)-neokuproin şelatına indirgenir.



Bu yöntem daha sonra kuprik iyonu indirgeme potansiyeli ölçülmek suretiyle bitki ekstraktlarında ve insan serumunda (Apak vd., 2004; 2005) total antioksidan kapasite tayini için geliştirilmiş ve bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini olarak isimlendirilmiştir. Bu yöntemle hem hidrofilik hem lipofilik antioksidanların toplam antioksidan kapasitesi kolaylıkla tayin edilebilmektedir.

Yeni geliştirilen CUPRAC yönteminde kullanılan kromojenik oksidasyon reaktifi olan bis(neokuproin)-Cu(II) klorür ile antioksidan polifenol arasındaki reaksiyon aşağıdaki gibi gerçekleşir:



Bu reaksiyonda, $\text{Ar}(\text{O})_n$ hidroksi grubu içeren antioksidan polifenolden oluşan kinonu ifade etmektedir. Tepkime sonunda iki proton açığa çıkmakta ve $\text{Ar}(\text{OH})_n$ yapısında bulunan hidroksil grubu kinon formuna dönüşmektedir. Cu(II)-Nc ise 450 nm'de maksimum absorbanı veren şiddetli renk oluşumuyla birlikte Cu(I)-Nc

şelatına dönüşmektedir. Bu reaksiyonda, n-OH grubu içeren antioksidan karakterli bileşikler, 2n-elektron donörü olarak hareket etmektedir (Apak vd., 2004).

Çizelge 1.3. Çalışılan antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Antioksidan aktivite tayin yöntemi	Ölçülen parametre	Çalışılan dalga boyu
Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Kapasite Tayini (FTC)	Linoleik asidin fosfat emülsiyonunun peroksidasyonu	500 nm
DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	DPPH radikalinin antioksidan molekül tarafından süpürülmesi sonucu renk şiddetindeki azalma	517 nm
İndirgeme Gücü Tayini	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ indirgenmesi ile oluşan sarı \rightarrow yeşil renk değişimi	700 nm
TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) Tayini	ABTS ve $K_2S_2O_8$ 'in reaksiyonu ile edilen $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin antioksidan bileşik tarafından süpürülmesi ile renk şiddetinin azalması	730 nm
Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)	Bis(neokuproin)-Cu(II) klorür ile antioksidan polifenol arasındaki reaksiyon ile renk değişimi	450 nm

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Antioksidanların kullanımının gün geçtikçe artması bu bileşikler üzerinde yapılan çalışma sayısının da artmasına neden olmuştur. Bu çalışmalarda antioksidan bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin ölçülebilmesi için geliştirilmiş metotlar ve bu metotların kimyasal temelleri belirlenmekte ve antioksidan aktivite terimine daha iyi bir açıklama getirilmektedir.

Miller vd. (1993) antioksidan kapasitenin ölçülebilmesi için yeni bir metot geliştirmişler ve bu metodu prematüre bebeklerde antioksidan statünün belirlenmesinde kullanmışlardır. ABTS^{•+} radikal katyonunun absorbansını temel alan bu yöntem ile vücut sıvılarının ve ilaç çözeltilerinin antioksidan kapasitesini ölçmek mümkündür. Bu nedenle metot farmakolojik ve gıda uygulamaları açısından büyük önem taşımaktadır. Fizyolojik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasiteleri ve ilaçların ABTS^{•+} radikal katyonunu süpürme yetenekleri 1 mmol Troloks'a eşdeğer olarak verildiğinden TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini) yöntemi olarak adlandırılmaktadır.

Re vd. (1999) flavonoidler, hidroksisinnamatlar, karotenoidler ve plazma antioksidanlarını içeren hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabilen yeni bir renk giderimi yöntemi ortaya koymuşlardır. Bu yöntemde ABTS potasyum persülfat ile oksitlenip hidrojen donörü olan bir antioksidan varlığında indirgenmektedir.

Huang vd. (2005) antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin kimyasal temelini araştırmışlardır. Bu yöntemler gerçekleşen reaksiyonlara göre HAT temelli ve ET temelli olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. HAT temelli yöntemde antioksidan ve oksidan bileşik azo bileşiklerinin dekompozisyonu sonucu oluşan peroksil radikalleri için birbirleriyle yarışmaktadır. ET temelli yöntemlerde ise oksidan madde, antioksidan bileşik tarafından indirgenmekte ve meydana gelen renk değişiminin ölçülmesi ile antioksidan kapasite belirlenmektedir. Antioksidan bileşiklerin aktivitelerinin belirlenmesinde en az iki yöntemin uygulanması gerektiği belirlenmiştir.

MacDonalds-Wicks vd. (2006) tarımsal ürünlere değer kazandırmanın, fonksiyonel özellik ya da antioksidan bakımından zengin gıdalar geliştirmekle mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Bu işlem antioksidanın bol bulunduğu kaynaklardan ekstraksiyonu ve gıdaya ilave edilmeden önce *in vitro* ve *in vivo* koşullarda test edilmesini gerektirmektedir. *In vivo* koşullarda yapılan testler büyük maliyet getirdiği için genellikle *in vitro* koşullarda yapılan testler tercih edilmektedir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için tek bir test uygulamak antioksidan aktiviteyi doğru bir biçimde yansıtmayacaktır. Bu nedenle antioksidan bileşiğin indirgeme yeteneğini ölçen ET yöntemleri ya da hidrojen atomu transfer yeteneğini ölçen HAT yöntemlerinin temel alındığı en az iki yöntem kullanılarak antioksidan aktivite belirlenmelidir.

Pokorny (2007), batı ülkelerinde polienoik yağ asitlerinin beslenmede çok kullanıldığını fakat bu yağ asitlerinin kolayca serbest radikallere oksitlenebildiğini belirtmiştir. Tüketicilerin sentetik antioksidanlar yerine doğal antioksidanları tercih etmelerini duygusal nedenlere bağlamıştır. Çünkü antioksidanların sadece bir kısmı *in vivo* koşullarda absorplanarak serbest radikal süpürücü olarak kullanılmaktadır. Doğal antioksidanlar gıdalara sentetik antioksidanlardan daha fazla miktarda eklenebilir çünkü daha az aktiftirler. Fakat asıl aktivite bazı belli koşullara ve besin bileşimine bağlıdır. Doğal antioksidanların güvenilirlik sınırları henüz bilinmediği için en iyi korumanın diyetle yüksek oranda polienoik yağlar almak yerine oleik yağların alınması ve gıdaları otooksidasyona karşı korumak için başka alternatif yolların denenmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Pokorny (2008) tarafından yapılan bir başka çalışmada bitki fenoliklerinin doğal antioksidanların en önemli grubu olduğu ve insan beslenmesinde günde yaklaşık 1 g kadar tüketildiği belirtilmiştir. Baharatlarda, çay yapraklarında, kavrulmuş kahvede, kakao tanelerinde ve kırmızı şarapta yüksek oranda bulunan bu bileşiklerin sentetik antioksidanlarla neredeyse aynı oranda toksik olduğu ayrıca aşırı antioksidan tüketiminin güvenilir bir durum olmadığı bildirilmiştir.

Ayrıca farklı molekül yapılarına sahip antioksidan bileşiklerin aktiviteleri arasında çeşitli antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılarak yapılan karşılaştırmalar doğal antioksidanların aralarında ya da sentetik antioksidanlara göre ne ölçüde etkin olduklarını belirlemede ve aynı zamanda yapı-fonksiyon ilişkisinin

aydınlatılmasında yararlı olmaktadır. Bu amaçla yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Chen ve Ho (1997) kafeik asit ve onun hidrokisisinnamik asit türevlerinin antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Kafeik asit ile kuinik asidin esteri olan klorojenik asidin şeker birimi içermesinden dolayı kafeik asitten daha az aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Meyer vd. (1998), antioksidan aktivite üzerine kimyasal yapının etkisini araştırmışlardır. *In vitro* koşullarda insan LDL'sinin bakır katalizli oksidasyonunun katekin, kuersetin, siyanidin, kafeik asit ve elajik asit tarafından inhibisyonunu incelemişlerdir. Bu beş bitkisel fenolik madde benzer orto-dihidroksi yapıya sahiptir. Antioksidan aktivitenin katekin>siyanidin~kafeik asit>kuersetin>elajik asit sırasını takip ettiği bildirilmiştir. Ayrıca bu fenolik bileşikler arasındaki sinerjik ya da antagonist etkilerin incelenebilmesi için bileşiklerden ikisi veya üçü karıştırılarak 20 farklı kompozisyonda örnekler hazırlanmış ve analizlenmiştir. Tüm karışımlar antioksidan aktivitede artış gösterirken sadece elajik asit- katekin karışımı elajik asitteki karbonil grupları arasındaki H-bağları ve katekindeki orto-hidroksil grupları nedeniyle antagonist etki yaratmıştır.

Palace vd. (1998) tarafından A vitamini ve karotenoidlerin antioksidan potansiyelleri incelendiğinde A vitamininin E vitamininden 3 kat daha az etki gösterdiği belirlenmiştir. Fakat bu vitaminler birlikte bulduklarında lipid peroksidasyonuna dayanıklılığın sağlanmasında sinerjistik bir etki gösterdikleri saptanmıştır.

Hongyu (1999) tarafından flavonoid antioksidanların yapı-aktivite ilişkileri incelendiğinde orto- konumundaki flavonoid hidrokisillerin serbest oksijen radikallerini süpürme etkilerinin meta- konumundaki hidrokisillere oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir. Orto-hidroksi yapıları molekül içi hidrojen bağları ile kararlı hale gelebilmektedir. Ayrıca C halkasının B halkasını çok az etkilediği ve çoğu flavonoidde B halkasındaki hidroksil grupları orto- konumunda bulunduğu için bu grupların serbest oksijen radikallerini süpürme aktivitelerinin daha fazla olduğu savunulmaktadır.

Lien vd. (1999) kuersetin, mirisetin ve kaempferolün molekül yapıları ile TEAC yöntemi uygulanarak belirlenen antioksidan kapasite ilişkilerini

karşılaştırmışlardır. Bu bileşiklerin, yapılarında farklı sayıda hidroksil grubu bulduklarını görmüşlerdir. Kuersetin, mirisetin, ve kaempferol için elde edilen TEAC değerleri sırasıyla 4,7; 3,10 ve 1,34'tür. Mirisetinden daha az sayıda hidroksil grubu içeren kuersetinin TEAC değerinin mirisetinden daha yüksek bulunması, hidroksil grubu arttıkça antioksidan kapasitenin artması gerektiği düşüncesinin her zaman geçerli bir durum olmadığını göstermiştir. Bu farklılığın nedeninin büyük olasılıkla hidroksil gruplarının sayısı yanında konumlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fukumoto ve Mazza (2000), antosiyanidin/antosiyanin yapısındaki bazı fenolik bileşikler ve seçilen dutsu meyve ekstraktlarına DPPH yöntemini uygulamıştır. Yapılan çalışma sonucu düşük derişimlerde çoğu fenolik bileşiğin sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT'nin aksine pro-oksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur.

Burda ve Oleszek (2001) flavonoidlerin antioksidan ve antiradikal aktivitelerini araştırmışlar ve BHT'nin α -tokoferolden daha etkin olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca flavonol sınıfından olan fisetin, kuersetin ve kaempferolün C3 pozisyonunda bulduklarını hidroksil grubu nedeniyle β -karoten oksidasyonunu yüksek derecede inhibe ettikleri belirlenmiştir.

Pannala vd. (2001) flavonoidlerin kimyasal ve antioksidatif özelliklerini incelemişlerdir. B halkasındaki orto-hidroksi yapı ve C halkasındaki 4-okso fonksiyonu ile konjuge olmuş 2,3 çift bağın serbest radikal süpürücü aktivitede rol oynadığını belirtmişler ve bu özellikten yararlanarak flavonoidlerin ABTS^{•+} süpürme aktivitelerini araştırmışlardır. Ayrıca kaempferolün 4'-OH ve 3-OH gruplarına bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Yen vd. (2002), askorbik asit ve gallik asidin antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Her iki bileşiğin indirgeme gücünün derişimle doğru orantılı olarak arttığını belirlemişlerdir. 4,17 mM derişimde askorbik asidin ve gallik asidin DPPH radikalini sırasıyla % 42,1 ve % 43,9 oranında süpürdüğü görülmüştür.

Lo vd. (2002) biberiyeden ekstrakte edilen karnosol, karnosik asit, rosmarinik asit ve ursolik asidin antioksidan aktivitelerini ölçmüşlerdir. DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayininde karnosik asit, karnosol ve rosmarinik asidin derişime

bağlı aktivite gösterdiği ve C ve E vitaminlerinden daha etkili oldukları belirlenmiştir. DPPH radikalini % 50 oranında süpüren derişimler karnosol, karnosik asit, rosmarinik asit ve ursolik asit için sırasıyla 0,6 μM ; 0,59 μM ; 0,49 μM ve $>10 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.

Cai vd. (2004) Çin'de bulunan 112 adet medikal bitkinin fenolik bileşiklerini ve bunların antioksidan aktivitesini incelemiştir. Yapı-aktivite ilişkileri incelendiğinde genellikle aromatik halkada bulunan ve hidrojen atomu verebilen hidroksil grupları sayısının ve konumunun, glikozillenme, -NH ve -SH gibi H-donörü olan grupların varlığının radikal süpürücü aktivite ve antioksidan aktivite ile yakından ilgili olduğu belirlenmiştir. Örneğin kuersetin, mirisetin ve kaempferol gibi çok sayıda -OH grubuna sahip olan flavonoller glikozillenmiş formları olan rutin, mirisitrin ve astragalinden daha yüksek aktivite göstermişlerdir.

Galvano vd. (2004) siyanidinlerin metabolizmalarını ve biyolojik özelliklerini incelemişler, bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerini açıklamışlardır. Elektron eksikliği antosiyaninleri reaktif hale getirmektedir. Antosiyaninler pH ve sıcaklığa karşı çok hassas oldukları için bazı durumlarda kararsız olabildikleri bilinse de güçlü antioksidanlar sınıfında yer almaktadırlar. Antosiyaninlerin antioksidan özellikleri farklı kimyasal yapılarından kaynaklanmaktadır. Aromatik halkadaki kimyasal grupların pozisyonu ve türü değiştikçe radikal moleküllerin ortaklanmamış elektronlarını tutma yetenekleri de değişmektedir.

Gülçin (2006) ABTS ve DPPH radikal süpürücü aktivite tayin yöntemi, ferrik tiyosiyanat yöntemi ile total antioksidan kapasite tayini, total indirgeme kapasitesi ve metal şelatlama aktivitesi yöntemlerini kullanarak kafeik asidin antioksidan etkilerini değerlendirmiştir. Referans antioksidan bileşikler olarak α -tokoferol, Troloks, BHA ve BHT'yi kullanmıştır. 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ derişimlerinde kafeik asit linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonunu sırasıyla % 68,2 ve % 75,8 inhibe etmiştir. 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ derişimdeki BHA, BHT, α -tokoferol, ve troloks ise % 74,4; % 71,2; % 54,7; % 20,1 inhibisyon göstermiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde BHT $>$ kafeik asit $>$ BHA $>$ α -tokoferol $>$ Troloks (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ; aynı derişim aralığında ABTS radikalini süpürme aktiviteleri içinse kafeik asit $>$ troloks $>$ α -tokoferol şeklinde bir sıralama yapılmıştır.

Villaño vd. (2007) polifenolik bileşiklerin DPPH radikalini süpürme etkinliklerini incelemişlerdir. Yapılarındaki hidroksil grubu sayısına bağlı olarak en yüksek değerlere flavan-3-ollerde rastlanmıştır. Gallik aside benzer bileşiklerin DPPH radikalini büyük ölçüde süpürdükleri belirtilmiştir. Gallik asit, kafeik asit, epikatekin, kaempferol, kuersetin, mirisetin, rutin ve askorbik asit için IC₅₀ değerleri sırasıyla 5,1; 12,1;4,5; 18,8; 5,5; 3,6; 5,3 ve 11,8 bulunmuştur.

Yang vd. (2008) doğal bir flavon türevidir olan rutin *in vitro* antioksidan özelliklerini belirlemiştir. İndirgeme gücü, DPPH radikal süpürücü aktivite ve total antioksidan aktivite (β -karoten yöntemine göre) tayinleri uygulanmış ve elde edilen değerler BHT ve Vitamin C ile karşılaştırılmıştır. Rutinin indirgeme gücünün BHT ile neredeyse aynı olduğu fakat her ikisinin de Vitamin C'den daha düşük olduğu görülmüştür. Öte yandan rutin iyi bir DPPH radikali süpürücüsü olduğu belirlenmiş ve Vitamin C > rutin > BHT şeklinde bir karşılaştırma yapılmıştır. Antioksidan bileşiğin linoleik asidin peroksidasyonunu ne derecede önlediğini temel alan β -karoten total antioksidan kapasite tayininde ise rutin BHT'den daha az total antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Duan vd. (2007), Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) meyvesi kabuğu dokularından ekstrakte edilen antosiyaninlerin, kabuk renginin kahverengiye dönüşmesi ile ilgili olduğunu belirtmişler ve bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerini belirlemiştir. Antosiyaninler linoleik asit emülsiyonunu oldukça güçlü bir derecede inhibe etmiş ve DPPH, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali süpürücü etkilerinin derişime bağlı olarak arttığını rapor etmişlerdir. 100 μ g/mL derişimde antosiyaninler, askorbik asit ve BHT ile indirgeme güçleri sırasıyla 3,70; 0,427; 0,148 bulunmuştur.

Heo vd. (2007) fenolik bileşiklerin tek başlarına veya bir arada bulunmalarına göre antioksidan aktivitede görülen değişikleri incelemişlerdir. Bu amaçla sebze ve meyvelerde bulunan klorojenik asit, siyanidin, epikatekin ve kuersetinin antioksidan kapasitelerini TEAC yöntemi ile belirlemiştir ve bu fenolik bileşiklerin tek başlarına daha karakteristik aktivite gösterdikleri fakat farklı bileşimlerde bir araya getirildiklerinde sinerjistik bir etki oluşturmadıkları görülmüştür.

Marinova vd. (2009) kafeik asit ve klorojenik asitin antioksidan özelliklerini karşılaştırmışlardır. Bu asitlerin $2,8-56,5 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında 100°C 'de ayçiçeği yağındaki triačilgliserollerin otooksidasyonuna etkileri incelenmiş $2,85 \times 10^{-4}$ M derişimde etkinliklerinin neredeyse aynı fakat daha yüksek derişimlerde kafeik asitin daha etkin olduğu görülmüştür. Bu duruma neden olan faktörler, asitlerin hidroperoksitlerle etkileşimlerinin spesifik olması ve klorojenik asitten oluşan radikallerin zincir uzama safhasının birçok aşamasında yer alması fakat kafeik asitten türeyen radikallerin tek bir reaksiyona girmeleridir.

Tabart vd. (2009) çeşitli yöntemlerle (TEAC, DPPH, ORAC, kırmızı kan hücresi hemolizi ve ESR) fenolik bileşikler, askorbik asit ve glutatyonun antioksidan aktivitelerini ölçmüşler ve TEAC yönteminde askorbik asidin Troloks'dan daha az, kaempferolün ve rutin in Troloks ile benzer, mirisetinin daha yüksek aktivite gösterdiği, antosiyaninler ve bir fenolik asit olan gallik asidin ise iki kat fazla antioksidan etki gösterdiğini belirlemişlerdir. DPPH yönteminde ise flavonollerin Troloksa yakın radikal süpürücü etkilerinin olduğu görülmüştür.

Krishnaiah vd. (2010) tıbbi amaçla kullanılan bazı bitkilerin çok yüksek antioksidan potansiyeline sahip olduğu fikrinden yola çıkarak bu bitkilerin gövde, kök, kabuk, yaprak, meyve ve tohumları ile çalışmışlar ve birçok bitkisel türün BHT ve BHA gibi sentetik antioksidanlara benzer antioksidan aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir. Ayrıca DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde askorbik asidin BHT'den daha etkili olduğu görülmüştür.

Wanga vd. (2010) mirisetinin hücreyi oksidatif strese karşı koruma gücünü ölçmüşler ve DPPH radikalini $5 \mu\text{g/mL}$ derişimde % 21; $10 \mu\text{g/mL}$ derişimde ise % 54 oranında süpürdüğünü belirlemişlerdir.

Wang vd. (2011) toz haline getirilmiş *Larix gmelini* (Rupr.) taksifolini ekstrakte ederek antioksidan aktivitesini DPPH metodu ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 1 g taksifolinin 21,83 mmol askorbik asite karşılık geldiğini ve askorbik asitten dört kat daha fazla radikal süpürücü aktivitesi olduğunu görmüşlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal ve Cihazlar

Etil alkol, metil alkol, kafeik asit, epikatekin, mirisetin, kuersetin, kaempferol, gallik asit, siyanidin klorür, retinol (Vitamin A), karnosol, BHT, α -tokoferol ve luteolin, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Troloks[®] [(\pm)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit] ve PBS Sigma (Steinheim, Almanya)'dan; propil gallat, taksifolin, etoksikuin (pestanal), $K_3Fe(CN)_6$, askorbik asit, ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu], potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$), $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ Fluka'dan (Buchs/Switzerland); naringenin, bakır(II) klorür dihidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$), neokuproin (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin), BHA, flavon, klorojenik asit, sinnamik asit, demir (II) klorür, fisetin Aldrich (Milwaukee, WI, ABD)'den; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, NH_4Ac , NH_4SCN , linoleik asit, HCl Merck (Dramstadt, Almanya)'dan; glasiyel asetik asit ve TCA (trikloro asetik asit) Carlo Erba (Rodano, İtalya)'dan; NaOH ve rutin Riedel-de Haën (Seelze, Almanya)'dan temin edildi.

Deneylerde Memmert (WBU 45) ısıtıcı, Vestel (White FR 540) buzdolabı, Ohaus-Pioneer (PA214C) 0,0001 g duyarlıkta terazi, Hanna (pH 211) pH metre, Memmert (WB14) çalkalamalı su banyosu, Shimadzu (UV-1601) Spektrofotometre, Heidolph (Reax Top) vorteks, Brand (Transferpette) otomatik pipetler, Hanna (HI190M) manyetik karıştırıcı, GFL (2001/4) saf su cihazı, Millipore (Simplicity UV) ultra saf su cihazı kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FCR)

Total antioksidan aktivite tayini Saha vd. (2004)'e göre uygulandı. Antioksidan aktivitesi incelenecek olan örneklerden 1,0'er mg alınıp 1,0'er mL etanolde çözüldü. 2,51 mL linoleik asitin 100 mL etanoldeki emülsiyonundan (0,081 M) 1,025 mL ilave edildi. Daha sonra 2,0 mL 0,04 M fosfat tamponu (PBS) (pH 7,4) ve 0,975 mL distile su ilave edildi. Kontrol için örnek ve çözgen kullanılmayıp 3,0 mL tampon çözelti kullanıldı. Hazırlanan çözeltiler 40 °C'de su banyosunda inkübasyona tabi tutuldu. Hazırlanan bu reaksiyon karışımından ilk hazırlandığı

andan itibaren 24 saat ara ile 100 µL alınıp üzerlerine 9,7 mL etil alkol (kör için 9,8 mL), 100'er µL demir (II) klorür (20 mM % 3,5'luk HCl içinde) ve amonyum tiyosiyanat (% 30'luk) ilavesi ile oluşan kompleksin vortekslenmesinden sonra 500 nm'de absorbanı ölçüldü. Bu işleme kontrolün absorbanının maksimum değerine ulaştığı ana (72. saat) kadar devam edildi. İşlemler 3'er tekrarlı (n=3) yapıldı. Zaman-absorbans grafikleri çizildi ve aşağıdaki formülden antioksidan aktivite hesaplandı.

$$AA = 100 - (\Delta A_0 - \Delta A_k) \times 100$$

AA : Antioksidan aktivite

ΔA_0 : Örnek için (t saatteki absorban - sıfırıncı saatteki absorban)

ΔA_k : Kontrol için (t saatteki absorban - sıfırıncı saatteki absorban)

3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

DPPH radikal süpürücü aktivite tayini Brand-Williams vd. (1995)'a göre yapıldı. DPPH'in metanoldeki çözeltisinden (1.0×10^{-3} M) 1 mL alınarak üzerine 3 mL 0-250 µg/mL derişim aralığında etanolde çözülerek hazırlanmış örnek (antioksidan) çözeltisi eklendi ve vorteks ile şiddetle çalkalandı. Otuz dakika karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm'de absorban okundu. İşlemler 3 tekrarlı (n=3) yapıldı. Yüzde inhibisyon (DPPH Radikal Süpürücü Aktivite) aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [A_K - A_0 / A_K] \times 100$$

A_K : Kontrolün absorbanı

A_0 : Örneğin absorbanı

Farklı derişimlerle ölçülen absorbanlarla grafik çizildi. $y = ax+b$ denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren örnek miktarı µg/mL cinsinden bulundu ve IC_{50} değerleri hesaplandı.

3.2.3. İndirgeme Gücü Tayini

İndirgeme gücü tayini Oyaizu (1986)'ya göre yapıldı. İndirgeme gücü ölçülecek olan bileşiklerin 0,1-0,5 mM derişim aralığında stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 500'er µL alınarak 15 mL'lik cam tüplere kondu. Üzerlerine toplam hacim 1,0 mL olacak şekilde distile su eklendi. Bu çözeltilerin üzerine 2,5'er mL pH 6,6 fosfat tamponu ve 2,5'er mL potasyum ferrisiyanür (% 1'lik) ilave edilerek 50 °C'de 20 dakika bekletildi. Daha sonra 2,5 mL % 10'luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edildi. Buradan alınan 2,5 mL'lik örneklere 2,5 mL distile su ve 0,5 mL demir (III) klorür (% 0,1'lik) ilavesi ile 700 nm'de absorbans okundu. 0,5 mM derişimdeki örneklerin indirgeme gücü değerleri aynı derişimdeki askorbik asidin indirgeme gücü yüzdesi (% Askorbik asit) olarak hesaplandı. İşlemler 3 tekrarlı olarak yapıldı.

3.2.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini, Miller vd., (1993) ve Dubeau vd. (2010)'a göre bazı değişiklikler uygulanarak yapıldı. ABTS'nin distile sudaki çözeltisi (0,0768 g/10 mL) ve potasyum persülfat çözeltisi (0,0132 g/10 mL) karıştırıldı. Çözelti oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat mekanik karıştırıcıda bekletildi. Kullanıma hazır hale gelen mavi yeşil renkli ABTS radikal çözeltisi, 730 nm'de absorpsiyon $0,700 \pm 0,010$ olacak şekilde distile su ile 1:100 oranında seyreltildi. Kuvartz küvete 1 mL seyreltilmiş ABTS radikal çözeltisinden ilave edilip üzerine 0-250 µM derişim aralığında etanolde çözülen antioksidan çözeltilerinden 50 µL eklendi. Altıncı dakika sonunda 730 nm'de absorbans değerleri okundu. İşlemler 3 tekrarlı (n=3) yapıldı. Altıncı dakikadaki absorbans değerinden (A_6) kontrolün absorbans değeri (A_K) çıkarılarak ΔA değerleri elde edildi.

$$\begin{aligned} \% \text{ İnhibisyon} &= [A_K - A_6 / A_K] \times 100 \\ &= [\Delta A / A_K] \times 100 \end{aligned}$$

ΔA değerlerinden % inhibisyon değerleri yukarıdaki formül ile hesaplanarak antioksidan derişimine karşı grafiğe geçirildi. Grafiklerden elde edilen eğimler Troloks ile çizilen standart çalışma grafiğinden elde edilen eğime oranlanarak incelenen her antioksidan bileşik için $TEAC_{ABTS}$ değerleri hesaplandı.

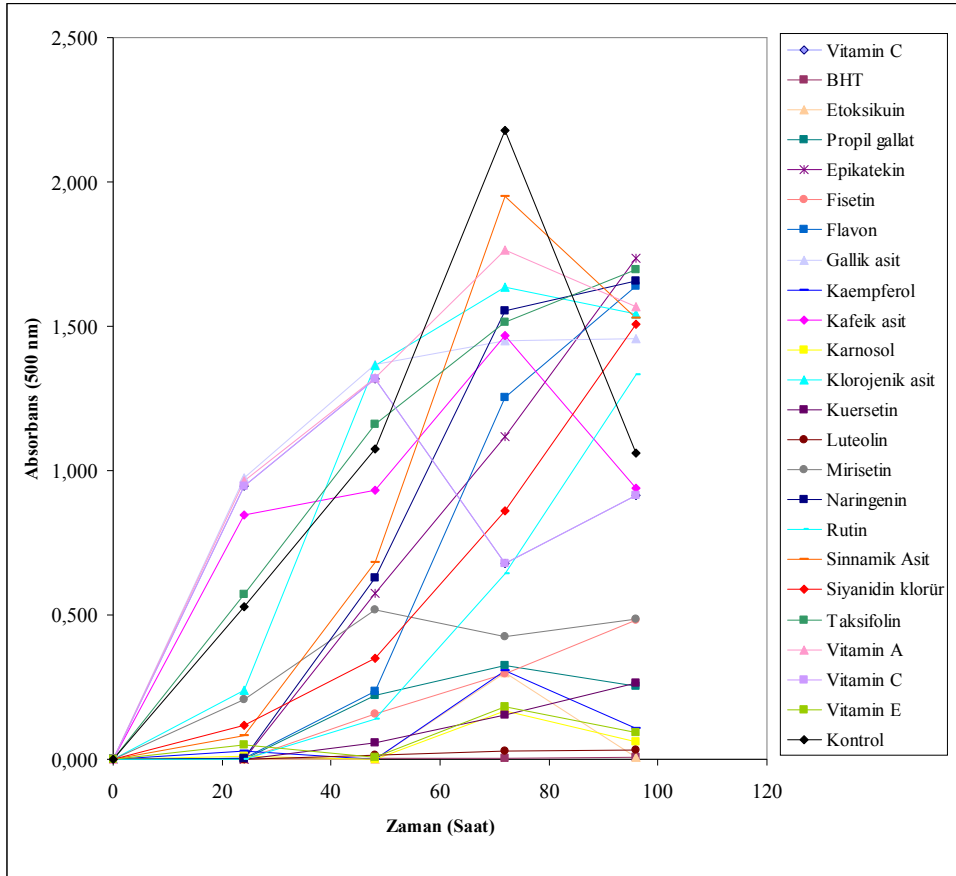
3.2.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite tayini Apak vd. (2004)'a göre yapıldı. $1,0 \times 10^{-2}$ M CuCl_2 , $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuproin çözeltileri ve 1,0 M amonyum asetat tamponundan (pH 7,0) 1,0'er mL alındı. Üzerine son hacim 4,1 mL olacak şekilde, 0-100 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığında etanolde çözümlenerek hazırlanan X mL antioksidan çözeltisi ve (1-X) mL etanol ilave edilip iyice çalkalandı. Tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de absorbans okundu. Bu yöntemde standart olarak kullanılan Troloks için derişim-absorbans standart grafiği oluşturuldu. Antioksidan aktivitesi incelenen her örnek için derişime karşı absorbans grafikleri çizildi. Antioksidan bileşiklerin grafiklerinden elde edilen eğimler Trolokse ait standart grafiğin eğimine oranlanarak $\text{TEAC}_{\text{CUPRAC}}$ değerleri hesaplandı. İşlemler 3 tekrarlı olarak yapıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC) Sonuçları

Total antioksidan aktivitesi FTC yöntemi ölçülen tüm antioksidan bileşiklerin zamana bağlı absorbands ölçümleri ve hesaplanan linoleik asit peroksidasyonunun inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Linoleik asit peroksidasyonunun çalışma kapsamındaki doğal ve sentetik antioksidan bileşikler tarafından inhibisyonunun zamana bağlı gelişimi

Tüm bileşikler için hesaplanan % inhibisyon değerleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

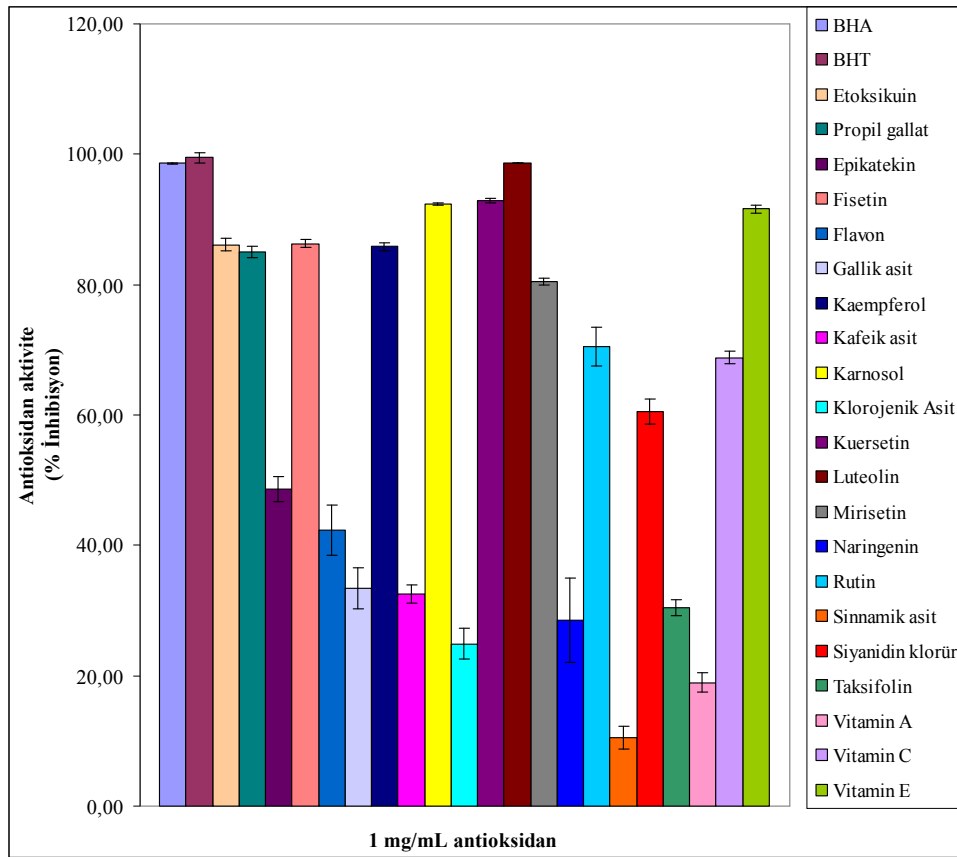
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamındaki antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri

	Antioksidan	Antioksidan aktivite \pm SD (%)
Sentetik	BHA	98,61 \pm 0,04
	BHT	99,51 \pm 0,81
	Etoksikuin	86,14 \pm 0,99
	Propil gallat	85,01 \pm 0,89
Doğal	Epikatekin	48,58 \pm 1,89
	Fisetin	86,32 \pm 0,66
	Flavon	42,33 \pm 3,78
	Gallik asit	33,42 \pm 3,11
	Kaempferol	85,88 \pm 0,62
	Kafeik asit	32,55 \pm 1,36
	Karnosol	92,36 \pm 0,17
	Klorojenik asit	24,91 \pm 2,32
	Kuersetin	92,91 \pm 0,40
	Luteolin	98,65 \pm 0,04
	Mirisetin	80,54 \pm 0,54
	Naringenin	28,54 \pm 6,46
	Rutin	70,46 \pm 2,95
	Sinamik asit	10,48 \pm 1,69
	Siyanidin klorür	60,52 \pm 1,98
	Taksifolin	30,51 \pm 1,22
	Vitamin A	18,95 \pm 1,49
Vitamin C	68,79 \pm 0,99	
Vitamin E	91,61 \pm 0,60	

Ferrik tiyosiyanat yöntemi ile total antioksidan aktivite tayini (FTC) bir antioksidanın lipid peroksidasyonunu ne derecede engellediğini ölçen ET esaslı bir yöntemdir. Çalışmamızda kullanılan sentetik antioksidanlar ortamdaki lipidlerin peroksidasyonunu % 85'in üzerinde inhibe ederken, doğal antioksidanların özellikle luteolin en fazla olmak üzere kuersetin, karnosol, Vitamin E ve fisetinin sentetik antioksidanlarla kıyaslanabilir düzeyde antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Bu moleküller yapılarında 2 ve 3. karbonlar arasında çift bağ bulundurlar böylece elektron delokalizasyonu ve antioksidan aktivite artmaktadır.

En düşük antioksidan aktivite gösteren doğal antioksidanlar ise taksifolin, naringenin, klorojenik asit, Vitamin A ve sinnamik asittir.

Vitamin A'nın antioksidan aktivitesinin düşük olduğu (Machlin ve Bendich, 1987) fakat polien zincirinden dolayı az da olsa singlet oksijeni süpürebildiği bildirilmiştir (Debieer ve Larondelle, 2005). Naringenin C3 pozisyonunda çift bağ bulundurmadığı için düşük antioksidan aktivite göstermektedir (Prasetyo vd., 2011).



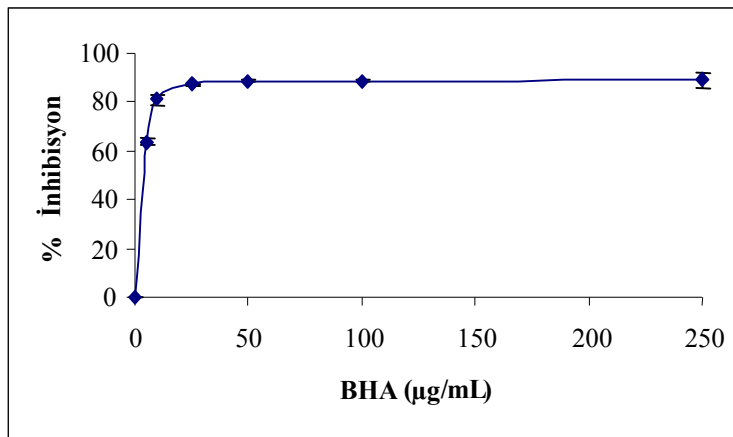
Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan sentetik ve doğal antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması

4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

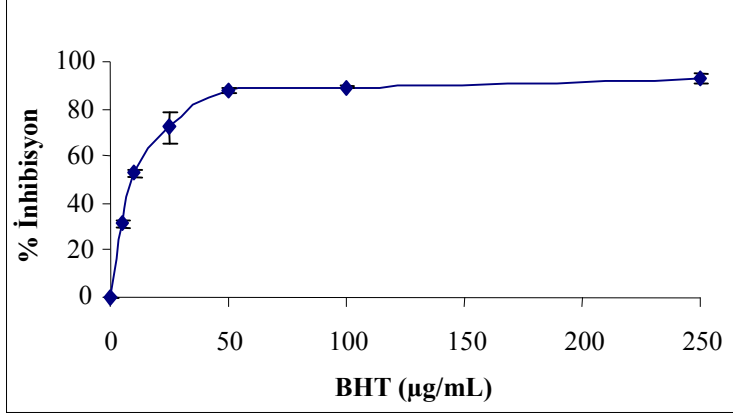
DPPH' kararlı bir serbest radikaldir. Kararlı bir diamanyetik molekül oluşturmak için bir elektron veya hidrojen radikalini bünyesine kabul eder. Standart antioksidan örnekleri üzerine DPPH' eklenmesi ile meydana gelen reaksiyon sonucunda 517 nm'de okunan absorbans ne kadar düşük olursa serbest radikal giderme aktivitesi o kadar yüksek oluyor demektir.

Ortamda DPPH'in miktarının azalması ile absorbansın azalması belli bir antioksidan derişimine kadar doğru orantılıdır. Absorbansın düşmesinin sebebi radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucu hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesidir. Ayrıca hesaplanan IC_{50} değerleri ne kadar düşükse radikal süpürücü aktivite o kadar yüksektir.

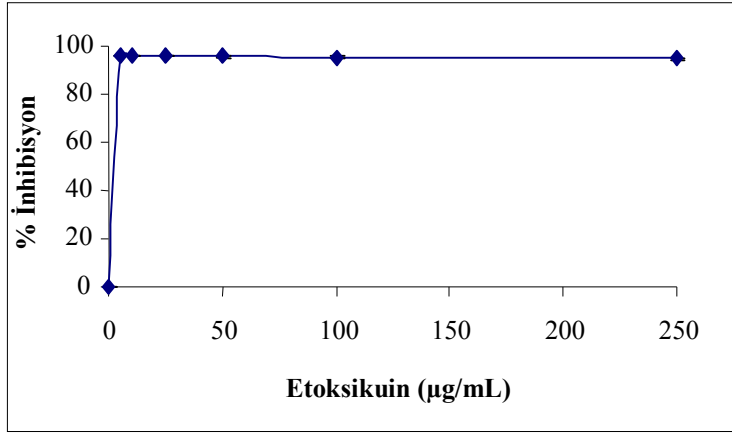
Farklı derişimlerdeki standart antioksidan örnekler için elde edilen DPPH' radikal süpürme aktivitelerinin % inhibisyon cinsinden grafikleri aşağıdaki şekillerde gösterilmektedir.



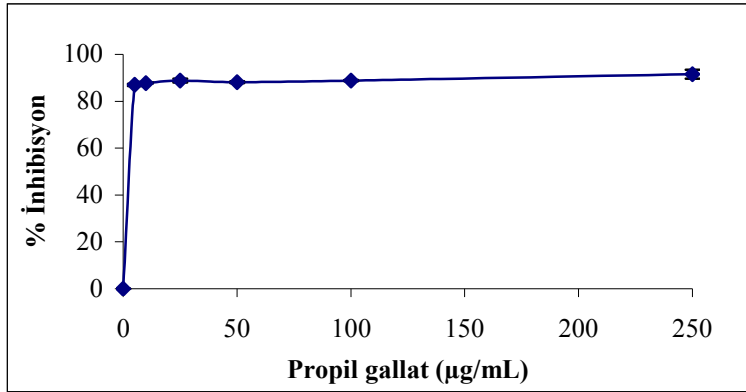
Şekil 4.3. Farklı derişimlerdeki BHA molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



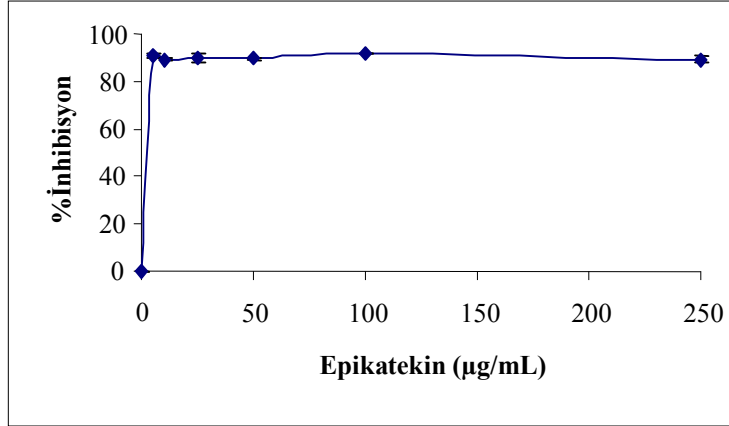
Şekil 4.4. Farklı derişimlerdeki BHT molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



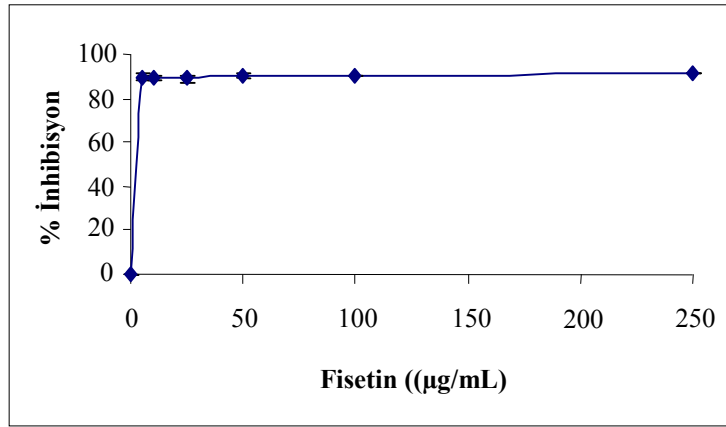
Şekil 4.5. Farklı derişimlerdeki etoksikuin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



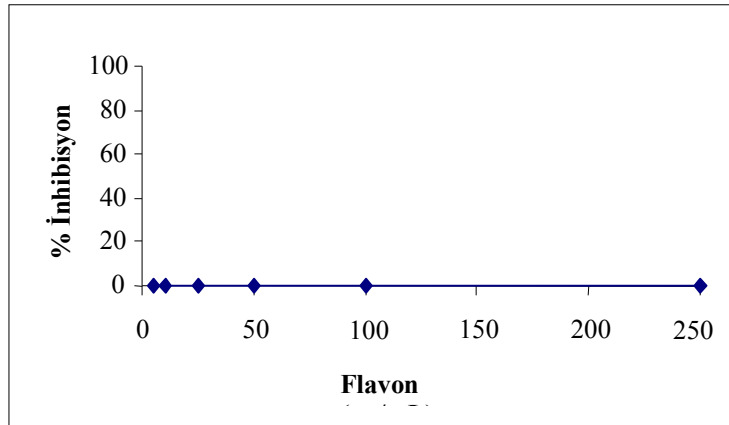
Şekil 4.6. Farklı derişimlerdeki propil gallat molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



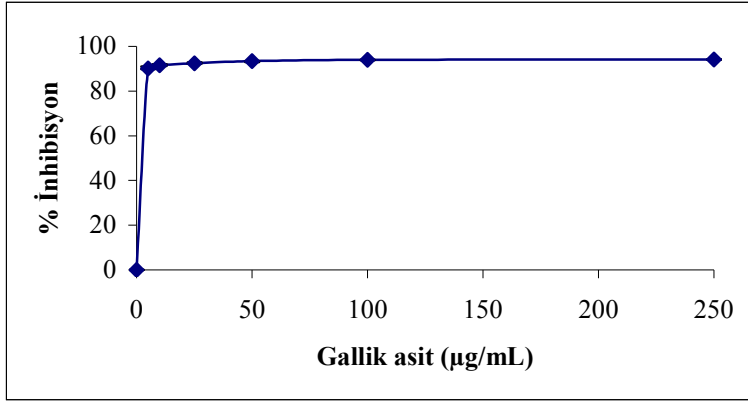
Şekil 4.7. Farklı derişimlerdeki epikatekin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



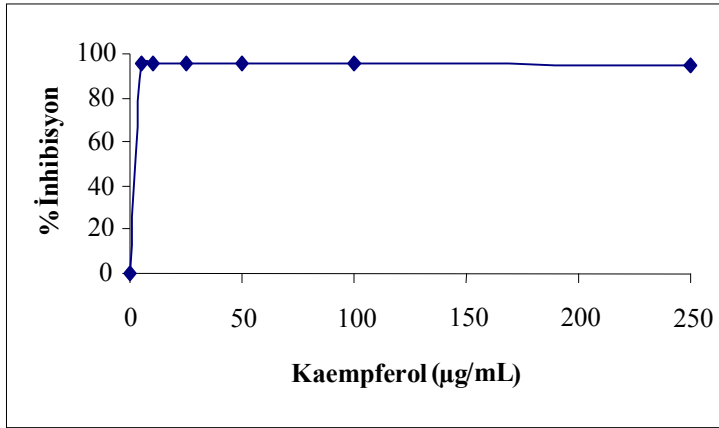
Şekil 4.8. Farklı derişimlerdeki fisetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



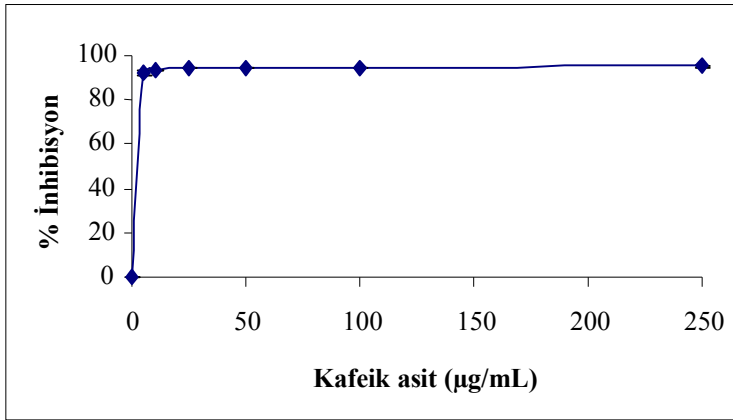
Şekil 4.9. Farklı derişimlerdeki flavon molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



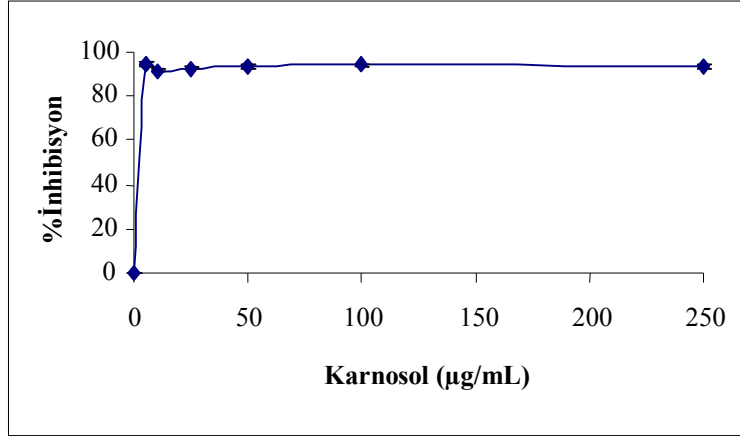
Şekil 4.10. Farklı derişimlerdeki gallik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



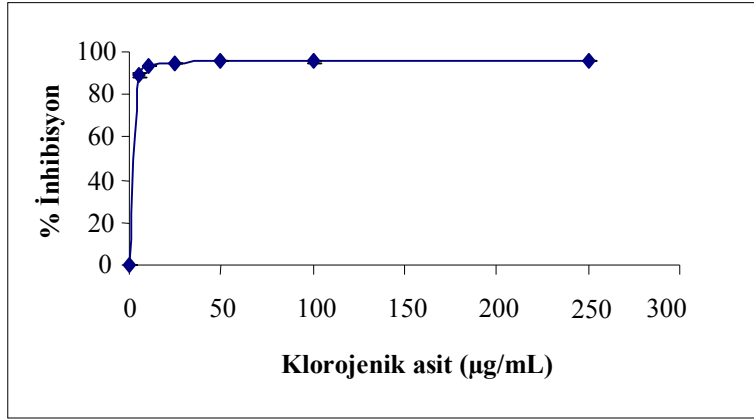
Şekil 4.11. Farklı derişimlerdeki kaempferol molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



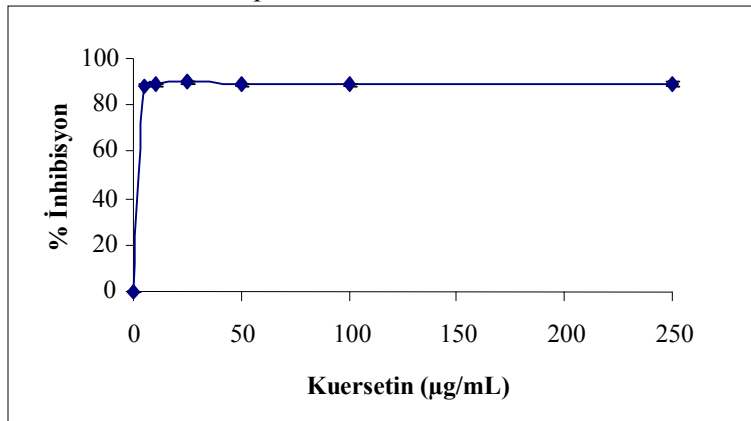
Şekil 4.12. Farklı derişimlerdeki kafeik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



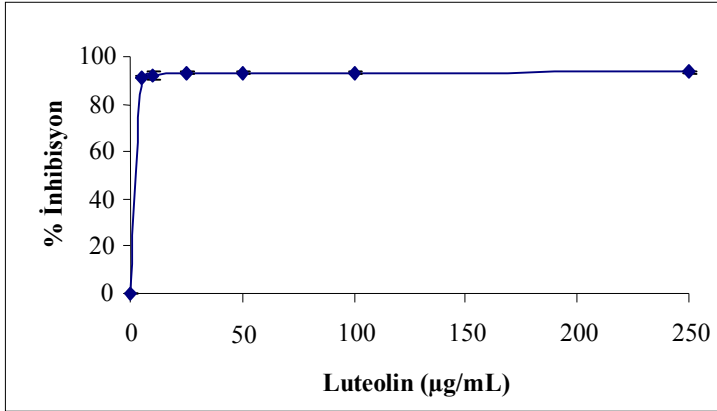
Şekil 4.13. Farklı derişimlerdeki karnosol molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



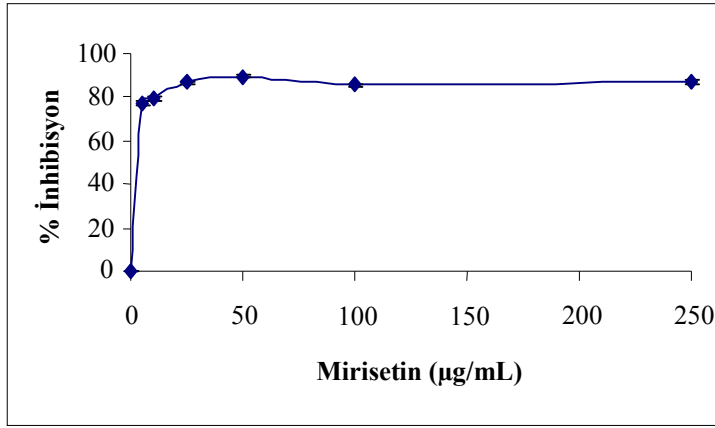
Şekil 4.14. Farklı derişimlerdeki klorojenik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



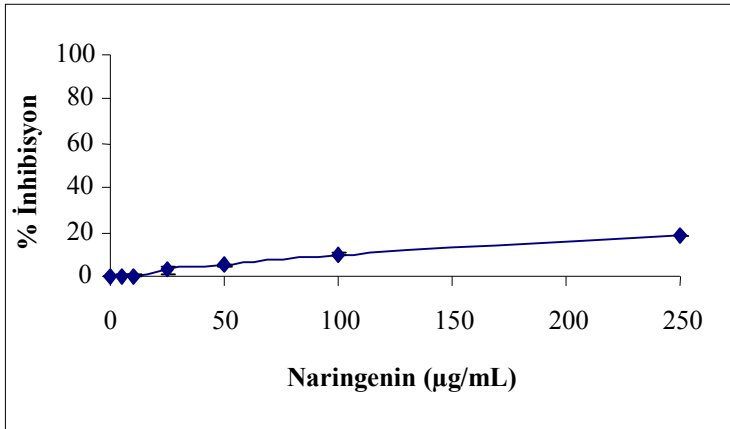
Şekil 4.15. Farklı derişimlerdeki kuersetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



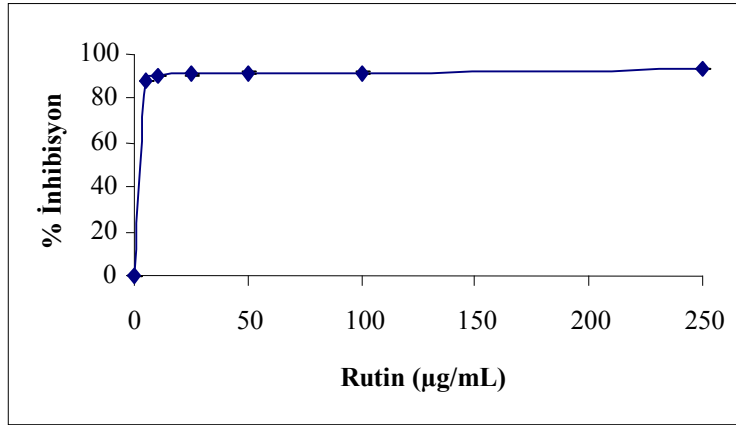
Şekil 4.16. Farklı derişimlerdeki luteolin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



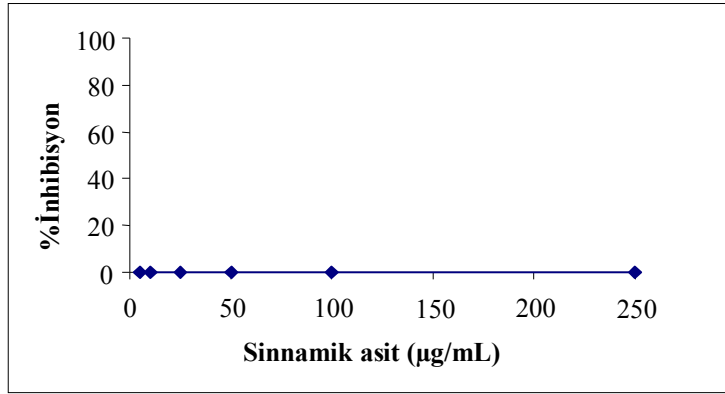
Şekil 4.17. Farklı derişimlerdeki mirisetin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



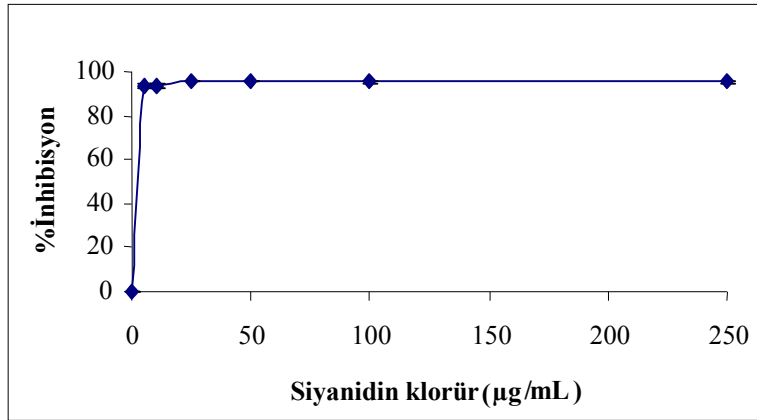
Şekil 4.18. Farklı derişimlerdeki naringenin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



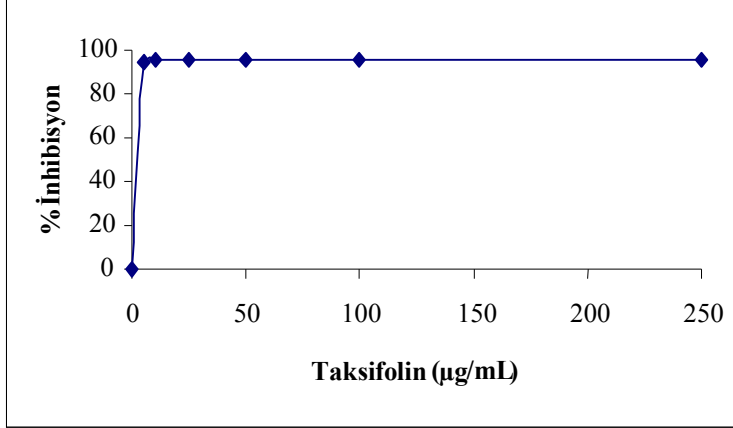
Şekil 4.19. Farklı derişimlerdeki rutin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



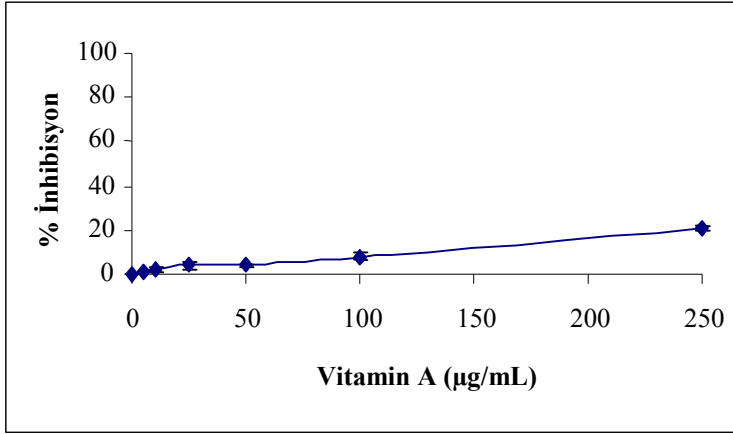
Şekil 4.20. Farklı derişimlerdeki sinamik asit molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



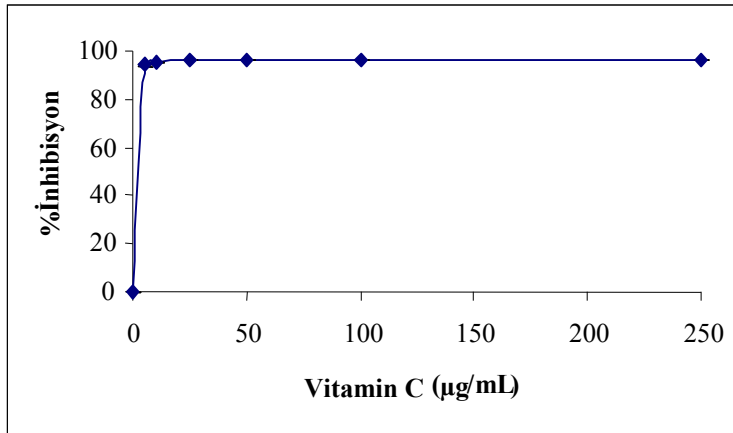
Şekil 4.21. Farklı derişimlerdeki siyanidin klorür molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



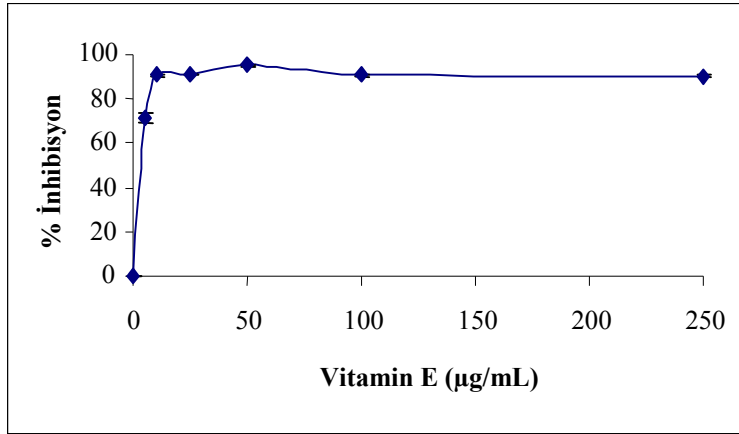
Şekil 4.22. Farklı derişimlerdeki taksifolin molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



Şekil 4.23. Farklı derişimlerdeki Vitamin A molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



Şekil 4.24. Farklı derişimlerdeki Vitamin C molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi



Şekil 4.25. Farklı derişimlerdeki Vitamin E molekülünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi

Grafiklerden lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC_{50} değerleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. DPPH radikal süpürücü aktiviteleri incelenen antioksidan bileşiklerin IC_{50} değerleri

	Antioksidan	$IC_{50} \pm SD$ ($\mu\text{g/mL}$)
Sentetik	BHA	$3,919 \pm 0,074$
	BHT	$8,011 \pm 0,355$
	Etoksikuin	$2,605 \pm 0,012$
	Propil gallat	$2,874 \pm 0,015$
	Epikatekin	$2,751 \pm 0,034$
Doğal	Fisetin	$2,796 \pm 0,053$
	Flavon	-
	Gallik asit	$2,775 \pm 0,007$
	Kaempferol	$2,612 \pm 0,011$
	Kafeik asit	$2,704 \pm 0,028$
	Karnosol	$2,649 \pm 0,025$
	Klorojenik asit	$2,799 \pm 0,039$
	Kuersetin	$2,824 \pm 0,026$
	Luteolin	$2,731 \pm 0,007$
	Mirisetin	$3,222 \pm 0,041$
	Naringenin	$613,5 \pm 37,13$
	Rutin	$2,836 \pm 0,007$
	Sinamik Asit	-
	Siyanidin klorür	$2,682 \pm 0,036$
	Taksifolin	$2,648 \pm 0,006$
	Vitamin A	$763,9 \pm 120,3$
	Vitamin C	$2,656 \pm 0,011$
Vitamin E	$3,507 \pm 0,119$	

Bu yöntemde en düşük radikal süpürücü aktiviteye sahip olan antioksidan bileşiklerin sinamik asit ve flavon olduğu saptanmıştır. Sinamik asit ve flavon yapılarındaki aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarına sahip olmadıkları için düşük antioksidan aktivite göstermektedirler.

Öte yandan Vitamin A ve naringenin bileşikleri de düşük aktivite göstermişlerdir. Naringenin C3 pozisyonunda hidroksil grubu bulundurmamaktadır. Bu konumdaki hidroksil grubu antioksidan aktivite açısından önemlidir. Bu yüzden Prasetyo vd., (2011)'de belirttiği gibi naringenin antioksidan aktivitesinin düşük olması beklenen bir durumdur. Vitamin A, hidrojen atomu verebileceği hidroksil grubuna sahip olmadığı için DPPH radikalini indirgeyememektedir.

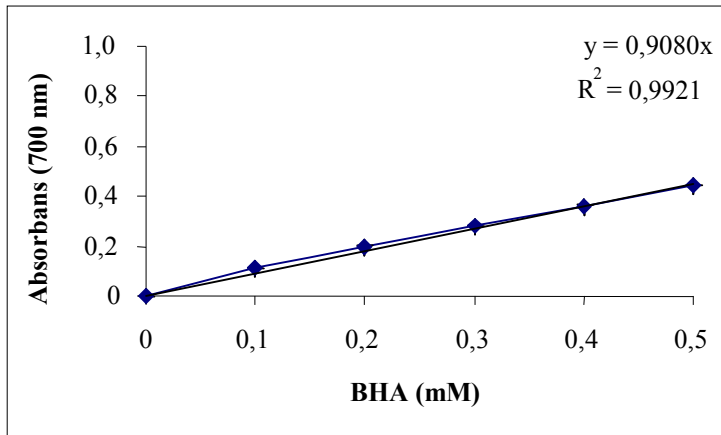
Vitamin C için IC_{50} değeri BHT'den düşük bulunmuştur. Yani Vitamin C'nin DPPH radikal süpürücü aktivitesi sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha düşüktür. Krishnaiah vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada da elde edilen sonuçlar Vitamin C'nin BHT'den daha iyi DPPH radikal süpürücü aktivite gösterdiğini bildirmektedir.

Sentetik antioksidanlar etoksikuin>propil gallat>BHA>BHT sıralaması ile DPPH radikal süpürücü aktivite göstermektedirler.

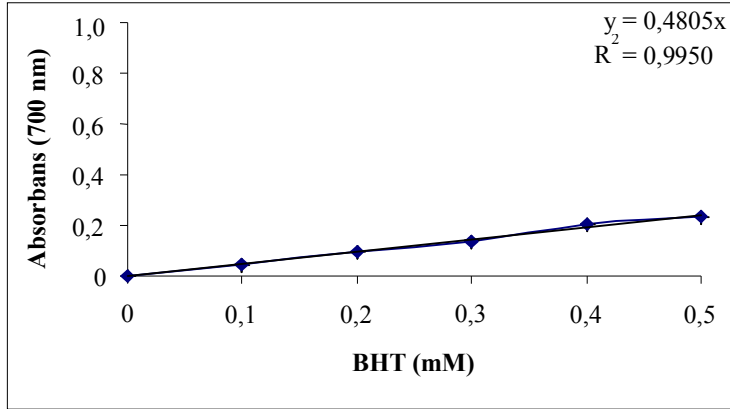
Doğal antioksidanlardan kaempferol en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Kaempferol C halkasında 3 nolu pozisyonda hidroksil grubuna sahiptir. Bu grup molekülün düzlemsel yapıda olmasını ve kaempferolün DPPH radikali ile daha etkin düzeyde reaksiyona girmesini sağlar. Ayrıca kaempferol ve luteolinin DPPH radikali ile çok çabuk reaksiyona girdikleri dolayısıyla antioksidan aktivitelerinin, antioksidan aktivitesi yapısı itibarıyla en yüksek olması beklenen kuersetinden yüksek olduğu Butkovic vd. (2004) tarafından da bildirilmiştir.

4.3. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları

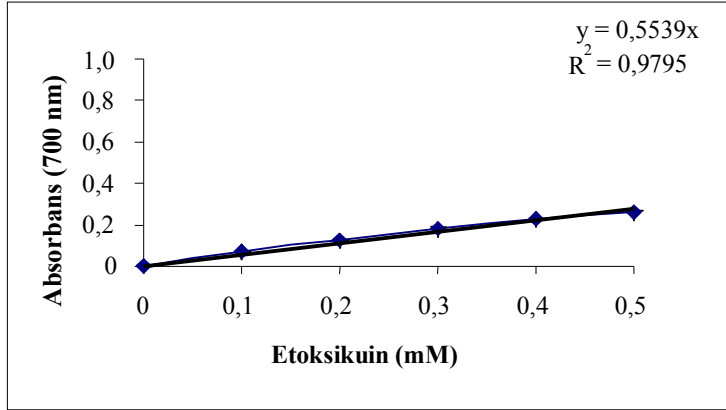
Çalışmada kullanılan antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü Oyaizu (1986)'ya göre tayin edildi. Bu yöntem Fe^{3+} 'ün Fe^{2+} ye indirgenerek; Fe^{2+} 'nin 700 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesini temel almaktadır. Standart antioksidan bileşiklerin farklı derişimlerde indirgeme güçleri tayin edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Sonuçlar 0,5 mM antioksidan ve Vitamin C (askorbik asit) derişimleri karşılaştırılarak Şekiller 4.26-48'de ve Çizelge 4.3.'de verilmiştir.



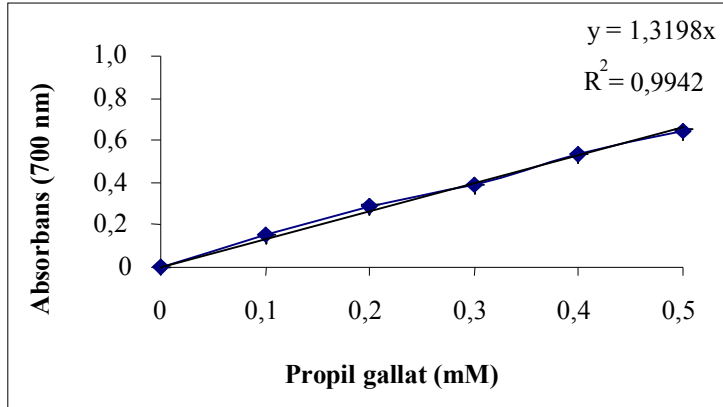
Şekil 4.26. BHA molekülünün indirgeme gücünün derişime bağlı değişimi



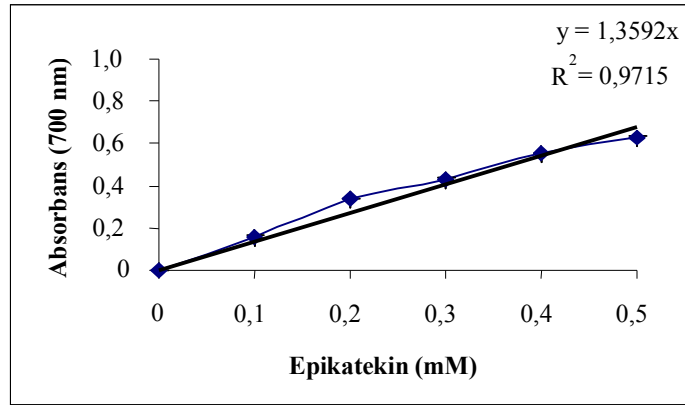
Şekil 4.27. BHT molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



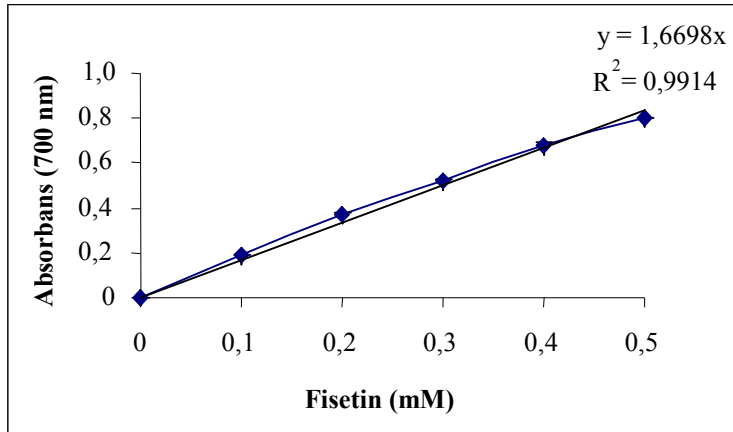
Şekil 4.28. Etoksikuin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



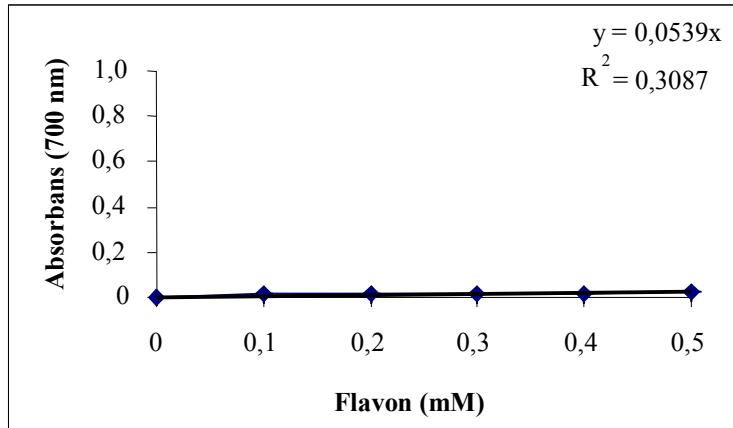
Şekil 4.29. Propil gallat molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



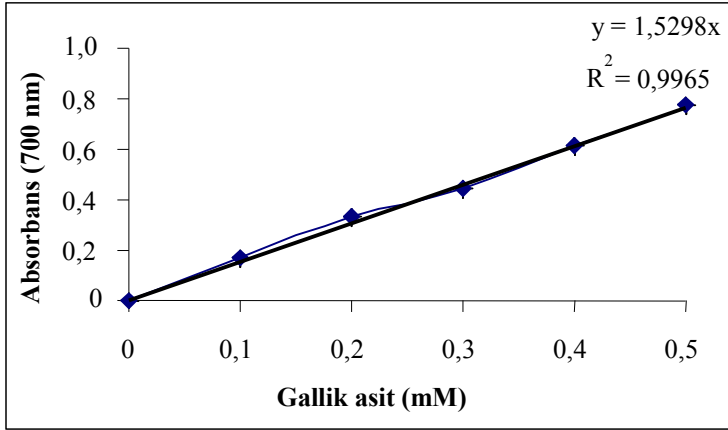
Şekil 4.30. Epikatekin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



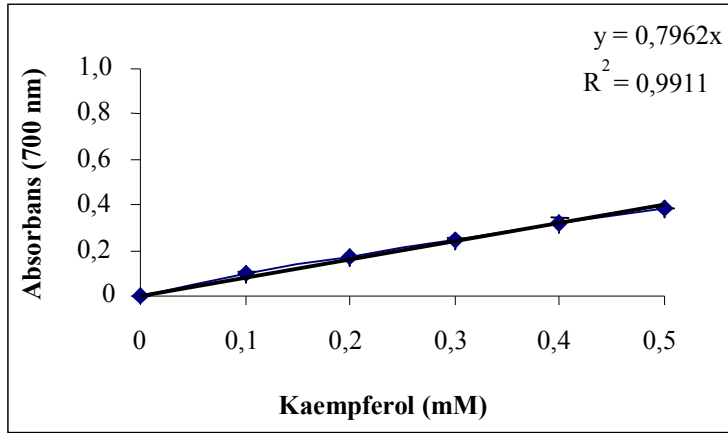
Şekil 4.31. Fisetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



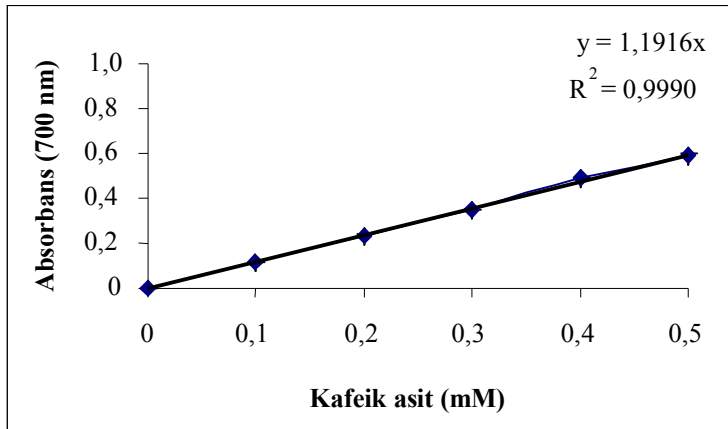
Şekil 4.32. Flavon molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



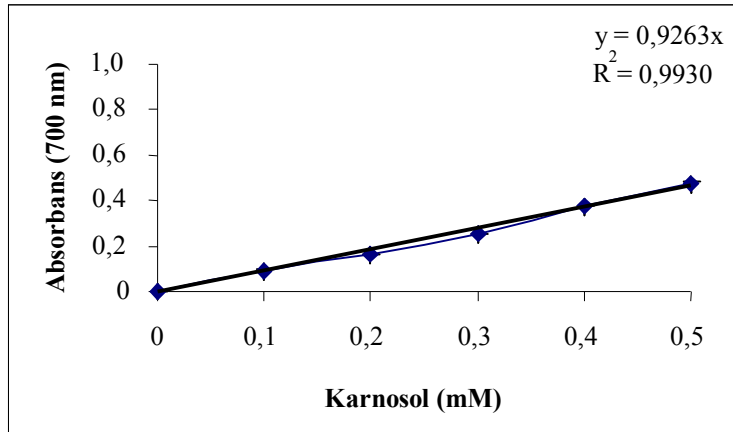
Şekil 4.33. Gallik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



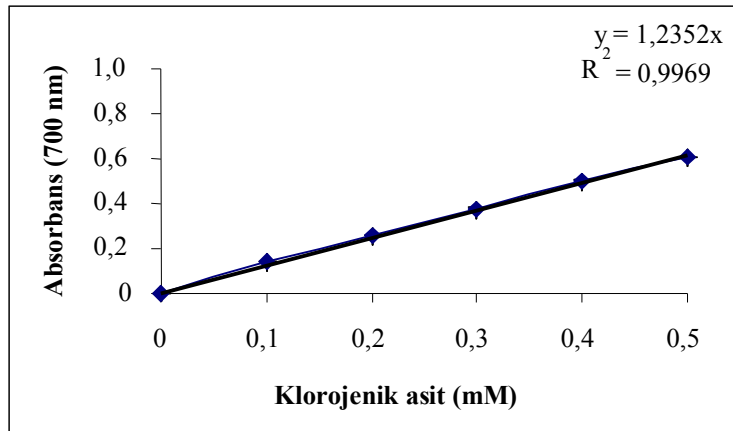
Şekil 4.34. Kaempferol molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



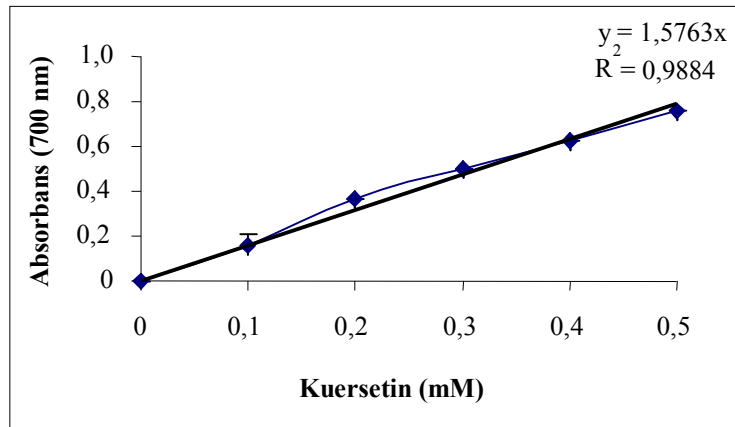
Şekil 4.35. Kafeik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



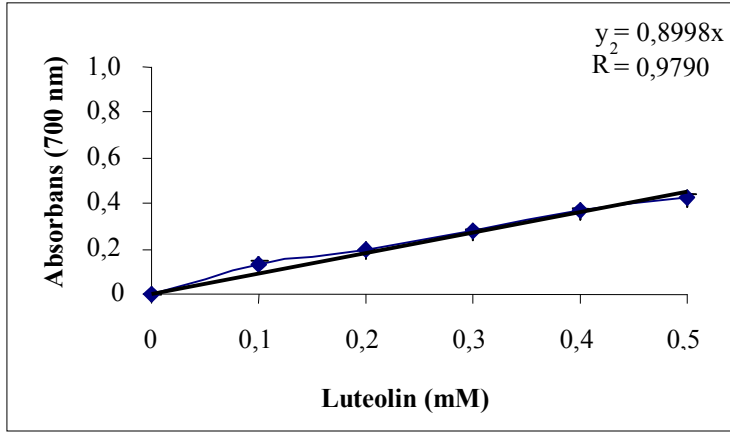
Şekil 4.36. Karnosol molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



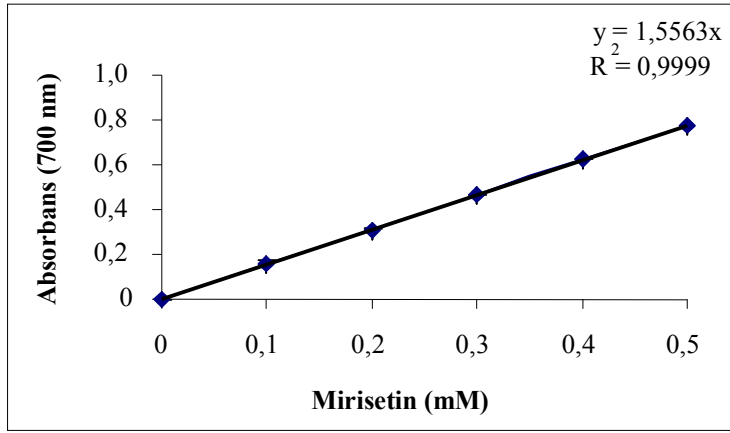
Şekil 4.37. Klorojenik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



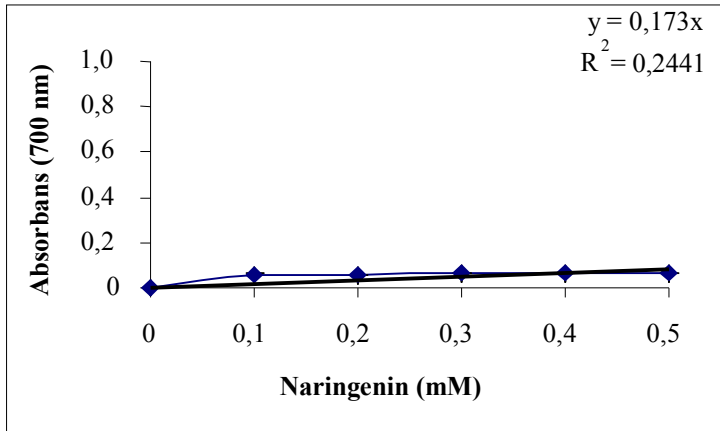
Şekil 4.38. Kuersetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



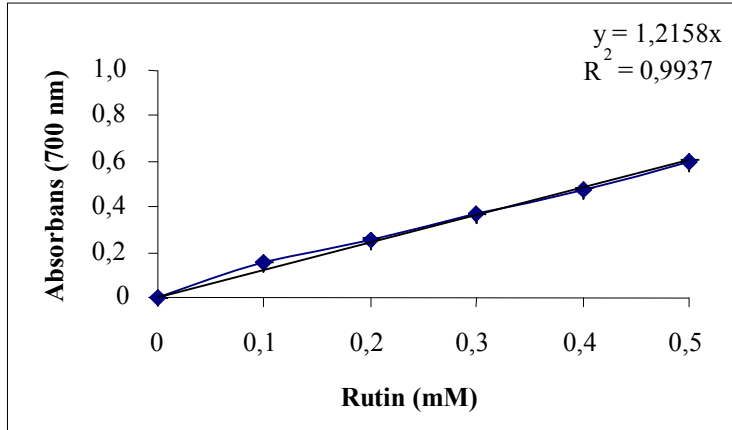
Şekil 4.39. Luteolin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



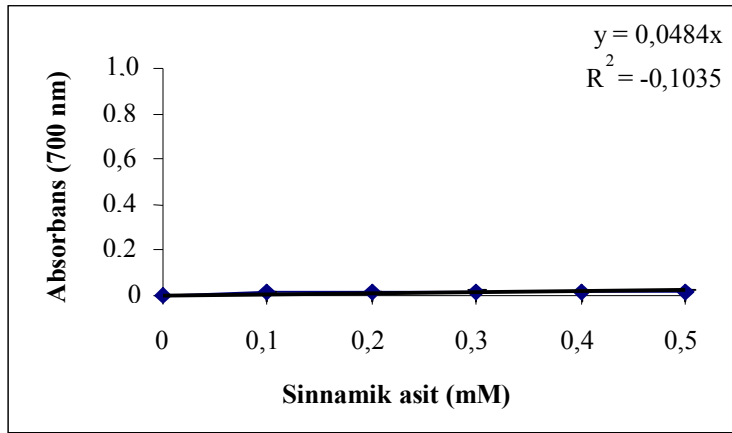
Şekil 4.40. Mirisetin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



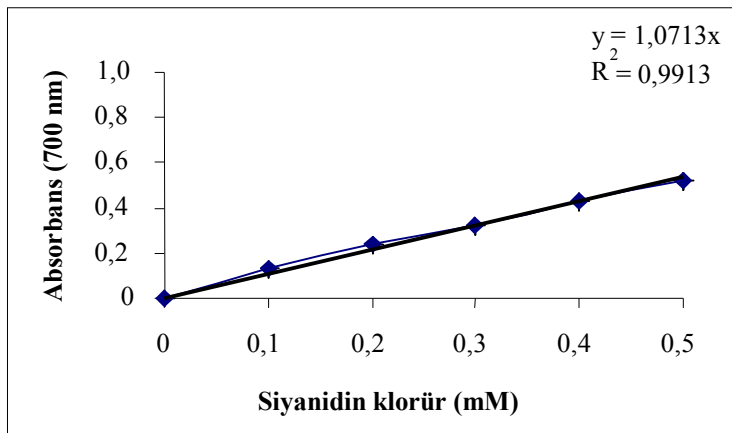
Şekil 4.41. Naringenin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



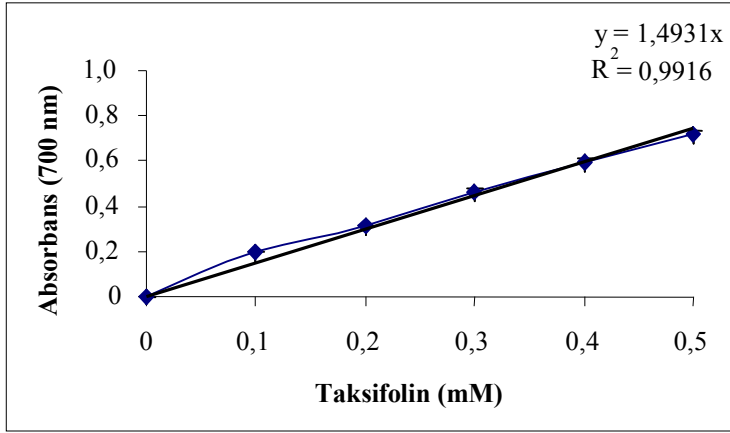
Şekil 4.42. Rutin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



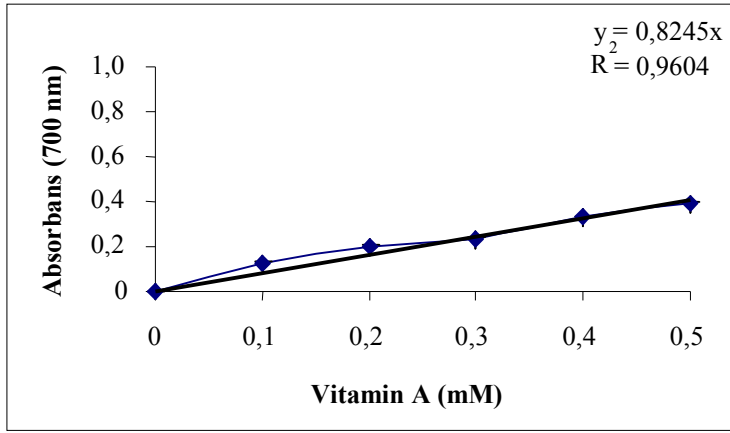
Şekil 4.43. Sinamik asit molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



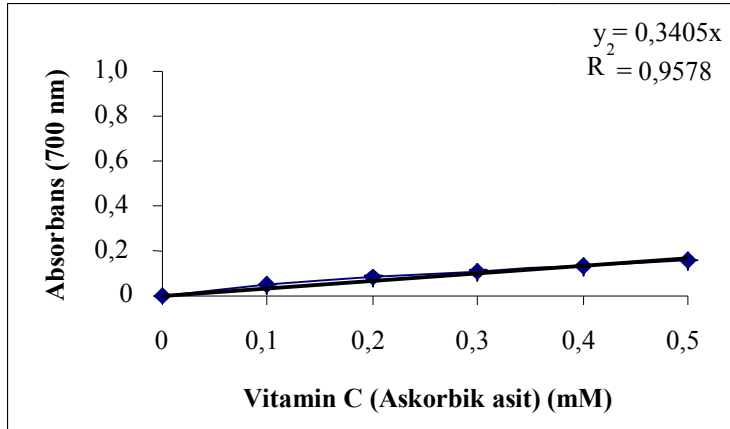
Şekil 4.44. Siyanidin klorür molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



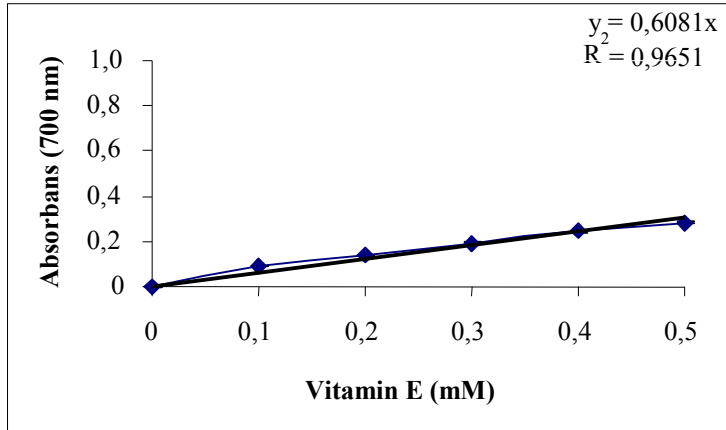
Şekil 4.45. Taksifolin molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



Şekil 4.46 Vitamin A molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



Şekil 4.47. Vitamin C molekülünün indirgeme gücünün derişime bağı değişimi



Şekil 4.48. Vitamin E molekülünün indirgeme gücünün derişime bağılı değişimi

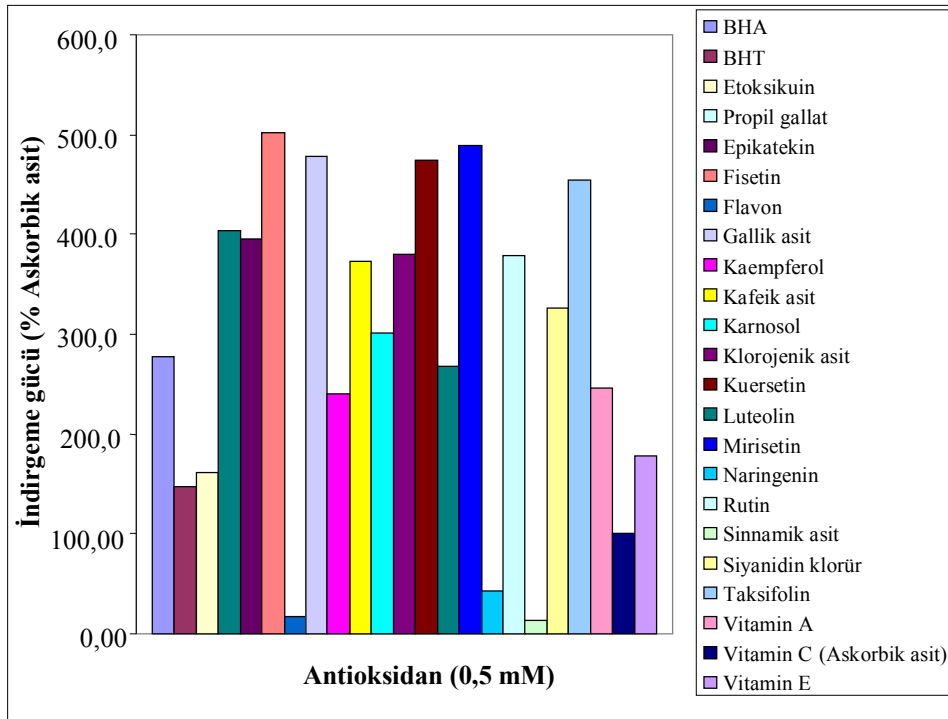
Çizelge 4.3. Çalışma kapsamındaki antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü değerleri

	Antioksidan	İndirgeme gücü ± SD (% Askorbik asit)
Sentetik	BHA	277,78 ± 0,0049
	BHT	146,96 ± 0,0012
	Etoksikuin	161,64 ± 0,0075
	Propil gallat	403,77 ± 0,0139
	Epikatekin	395,18 ± 0,0042
Doğal	Fisetin	501,68 ± 0,0060
	Flavon	16,352 ± 0,0009
	Gallik asit	478,41 ± 0,0021
	Kaempferol	240,04 ± 0,0045
	Kafeik asit	372,75 ± 0,0042
	Karnosol	301,05 ± 0,0015
	Klorojenik asit	380,08 ± 0,0053
	Kuersetin	475,05 ± 0,0061
	Luteolin	267,30 ± 0,0204
	Mirisetin	489,31 ± 0,0046
	Naringenin	42,979 ± 0,0015
	Rutin	378,41 ± 0,0051
	Sinamik asit	12,579 ± 0,0010
	Siyanidin klorür	326,21 ± 0,0058
	Taksifolin	454,51 ± 0,1124
	Vitamin A	246,54 ± 0,0061
	Vitamin C (Askorbik asit)	100,00
Vitamin E	178,23 ± 0,0055	

Grafiklerden görüldüğü gibi indirgeme gücü derişimle doğru orantılı olarak artmaktadır.

Bu yöntemde doğal ve sentetik antioksidanlardan naringenin, flavon ve sinnamik hariç olmak üzere diğer bileşikler askorbik asitten daha fazla indirgeme gücü sergilemişlerdir. İndirgeme gücü en yüksek olan doğal antioksidan bileşikler fisetin, mirisetin, gallik asit, kuersetin ve taksifolindir. Doğal antioksidanlardan mirisetin muhtemelen yapısında çok sayıda hidroksil grubu bulundurması nedeniyle yüksek indirgeme gücüne sahiptir. Gallik asidin indirgeme gücü Yen vd. (2002) tarafından belirtildiği gibi askorbik asitten daha yüksek bulunmuştur ve indirgeme gücü değerleri derişim ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

Sentetik antioksidanlardan propil gallatın fark edilebilir derecede yüksek indirgeme gücüne sahip olması bu bileşiğin antioksidan özelliğinin yüksek olmasının bir göstergesidir. Ayrıca BHT'nin indirgeme gücünün Adesegun vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada askorbik asitten 1,1 kat daha fazla olduğu, bu çalışmada ise yaklaşık 2,8 kat yüksek olduğu görülmüştür.

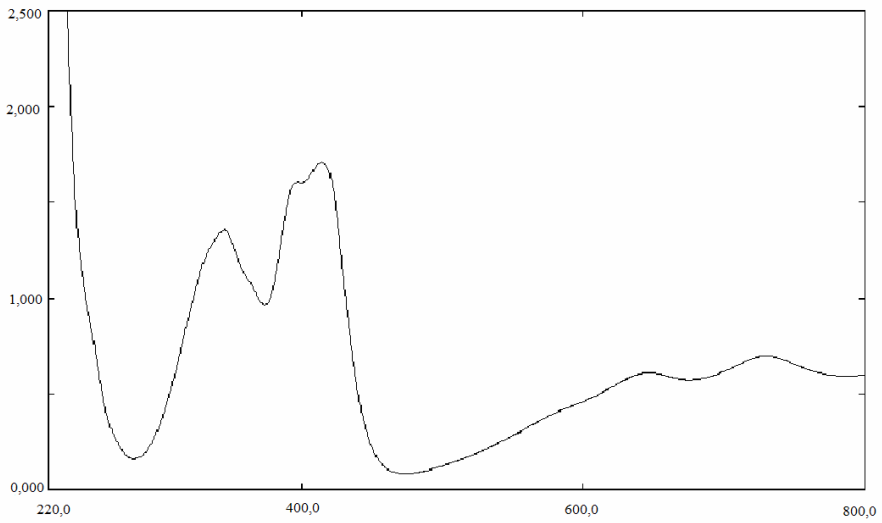


Şekil 4.49. Çalışmada kullanılan sentetik ve doğal antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması

4.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) Sonuçları

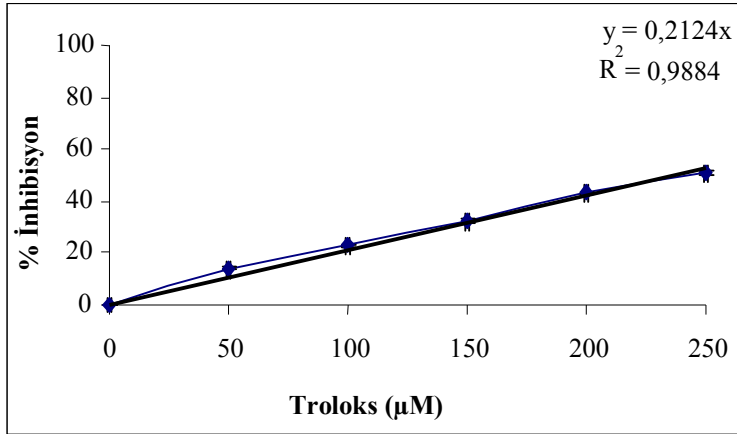
TEAC değerinin tayin edilebilmesi için Şekil 4.50.'de verilen ABTS radikal kationunun absorpsiyon spektrumu alınarak 730 nm'de çalışılmış, Troloks standart antioksidan bileşiğinin ve diğer antioksidan bileşiklerin ABTS^{•+} radikalini süpürme etkisi ölçülerek standart çalışma grafiği çizilmiş ve süpürme etkisi % inhibisyon olarak verilmiştir.

<u>No.</u>	<u>Dalgaboyu (nm)</u>	<u>Absorbans</u>
1	730,00	0,699
2	646,00	0,610
3	414,00	1,711
4	345,00	1,358

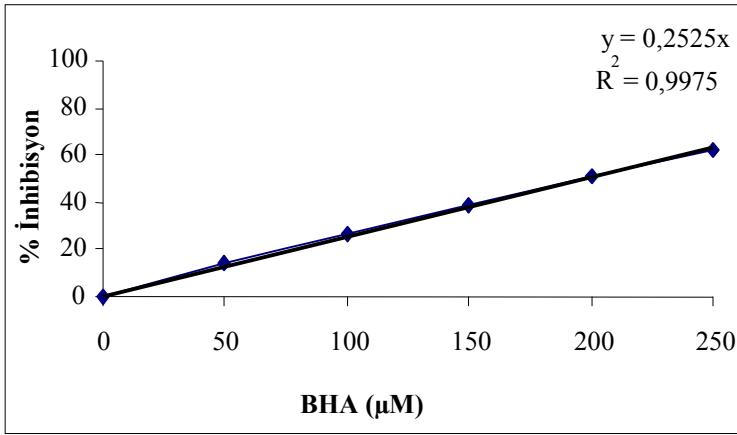


Şekil 4.50. ABTS radikal kationunun UV-görünür bölgede absorpsiyon spektrumu

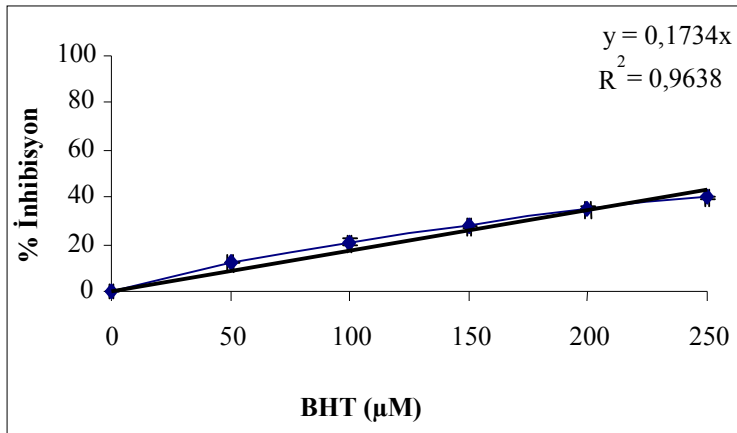
Şekil 4.51'de Troloks molekülüne ait standart çalışma grafiği ve Şekiller 4.52-74'de çalışmada kullanılan sentetik ve doğal antioksidan bileşiklere ait TEAC aktivite grafikleri verilmiştir.



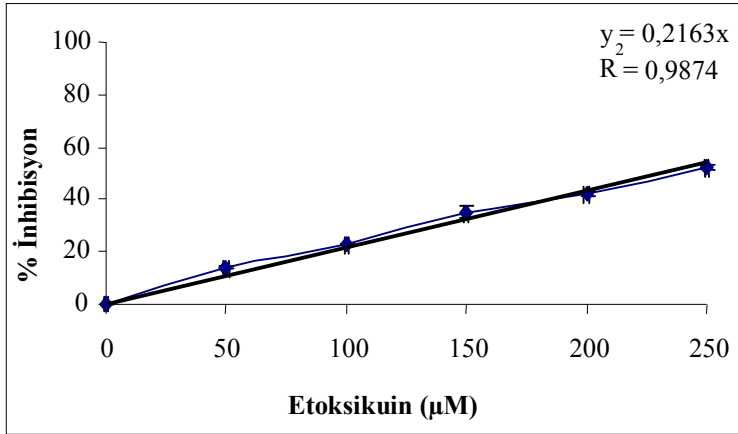
Şekil 4.51. Troloks için TEAC standart çalışma grafiği



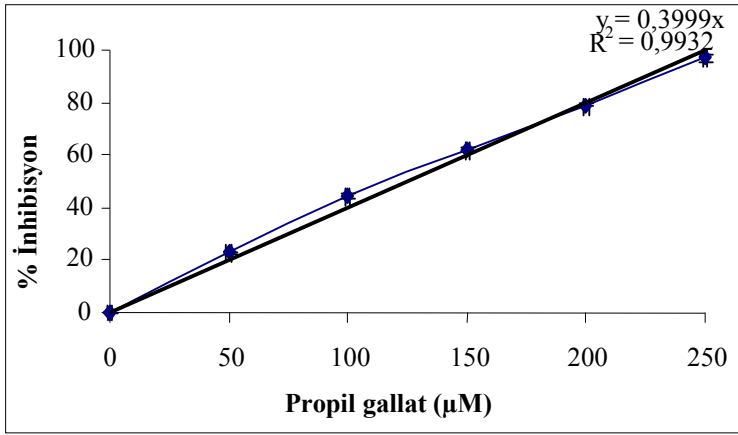
Şekil 4.52. BHA molekülü için TEAC aktivitesi



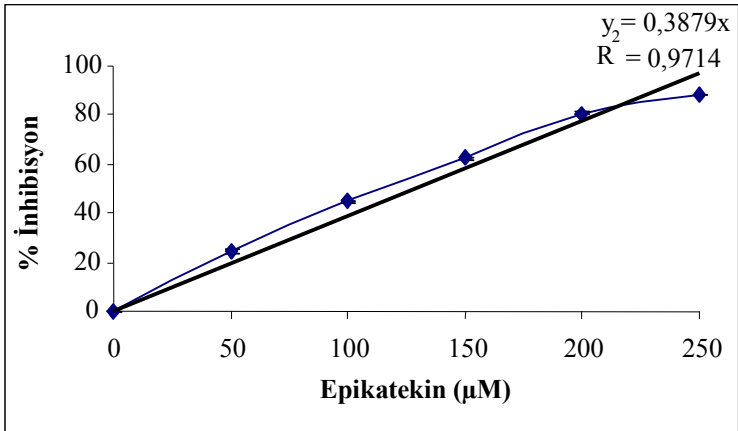
Şekil 4.53. BHT molekülü için TEAC aktivitesi



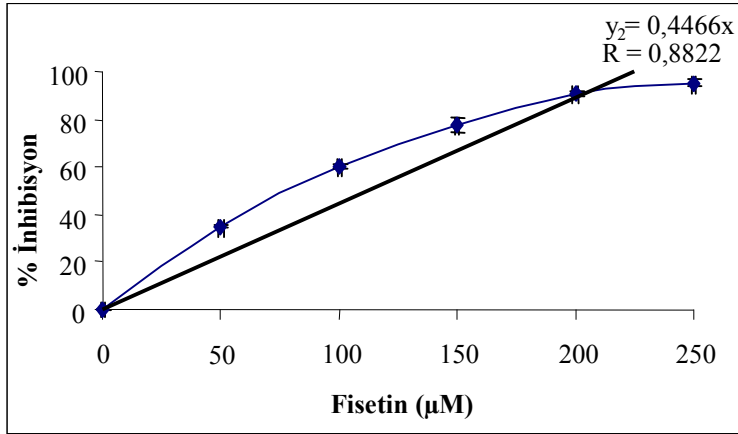
Şekil 4.54. Etoksikuin molekülü için TEAC aktivitesi



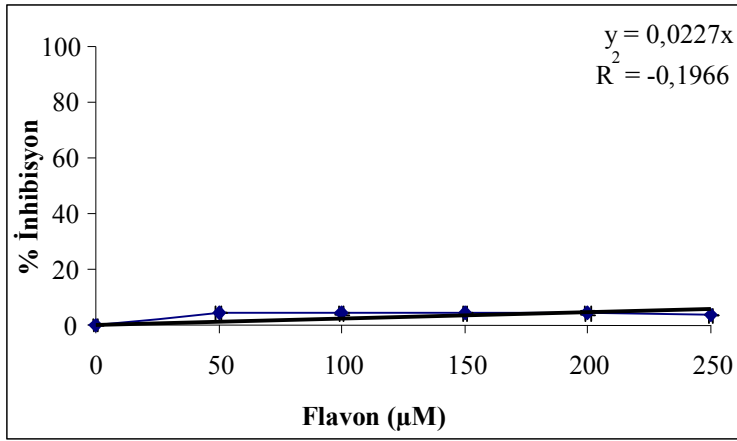
Şekil 4.55. Propil gallat molekülü için TEAC aktivitesi



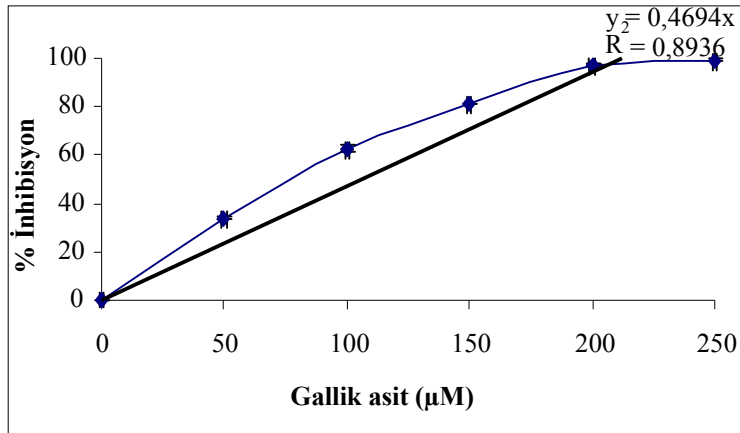
Şekil 4.56. Epikatekin molekülü için TEAC aktivitesi



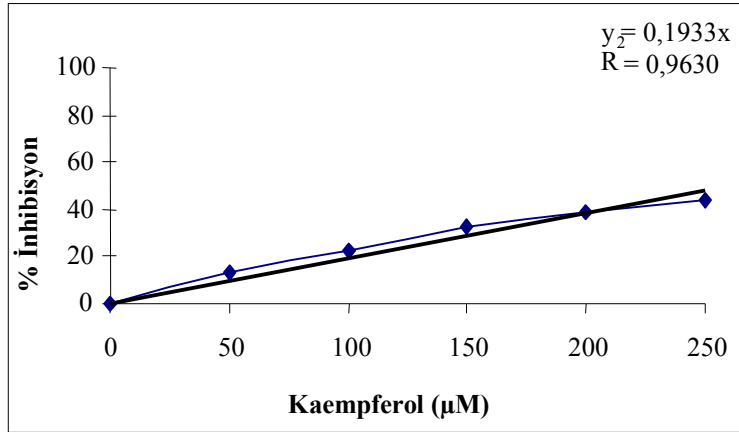
Şekil 4.57. Fisetin molekülü için TEAC aktivitesi



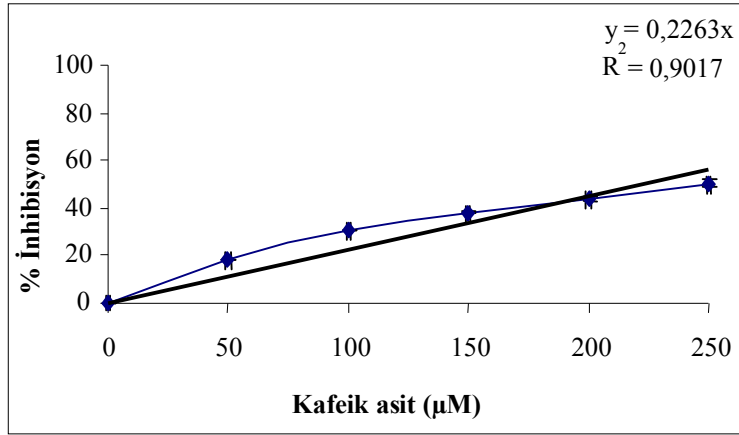
Şekil 4.58. Flavon molekülü için TEAC aktivitesi



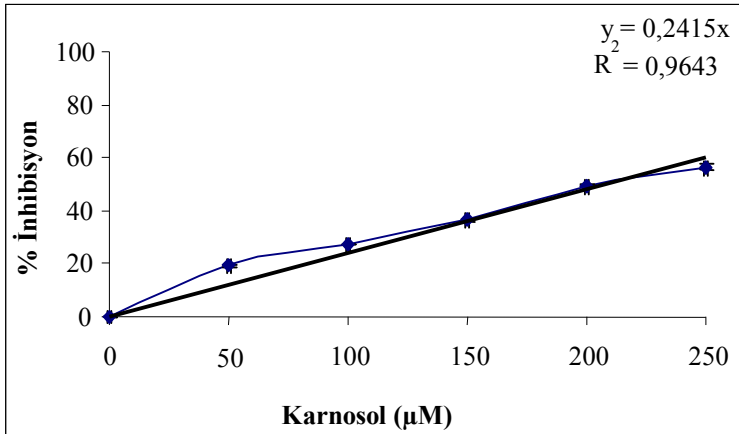
Şekil 4.59. Gallik asit molekülü için TEAC aktivitesi



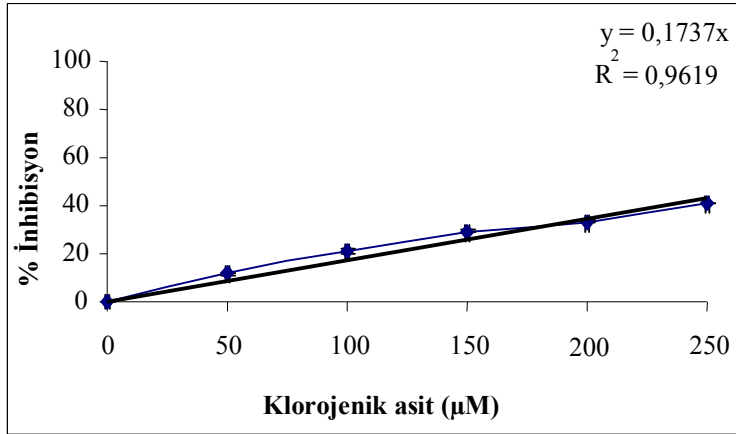
Şekil 4.60. Kaempferol molekülü için TEAC aktivitesi



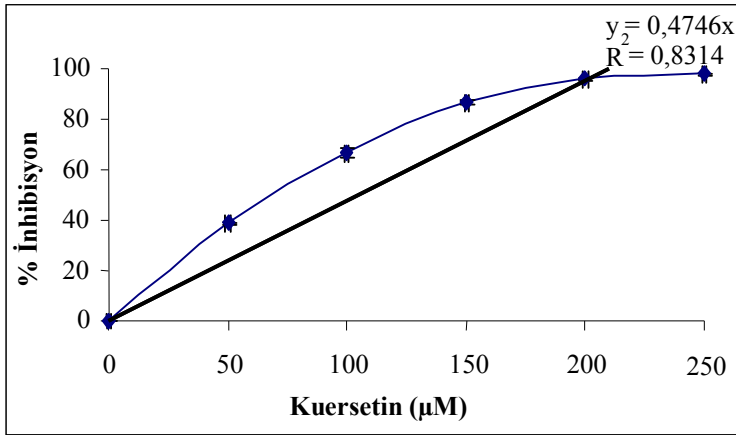
Şekil 4.61. Kafeik asit molekülü için TEAC aktivitesi



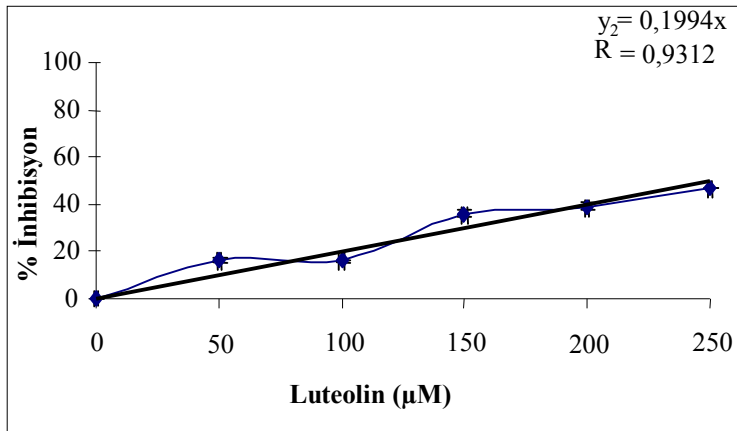
Şekil 4.62. Karnosol molekülü için TEAC aktivitesi



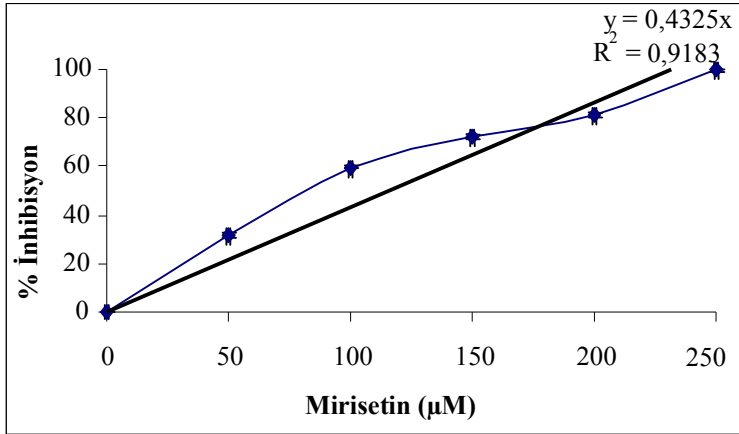
Şekil 4.63. Klorojenik asit molekülü için TEAC aktivitesi



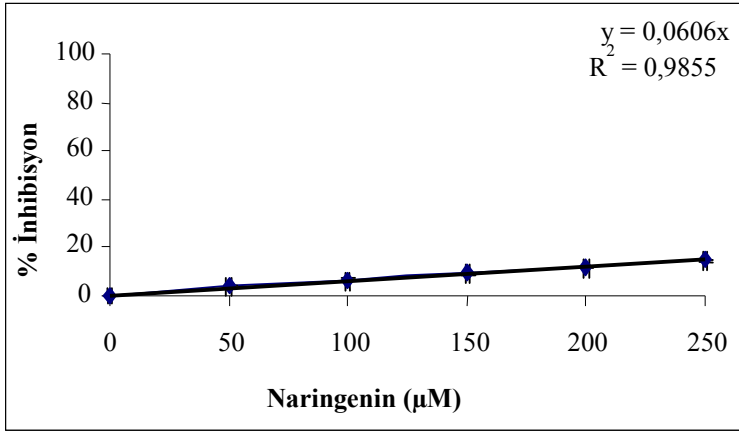
Şekil 4.64. Kuersetin molekülü için TEAC aktivitesi



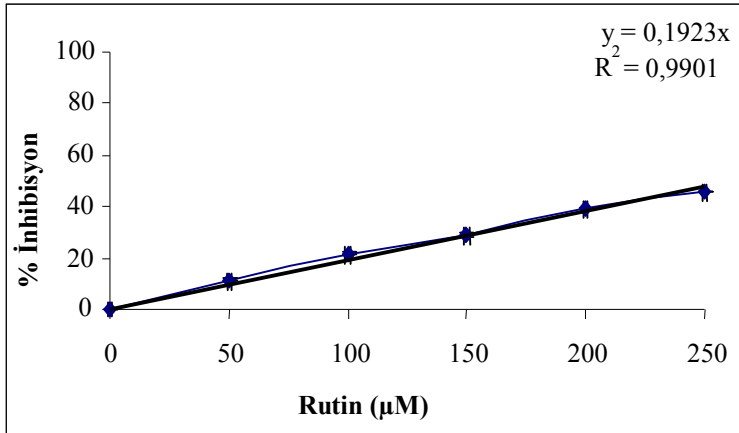
Şekil 4.65. Luteolin molekülü için TEAC aktivitesi



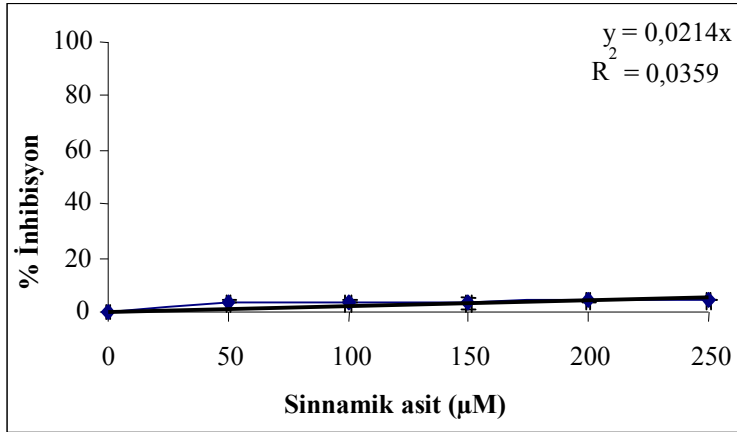
Şekil 4.66. Mirisetin molekülü için TEAC aktivitesi



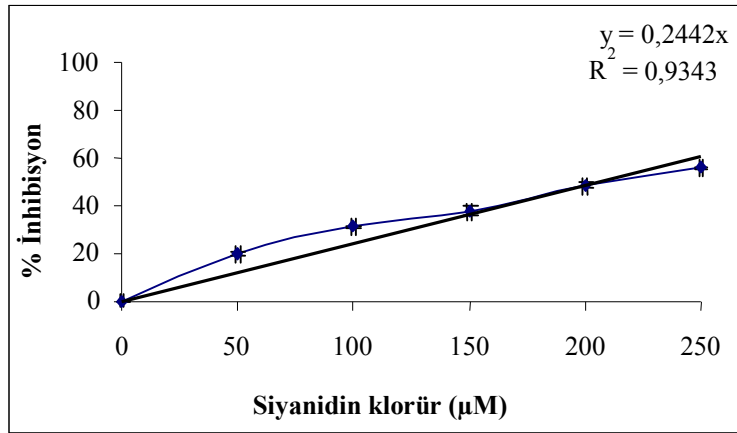
Şekil 4.67. Naringenin molekülü için TEAC aktivitesi



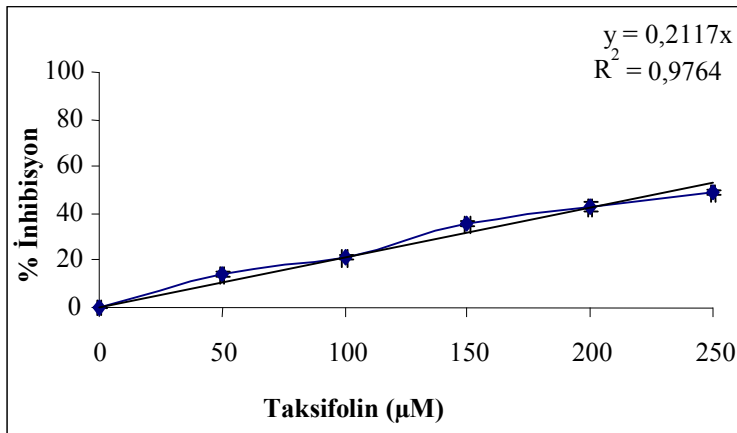
Şekil 4.68. Rutin molekülü için TEAC aktivitesi



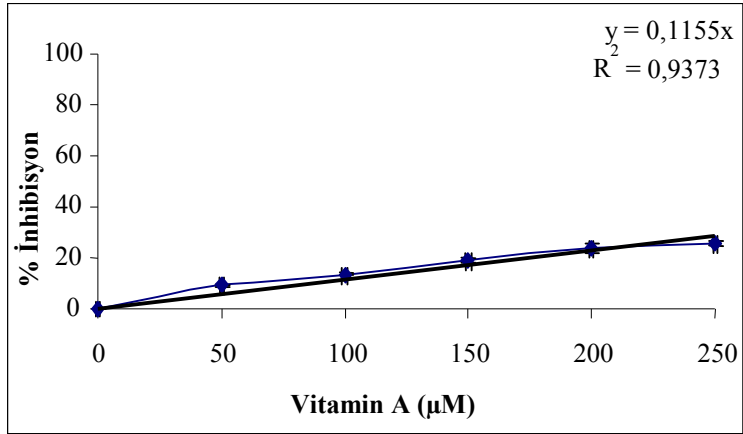
Şekil 4.69. Sinnamik asit molekülü için TEAC aktivitesi



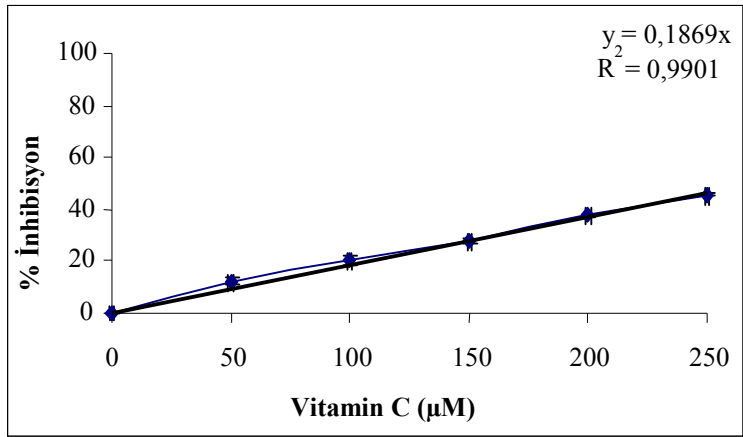
Şekil 4.70. Siyanidin klorür molekülü için TEAC aktivitesi



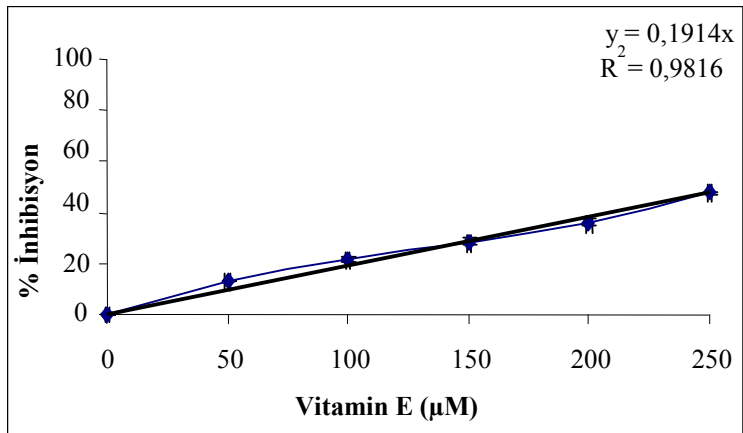
Şekil 4.71. Taksifolin molekülü için TEAC aktivitesi



Şekil 4.72. Vitamin A molekülü için TEAC aktivitesi



Şekil 4.73. Vitamin C molekülü için TEAC aktivitesi



Şekil 4.74. Vitamin E molekülü için TEAC aktivitesi

TEAC yöntemi aslında bir inhibisyondan ziyade ABTS radikal katyonunun antioksidan bileşik tarafından süpürülmesini ölçen bir yöntemdir.

TEAC_{ABTS} değerleri radikal süpürücü aktiviteleri incelenen bileşiklerin grafiklerine ait eğimlerin Troloks standart çalışma grafiğinin eğimine oranlanması ile bulunmuştur. Bu değerler birer katsayı niteliğinde olup birimsiz olarak verilmektedir.

Çizelge 4.4. Antioksidan bileşiklerin TEAC yöntemi ile hesaplanan TEAC_{ABTS} değerleri

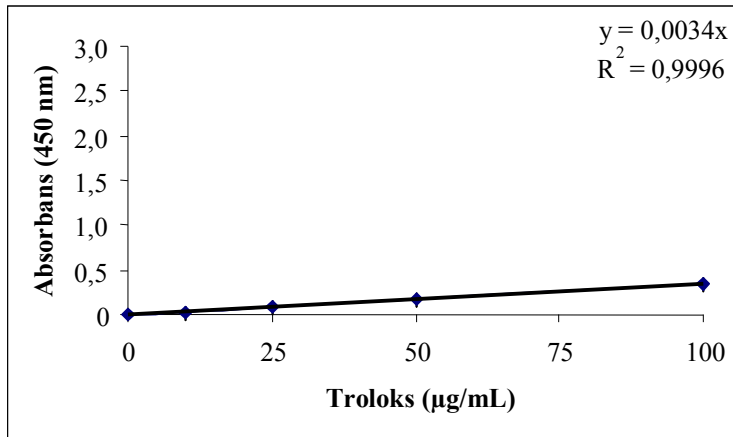
	Antioksidan	TEAC_{ABTS} ± SD
Sentetik	BHA	1,1888 ± 0,0047
	BHT	0,8164 ± 0,0082
	Etoksikuin	1,0184 ± 0,0141
	Propil gallat	1,8827 ± 0,0109
Doğal	Epikatekin	1,8263 ± 0,0060
	Fisetin	2,1026 ± 0,0287
	Flavon	0,1068 ± 0,0027
	Gallik asit	2,2099 ± 0,0094
	Kaempferol	0,9101 ± 0,0144
	Kafeik asit	1,0654 ± 0,0072
	Karnosol	1,1370 ± 0,0094
	Klorojenik asit	0,8178 ± 0,0094
	Kuersetin	2,2345 ± 0,0019
	Luteolin	0,9388 ± 0,0082
	Mirisetin	2,0363 ± 0,0094
	Naringenin	0,2853 ± 0,0047
	Rutin	0,9054 ± 0,0054
	Sinamik asit	0,1007 ± 0,0125
	Siyanidin klorür	1,1497 ± 0,0027
	Taksifolin	0,9967 ± 0,0136
	Vitamin A	0,5438 ± 0,0170
	Vitamin C	0,8799 ± 0,0136
	Vitamin E	0,9011 ± 0,0047
Standart	Troloks	1,0000

TEAC yönteminde sentetik antioksidanlar propil gallat>BHA>etoksikuin>BHT sırasıyla radikal süpürücü etki göstermişlerdir. Doğal antioksidanlardan ise aktivitesi en yüksek olanların kuersetin, gallik asit, fisetin, ve mirisetin olduğu; flavon ve sinnamik asitin antioksidan aktivitelerinin çok düşük olduğu görülmüştür.

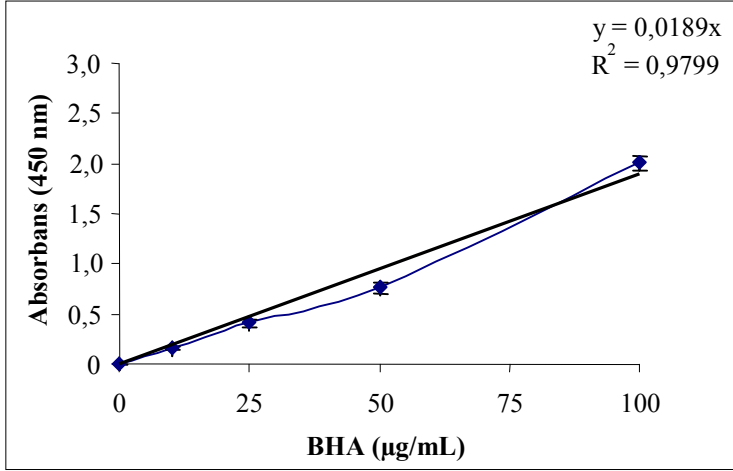
Kuersetin, gallik asit, fisetin, ve mirisetin yapılarında orto-hidroksi gruplarına sahip olmaları nedeniyle ABTS radikalini yüksek derecede süpürebilme kabiliyetine sahiptirler. Oysaki flavon ve sinnamik asit moleküllerinin yapısında böyle bir özelliğin bulunmaması ABTS radikalini süpürücü etkilerinin dolayısıyla antioksidan aktivitelerinin düşük bulunmasına neden olmuştur.

4.5. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları

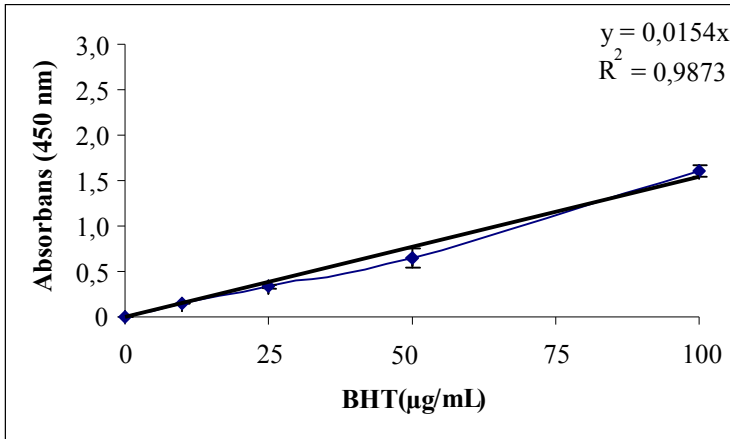
CUPRAC yöntemi ile çalışılan antioksidanların derişime karşı absorbans grafikleri çizilerek grafiklerin eğimleri Troloks için çizilen grafiğin eğimine oranlanmış ve $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri hesaplanmıştır. $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri eğim oranları kullanılarak hesaplandığı için birimsiz olarak verilir (Güngör vd., 2011). Çalışma kapsamındaki antioksidan bileşikler için elde edilen grafikler Şekiller 4.76-98'de görülmektedir.



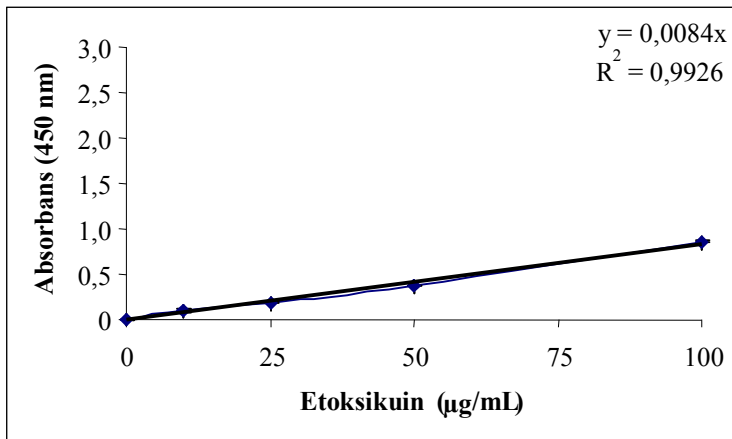
Şekil 4.75. Troloks için CUPRAC standart çalışma grafiği



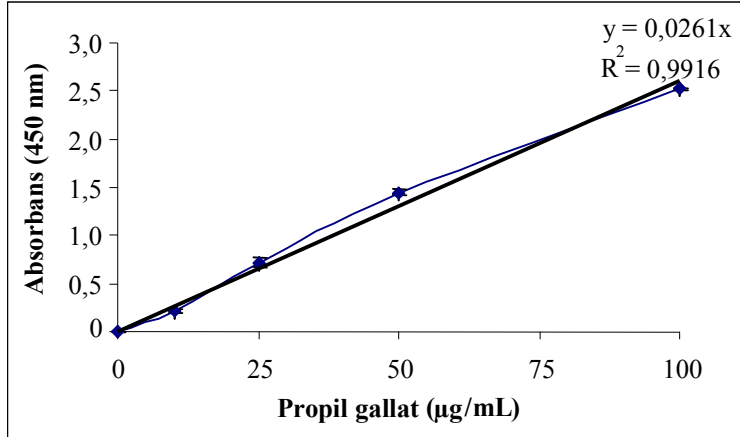
Şekil 4.76. BHA molekülü için CUPRAC aktivitesi



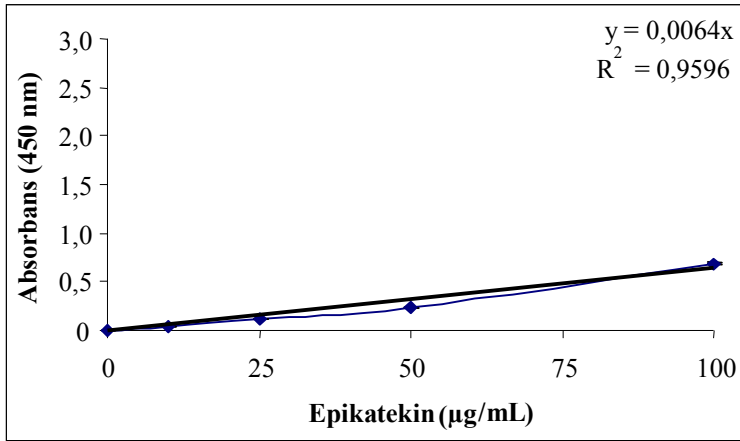
Şekil 4.77. BHT molekülü için CUPRAC aktivitesi



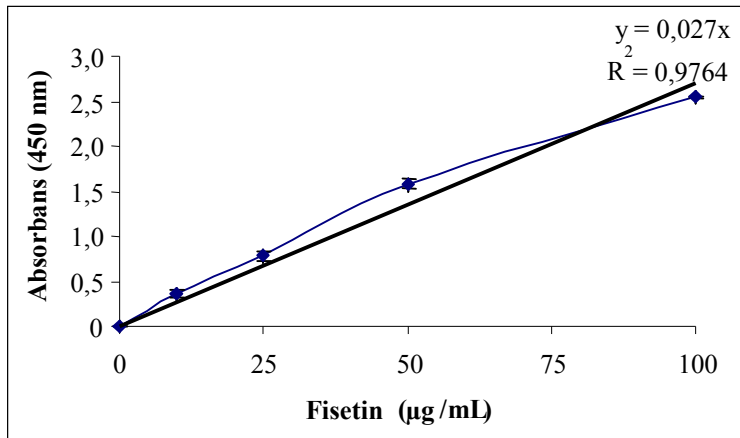
Şekil 4.78. Etoksikuin molekülü için CUPRAC aktivitesi



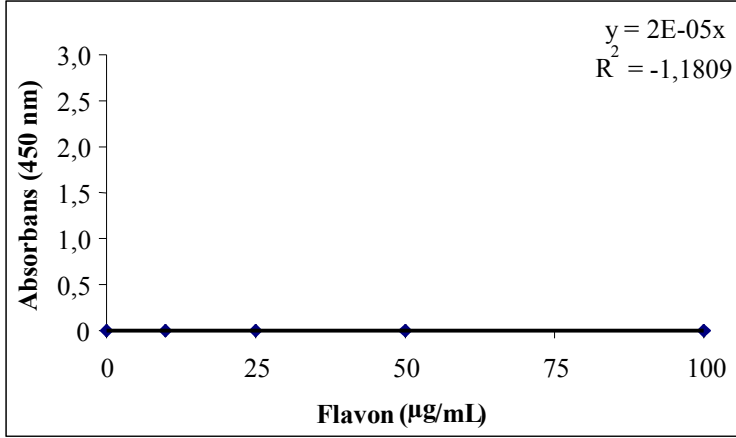
Şekil 4.79. Propil gallat molekülü için CUPRAC aktivitesi



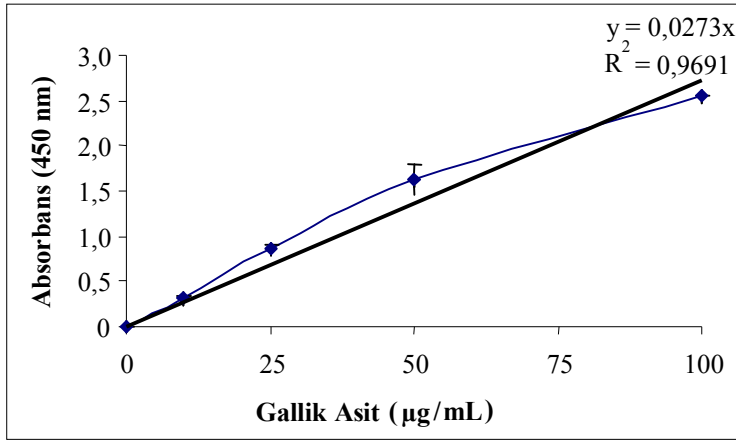
Şekil 4.80. Epikatekin molekülü için CUPRAC aktivitesi



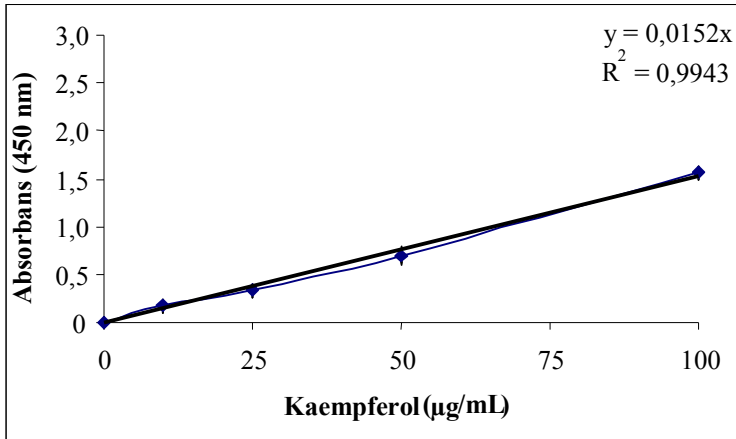
Şekil 4.81. Fisetin molekülü için CUPRAC aktivitesi



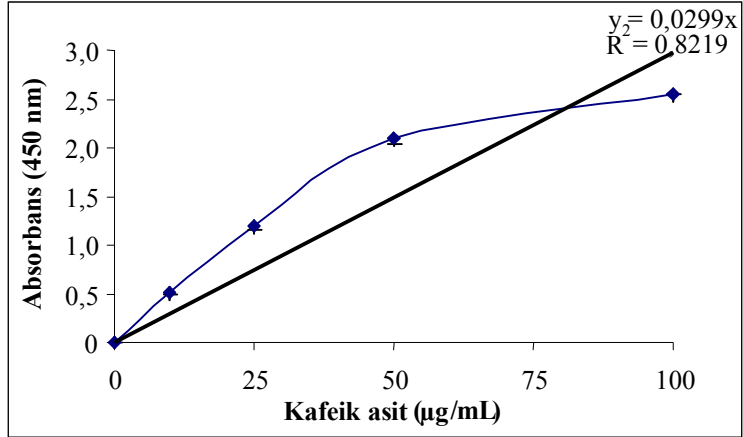
Şekil 4.82. Flavon molekülü için CUPRAC aktivitesi



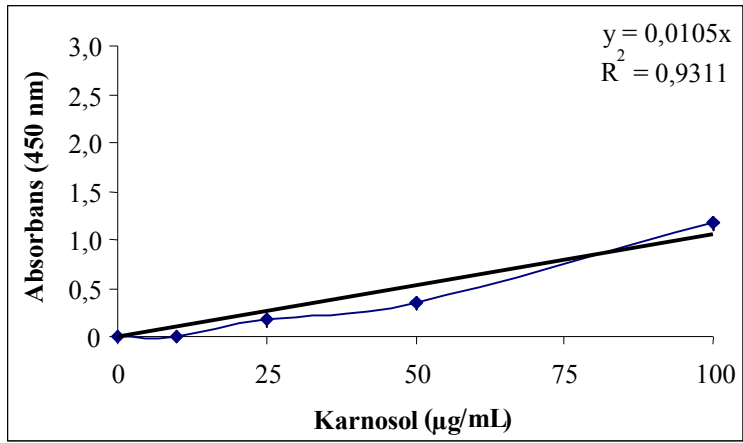
Şekil 4.83. Gallik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi



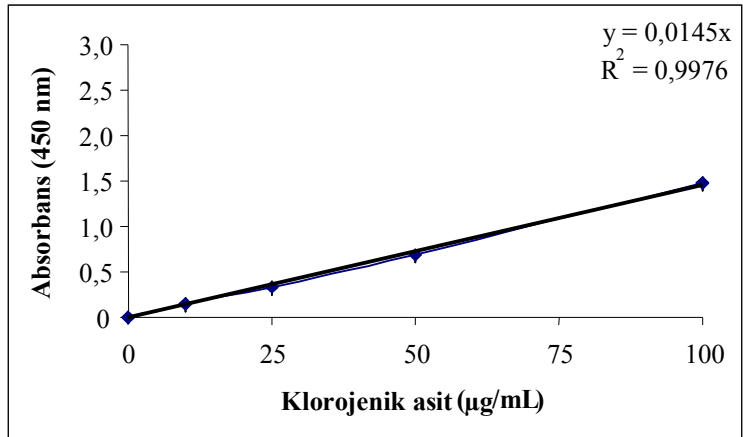
Şekil 4.84. Kaempferol molekülü için CUPRAC aktivitesi



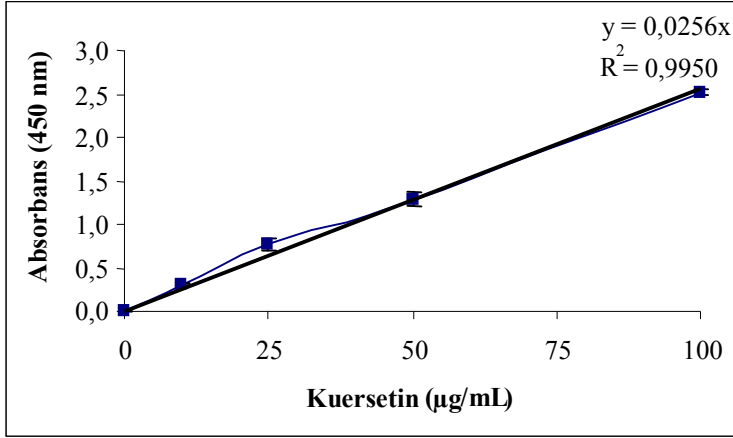
Şekil 4.85. Kafeik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi



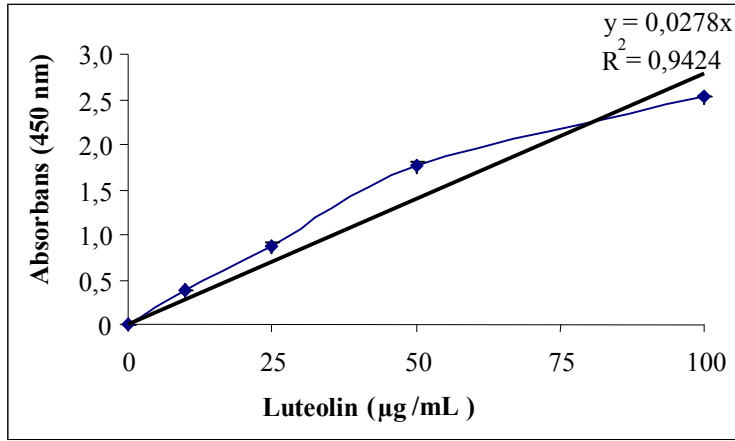
Şekil 4.86. Karnosol molekülü için CUPRAC aktivitesi



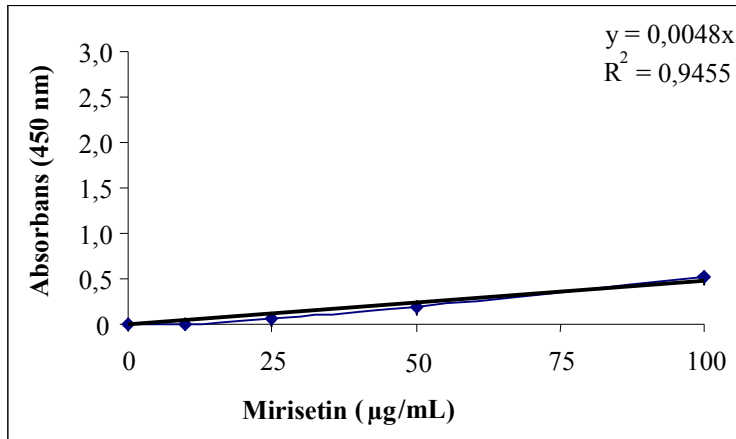
Şekil 4.87. Klorojenik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi



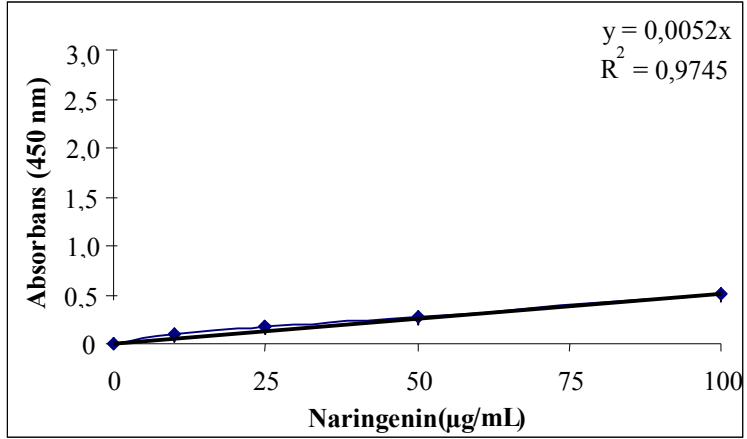
Şekil 4.88. Kuersetin molekülü için CUPRAC aktivitesi



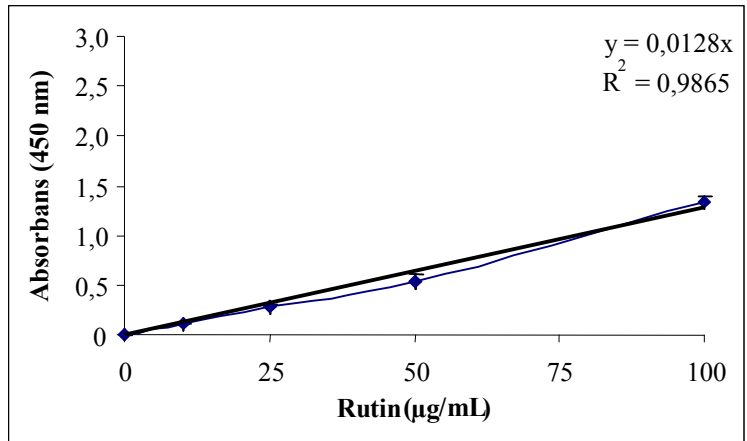
Şekil 4.89. Luteolin molekülü için CUPRAC aktivitesi



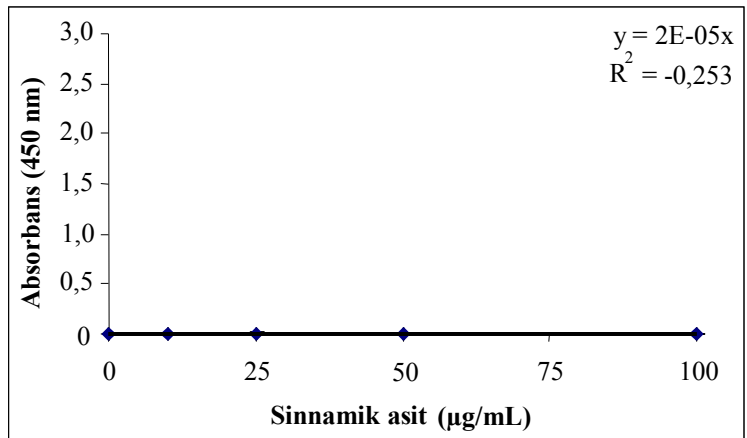
Şekil 4.90. Mirisetin molekülü için CUPRAC aktivitesi



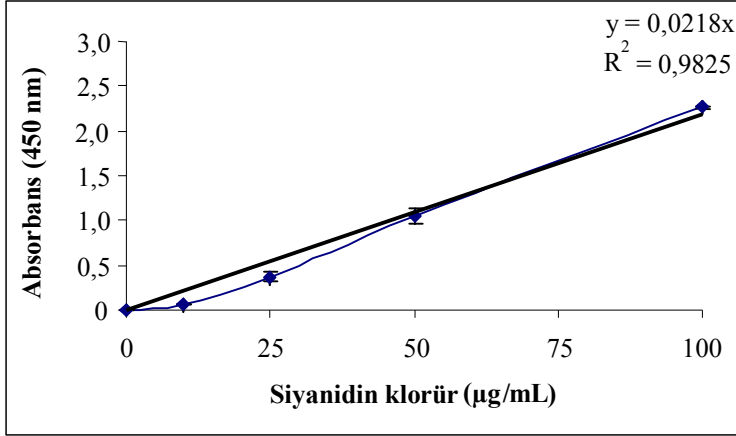
Şekil 4.91. Naringenin molekülü için CUPRAC aktivitesi



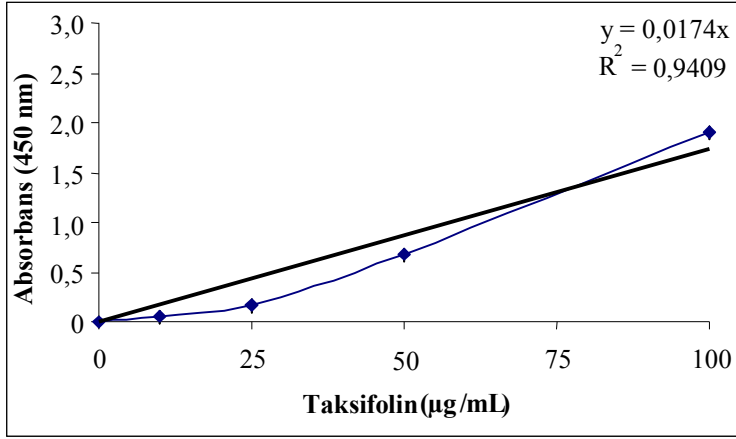
Şekil 4.92. Rutin molekülü için CUPRAC aktivitesi



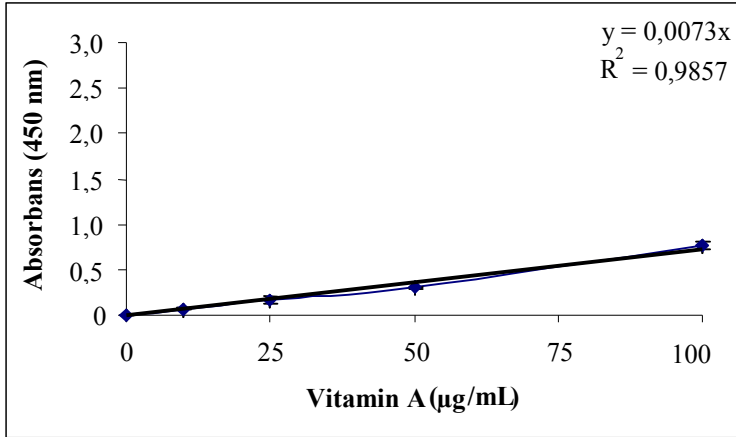
Şekil 4.93. Sinamik asit molekülü için CUPRAC aktivitesi



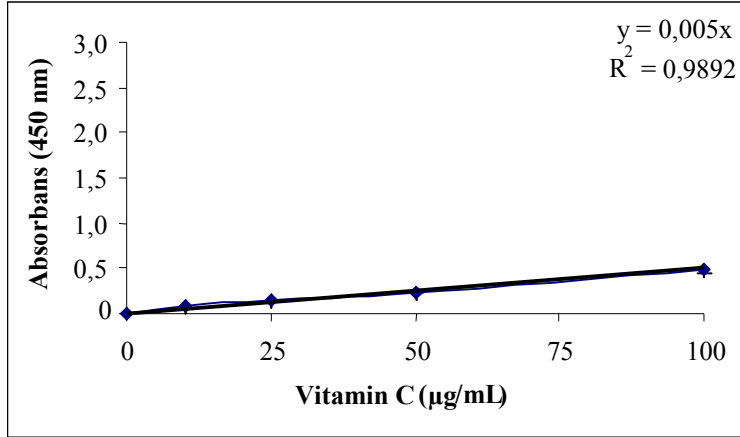
Şekil 4.94. Siyanidin klorür molekülü için CUPRAC aktivitesi



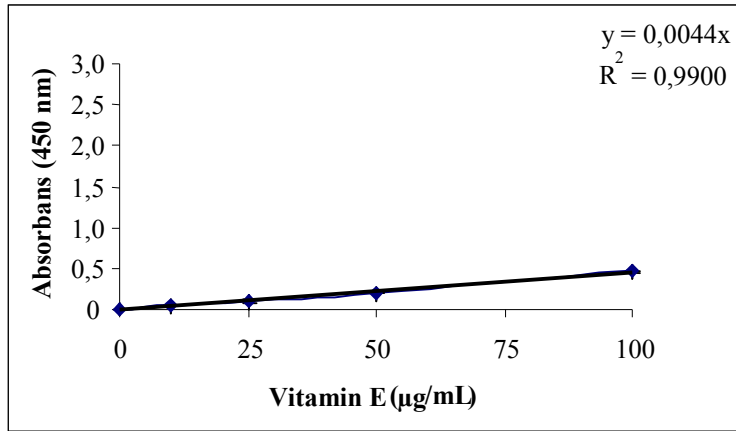
Şekil 4.95. Taksifolin molekülü için CUPRAC aktivitesi



Şekil 4.96. Vitamin A molekülü için CUPRAC aktivitesi



Şekil 4.97. Vitamin C molekülü için CUPRAC aktivitesi



Şekil 4.98. Vitamin E molekülü için CUPRAC aktivitesi

Çizelge 4.5. Antioksidan bileşiklerin CUPRAC yöntemi ile hesaplanan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri

	Antioksidan	$TEAC_{CUPRAC} \pm SD$
Sentetik	BHA	5,558 \pm 0,130
	BHT	4,529 \pm 0,043
	Etoksikuin	2,471 \pm 0,021
	Propil gallat	7,677 \pm 0,064
	Epikatekin	1,882 \pm 0,021
Doğal	Fisetin	7,941 \pm 0,031
	Flavon	0,006 \pm 0,014
	Gallik asit	8,029 \pm 0,273
	Kaempferol	4,471 \pm 0,021
	Kafeik asit	8,794 \pm 0,386
	Karnosol	3,088 \pm 0,037
	Klorojenik Asit	4,263 \pm 0,283
	Kuersetin	7,529 \pm 0,149
	Luteolin	8,177 \pm 0,021
	Mirisetin	1,412 \pm 0,064
	Naringenin	1,529 \pm 0,021
	Rutin	3,765 \pm 0,093
	Sinamik asit	0,006 \pm 0,001
	Siyanidin klorür	6,412 \pm 0,021
	Taksifolin	5,117 \pm 0,077
Vitamin A	2,147 \pm 0,056	
Vitamin C	1,471 \pm 0,140	
Vitamin E	1,294 \pm 0,043	
Standart	Troloks	1,000

Apak vd. (2004) geliştirdiği bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbanı veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] şelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasitesi hesaplanmıştır.

CUPRAC yönteminde elde edilen bulgular sentetik antioksidanlar arasında propil gallat>BHA>BHT>etoksikuin şeklinde bir sıralama olduğunu göstermektedir. Doğal antioksidanlardan ise kafeik asit, luteolin ve gallik asitin yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Kafeik asit bu yönteme göre klorojenik asitten iki kat daha iyi bir radikal sprcdr. Apak vd. (2009) de kafeik asit ve klorojenik asit için $TEAC_{CUPRAC}$ değerlerini sırasıyla 2,89 ve 2,47 olarak belirlemiştir.

Gallik asit klorojenik asitten bir tane daha fazla hidroksil grubu içermektedir. Bu yüzden Apak vd. (2008)'de de belirtildiği gibi gallik asitin $TEAC_{CUPRAC}$ değeri klorojenik asitin $TEAC_{CUPRAC}$ değerinden daha yüksektir.

5. SONUÇ

Doğal antioksidanların sağlık açısından daha yararlı olduğu düşüncesi tüketicilerin tercihini bu yöne çekmektedir. Yeryüzünde geniş dağılım gösteren ve doğal antioksidanlar bakımından zengin olan bitkilerden bu bileşiklerin gerek besin olarak alınması gerekse ekstrakte edilerek gıda katkı maddesi ya da koruyucu olarak kullanılması gittikçe önem kazanan bir konu haline gelmiştir.

Bu çalışmada doğal ve sentetik antioksidan moleküllerin antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Bunun için besin endüstrisinde kullanılan sentetik antioksidanlar ile bitkilerden elde edilen ve moleküler özelliklerine göre seçilmiş doğal antioksidanların belirlenen beş ayrı antioksidan yöntemi ile antioksidan kapasite tayinleri yapılmış ve derişime bağıli kapasiteleri ile birlikte karşılaştırılmıştır.

Antioksidan aktivite tayinleri olarak Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC), DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini, İndirgeme Gücü Tayini, Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) ve Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) yöntemleri kullanılmıştır. FTC yöntemi sonucu sentetik antioksidanlar BHT>BHA>etoksikuin>propil gallat sırasıyla aktivite gösterirken; doğal antioksidanlardan luteolin, kuersetin, karnosol ve Vitamin E'nin % 85'in üzerinde lipid peroksidasyonunu engellediğı; DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde etoksikuin>propil gallat>BHA>BHT sırasıyla aktivite gösterdiği; kaempferol, taksifolin, karnosol, Vitamin C'nin yüksek DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip bileşikler olduğu belirlenmiştir. İndirgeme gücü ve TEAC yöntemlerinde sentetik antioksidanlar propil gallat>BHA>etoksikuin>BHT sırasıyla indirgeme gücü sergilerken; doğal antioksidanlardan fisetin, mirisetin, gallik asit ve kuersetin yüksek indirgeme gücüne sahip olan bileşiklerdir. CUPRAC yönteminde sentetik antioksidanlar propil gallat>BHA>BHT>etoksikuin sırasıyla aktivite gösterirken, doğal antioksidanlardan fisetin, gallik asit, kafeik asit ve luteolin yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşiklerdir.

Yapı-aktivite ilişkileri de göz önüne alınan antioksidan bileşiklerin antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında doğal antioksidanların en az sentetik antioksidanlar kadar aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Fakat bu bileşiklerin özellikle sebze ve meyve bakımından zengin bir diyet aracılığıyla alınmasının daha yararlı olacağı düşünülmektedir. Çünkü bu fitokimyasalların sinerjistik etkileri antioksidan

aktiviteyi artırabilmekte ve sağlık açısından önemli derecede faydalı olabilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları doğal antioksidan bileşiklerin, sentetik antioksidanlar tarafından sağlanan antioksidan aktiviteyi aynı ya da daha yüksek oranda karşılayabileceğini ortaya koymuştur. Öte yandan; yüksek antioksidan içerikli besinlerin tüketilmesi ile ilgili hem özendirici hem de uyarıcı literatür dikkate alındığında bu konuda antioksidanların tek tek veya birlikte bulunduğu hallerin inceleneceği ilave çalışmaların yapılması gerektiği de düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Adesegun, S.A., Fajana, A., Orabueze, C.I., Coker, H.A.B. 2009. Evaluation of antioxidant properties of *Phaulopsis fascisepala* C.B.Cl. (Acanthaceae). **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 6: 227–231.
- Antmen, E. 2005. Beta Talasemide Oksidatif Stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. 2004. A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: 7970-7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., Altun, M. 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. **Free Radical Research**, 39: 949-961.
- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I., Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, 12: 1496-1547.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S.E. 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. **Microchimica Acta**, 160: 413–419.
- Ardağ, A. 2008. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, **Nature**, 181: 1199-1200.

- Bohne, V.J.B., Lundebye, A., Hamre, K. 2008. Accumulation and depuration of the synthetic antioxidant ethoxyquin in the muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Food and Chemical Toxicology**, 46: 1834–1843.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH[•] free radical method. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 30: 609–615.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 26: 25-30.
- Burda, S., Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49: 2774-2779.
- Butkovic, V., Klasinc, L., Bors, W. 2004. Kinetic study of flavonoid reactions with stable radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: 2816-2820.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, 74: 2157–2184.
- Cao G., Prior, R.L. 1999. In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology and Medicine**, 27: 1173-1181.
- Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular Antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, 37: 949-962.
- Chen, J.H., Ho, C. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45: 2374-2378.
- Clifford, M.N. 2000. Anthocyanins–nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80:1063-1072.

- Cos, P., Ying L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V. 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. **Journal of Natural Products**, 61: 71–76.
- Curcio M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., Picci, N. 2009. Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57: 5933–5938.
- Çaylak, E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. 2011. **Tıp Araştırmaları Dergisi**, 9: 73-83.
- Çöllü, Z. 2007. *Urtica Pilulifera* L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- Debier, C., Larondelle, Y. 2005. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. **British Journal of Nutrition**, 93: 153–174.
- Duan, X., Jiang, Y., Su X., Zhang, Z., Shi, J. 2007. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. **Food Chemistry**, 101: 1365–1371.
- Dubeau, S., Samson, G., Tajmir-Riahi, H. 2010. Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas. **Food Chemistry**, 122: 539–545.
- Eken, S. 2007. Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48: 3597-3604.

- Galvano, F., Fauci, L.L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N.C., Tavazzi, B., Galvano, G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 15: 2–11.
- Görünmezoğlu, Ö. 2008. Kayısı ve İncir Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Graf, E., Mahoney, J.R., Bryant, R.G., Eaton, J.W. 1984. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. **The Journal of Biological Chemistry**, 259: 3620-3624.
- Güçlü, K., Apak, R., Özyürek, M. 2009. Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. **Tübitak Proje**, pp. 1-114.
- Gülçin, İ. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, 217: 213–220.
- Güngör, N., Özyürek, M., Güçlü, K., Çekiç, S.D., Apak, R. 2011. Comparative evaluation of antioxidant capacities of thiol-based antioxidants measured by different in vitro methods. **Talanta**, 83: 1650–1658.
- Gürsoy, F. 2005. Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriks Metalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.
- Halliwell, B. 2001. Food-derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and in vivo. **Handbook of Antioxidants**, pp:1-45, New York.
- Heo, H., Kim, Y.J., Chung, D., Kim, D. 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. **Food Chemistry**, 104: 87-92.
- Herrmann, K. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. **Critical Review Food Science and Nutrition**, 28: 315-347.
- Hocman, G. 1988. Chemoprevention of cancer: Phenolic antioxidants (BHT, BHA). **International Journal of Biochemistry**, 20: 639-651.

- Hongyu, Z. 1999. Theoretical elucidation of structure-activity relationship of flavonoid antioxidants. **Science in China**, 42: 106-112.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 1841-1856.
- Jensen, S.J.K. 2003. Oxidative stress and free radicals. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, 666–667: 387–392.
- Jiménez, M., Escribano-Cebrián, J., García-Carmona, F. 1998. Oxidation of the flavonol fisetin by polyphenol oxidase. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1425: 534-542.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47: 3954-3962.
- Karagözler, A.A., Erdağ, B., Emek, Y.Ç., Uygun, D.A. 2008. Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. **Food Chemistry**, 111: 400- 407.
- Kaur, C., Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables—the Millennium’s health. **International Journal of Food Science and Technology**, 36: 703–725.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. 2010. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, 89: 217-233.
- Kebiroğlu, C. 2006. Süstitüe 7-Hidroksikromilyum Klorürlerin Ester Türevlerinin Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Lien, E.J., Ren, S., Bui, H., Wang, R. 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 285-294.

- Lo, A., Liang, Y., Lin-Shiau, S., Ho, C., Lin, J. 2002. Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through down-regulating nuclear factor- κ B in mouse macrophages. **Carcinogenesis**, 23: 983-991.
- Luxemburger, A. 2003. The synthesis of carnosol derivatives. **Tetrahedron**, 59: 3297-3305.
- Lv, P., Li, H., Xue, J., Shi, L., Zhu, H. 2009. Synthesis and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44: 908-914.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86: 2046-2056.
- Machlin, L.J., Bendich, A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, 1: 441-445.
- Marinova, E.M., Toneva, A., Yanishlieva N. 2009. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. **Food Chemistry**, 114: 1498-1502.
- Meyer, A.S., Heinonen, M., Frankel, E.N. 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. **Food Chemistry**, 61: 71-75.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, 84: 407-412.
- Natella, F., Nardini, M., Felice, M.D., Scaccini, C. 1999. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure-activity relation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47: 1453-1459.

- Ni, Y. Wang, L. Kokot, S. 2000. Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and *tert*-butylhydroquinone by use of chemometric approaches. **Analytica Chimica Acta**, 412: 185-193.
- Ong, K.C., Khoo, H. 1997. Biological effects of myricetin. **General Pharmacology**, 29: 121-126.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: oxidative activities of products of browning reaction prepared from glucoseamine. **Japanese Journal of Nutrition**, 44: 307-315.
- Özkan, A., Gündüz, G., Çıplak, B., FıŖkın, K. 2000. Kimyasal mücadele uygulanmış *Dociostaurus Maroccanus* epidemik popülasyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri. **Turkish Journal of Biology**, 24: 141-149.
- Padayatty, S.J., Daruwala, R., Wang, Y., Eck, P.K., Song, J., Koh, W.S., Levine, M. 2001. Vitamin C: From molecular actions to optimum intake. **Handbook of Antioxidants**, pp. 117-145, New York.
- Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q., Singal, P.K. 1998. Antioxidant potentials of Vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 746-761.
- Pannala, A.S., Chan, T.S., O'Brien, P.J., Rice-Evans, C.A. 2001. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 282: 1161-1168.
- Pektaş, İ. 2009. Bitki Gelişim Düzenleyicilerinin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Peterson, J., Dwyer, J. 1998. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, 18: 1995-2018.

- Pokorny, J. 2007. Are natural antioxidants better- and safer-than synthetic antioxidants?. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 109: 629-642.
- Pokorny, J. 2008. Application of phenolic antioxidants in food products. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry (Electronic Journal)**, 7: 3320-3324, Erişim [<http://ejeafche.uvigo.es>]
- Prasetyo, E.N., Nyanhongo, G.S., Guebitz, G.M. 2011. Enzymatically enriching naringenin with hydroxylated and/or methoxylated phenolic compounds. **Process Biochemistry**, 46: 1019–1024.
- Re, R., Pellegrini, N., Protrgente, A., Pannala, A., Yang, M. Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 1231-1237.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J. 1984. Total antioxidant status in plasma and body fluids. **Methods of Enzymology**, 234: 279-293.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, 2: 152-159.
- Saha K., Lajis, N.H., Israf, D.A., Hamzah, A.S., Khozirah, S., Khamisa S., Syahida, A. 2004. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 92: 263–267.
- Sakanashi, Y., Oyama, K., Matsui, H., Oyama, T.B., Oyama, T.M., Nishimura, Y., Sakai, H., Oyama, Y. 2008. Possible use of quercetin, an antioxidant, for protection of cells suffering from overload of intracellular Ca^{2+} : A model experiment. **Life Sciences**, 83: 164–169.
- Schroeder, P., Klotz, L., Buchczyk, D.P., Sadik, C.D., Schewe, T., Sies, H. 2001. Epicatechin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 285: 782–787.

- Sezgin, N. 2006 Adaçayı (*Salvia spp.*) Bitkisinde Antioksidan Maddelerin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Shahidi, F. 1996. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, Champaign-Illinois, pp. 209, USA.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, 89: 191–198.
- Strlic M., Radovic T., Kolar J., Pihlar B. 2002. Anti- and prooxidative properties of gallic acid in Fenton-type systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50: 6313-6317.
- Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J., Dommesa, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, 113: 1226–1233.
- van den Berg, R., Haenen, G.R.M.M., van den Berg, H., Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, 66: 511-517.
- Villaño, D, Fernández-Pachón M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, 71: 230–235.
- Wanasundara, U.N., Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils, **Food Chemistry**, 63: 335-342.
- Wang, X., Wang, J., Yang N. 2007. Chemiluminescent determination of chlorogenic acid in fruits. **Food Chemistry**, 102: 422–426.

- Wang, Y., Zu, Y., Long, J., Fu, Y., Li, S., Zhang, D., Li, J., Wink, M., Efferth, T. 2011. Enzymatic water extraction of taxifolin from wood sawdust of *Larix gmelini* (Rupr.) Rupr. and evaluation of its antioxidant activity. **Food Chemistry**, 126: 1178–1185.
- Wanga, Z.H., Kanga, K.A., Zhanga, R., Piao, M.J., Jo, S.H., Kim, J.S., Kang, S.S., Leed, J.S., Park, D.H., Hyun, J.W. 2010. Myricetin suppresses oxidative stress-induced cell damage via both direct and indirect antioxidant action. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 29: 12-18.
- Yang, J., Guo, J., Yuan, J. 2008. *In vitro* antioxidant properties of rutin. **LWT - Food Science and Technology**, 41: 1060-1066.
- Yen, G., Duh, P., Tsai, H. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. **Food Chemistry**, 79: 307–313.
- Yıldız, L. 2007. Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Zurita, J.L., Jos, Á., Peso, A., Salguero, M., López-Artíguez, M., Repetto, G. 2007. Ecotoxicological effects of the antioxidant additive propyl gallate in five aquatic systems. **Water Research**, 41: 2599 – 2611.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Rukiye YAVAŞER
Doğum Yeri ve Tarihi : İZMİR/1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Makaleler
-SCI
-Diğer

- b) Bildiriler

-Uluslararası

1. Yavaşer R., Çetinyürek F., Uygun, D.A., Karagözler, A.A. Investigation of antioxidant properties of *Arbutus unedo* L. Fruit. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, 18-22 Nisan 2010, Antalya.

2. Çetinyürek F., Yavaşer R., Uygun, M., Karagözler, A.A. Investigation of antioxidant properties of *Myrtus communis* fruit. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, 18-22 April, Antalya.

-Ulusal

1. Yavaşer R., Çetinyürek F., Karagözler, A.A. Karbonik Anhidraz enziminin bezelye (*Pisum sativum*) tanelerinden kısmi saflaştırılması. Kromatografi 2009 Kongresi, 26-29 Eylül 2009, Trabzon.

2. Yavaşer, R., Karagözler, A.A.. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Uluslararası Katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi, 27 Haziran-2 Temmuz 2011, Erzurum.

- c) Katıldığı Projeler

1. “Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması”. ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu. Proje No:10011. Proje araştırmacısı.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü,
Araştırma Görevlisi, 2011-devam ediyor.

İLETİŞİM

E-posta Adresi : ryavaser@adu.edu.tr
Tarih : 08.08.2011