

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÇANAKKALE FLORASINDAKİ BAZI TIBBİ VE
AROMATİK BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Esra ARSLAN

Danışman:

Yrd. Doç. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU

Temmuz, 2008

ÇANAKKALE

ÇANAKKALE FLORASINDAKİ BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Esra ARSLAN

Danışman:

Yrd. Doç. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU

Temmuz, 2008

ÇANAKKALE

TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ

Esra ARSLAN tarafından Yrd. Doç. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU yönetiminde hazırlanan “Çanakkale Florasındaki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Yönetici

.....

Jüri Üyesi

.....

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi:...../...../.....

Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma, **TUBİTAK** tarafından TOVAG **104 O 292** no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÇalıŐmamın her aŐamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Kırca Toklucu'ya, çalışmada kullanılan bitki örneklerinin sağlanmasında yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Hakan Turhan ve Araştırma Görevlisi Onur S. Türkmen'e, bitki örneklerinin tanımlanmasında yardımcı olan Araştırma Görevlisi Ersin Karabacak'a, çalıŐmalarım süresince yardım ve desteklerini gördüğüm dostlarıma ve her zaman yanımda olan sevgili aileme teŐekkürlerimi sunarım.

Esra ARSLAN

anakkale, Temmuz 2008

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AAPH:** 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) hidroklorid
- ABAP:** 2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorit
- ABTS:** 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
- BHA:** Bütillenmiş hidroksianisol
- BHT:** Bütillenmiş hidroksitoluen
- CL:** Kemiluminesans (Chemiluminescence)
- DPPH:** 2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil
- FRAP:** Ferrik iyon indirgeme antioksidan parametresi (Ferric reducing antioxidant power)
- IC₅₀:** Ortamda bulunan DPPH radikalinin %50'sini inhibe eden antioksidan madde konsantrasyonu
- KMBA:** α -keto- γ -metolbütirik asit
- LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein (low-density lipoprotein)
- ORAC:** Oksijen radikali absorbans kapasitesi (Oxygen radical absorbance capacity)
- PCL:** Fotokemiluminesans (Photochemiluminescence)
- PG:** Propil gallat
- ROS:** Reaktif oksijen türleri
- TEAC:** Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (Trolox equivalent antioxidant capacity)
- TGHQ:** Tersiyer bütül hidroksikinon
- TOSC:** Toplam oksidan süpürme kapasitesi (Total oxidant scavenge capacity)
- TRAP:** Toplam radikal yakalama parametresi (Total radical trapping parameter)

ÇANAKKALE FLORASINDAKİ BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, Çanakkale'nin farklı bölgelerinden toplam 42 bitki örneğinin (sap, tohum, yaprak ve çiçek gibi kısımlarla birlikte toplam 70 örnek) antioksidan aktiviteleri ile toplam fenol ve askorbik asit içerikleri incelenmiştir. Bitkilerin çeşitli kısımlarından hazırlanmış olan metanol ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) ve DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemleri ile belirlenirken, toplam fenolik madde ve askorbik asit içerikleri sırasıyla “Folin-Ciocalteu” ve “2.6- diklorofenolindofenol–ksilen ekstraksiyon” yöntemleriyle saptanmıştır.

Bitki ekstraktlarının TEAC değerleri $1472,36 \pm 23,58$ ile $17,61 \pm 0,44$ μmol Trolox / g kuru ağırlık aralığında, IC_{50} değerleri $0,174 \pm 0,002$ ile $42,475 \pm 1,761$ mg kuru ağırlık aralığında, toplam fenol içerikleri ise $117,2 \pm 0,636$ ile $1,1 \pm 0,035$ mg gallik asit/g kuru ağırlık aralığında değişiklik göstermiştir. Bitki materyallerinin toplam fenolik içeriği ve troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi arasında pozitif bir korelasyon bulunduğu saptanmıştır ($r = 0,917$). Sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), sandal ağacı (*Arbutus andrachne*) ve karaçalı (*Paliurus spina-christii*) ekstraktları, TEAC ve DPPH yöntemlerinin her ikisine göre de en yüksek düzeyde antioksidan aktivite göstermişlerdir. Ancak, bitki materyallerinin TEAC ve IC_{50} değerleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmamaktadır ($r = 0,441$). Bitki materyallerinin askorbik asit içerikleri de $461,811$ ile $11,224$ mg / 100 g kuru ağırlık aralığında değişmektedir. En yüksek askorbik asit içeriği ise karaçalı (*Paliurus spina-christii*) bitkisinde saptanmıştır.

Anahtar sözcükler : Tıbbi ve aromatik bitkiler, antioksidan kapasite, ABTS, DPPH, toplam fenol, askorbik asit.

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi **TUBİTAK** tarafından TOVAG **104 O 292** no'lu projeden desteklenmiştir.

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME MEDICINAL AND AROMATIC FLORA OF CANAKKALE

ABSTRACT

In this study, a total of 42 plant samples (total of 70 samples due to the stems, seeds, leaves and flowers of the plants) from different regions of Çanakkale were investigated for their antioxidant capacity, total phenol and ascorbic acid contents. The antioxidant capacity of methanolic extracts prepared from various parts of plants was evaluated by both TEAC (trolox equivalents antioxidant capacity) and DPPH (2,2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl) assays, while total phenol and ascorbic acid contents were determined using the Folin-Ciocalteu and 2,6-dichlorophenolindophenol – xylene extraction methods, respectively.

TEAC values of plant extracts ranged between $1472,36 \pm 23,58$ and $17,61 \pm 0,44$ μmol of Trolox equivalents/g dw and EC_{50} values varied from $0.174 \pm 0,002$ to $42.475 \pm 1,761$ mg dw of plant, while total phenol content of plant extracts ranged between $117.20 \pm 0,636$ and $1.1 \pm 0,035$ mg of gallic acid equivalent /g dw. There was a positive linear correlation between the trolox equivalent antioxidant capacity and total phenols of plant materials ($r = 0.917$). The extracts of *Hypericum perforatum*, *Arbutus andrachne* and *Paliurus spina-christii* showed the higher antioxidant activities according to both TEAC and DPPH assays. However, there was not any significant correlation between TEAC and EC_{50} values of plant materials ($r = 0,441$). The ascorbic acid content of plant materials ranged between 461,811 and 11,224 mg / 100 g dw. The highest amount of ascorbic acid was found in the extract of *Paliurus spina-christii*.

Keywords : Medicinal and aromatic plants, antioxidant capacity, ABTS, DPPH, total phenol, ascorbic acid

The present M.Sc. thesis was supported by TUBITAK under the project no of 104 O 292.

İÇERİK

Sayfa

TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi

BÖLÜM 1 - GİRİŞ.....	1
-----------------------------	----------

BÖLÜM 2 - OKSİDATİF VE ANTİOKSİDATİF ETKİ.....	3
---	----------

2.1. Reaktif Oksijen Türevleri ve Oluşum Mekanizmaları.....	4
--	----------

2.1.1. Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$).....	5
--	----------

2.1.2. Hidroksil radikalleri (HO^{\cdot})	6
---	----------

2.1.3. Peroksil radikalleri (ROO^{\cdot})	7
---	----------

2.1.4. Alkoksi radikalleri (RO^{\cdot})	8
---	----------

2.1.5. Hidroperoksi radikalleri (HOO^{\cdot}).....	8
--	----------

2.1.6. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	8
---	----------

2.1.7. Singlet oksijen (O_2).....	9
---	----------

2.2. Antioksidanlar ve Reaksiyon Mekanizmaları	10
---	-----------

2.2.1. Hidrojen atomu transfer reaksiyonu mekanizması	11
--	-----------

2.2.2. Tek elektron transfer reaksiyonu mekanizması.....	11
---	-----------

2.3. Antioksidan Aktivite Ölçüm Yöntemleri	12
---	-----------

2.3.1. Hidrojen atomu transfer reaksiyonuna dayalı yöntemler	12
---	-----------

2.3.1.1. ORAC (Oxygen radical absorbance capacity).....	12
--	-----------

2.3.1.2. TRAP (Total radical trapping parameter)	13
---	-----------

2.3.1.3. TOSC (Total oxidant scavenge capacity).....	14
---	-----------

2.3.1.4. CL (Chemiluminescence).....	14
---	-----------

2.3.1.5. PCL (Photochemiluminescence).....	15
---	-----------

2.3.1.6. Kroton / β-karoten ağartılması	15
---	-----------

2.3.1.7. LDL (low-density lipoprotein) oksidasyonu	16
---	-----------

2.3.2. Tek elektron transfer reaksiyonuna dayalı yöntemler	16
---	-----------

2.3.2.1. FRAP (Ferric reducing antioxidant power) yöntemi	16
2.3.2.2. Bakır indirgeme yöntemi	17
2.3.3. Hidrojen atomu transferi ve tek elektron transferi reaksiyonlarına dayalı yöntemler	17
2.3.3.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi	17
2.3.3.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi	18
2.3.3.3. Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenolik tayin yöntemi	18
2.4. Gıdalarda Bulunan Antioksidan Maddeler ve İnsan Sağlığına Etkileri ..	19
2.5. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Kapasiteleri	21
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Kimyasal malzemeler	24
3.1.2. Bitki materyali.....	24
3.1.3. Bitki örneklerinin hazırlanması.....	27
3.1.4. Ekstraktların hazırlanması.....	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Toplam fenol tayini	29
3.2.2. Antioksidan aktivite tayini.....	30
3.2.2.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi	30
3.2.2.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi	32
3.2.3. Askorbik asit tayini	33
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenol İçerikleri	35
4.2. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Aktiviteleri	40
4.2.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi.....	40
4.2.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi	48
4.3. Bitki Ekstraktlarının Askorbik Asit İçerikleri	53
BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	61
Tablolar	I
Şekiller.....	II
Yaşam Öyküsü	III

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkiler, tarih öncesi çağlardan beri antiseptik ve diğer tedavi edici özelliklerinin yanında gıdalara tat ve aroma vermek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Son yıllarda özellikle yurtdışında büyük ilgi gören bitkilerle tedavi yöntemi, yurdumuzda da önem kazanmaya başlamıştır. Tıbbi bitkiler, ilaç endüstrisinde kullanımının yanısıra özellikle gıda, baharat, içki ve meşrubat sanayiinde de kullanılmaktadır. Bu bitkiler, çok sayıda antioksidan bileşik içermektedirler. Bunlar arasında özellikle biberiye, adaçayı, kekik ve zencefilin güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Kikuzaki ve Nakatani, 1993; Couvelier ve diğ., 1994; Frankel, 1999; Shahidi, 2000; Dang ve diğ., 2001).

Gıdaların depolanması ve pazarlanması sırasında, ortamda bulunan reaktif oksijen molekülleri, gıda bileşenleri ile reaksiyona girerek istenmeyen uçucu bileşikler ve kanserojen maddelerin üremesine neden olmakta, esansiyel besin içeriklerine zarar vermekte, protein, yağ ve karbonhidratların yararlılığını azaltmakta ve sonuçta gıda ürününün kimyasal, fiziksel ve besleyici özelliklerini değiştirmektedirler (Choe ve Min, 2006). Gıdaları bu tip bozulmalara karşı korumak ve raf ömürlerini artırmak amacıyla çeşitli antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer bütül hidroksikininon (TGHQ) gıdalarda yaygın olarak kullanılan yapay antioksidanlardır. Diğer yandan, sentetik antioksidan maddelerin güvenilirlikleri üzerine artan endişelerden dolayı doğal antioksidan kaynakları üzerinde yapılan çalışmalar yoğunlaşmış ve yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösteren bileşikleri içermesinden dolayı tıbbi ve aromatik bitkiler konusunda yapılan araştırmalar hız kazanmıştır. Özellikle, son yıllarda yapılan çalışmalarda, dünyanın çeşitli bölgelerinde yetişen ve tıbbi amaçla da kullanılan çok sayıda bitkinin incelenmesi sonucunda, bu bitkilerin antioksidan aktiviteye sahip ve çeşitli hastalıkların önlenmesinde önemli rolleri belirlenmiş olan, yüksek konsantrasyonlarda kimyasal öğeler içerdiği bulunmuştur (Rojas ve diğ., 2003; Chanwitheesuk ve diğ., 2005; Salvat ve diğ., 2004; Ivanova ve diğ., 2005; Chen ve

diğ., 2005; Mothana ve Lindequist, 2005). Özellikle vücutta bulunan serbest radikallerin inaktive edilmesi için, insan beslenmesinin bu tip bileşikleri yüksek oranda içeren bitkilerce zenginleştirilmesi tavsiye edilmektedir. Serbest radikallere karşı hücre savunma sistemine katılan önemli öğeler arasında fenolik bileşikler, askorbik asit ve karotenoidler bulunmaktadır (Capecka ve diğ., 2005). Bitkisel kaynaklardan izole edilen diğ er bir antioksidan etkili bileşik de tokoferollerdir (Clark ve diğ., 1990).

Bu araştırmanın konusu, Çanakkale florasındaki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesidir. Çanakkale florası, özellikle Kazdağları tıbbi ve aromatik bitkiler açısından önemli bir yere sahiptir. Çalışma kapsamında, 42 adet bitki türü ve genotipine ait çeşitli kısımların (sap, yaprak, çiçek, tohum, vb.) antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bitkilerin antioksidan aktiviteleri, TEAC ve DPPH olmak üzere iki farklı yöntemle ayrıntılı bir şekilde ortaya konmuştur. Ayrıca, söz konusu bitkilerin toplam fenol ve askorbik asit içerikleri de belirlenerek, antioksidan aktiviteleri ile aralarındaki ilişki incelenmiştir.

BÖLÜM 2

OKSİDATİF VE ANTIOKSİDATİF ETKİ

Serbest radikaller olarak da adlandırılan reaktif oksijen türevleri, gıdalarda oksidasyon reaksiyonlarını başlatarak, renk ve koku kaybı ile bozulmalara yol açmalarının yanı sıra insanlarda da bir dizi hastalığa neden olmaktadır (Choe ve Min, 2006).

Serbest radikaller, kimyasal olarak en dış elektron yörüngesinde bir elektron kaybetmiş olan yani çiftlenmemiş (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin çeşitli zararlı etkilere yol açmaları, elektron açıklarını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışmalarından kaynaklanmaktadır (Frankel, 1999).

Yaşamımızı sürdürmek için tükettiğimiz moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki çiftlenmemiş (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir diradikal olarak değerlendirilmektedir. Moleküler oksijen, diradikal doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturma eğilimindedir. Ayrıca, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmektedir (Altınışık, 2000).

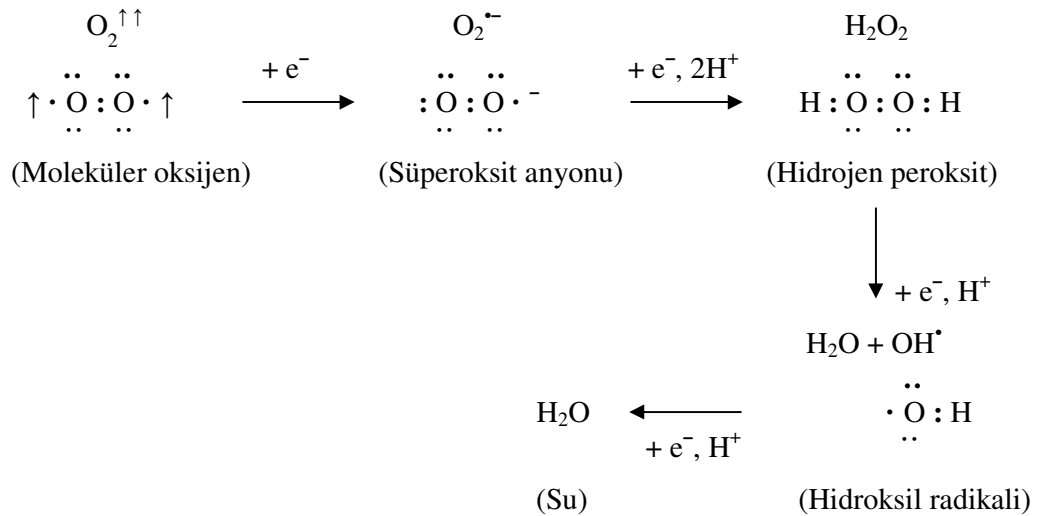
Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metalleri de çiftlenmemiş elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmemekte, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler (Altınışık, 2000).

Reaktif oksijen türevlerinin etkisini azaltmak ve gıdaların kalitesini arttırmak için antioksidanlardan yararlanılmaktadır. Antioksidanlar; “gıdalarda düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, okside olabilir diğer substratlara kıyasla, o substratın oksidasyonunu önemli düzeyde geciktiren ya da engelleyen maddeler” olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin inaktive olmasını

sağlayan bu etkiyi, kendi yapılarında bulunan tek elektron veya hidrojen atomunu, çiftleşmemiş elektrona sahip olan reaktif oksijen türlerine transfer etmek suretiyle gerçekleştirmektedirler. Gıdaların yapısında doğal olarak bulunabildikleri gibi, gıdalardaki birtakım kimyasal reaksiyonlar (örneğin, Maillard reaksiyonu) sonucunda da oluşabilen antioksidan bileşikler aynı zamanda, doğal kaynaklardan ekstrakte edilerek de gıdalara katılabilmektedirler (Shahidi, 2000).

2.1. Reaktif Oksijen Türevleri ve Oluşum Mekanizmaları

Reaktif oksijen türevleri (ROS) süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksi radikali (HO^{\cdot}), peroksi radikali (ROO^{\cdot}), alkoksi radikali (RO^{\cdot}) ve hidroperoksi radikali (HOO^{\cdot}) gibi oksijen radikalleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) ve singlet oksijen (O_2) gibi radikal olmayan oksijen türevlerini kapsayan bir terimdir. Gıdalarda reaktif oksijen türlerinin oluşumu, insan sağlığını önemli ölçüde etkilemektedir. İnsan sağlığına olan olumsuz etkilerinin yanı sıra, serbest radikaller gıdaların yağ, protein, karbonhidrat, vitamin vb bileşenlerine etki ederek gıdalarda kalite kaybına da neden olmaktadır. Ayrıca, insan vücudu için esansiyel olan yağ asitlerinin ve amino asitlerin yıkımına ve hatta kanserojen maddelerin oluşumuna yol açmaktadır (Choe ve Min, 2006).

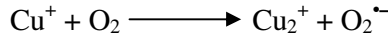
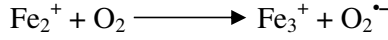


Şekil 1. Reaktif oksijen türevlerinin oluşumu (Altınışık, 2000).

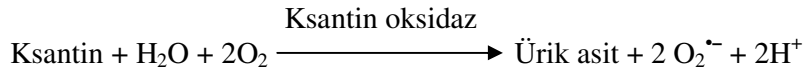
Reaktif oksijen türleri, serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilmekte ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^{\bullet}), peroksit radikalleri (ROO^{\bullet}), alkoksi radikalleri (RO^{\bullet}), tiyil radikalleri (RS^{\bullet}), sülfenil radikalleri (RSO^{\bullet}), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^{\bullet}) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır (Altınışık, 2000).

2.1.1. Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Dolayısıyla bir diradikal olan moleküler oksijen iki eşleşmemiş elektrona sahipken, süperoksit anyonu yalnızca bir eşleşmemiş elektrona sahiptir (Choe ve Min, 2006). İndirgenmiş geçiş metallerinin ootoksidasyonu da süperoksit radikalini meydana getirebilmektedir (Altınışık, 2000).

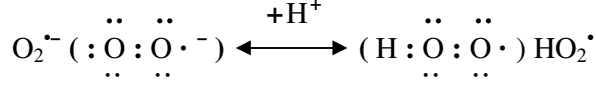


Gıdalarda bulunan ksantin oksidaz enzimi, moleküler triplet oksijen varlığında ksantine veya hipoksantine etki ederek süperoksit anyonunu meydana getirmektedir. Ayrıca, hemoglobinin parçalanmasıyla oluşan bir pigment olan hematoporfirin veya tetrapiroller de fotoaktivasyon yoluyla süperoksit anyonunu oluşturmaktadırlar (Choe ve Min, 2006).

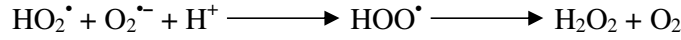


Gıdalara uygulanan gama ışınları, vurgulu elektrik alan, mikrodalga ve ohmik ısıtma gibi işlemler esnasında, gıdanın içeriğinde bulunan su molekülleri, enerjinin büyük kısmını absorbe ederek hidratlanmış elektronların (e^-_{aq}) oluşumuna neden olmaktadır. Ortamda yüksek konsantrasyonda triplet oksijenin bulunması durumunda, bu hidratlanmış elektronlar (e^-_{aq}) güçlü indirgeyici özellikleri sayesinde süperoksit anyonu oluşumuna yol açmaktadırlar (Choe ve Min, 2006).

Süperoksit radikali, doğrudan zarar vermemektedir. Ancak, hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle oldukça önem taşımaktadır. Düşük pH değerlerinde daha reaktif olan süperoksit radikali, protonlandığı takdirde oksidan perhidroksi radikali (HO₂•)' ni oluşturmaktadır (Altınışık, 2000).



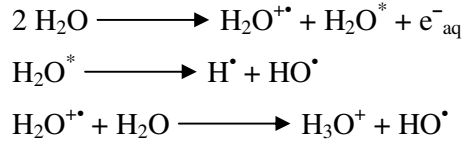
Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girdiğinde biri okside olurken diğeri indirgenmekte ve sonuçta moleküler oksijen ile hidrojen peroksit meydana gelmektedir (Altınışık, 2000).



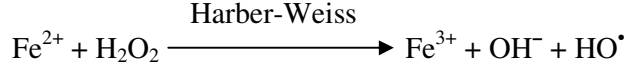
2.1.2. Hidroksil radikalleri (HO•)

Hidroksil radikali (OH•), γ-ışınlarının etkisiyle su molekülünden ve Harber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (Choe ve Min, 2006).

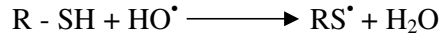
Su moleküllerinin yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşan iyonize (H₂O^{•+}) ve eksite (uyarılmış) su molekülleri (H₂O^{*}), ileriki aşamada hidroksil radikallerini (OH•) meydana getirmektedirler (Choe ve Min, 2006).



Geçiş metallerinin bulunduğu ortamlarda, hidrojen peroksitin ayrışması ya da UV ışınlarının etkisiyle hidrojen peroksidin yapısında bulunan oksijen-oksijen bağlarının parçalanması sonucunda da hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Demir iyonu varlığında hidrojen peroksitten hidroksil radikallerinin oluşumu Harber-Weiss reaksiyonu olarak bilinmektedir (Choe ve Min, 2006).



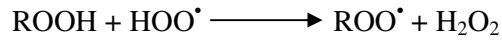
Son derece reaktif bir oksidan ve en güçlü reaktif oksijen türlerinden biri olan hidroksil radikalının yarılanma ömrü çok kısadır. Bu radikaller, oluştuğu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına yol açmakta ve sonuçta büyük hasara neden olmaktadır (Altunışık, 2000).



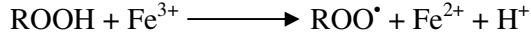
2.1.3. Peroksil radikalleri (ROO[•])

Biyolojik sistemlerde yaygın olarak bulunan peroksil radikali, hidroksil radikaline nazaran daha düşük reaktiviteye sahiptir ve dolayısıyla yarılanma süresi çok daha uzundur (Sanchez-Moreno, 2002).

Peroksil radikali, yağ asidi oksidasyonu sırasında moleküler oksijenin etkisiyle meydana gelmektedir. Ayrıca, hidroperoksit ile hidroperoksil radikali arasındaki reaksiyon sonucunda da peroksil radikali oluşmaktadır (Choe ve Min, 2006).

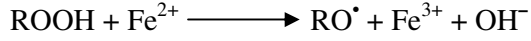
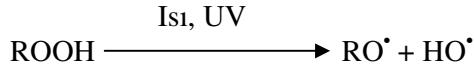


Oda sıcaklığında stabil olan hidroperoksitlerin birçoğu ısı, ultraviyole ışın ve geçiş metallere etkisiyle yıkıma uğrayarak peroksil radikallerini oluşturmaktadırlar (Choe ve Min, 2006).



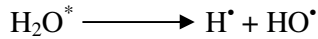
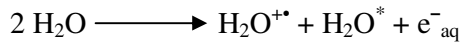
2.1.4. Alkoxi radikalleri (RO[•])

Alkoxi radikalleri, peroksi radikallerine benzer olarak ısı, ultraviyole ışın ve geçiş metallere etkisiyle hidroperoksitlerin parçalanması sonucunda oluşmaktadır (Choe ve Min, 2006).



2.1.5. Hidroperoksi radikalleri (HOO[•])

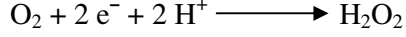
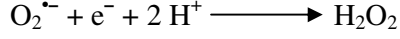
Hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin reaksiyonu sonucu oluşan hidroperoksi radikali, süperoksit anyonunun proton almış şeklidir. Ayrıca, vurgulu elektrik alan uygulaması sırasında absorbe edilen yüksek enerjinin etkisiyle parçalanmış su moleküllerinden elde edilen hidrojen atomu ile moleküler (triplet) oksijen arasında gerçekleşen reaksiyon sonucunda da hidroperoksi radikali meydana gelmektedir (Choe ve Min, 2006).



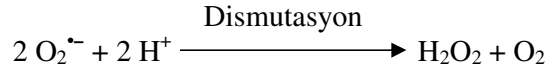
2.1.6. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂), çevresindeki moleküllerden bir elektron almış olan süperoksit anyonunun veya çevresindeki moleküllerden iki elektronu alarak

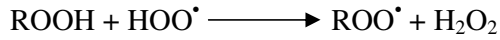
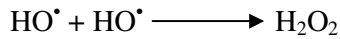
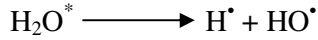
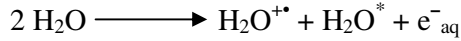
peroksidi oluşturan moleküler oksijenin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelmektedir (Altınışık, 2000).



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksit anyonunun ($O_2^{\bullet -}$) dismutasyonu ile gerçekleşmektedir. İki süperoksit anyonu molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturmaktadırlar (Choe ve Min, 2006).



Hidrojen peroksit ayrıca su moleküllerinin yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda ve hidroperoksit ile hidroperoksi radikalinin reaksiyona girmesi sonucunda da oluşabilmektedir (Choe ve Min, 2006).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Harber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH^{\bullet}) oluşturduğundan, serbest radikal biyokimyasında önemli bir yere sahiptir (Altınışık, 2000).

2.1.7. Singlet oksijen (O_2)

Singlet oksijen genellikle diradikal oksijenin elektronlarından birinin enerji olarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle ya da

triplet oksijenin ışık varlığındaki reaksiyonuyla oluşur (Altınışık, 2000; Choe ve Min, 2006). Delta ve sigma olmak üzere iki şekli bulunan singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür ve radikal mekanizması yoluyla hareket etmemektedir (Altınışık, 2000; Prior ve diğ., 2005). Ancak çift bağlara etki ederek alkoksi radikallerine indirgenebilen endoperoksitleri oluşturmakta ve radikal zincir reaksiyonlarını başlatarak serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Prior ve diğ., 2005).



Şekil 2. Singlet oksijen molekülleri (Altınışık, 2000)

Singlet oksijenin etkisiz hale getirilmesinde tokoferol, karotenoidler, fenolik bileşikler, urat ve askorbat gibi bileşikler oldukça etkilidir. Ayrıca doymuş yağ asitleri de, singlet oksijenin yüksek enerjisini kendi CH- ve COOH gruplarına aktararak singlet oksijenin inaktivasyonunda önemli rol oynamaktadırlar (Choe ve Min, 2006).

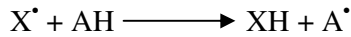
2.2. Antioksidanlar ve Reaksiyon Mekanizmaları

Antioksidanlar, serbest radikalleri iki temel mekanizma ile inaktive etmektedirler. Bunlardan biri “hidrojen atomu transfer reaksiyonu”, diğeri ise “tek elektron transferi reaksiyonu” mekanizmasıdır. Reaksiyon sonuçları her iki mekanizma için aynı olsa da, reaksiyon kinetik ve potansiyelleri birbirinden farklılık göstermektedir. Tek elektron transferi ve hidrojen atomu transferi reaksiyonları, antioksidan yapısının ve pH'nın sağladığı dengeyle tüm sistemlerde bir arada gerçekleşmektedirler. Bu durumda, verilen sistemdeki hakim mekanizma, antioksidanın yapı ve özellikleri, çözünürlük ve bölünme katsayısı ile sistem solventinin özelliklerine göre belirlenmektedir. Reaksiyon mekanizması ve antioksidanların etkinliğini belirleyen diğeri iki temel faktör ise, bağ kırılma enerjisi ile iyonizasyon potansiyeli değerleridir (Prior ve diğ., 2005).

Antioksidanlar farklı radikallere veya oksidan kaynaklarına farklı tepkiler göstermektedirler. Örneğin, karotenoidler fenolik bileşiklere ve diğer antioksidanlara nazaran, peroksil radikallerine karşı fazla etkili olmamalarına rağmen singlet oksijene karşı çok güçlü bir etkiye sahiptirler (Prior ve diğ., 2005).

2.2.1. Hidrojen atomu transfer reaksiyonu mekanizması

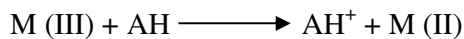
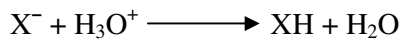
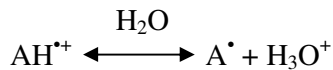
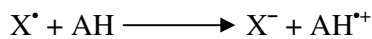
Antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla hidrojen atomu transferini temel alan metotlar, antioksidanların sahip oldukları hidrojen atomunu vermek suretiyle serbest radikalleri yok etmedeki yeteneklerini ölçmektedirler (Prior ve diğ., 2005).



Hidrojen atomu transfer reaksiyonları, çözücüye ve pH'a bağlı değildir ve genellikle oldukça hızlı gerçekleşmektedirler. Ortamdaki indirgeme ajanlarının ya da metallerin varlığı, hidrojen atomu transfer reaksiyonunu kullanan metotlarla yapılan analizlerde olduğundan daha yüksek reaktivite görünmesine yol açarak hatalı sonuçların elde edilmesine neden olmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.2.2. Tek elektron transfer reaksiyonu mekanizması

Antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla tek elektron transferi reaksiyonunu temel alan metotlar, antioksidanların metaller, karboniller ya da radikaller gibi bileşiklere tek bir elektron vermek suretiyle bu bileşikleri indirgemedeki yeteneklerini ölçmektedirler (Prior ve diğ., 2005).



Elektron transferi reaksiyonları pH'a bağlıdır ve genellikle oldukça yavaş gerçekleşmektedirler. Dolayısıyla, antioksidan kapasite hesaplamaları reaksiyon hızlarından ziyade üründeki azalma yüzdesine bağlı olarak yapılmaktadır. Tek

elektron transferine dayalı metotlar askorbik asit ve ürik asite karşı oldukça hassas olup metal gibi kontaminantların varlığında analiz sonuçları olumsuz yönde etkilenmekte, yüksek değişkenliklere ve tutarsızlıklara rastlanmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3. Antioksidan Aktivite Ölçüm Yöntemleri

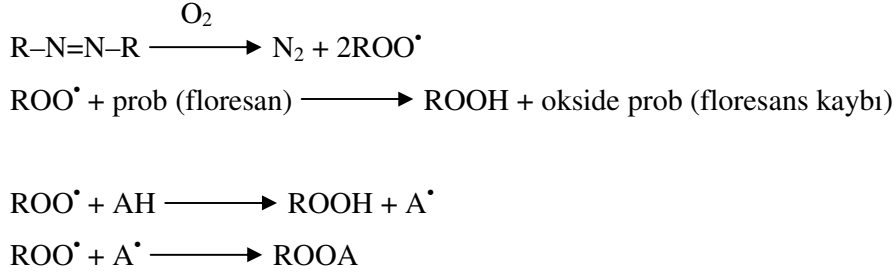
Antioksidan kapasitesinin ölçümünde yöntem seçerken, radikal kaynağı ve sistem karakteristikleri ile antioksidan reaksiyon mekanizmasının iyi bilinmesi gerekmektedir (Prior ve diğ., 2005). Nitekim, antioksidan aktivite değeri analiz yöntemine, gıdanın yapısına ve bileşimine, ortam koşullarına (sıcaklık, ışık, yüzey genişliği, metal elementleri vb) göre farklılık göstermektedir (Çalikoğlu ve Bayrak, 2005). Antioksidan aktivite ölçüm yöntemleri, genel olarak, “hidrojen atomu transfer reaksiyonuna dayalı yöntemler” ve “tek elektron transferi reaksiyonuna dayanan yöntemler” olmak üzere 2 grup altında sınıflandırılmaktadır. Ayrıca, tek bir sistem içinde her iki reaksiyon mekanizmasının da rol oynadığı yöntemler de bulunmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3.1. Hidrojen atomu transfer reaksiyonuna dayalı yöntemler

2.3.1.1. ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

Bu yöntem antioksidanların, peroksil radikallerinin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarını inhibe edebilme gücünü ölçmektedir. Analiz sırasında peroksil radikali floresan özellik gösteren bir bileşik ile etkileşime girerek, floresan özellik göstermeyen yeni bir ürün oluşturmaktadır. Oluşan ürün miktarı, floresans ölçümü ile kolaylıkla belirlenebilmektedir. Antioksidan aktivite, bu ürün miktarı değerinden ve antioksidanların etkisiyle reaksiyon hızında oluşan azalmadan yararlanılarak hesaplanmaktadır. Bu amaçla, antioksidan bileşik içeren örnek ve antioksidan madde içermeyen şahit numune için, geçen süreye karşılık floresans yoğunluğu bir grafiğe aktarılarak her iki örneğe ilişkin eğriler elde edilir. Elde edilen bu azalma eğrilerinin arasında kalan net alan antioksidan aktiviteyi belirlemektedir (Prior ve diğ., 2005). Floresanstaki azalma, zaman ile doğrusal olmayıp floresans azalma eğrisinin şekli, antioksidan çeşidine ve konsantrasyonuna göre değişmektedir (Çalikoğlu ve Bayrak,

2005). ORAC değerleri genellikle troloks eşdeğeri cinsinden ifade edilmektedir (Prior ve diğ., 2005).



Önceki çalışmalarda, floresan özellik gösteren bileşik olarak kırmızı fotoreseptör pigment içeren β -fikoeritrin proteini kullanılmıştır. (Çalıköğlü ve Bayrak, 2005; Prior ve diğ., 2005). Ancak, bu bileşiğin peroksil radikallerine karşı reaktivitesinde değişkenlik göstermesi nedeniyle (Sanchez-Moreno, 2002), günümüzde floresan bileşik olarak çok daha stabil olan floresein ve diklorofloresein kullanılmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

ORAC yöntemi yalnızca peroksil radikallerine karşı olan hidrofilik zincir kırma reaksiyonlarından yararlanarak antioksidan kapasitesini ölçmektedir. Diğer yandan, solvent değişikliği yapılarak hidrofilik antioksidanların yanısıra lipit oksidasyonlarında etkili olan lipofilik antioksidanların da kapasitesi ölçülebilmektedir (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005). Ancak, ORAC yönteminin ısıya olan duyarlılığı bir dezavantaj oluşturmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3.1.2. TRAP (Total radical trapping parameter)

TRAP yönteminin, plazma ve serumdaki toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesi amacıyla geliştirildiği bildirilmektedir (Çalıköğlü ve Bayrak, 2005). Bu yöntemde, AAPH veya ABAP [2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorit] kaynaklı peroksil radikalleri ile hedef bileşik arasındaki reaksiyonun antioksidanlar tarafından engellenebilirliği izlenmektedir. Analiz sırasında kullanılan hedef bileşiğin, çok düşük konsantrasyonlarda bile peroksil radikale karşı son derece reaktif olması ve reaksiyon öncesindeki hedef bileşik ile okside olmuş hedef bileşik arasındaki spektroskopik değişimin yüksek olması gerekmektedir. Hedef bileşiğin

oksidasyonu optik olarak veya floresans ölçümü ile takip edilmektedir. TRAP değerleri indüksiyon periyodu (lag fazı) veya reaksiyon süresi olarak ifade edilirken, örnekler için elde edilen değerler referans antioksidan olarak kullanılan troloks ile kıyaslanmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

TRAP değerlerinin ifade edilmesinde lag fazının kullanımı, bütün antioksidan bileşiklerin lag fazı gösterdiği ve bu sürecin antioksidan kapasiteyle ilişkili olduğu varsayımına dayanılarak yapılmaktadır. Ancak tüm antioksidanlar belli bir lag fazına sahip olmadığından yapılan bu değerlendirme hatalı sonuçlara, özellikle de olması gerektiğinden daha düşük antioksidan kapasite değerlerinin belirlenmesine neden olmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3.1.3. TOSC (Total oxidant scavenge capacity)

TOSC yöntemi ile antioksidanların hidroksil, peroksil ve peroksinitrit radikallerine karşı sahip olduğu absorbans kapasiteleri ölçülmektedir. Winston ve diğ. (1998) tarafından geliştirilen bu yöntemde, α -keto- γ -metolbütirik asit (KMBA) oksitlenerek etilene dönüşmektedir. Oluşan etilen miktarı gaz kromatografisinde uygulanan headspace analizleri ile saptanmaktadır. Ortamda bulunan antioksidanın etilen oluşumunu inhibe edebilirliği, bir kontrol reaksiyonla kıyaslanarak ölçülmek suretiyle antioksidan kapasite belirlenmektedir (Prior ve diğ., 2005).

Etilen oluşumunu ölçmek için gaz kromatografisine tek bir örnekten defalarca enjeksiyon yapmak gerekmektedir. Bu nedenle, analiz süresi uzun ve verim oldukça düşüktür. Ancak antioksidanların, en güçlü üç oksidana karşı gösterdikleri spesifik etkinin ölçülebilir olması bu yöntemde değer katmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3.1.4. CL (Chemiluminescence)

CL yöntemi radikal oksidanların, kemiluminesans (kimyasal bileşim oksidasyonu ile meydana gelen ışık) yayan uyarılmış haldeki türleri üretmek için belirleyici bileşiklerle reaksiyona girmesine dayanmaktadır. Luminol, oksidanları yakalayıp zayıf emisyonu (yayınım) kuvvetli, uzun süreli ve stabil ışık emisyonu haline dönüştüren belirleyici bileşiklerin başında gelmektedir. Işık çıkışının

sürekliği *p*-iyodofenol, luminol ve oksijenden türeyen ara ürün olan serbest radikallerin devamlılığına bağlıdır. Radikal süpürücü antioksidanlara karşı çok duyarlı olan bu serbest radikaller, reaksiyon sırasında ortamda bulunan antioksidanların tamamının tükenmesiyle beraber yeniden oluşabilmektedirler. Antioksidan kapasite ölçümü, antioksidanların etkisiyle sürekliliğini yitiren ışık emisyonunun zayıf kaldığı süre temel alınarak yapılmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

2.3.1.5. PCL (Photochemiluminescence)

PCL yöntemi ile antioksidanların, en tehlikeli reaktif oksijen türlerinden olan süperoksit anyonuna ($O_2^{\bullet-}$) karşı gösterdiği süpürücü etki ölçülmektedir. Uygulamada, serbest radikalın (süperoksit anyonu) fotokimyasal yolla oluşturulmasını kemiluminesans yöntemi takip etmektedir (Vertuani ve diğ., 2004). Süperoksit anyonu, bir fotosensibilizatör görevi yapan luminolün (S) optik uyarısı ($h\nu$) ile aktif hale getirilerek oluşturulmaktadır (Prior ve diğ., 2005).



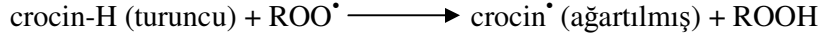
Antioksidan aktivite ölçümünde kullanılan yöntemlerin birçoğu uzun süre gerektirmekte ve antioksidan aktivite değerini mikromolar seviyede belirlemektedir. PCL yöntemi ise çok daha hassas olup nanomolar seviyesinde ölçüm yapmakta ve yalnızca birkaç dakika içinde sonuç vermektedir (Vertuani ve diğ., 2004). PCL yönteminde standart antioksidan olarak askorbik asit ve trolox kullanılmaktadır (Prior ve diğ., 2005).

Popov ve Lewin (1999)'e göre PCL yöntemi, hem suda çözünür (flavonoidler, askorbik asit vb.) hem de yağda çözünür antioksidanların (tokoferol, karotenoidler vb.) ölçülmesinde kullanılabilir (Vertuani ve diğ., 2004).

2.3.1.6. Kroton / β -karoten ağartılması

Karotenoidler, ısı veya ışığın neden olduğu otooksidasyon ya da peroksil radikallerinin neden olduğu oksidasyon reaksiyonları sonucunda sarı-kırmızı

renklerini kaybederek ağarmaktadırlar. Renkteki bu ağarma, antioksidanların peroksil radikallerine hidrojen atomu vermesi ile önlenmektedir. Renk kaybının optik olarak gözlenmesi sonucunda antioksidan aktivite düzeyi hesaplanmaktadır (Prior ve diğ., 2005).



2.3.1.7. LDL (low-density lipoprotein) oksidasyonu

Bu yöntem LDL' nin, Cu(II) ve AAPH [2,2'-Azobis (2-amidinopropan) hidroklorid] etkisiyle uğradığı otooksidasyon reaksiyonuna dayanmaktadır (Huang ve diğ., 2005). Bu otooksidasyon sonucunda, birincil oksidasyon ürünleri olarak konjuge dienler ve lipid hidroperoksitleri oluşmaktadır (Decker ve diğ., 2005). Ortama antioksidan eklendiğinde reaksiyon hızı yavaşlamakta ve dolayısıyla oksidasyon ürünlerinin oluşumu azalmaktadır (Huang ve diğ., 2005). Oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan konjuge dienler ve hidroperoksitlerden kaynaklanan peroksit değeri 234 nm (konjuge dien peroksitlerinin maksimum absorbanans gösterdiği dalga boyu)' de spektrofotometrik olarak takip edilerek antioksidan aktivite düzeyi belirlenmektedir (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005).

2.3.2. Tek elektron transfer reaksiyonuna dayalı yöntemler

2.3.2.1. FRAP (Ferric reducing antioxidant power) yöntemi

Yöntem, Fe(TPTZ)³⁺ (ferik tripridiltriazin) kompleksinin antioksidanlar tarafından mavi renkli Fe(TPTZ)²⁺'ye indirgemesine dayanmaktadır. Antioksidan kapasite düzeyi, spektrofotometrik olarak 593 nm dalga boyunda ölçülen absorbanans değeri yardımıyla hesaplanmaktadır (Antolovich ve diğ., 2002).

pH değeri, antioksidanların indirgeme kapasitesi üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Örneğin, asidik ortamda, antioksidan bileşiklerin üzerine proton yüklenmesi olacağından indirgeme kapasiteleri azalabilmektedir (Huang ve diğ., 2005).

FRAP metodu, antioksidan aktivite belirlemede uygulanan diğer yöntemlere kıyasla basit, hızlı ve ucuzdur. Ayrıca sağlıklı sonuç veren ve özel bir ekipman gerektirmeyen bir yöntemdir (Prior ve diğ., 2005).

2.3.2.2. Bakır indirgeme yöntemi

Metot, Cu(II)'nin ortamda bulunan antioksidanların etkisiyle Cu(I)'e indirgenmesine dayanmaktadır. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi, indirgeme reaksiyonu sonucunda meydana gelen Cu(I)'in birlikte kompleks oluşturduğu kromojen bileşiklerin yardımıyla yapılmaktadır (Huang ve diğ., 2005).

Yöntemin uygulanmasında, batokuproin (2,9- dimetil- 4,7- difenil- 1,10- fenantirolin) ve neokuproin (2,9- dimetil- 1,10- fenantirolin) olmak üzere iki farklı kromojen bileşik kullanılmaktadır. Bunlardan ilki 490 nm, ikincisi ise 450 nm dalgaboyunda maksimum absorbans vermektedir (Prior ve diğ., 2005).

2.3.3. Hidrojen atomu transferi ve tek elektron transferi reaksiyonlarına dayalı yöntemler

2.3.3.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi

Bu yöntem, ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))'nin oksidasyonu ile üretilen ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine, antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu radikalın indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Mavi / yeşil renkli ABTS^{•+} radikali, 600-750 nm dalgaboyunda kuvvetli bir absorpsiyon vermekte ve spektrofotometrede kolaylıkla belirlenebilmektedir (Re ve diğ., 1999). ABTS^{•+} radikali, antioksidan bir bileşikle reaksiyona girdiğinde radikal, ABTS' nin renksiz formuna dönüşmektedir. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS^{•+} miktarı ise, spektrofotometrede okunan absorbans değerindeki azalıştan yararlanılarak troloks eşdeğeri olarak hesaplanmakta ve sonuç "TEAC değeri" (Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) olarak ifade edilmektedir (Antolovich ve diğ., 2002; Prior ve diğ., 2005).

ABTS^{•+} radikali hem suda, hem organik çözücülerde çözünebilmekte ve iyonik kuvvetlerden etkilenmemektedir. Dolayısıyla, TEAC yöntemi çoklu ortamlarda uygulanabilmekte, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların tayininde kullanılabilir (Sanchez-Moreno, 2002). Uygulanma kolaylığı nedeniyle antioksidan kapasite tayinlerinde rutin olarak kullanılabilen bir analizdir (Roginsky ve Lissi, 2005).

2.3.3.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi

Bu yöntem, pembe-mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH[•] (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Brand-Williams ve diğ., 1995). DPPH yöntemi ile yapılan analiz sonrasında elde edilen antioksidan aktivite sonuçları “EC₅₀ değeri” ile değerlendirilmektedir. EC₅₀ değeri, “ortamda bulunan DPPH radikalinin %50’sini inhibe eden antioksidan madde konsantrasyonu” olarak ifade edilmektedir (Antolovich ve diğ., 2002).

ABTS ve DPPH radikalleri ile yapılan antioksidan tayin yöntemleri esas olarak elektron transfer mekanizmasına dayanmaktadır. Ancak Prior ve diğ. (2005)’e göre bu iki radikal hem elektron hem de hidrojen atomu transfer mekanizması yoluyla indirgenebilmektedir.

DPPH, kolay, hızlı ve UV-vis spektrofotometre dışında herhangi bir ekipman gerektirmeyen bir yöntemdir (Prior ve diğ., 2005).

2.3.3.3. Folin-Ciocalteu ayraç ile toplam fenolik tayin yöntemi

Bu yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayraçını indirgeyip, kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Bu reaksiyon sonucunda oluşan ve toplam fenolik bileşik miktarıyla doğru orantılı olan mavi rengin yoğunluğu, spektrofotometrik yöntemle ölçülerek galik asit standart eğrisi yardımıyla toplam fenolik madde içeriği hesaplanmaktadır.

Folin-Ciocalteu yöntemi oldukça kolay uygulanabilen ve sağlıklı sonuç veren bir yöntem olmasına karşın, asidik ortamda çok yavaş ilerleyen ve özgülükten yoksun olan bir yöntemdir (Prior ve diğ., 2005).

2.4. Gıdalarda Bulunan Antioksidan Maddeler ve İnsan Sağlığına Etkileri

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri vücuttaki hücre yapılarına büyük zararlar vererek kanser, diyabet, kronik hastalıklar gibi birçok rahatsızlıklara neden olmaktadır. Vücuttaki antioksidan savunma mekanizmaları bu tahribatı engellemek için, reaktif oksijen moleküllerini veya metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarında metali bağlayarak serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurmaktadırlar (Veliöğlü, 2000).

Vücutta antioksidan savunma esas olarak, superoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz olmak üzere antioksidan özellikteki başlıca üç enzimle sağlanmaktadır. Ayrıca selenyum, hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında rol oynayan glutatyon peroksidazın önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Enzimatik savunmaların yeterli olmadığı ve lipid peroksidasyonunun başladığı durumlarda, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları, yağ asitleri yerine kendileri yükseltgenerek reaksiyonların devam etmesini önlemeye çalışmaktadırlar. Söz konusu düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları, tokoferoller, karotenler ve askorbik asittir (Veliöğlü, 2000). Ancak bazı durumlarda, vücuttaki oksidan miktarı çok fazla artmakta ve oksidan-antioksidan dengesinin bozulması sonucunda oksidatif stres meydana gelmektedir. Bu durumda antioksidan savunma mekanizmaları görevini iyi yapamamakta ve vücuda antioksidan takviyesi gerekmektedir.

Yapılan araştırmalar bitkisel gıda kaynaklarının yoğun miktarda antioksidan bileşik içerdiğini göstermektedir. Günümüzde, özellikle bitkisel materyallerden doğal antioksidan maddelerin elde edilmesi ve bunların gıda endüstrisinde kullanılması amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır (Yanishlieva ve diğ., 2006). Bitkisel kaynaklarda bulunan başlıca doğal antioksidanlar enzim sistemleri, vitaminler, fenolik bileşikler ve azotlu bileşiklerdir (Larson, 1988). Fenolik bileşikler, bitkisel materyallerde yüksek oranda bulunan aktif doğal antioksidanlardır. Fenolik bileşikler

yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre sınıflandırılmakta ve antioksidan etkinlikleri de bu yapılara göre farklılık göstermektedir (Balasundram ve diğ., 2006). Bu bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallere şelat oluşturmaları ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Pietta et al., 1998; Frankel, 1999). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşiklerin, bunların toplam antioksidatif aktivitelerine katkıda bulunan temel bileşikler olduğunu göstermiştir (Balasundram ve diğ., 2006). Nitekim çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin toplam fenolik madde içeriğiyle antioksidan kapasiteleri arasında yüksek bir korelasyon olduğu belirlenmiştir (Zheng ve Wang, 2001; Silva ve diğ., 2007; Tawaha ve diğ., 2007).

Polifenoller, serbest radikalleri etkisiz hale getirme ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme gibi antioksidan özelliklerinden dolayı farmakolojik etkileri açısından çok önemli bileşiklerdir. Bu fitokimyasal bileşiklerin bir çoğunun önemli derecede antioksidan kapasiteye sahip oluşu, insanlarda bazı hastalıkların oluşumunda ve ölüm oranlarında azalma sağlamaktadır (Djeridane ve diğ., 2006).

Fenolik bileşiklerden özellikle flavonoidler, antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, hastalıklara karşı koruyucu etki ve çeşitli tümörlerin gelişimine neden olan faktörlerin inhibisyonu gibi farklı biyolojik aktivitelere sahiptirler (Podsedeck, 2007). Bitki flavonoidleri alımının kalp hastalığı riskine karşı koruyucu etkili olduğu görülmektedir. Bazı flavonoidlerin aktif oksijenleri yok ettiği ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, bitki flavonoidlerinin birçoğunun, antikarsinojenik, antialerjik ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Balasundram ve diğ., 2006). Buna ilaveten, bazı bitki flavonoidleri sindirim sisteminde karsinojen maddelerle etkileşerek adsorpsiyonlarını azaltabilmektedirler (Skerget ve diğ., 2005). Ayrıca, gözde görülen katarakt rahatsızlığının da serbest radikallerden kaynaklandığı düşünülmektedir. UV ışınlarının oluşmasına neden olduğu serbest radikaller katarakt oluşumunu indüklemektedir. Yüksek düzeyde C vitamini alımı ile göz merceği

korunabilmektedir. Bunun yanısıra göz merceği lipidlerindeki fotoperoksidasyonun da E vitamini tarafından engellendiği saptanmıştır (Velioğlu, 2000).

Özellikle meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan C vitamini suda eriyen ve direkt olarak süperoksit, hidroksil radikal ve singlet oksijenle reaksiyona giren bir vitamindir. Ayrıca, antioksidan aktivitesi sırasında okside olan E vitaminini tekrar redükte ederek etkinlik kazandırmaktadır. E vitamini, tüm hücre membranlarındaki yağda eriyen temel antioksidandır ve direkt olarak oksiradikaller, singlet oksijen, lipid peroksidaz ürünleri ve süperoksit radikallerinden zararsız tokoferol radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonunu önlemektedir (Velioğlu, 2000). Tokoferoller antioksidan etkinliklerini düşük konsantrasyonda kullanıldığında göstermektedir. Yüksek konsantrasyonda kullanıldığında ise prooksidan etki göstermektedir (Koca ve Karadeniz, 2005).

β karoten, A vitamininin öncüsü temel karotenoiddir ve esas görevi singlet oksijenin temizlenmesidir (Velioğlu, 2000). β karoten alımı ile bazı kanser türlerinin görülme sıklığında azalma meydana geldiği bildirilmektedir. Bu kanser önleyici etkisi dekarotenoidlerin antioksidan aktivitesi ile açıklanmaktadır. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi yapısındaki çift bağ sayısı ile artmaktadır. Antioksidan özelliği en güçlü olan karotenoid, likopendir (Koca ve Karadeniz, 2005). A vitamininin ise herhangi bir antioksidan görevi bulunmadığı bildirilmektedir (Velioğlu, 2000).

2.5. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Kapasiteleri

Tıbbi ve aromatik bitkiler, tarih öncesi çağlardan beri antiseptik ve diğer tedavi edici özelliklerinin yanında, gıdalara tat ve aroma vermek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Tıbbi bitkiler, ilaç endüstrisinde kullanımının yanısıra özellikle gıda, baharat, içki ve meşrubat sanayiinde de kullanılmaktadır. Bu bitkiler, çok sayıda antioksidan bileşik içermektedirler. Bunlar arasında özellikle biberiye, adaçayı, kekik ve zencefilin güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Kikuzaki ve Nakatani, 1993; Cuvelier ve diğ., 1994; Frankel, 1999; Shahidi, 2000; Dang ve diğ., 2001).

Son yıllarda dünyanın farklı bölgelerinde yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan kapasiteleri üzerine yapılan birçok araştırma bulunmaktadır. Proestos ve diğ., (2005) Yunanistan'da yetişen bazı aromatik bitkilerin, Rosas-Romero ve Saavedra (2005) Bolivya'da yetişen bitkilerin, Djeridane ve diğ. (2006) Cezayir'e özgü bitkilerin, Ferreira ve diğ. (2007) Portekiz'de yetişen bazı tıbbi bitkilerin, Maisuthisakul ve diğ. (2007) Tayland'da yetişen bitkilerin, Tachakittirungrod ve diğ. (2007) bazı Tayland bitkilerinin, Silva ve diğ. (2007) Amazon bölgesindeki tıbbi bitkilerin, Tawaha ve diğ. (2007) Ürdün bitkilerinin, Wojdylo ve diğ. (2007) Polonya baharatlarının, Chen ve diğ. (2005), Çin'de kullanılan medikal özellikteki 5 bitki ekstraktının, Argolo ve diğ. (2004) Brezilya'da diyabet tedavisinde kullanılan *Bauhinia manandra* yapraklarının, Li ve diğ. (2007) Çin'deki tıbbi bitkilerin, Jang ve diğ. (2007) yine Çin'de yetişen üç farklı tıbbi bitki türünün, Al-Fatimi ve diğ. (2007) ise, Yemen'e özgü bazı tıbbi bitkilerin antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Ivanova ve diğ. (2005) Bulgaristan'da yetişen ve fitoterapide kullanılan 21 bitki ekstraktının antioksidan aktivitelerini ve toplam fenol içeriklerini belirlemişlerdir. Ayrıca, Chanwitheesuk ve diğ. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada Thailand'da yetişen ve gıda ya da şifalı ot olarak kullanılan 43 farklı bitkisel materyalin, Poullain ve diğ. (2004) ise Reunion Adası'nda yetişen ve büyük bir kısmı farmakolojide kullanılan 35 familyaya ait toplam 75 tür bitkinin antioksidan etkilerini saptamışlardır. Yine son zamanlarda yapılan bir çalışmada alıç, defne yaprağı, güveyotu, zeytin ağacı yaprağı gibi Akdeniz bölgesine özgü bazı bitkilerin antioksidan aktiviteleri ve fenol içerikleri belirlenmiştir (Skerget ve diğ., 2005). Aynı zamanda, literatürde ülkemizin değişik bölgelerinde yetişen bazı Lamiaceae türü bitkilerin antioksidan aktivitelerini ortaya koyan çalışmalar da bulunmaktadır (Dorman ve diğ., 2004; Erdemoğlu ve diğ., 2006). Bu araştırmaların birçoğu, incelenen bitkilerin çoğunun çok güçlü antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, incelenen bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, ORAC (oksijen radikal absorban kapasitesi) (Zheng ve Wang, 2001; Silva ve diğ., 2007), FRAP (ferrik iyon indirgeme antioksidan parametresi) (Katalinic ve diğ., 2006; Wojdylo ve diğ., 2007; Li ve diğ., 2007), β -karoten linoleik asit yöntemi

(Rosas-Romero ve Saavedra, 2005; Reddy ve diğ., 2005; Ferreira ve diğ., 2007), ransimat testi (Proestos ve diğ., 2005), DPPH (Dorman ve diğ., 2004; Capecka ve diğ., 2005; Vagi ve diğ., 2005; Hinneburg ve diğ., 2006; Katalinic ve diğ., 2006; Ferreira ve diğ., 2007; Maisuthisakul ve diğ., 2007) ve TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi) (Cai ve diğ., 2004; Ivanova ve diğ., 2005; Shan ve diğ., 2005; Katalinic ve diğ., 2006; Djeridane ve diğ., 2006; Tawaha ve diğ., 2007; Silva ve diğ., 2007; Wojdylo ve diğ., 2007; Li ve diğ., 2007) gibi çeşitli yöntemlerle ortaya konmuştur. Bu yöntemler arasında, TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi) yöntemi, her araştırma laboratuvarında rutin antioksidan kapasite tayinlerinin gerçekleştirilmesine imkan veren nispeten kolay bir yöntem olması nedeniyle özellikle son zamanlarda yaygın olarak uygulanmaktadır (Roginsky ve Lissi, 2005). Bunun yanında, 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikali de, doğal antioksidanların serbest radikal indirgeme kapasitesini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Brand-Williams ve diğ., 1995). Her iki yöntem de belirli analiz koşullarında mükemmel tekrarlanabilirlik özelliği taşımakta ve kolaylıkla uygulanabilmektedir (Wojdylo ve diğ., 2007). Diğer yandan, antioksidan kapasite çok sayıda faktörden etkilendiğinden tek bir yöntemle tam olarak açıklanamamaktadır. Bu nedenle, çeşitli antioksidan mekanizmalarını dikkate almak için birden fazla antioksidan yöntemine başvurulmalıdır (Li ve diğ., 2007).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal malzemeler

Toplam fenol tayininde kullanılan Folin–Ciocalteu ayracı, antioksidan aktivite tayininde kullanılan ABTS (2,2'- azinobis (3- etilbenzo- tiyazolin- 6- sülfonik asit) ile DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) radikalleri ve askorbik asit tayininde standart olarak kullanılan askorbik asit Sigma (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) firmasından, Trolox (6- hidroksi- 2,5,7,8- tetrametil- kroman- 2- karboksilik asit), BHA (2,3- tersiyer- bütül- 4- metoksifenol) ve potasyum persülfat ise Aldrich (Aldrich Co., Gillingham, Dorset, UK) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Bitki materyali

Çalışma kapsamında incelenen bitkilerin yerel ve botanik isimleri ile toplandıkları bölgeler, toplanma zamanları ve bitkilerin evreleri Tablo 1' de verilmiştir. Herbaryum çalışması yapılmadığından, toplanılan bitkilerin bilimsel tanımlamaları üniversitemiz bünyesinde bulunan biyoloji bölümündeki öğretim üyelerinden yardım alınarak yapılmıştır.

Tablo 1. İncelenen bitkilerin yerel ve botanik isimleri ile toplandıkları bölge, bitkinin evresi ve toplanma zamanları

Yerel İsim	Botanik İsim	Familya	Toplandığı Bölge	Bitkinin Evresi	Toplandığı Tarih
Dağçayı	<i>Sideritis trojana</i>	Lamiaceae	Kazdağı	Çiçek açma	Ağustos 2006
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	Dardanos	Çiçek açma	Ağustos 2006
Kekik (1)*	<i>Thymbra spicata</i>	Lamiaceae	Dardanos	Çiçek açma	Ağustos 2006
Çanak kale Kekikği	<i>Origanum vulgare subsp. hirtum</i>	Lamiaceae	Kazdağı	Çiçeklenme öncesi	Haziran 2006
Kara Kekik (1)	<i>Thymbra spicata</i>	Lamiaceae	Gelibolu/Güney Yamaç	Çiçek açma	Haziran 2006
Kara Kekik (2)	<i>Thymbra spicata</i>	Lamiaceae	Gelibolu/ Büyük Anafarta Köyü çıkışı	Çiçeklenme öncesi	Haziran 2006
Biberiye (1)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiatae	Dardanos	Çiçek açma	Ağustos 2006
Biberiye (2)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiatae	İntepe	Çiçek açma	Ağustos 2006
Melisa (1)	<i>Melissa officinalis</i>	Labiatae	Dardanos	Çiçeklenme öncesi	Mayıs 2006
Melisa (2)	<i>Melissa officinalis</i>	Labiatae	Kazdağı/ Hasanboğuldu mevki	Çiçek açma	Haziran 2006
Sarı Kantaron	<i>Hypericum perforatum L.</i>	Clusiaceae	Kazdağı	Çiçek açma	Haziran 2006
Karabaşotu	<i>Lavandula stoechas subsp. stoechas</i>	Lamiaceae	Kazdağı	Çiçek açma	Mayıs 2006
Isırganotu (1)	<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Kazdağı	Çiçek açma	Haziran 2006
Yabani Nane	<i>Mentha longifolia</i>	Lamiaceae	Kazdağı	Çiçeklenme öncesi	Haziran 2006
Nane	<i>Mentha sp.</i>	Lamiaceae	Dardanos	Vejetatif dönem	Ağustos 2006
Reyhan	<i>Ocimum basilicum L.</i>	Labiatae	Dardanos	Vejetatif dönem	Ağustos 2006
Hatmi çiçeği (1)	<i>Alcea pallida</i>	Malvaceae	Kazdağı	Çiçek açma	Haziran 2006
Hatmi çiçeği (2)	<i>Alcea pallida</i>	Malvaceae	Gelibolu	Çiçek açma	Haziran 2006
Şerbetçiotu	<i>Humulus lupulus</i>	Cannabinaceae	Dardanos	Vejetatif dönem	Ağustos 2006
Rezene	<i>Umbelliferae foeniculum</i>	Apiaceae	Dardanos	Tohum bağlama	Ağustos 2006
Defne	<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	Kazdağı/ Hasanboğuldu mevki	Çiçeklenme öncesi	Haziran 2006
Sandal	<i>Arbutus andrachne</i>	Ericaceae	Kazdağı	Vejetatif dönem	Haziran 2006
Karaçalı	<i>Paliurus spina-christii</i>	Rhamnaceae	Gelibolu	Meyve Oluşumu	Haziran 2006
Hayıt	<i>Vitex agnus-castus</i>	Verbenaceae	Gelibolu	Çiçek açma	Haziran 2006
Ardıç	<i>Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus</i>	Cupressaceae	Gelibolu	Tohum bağlama	Haziran 2006
Yabani Zeytin	<i>Olea europaea</i>	Oleaceae	Gelibolu	Çiçek açma	Haziran 2006

Yerel İsim	Botanik İsim	Familya	Toplandığı Bölge	Bitkinin Evresi	Toplandığı Tarih
Sumak	<i>Rhus coriaceae</i>	Anacardiaceae	Kazdağı	Tohum bağlama	Temmuz 2006
Kişniş	<i>Coriandrum sativum</i>	Umbelliferae	Dardanos	Tohum bağlama	Ağustos 2006
Çemen	<i>Trigonella feonum-graecum L</i>	Leguminosae	Dardanos	Tohum bağlama	Ağustos 2006
Çörekotu	<i>Nigella sativa L.</i>	Ranunculaceae	Dardanos	Tohum bağlama	Ağustos 2006
Keten Tohumu	<i>Linum usitatissimum</i>	Finaceae	Dardanos	Tohum bağlama	Ağustos 2006
Ebegümeçi	<i>Malva sylvestris</i>	Malvaceae	Dardanos	Çiçeklenme öncesi	Eylül 2006
Tatula Şeytan Elması	<i>Datura stramonium</i>	Solanaceae	Dardanos	Çiçeklenme sonrası	Eylül 2006
Yabani Şerbetçiotu	<i>Humulus lupulus</i>	Cannabinaceae	Biga	Meyve verme	Kasım 2006
Şevketibostan	<i>Cnicus benedictus</i>	Asteraceae	Kepez	Vejetatif dönem (rozet)	Kasım 2006

* Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir.

Çalışma kapsamında ayrıca, kurutulmuş ve ambalajlanmış halde pazarda satılan bazı bitkilerin antioksidan aktiviteleri de incelenmiştir. Kurutulmuş halde satın alınan bu bitkilerin, 2006 yılının Temmuz-Ağustos ayları arasında toplandıkları belirtilmiştir. Pazardan temin edilen bitkiler Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkiler

Yerel İsim	Botanik İsim	Familya	Toplandığı Bölge	Alındığı Tarih
Kekik (2)*	<i>Thymbra spicata</i>	Lamiaceae	Lapseki	Ağustos 2006
Solucanotu	<i>Tanacetum vulgare</i>	Asteraceae	Lapseki	Ağustos 2006
Civanperçemi	<i>Achillea sp.</i>	Asteraceae	Çavuşköy	Ağustos 2006
Kırkboğum	<i>Equisetum telmateia</i>	Equisetaceae	Lapseki	Ağustos 2006
Kısa Mahmut	<i>Teucrium polium</i>	Labiatae	Lapseki	Ağustos 2006
Kırmızı Kantaron	<i>Centaurium pulchellum</i>	Gentianaceae	Lapseki	Ağustos 2006
Isırganotu (2)	<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Çavuşköy	Ağustos 2006

* Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1).

Tablo 1 ve 2’de görüldüğü gibi toplam olarak 42 adet bitki örneği ile çalışılmıştır. Diğer yandan, incelenen bitkiler sap, yaprak ve çiçek gibi kısımlarına ayrıldıktan sonra kurutulup tek tek bu kısımların aktiviteleri belirlendiği için, toplam örnek sayısı 70’e yükselmiştir.

3.1.3. Bitki örneklerinin hazırlanması

Laboratuara getirilen bitki örnekleri, incelenecek bitki kısımlarına (sap, yaprak, çiçek, tohum) göre ayrıldıktan sonra direkt güneş ışığına maruz kalmaksızın oda sıcaklığında kurutulmuştur.

Kurutulan örnekler değirmende öğütüldükten sonra 1,18 mm delik çaplı elekten geçirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan örnekler cam kavanozlara alınarak ekstraksiyon işlemine kadar soğutmalı inkübatör (Sanyo MIR 153, Gunma, Japonya) içerisinde $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ’ de, karanlıkta muhafaza edilmiştir.

3.1.4. Ekstraktların hazırlanması

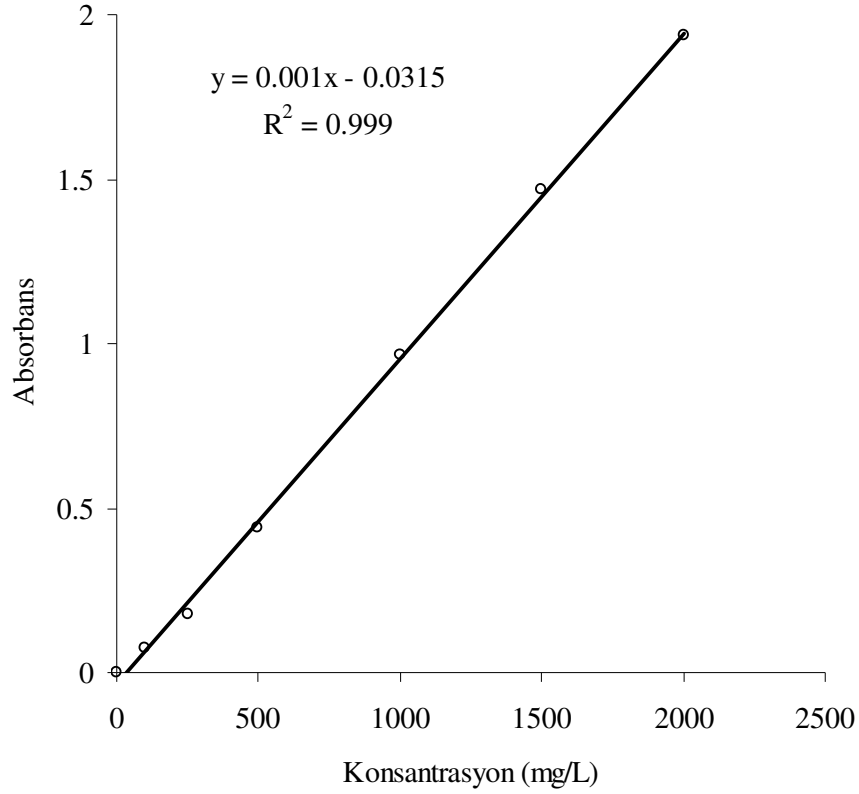
Öğütülen kurutulmuş örneklerdeki antioksidan maddeler %80' lik metanol ile ekstrakte edilerek, bu ekstraktlardaki antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Buna göre, santrifüj tüpüne 0,5 g örnek tartılarak üzerine 9,5 mL %80' lik metanol eklenmiş ve orbital çalkalayıcıda (Heidolph Unimax 2010, Schwabach, Almanya) 1 saat süreyle oda sıcaklığında ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bunu izleyerek tüp içeriği 7000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj (Sigma 3K 15, Postfach, Almanya) edilmiştir. Bu işlemden sonra tüpün üstündeki sıvı kısım alınarak, tüpteki kalıntı üzerine yeniden bir miktar solvent (%80'lik metanol) eklenmiş ve ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanmış ve ekstraktlar 50 mL'lik bir ölçü balonunda toplanıp, balon hacmine tamamlandıktan sonra filtre edilmiştir ($S_f = 100$). Bu şekilde hazırlanan ekstraktlar, antioksidan aktivite analizlerine kadar renkli cam şişelerde $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de muhafaza edilmiştir.

Askorbik asit tayini için %6'lık HPO_3 (metafosforik asit) çözeltisi ile ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bu amaçla, 50 mL'lik santrifüj tüpüne 1'er gram alınan öğütülmüş kuru bitki örnekleri üzerine 20 mL metafosforik asit eklenerek, 10 dakika süreyle orbital çalkalayıcıda (oda sıcaklığında) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında tüp içeriği 5 dakika süreyle 300 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından tüpün üzerindeki sıvı kısım 50 mL'lik balona kaba filtre kağıdından süzülerek alınmıştır. Tüpün dibinde kalan kalıntı üzerine tekrar 20 mL HPO_3 çözeltisi eklenerek ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında tüpteki sıvı kısım aynı balon içerisine süzülerek aktarılmış ve kalıntı üzerine 10 mL solvent (%6'lık HPO_3) daha eklenerek ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır. Ekstraktın toplandığı 50 mL'lik ölçü balonu %6'lık HPO_3 çözeltisi ile çizgisine tamamlanmıştır ($S_f = 50$). Askorbik asit tayini amacıyla hazırlanmış olan bu ekstraktlar derhal analize alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Toplam fenol tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla, test tüpüne 100 µL örnek alınarak üzerine 900 µL destile su eklendikten sonra, sırasıyla 5 mL folin-ciocalteu çözeltisi (0.2 N) ve 4 mL sodyum karbonat (%7,5) çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta yaklaşık 2 saatlik inkübasyon süresi sonunda UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu, Tokyo, Japonya) 765 nm dalga boyunda şahide karşı absorbans okumaları yapılmıştır (Spanos ve Wrolstad, 1990). Örnekte ölçülecek absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin (Şekil 1) denkleminde hesaplanmış ve örnekteki toplam fenolik bileşik miktarı "mg gallik asit / g kuru ağırlık" cinsinden ifade edilmiştir.



Şekil 3. Gallik asit standart eğrisi

3.2.2. Antioksidan aktivite tayini

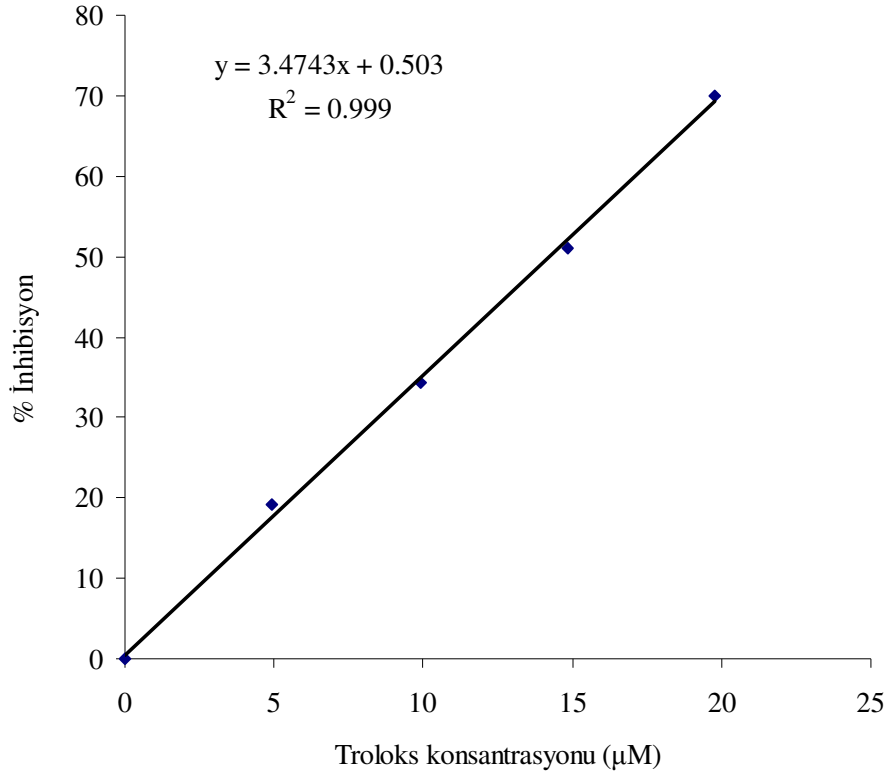
Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla, uygulanma kolaylıkları nedeniyle antioksidan kapasite tayinlerinde rutin olarak kullanılabilen (Roginsky ve Lissi, 2005) TEAC (trolox eşdeğer antioksidan kapasite) ve DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemleri kullanılmıştır. Bu iki yöntemin in vitro deneylerde kullanılan diğer antioksidan aktivite tayin yöntemlerine kıyasla daha kolay, pratik ve hızlı oluşlarının yanı sıra UV-vis spektrofotometre dışında herhangi bir ekipman gerektirmiyor olmaları (Prior ve diğ., 2005) yapılan çalışmada yöntem seçimi konusunda etkili birer faktör olmuştur. Ayrıca, TEAC yönteminde kullanılan ABTS^{•+} radikali hem suda, hem organik çözücülerde çözünebildiği ve iyonik kuvvetlerden etkilenmediği için bu yöntem çoklu ortamlarda uygulanabilmekte, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların tayininde kullanılabilir (Sanchez-Moreno, 2002).

3.2.2.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi

Re ve diğ. (1999) tarafından önerilen yönteme göre yapılan antioksidan aktivite tayininde 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 12–16 saat bekletilerek ABTS^{•+} radikal çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi 2-3 gün stabil kalmaktadır (Kırca ve Özkan, 2007). Analize başlamadan önce radikal çözeltisi, PBS (Phosphate buffer saline: tuzlu fosfat tampon) çözeltisi ile 734 nm'de 0,700 (\pm 0,02) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Bu seyreltilmiş ABTS^{•+} radikal çözeltisinden mikro küvete 1 mL alınarak spektrofotometreye yerleştirilmiş ve ABTS^{•+} çözeltisinin başlangıç absorbans değeri kaydedilmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltisi üzerine 10 μ L örnek ekstraktı eklenerek hafifçe karıştırıldıktan sonra kronometre çalıştırılmış ve toplam 6 dakika boyunca 1'er dakika arayla absorbans değerleri okunarak kaydedilmiştir. 6 dakika tamamlandığında işleme son verilerek bu süre zarfında 10 μ L'lik örnek hacmine karşı gittikçe düşerek oluşan absorbans değerleri belirlenmiştir. 6 dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, ABTS^{•+} çözeltisinin başlangıç absorbans değerine göre yüzde azalma oranı hesaplanmıştır. Bu değer, 6 dakika sonundaki "inhibisyon oranı" olarak

isimlendirilmektedir. Bu işlem en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalamaları saptanmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek (5, 15, 20, 25, 30 μL gibi) aynı işlemler tekrarlanmıştır. Her örnek için 3 farklı hacimde çalışılmıştır. Bu şekilde, her örnek miktarına bağlı olan inhibisyon oranları ve bunların ortalamaları belirlenmiştir. Sonrasında örnek miktarlarına (hacimlerine) karşılık gelen örnek konsantrasyonları hesaplanmıştır. Böylece 6 dakika sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılıp lineer regresyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, standart eğrinin eğimine oranlanarak örneğin TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri hesaplanmıştır. Analiz sırasında seyreltme uygulanan örnekler için, elde edilen sonuçlar seyreltme faktörüyle çarpılarak TEAC değerleri belirlenmiştir.

Standart eğrinin hazırlanmasında son konsantrasyonları 5 μM , 10 μM , 15 μM ve 20 μM olan troloks standartları kullanılmıştır. Burada son konsantrasyondan kasıt, mikro küvet içerisinde bulunan 1 mL radikal çözeltisi içerisinde 10 μL troloks standardı eklendiğinde mikro küvet içerisinde oluşan troloks konsantrasyonudur. Bu temel koşula göre yapılan hesaplamalar sonucunda hazırlanmış troloks standart çözeltilerinin her birinden 10 μL alınarak yukarıda verilmiş uygulamalar yapılmak suretiyle 4 farklı konsantrasyona ait inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Bu verilere lineer regresyon analizi uygulanıp bir grafiğe aktarılarak standart eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Şekil 4’de troloks standart eğrisi gösterilmektedir.



Şekil 4. Troloks standart eğrisi

3.2.2.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi

Benvenuti ve diğ. (2004) tarafından önerilen yöntemle göre yapılan antioksidan aktivite tayininde çözücü olarak metanol kullanılarak 1 mM'lık DPPH[•] radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, her gün taze olarak hazırlanmış ve ölçüm yapılmadığı anlarda karanlık bir ortamda ve +4°C'de muhafaza edilmiştir. Bir tüp içerisine, hazırlanmış olan örnek ekstraktlarının her birinden artan hacimlerde (20-40-60-80-100 µL) alınarak üzerine 600 µL DPPH[•] radikal çözeltisi eklenmiştir. Bu işlemden sonra, tüp içerisindeki toplam hacim metanolla 6 mL'ye tamamlanmıştır. Tüp içerikleri karıştırılıp oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 15 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda absorban değerleri okunmuştur. Benzer şekilde, örnek ekstraktı kullanılmadan, yalnızca 600 µL DPPH[•] radikal çözeltisi ve 5,4 mL metanol kullanılarak hazırlanmış olan blank örneğinin de 15 dakika sonundaki absorban değeri kaydedilmiştir. Elde edilen absorban

verilerinden yararlanılarak her bir örnek miktarına karşılık gelen yüzde inhibisyon değerleri aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ekstrakt}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

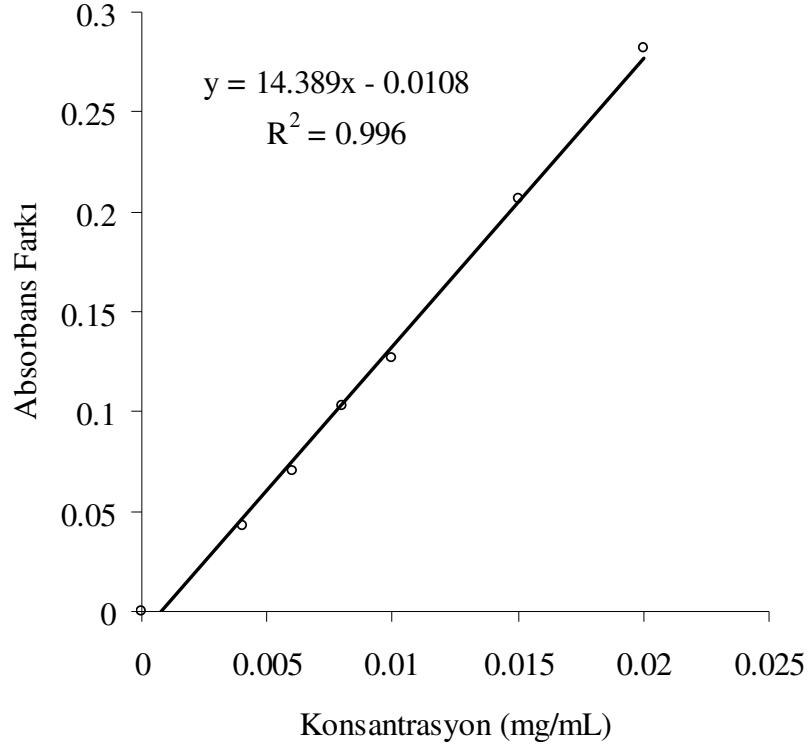
Burada A_{DPPH} , DPPH* blank örneğinin absorbans değerini; A_{ekstrakt} , örnek ekstraktının absorbans değerini ifade etmektedir.

Yukarıdaki eşitliğe göre belirlenen yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına karşı bir grafiğe aktarılıp lineer regresyon analizi uygulanarak, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Bu eşitlik kullanılarak da IC_{50} değeri (radikalin % 50'sinin inhibisyonunu sağlayan örnek miktarı) hesaplanmıştır.

3.2.3. Askorbik asit tayini

Askorbik asit tayini 2.6- diklorofenolindofenol – ksilen ekstraksiyon yöntemine göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır (Anonim, 1951). Bu yöntemin ilkesi, askorbik asidin asidik ortamda (pH = ~3,8) 2.6- diklorofenolindofenol boya çözeltilisini indirgeyerek, oluşan renk kaybının spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. Bu amaçla, cam kapaklı Maizel-Gerson tüpüne 5 mL %6'luk metafosforik asit çözeltilisi ile hazırlanmış olan bitki ekstraktı alınarak üzerine eşit miktarda asetat buffer (pH = 4,0) ve 1 mL 2.6- diklorofenolindofenol boya çözeltilisi eklenmiştir. Diğer bir Maizel-Gerson tüpüne de bitki ekstraktı yerine aynı miktarda %6'luk HPO_3 alınarak şahit numune hazırlanmıştır. Bu tüpler yaklaşık 20 saniye süreyle bir tüp karıştırıcısında çalkalandıktan hemen sonra üzerlerine 10' ar mL ksilen ilave edilmiştir. Yaklaşık 30 saniye süreyle çalkalanarak ksilenin indirgenmemiş olan 2.6-diklorofenolindofenol boya çözeltilisini ekstrakte etmesi sağlanmıştır. Bir süre sonra tüplerin üst kısımlarında katman halinde ayrılmış olan ksilen tabakaları dikkatle alınarak UV-VIS spektrofotometrede 500 nm dalga boyunda ksilene karşı absorbans okumaları yapılmıştır. Şahit numune, askorbik asit ihtiva etmediğinden dolayı içerisinde bulunan boya çözeltilisi indirgenmeyerek herhangi bir renk kaybına uğramamış ve tamamı ksilen ile ekstrakte edilmiştir. Şahit numunedan alınan ksilenin absorbansı ile bitki örneğinden alınan ksilenin absorbansı arasındaki fark bitki örneğinin içerdiği askorbik asit miktarı ile doğru orantılıdır. Bu

absorbans farkına karşılık gelen askorbik asit konsantrasyonu, askorbik asit standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmış ve “mg / 100 g kuru ağırlık” olarak ifade edilmiştir.



Şekil 5. Askorbik asit standart eğrisi

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenol İçerikleri

Fenolik bileşikler, serbest radikallere karşı hücre savunma sistemine katılan önemli öğelerden biridir (Capecka ve diğ., 2005). Tıbbi bitkilerin birçoğu serbest radikallerin adsorpsiyonunda ve nötralizasyonunda, reaktif oksijenin giderilmesinde ve peroksitlerin ayrıştırılmasında etkin olan antioksidan bileşikleri büyük ölçüde içermektedirler (Djeridane ve diğ., 2006). Bitkilerin bu antioksidan aktivitesinin esas olarak fenolik bileşiklerden kaynaklandığı son yıllarda yapılan birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Skerget ve diğ., 2005).

Folin-Ciocalteu yöntemi (Singleton ve Rossi, 1965), bitkisel materyallerin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde yıllardır yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyona dayanmaktadır. Dolayısıyla, bu yöntem gerçekte bir örneğin indirgeme kapasitesini ölçmekte (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005) ve çeşitli gıda örneklerinin antioksidan kapasitesini yaklaşık olarak tahmin etmek amacıyla rutin olarak kullanılmaktadır (Roginsky ve Lissi, 2005).

“Yöntem” bölümünde verilen standart eğrinin denkleminde hesaplanarak, "mg gallik asit / g kuru ağırlık" cinsinden ifade edilen toplam fenolik madde miktarları Tablo 3 ve 4’de verilmiştir. Tablolarda görüldüğü gibi, incelenen bitki örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri $1,1 \pm 0,035$ ile $117,2 \pm 0,636$ mg gallik asit / g kuru ağırlık arasında değişiklik göstermektedir. Benzer şekilde, Shan ve diğ. (2005) yaptıkları bir araştırmada, Asya ve batı ülkelerinde yetişen 26 bitki türünün içerdiği toplam fenolik bileşik miktarlarının $0,4$ ile $143,86$ mg gallik asit / g kuru ağırlık arasında değişiklik gösterdiğini saptamışlardır.

İncelenen bitkiler arasında sarı kantaron bitkisinin çiçek kısımlarının en yüksek düzeyde ($117,2 \pm 0,636$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), buna karşın kırkboğum

bitkisinin saplarının ise en düşük düzeyde ($1,1 \pm 0,035$ mg gallik asit / g kuru ağırlık) fenolik bileşik içerdiği saptanmıştır (Tablo 4). Benzer şekilde, yakın zamanda yapılan bir çalışmada 5 farklı bitkinin fenolik madde içerikleri incelenmiş ve kantaron bitkisinin defne, güveyotu, zeytin ağacı, alıç gibi bitkilerden çok daha yüksek düzeyde fenol, proantosiyanidin ve flavonoid içerdiği saptanmıştır (Skerget ve diğ., 2005).

Toplam fenol sonuçlarına göre, sarı kantaronu, $110,3 \pm 1,273$ mg gallik asit / g kuru ağırlık düzeyindeki fenolik bileşik içeriğiyle melisa (1) bitkisinin yaprakları izlemiştir. Diğer yandan, Çanakkale kekiği ($92,7 \pm 0,778$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), karaçalı ($91,2 \pm 3,889$ ve $75,5 \pm 0,354$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), reyhan ($86,6 \pm 0,707$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), sandal ($78,4 \pm 0,424$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), ardıç ($66,2 \pm 0,495$ mg gallik asit / g kuru ağırlık) ve karabaş otu ($63,5 \pm 0,495$ ve $56,7 \pm 0,566$ mg gallik asit / g kuru ağırlık) da yüksek düzeydeki fenolik bileşik içerikleri ile dikkat çekmektedirler. Pazardan kurutulmuş halde temin edilen bitkiler nisbeten daha düşük miktarda fenolik bileşik içermektedirler. Bitkilerin incelenen kısımlarına göre toplam fenolik bileşik miktarlarına bakıldığında ise, fenolik bileşiklerin bitkilerin özellikle yaprak ve çiçeklerinde, sap ve tohumlarına oranla çok daha yüksek miktarda bulunduğu dikkat çekmektedir (Tablo 3 ve 4).

Tablo 3. İncelenen bitkilerin toplam fenol içerikleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Toplam Fenolik Bileşik (mg GA / g kuru ağırlık) *
Sarı Kantaron	Çiçek	$117,2 \pm 0,636$
Melisa (1)**	Yaprak	$110,3 \pm 1,273$
Çanakkale Kekikiği	Sap + Yaprak	$92,7 \pm 0,778$
Karaçalı	Çiçek	$91,2 \pm 3,889$
Reyhan	Yaprak	$86,6 \pm 0,707$
Sarı Kantaron	Yaprak	$84,7 \pm 2,758$
Sandal	Yaprak	$78,4 \pm 0,424$
Karaçalı	Sap+Yaprak	$75,5 \pm 0,354$
Melisa (2)	Yaprak	$69,2 \pm 1,909$

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Toplam Fenolik Bileşik (mg GA / g kuru ağırlık)
Ardıç	Sap+Yaprak	66,2 ± 0,495
Karabaşotu	Yaprak	63,5 ± 0,495
Karabaşotu	Çiçek	56,7 ± 0,566
Nane	Yaprak	56,2 ± 0,919
Yabani Zeytin	Yaprak	55,2 ± 0,283
Melisa (2)	Çiçek	52,5 ± 0,636
Hayıt	Çiçek	47,3 ± 1,344
Melisa (1)	Sap	43,5 ± 2,192
Adaçayı	Yaprak	43,5 ± 1,343
Biberiye	Yaprak	42,1 ± 1,273
Kara Kekik (1)	Çiçek	38,7 ± 0,212
Hayıt	Yaprak	38,6 ± 0,636
Biberiye (2)	Yaprak	38,5 ± 0,495
Ardıç	Tohum	37,2 ± 0,495
Kekik (1)	Yaprak	37,2 ± 0,283
Yabani Zeytin	Sap	36,7 ± 0,354
Yabani Nane	Sap+Yaprak	34,5 ± 0,071
Defne	Yaprak	34,1 ± 1,273
Kara Kekik (2)	Sap+Yaprak	33,2 ± 0,424
Kara Kekik (1)	Sap+Yaprak	29,6 ± 0,495
Reyhan	Sap	28,9 ± 1,061
Dağçayı	Yaprak	27,8 ± 0,424
Şerbetçiotu	Yaprak	25,7 ± 0,212
Dağçayı	Çiçek	24,7 ± 0,141
Sumak	Tohum	24,6 ± 0,071
Nane	Sap	24,1 ± 0,071
Adaçayı	Sap	22,3 ± 0,212
Kekik (1)	Çiçek	18,4 ± 0,283
Şevketibostan	Yaprak	16,4 ± 0,212

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Toplam Fenolik Bileşik (mg GA / g kuru ağırlık)
Tatula Şeytan Elması	Yaprak	16,2 ± 0,106
Yabani Şerbetçiotu	Koza	13,9 ± 1,273
Biberiye (1)	Sap	13,4 ± 0,141
Dağçayı	Sap	13,1 ± 0,071
Rezene	Sap	12,3 ± 0,071
Kekik (1)	Sap	12,1 ± 0,035
Isırganotu (1)	Sap+Yaprak+Çiçek	9,3 ± 0,318
Biberiye (2)	Sap	5,6 ± 0,021
Şerbetçiotu	Sap	4,4 ± 0,014
Tatula Şeytan Elması	Meyve	3,6 ± 0,057
Rezene	Tohum	3,5 ± 0,092
Hatmi çiçeği (2)	Çiçek	3,2 ± 0,283
Hatmi çiçeği (1)	Çiçek	2,8 ± 0,085
Çemen	Tohum	2,5 ± 0,057
Çörekotu	Tohum	1,9 ± 0,014
Ebegümece	Sap+Yaprak	1,6 ± 0,042
Şevketibostan	Gövde (kök)	1,6 ± 0,014
Kişniş	Tohum	1,5 ± 0,014
Keten Tohumu	Tohum	1,3 ± 0,014

* Toplam fenolik bileşik miktarları “ ortalama ± standart sapma” (n=2) şeklinde ifade edilmiştir.

** Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).

Tablo 4. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin toplam fenol içerikleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Toplam Fenolik Bileşik (mg GA / g kuru ağırlık) *
Kekik (2)**	Çiçek	43,7 ± 0,707
Solucanotu	Çiçek	40,7 ± 1,344

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Toplam Fenolik Bileşik (mg GA / g kuru ağırlık)
Kısa Mahmut	Sap+Yaprak	40,0 ± 0,495
Kekik (2)	Sap+Yaprak	38,1 ± 0,354
Kırmızı Kantaron	Çiçek	29,2 ± 0,778
Kısa Mahmut	Çiçek	28,7 ± 0,424
Civanperçemi	Çiçek	24,8 ± 0,424
Solucanotu	Sap+Yaprak	19,4 ± 0,071
Civanperçemi	Sap+Yaprak	18,0 ± 0,354
Kırmızı Kantaron	Sap+Yaprak	13,1 ± 0,035
Isırganotu (2)	Sap+Yaprak	2,6 ± 0,007
Kırkboğum	Yaprak	5,6 ± 0,106
Kırkboğum	Sap	1,1 ± 0,035

* *Toplam fenolik bileşik miktarları “ ortalama ± standart sapma” (n=2) şeklinde ifade edilmiştir.*

** *Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).*

Önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu çalışma kapsamında incelenen bitkilerden birçoğunun toplam fenol içeriğinin daha yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Örneğin, Djeridane ve diğ. (2006), Cezayir’de yetişen bazı tıbbi bitkiler için çok daha düşük toplam fenol içerikleri (3,13 ile 32,32 mg GAE / g kuru ağırlık) belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Ürdün’de yetişen bazı bitki türlerinin toplam fenolik madde miktarlarının da 2,6 ile 59,6 mg GAE / g kuru ağırlık arasında değiştiği belirlenmiştir (Tawaha ve diğ., 2007). Yine, Tsai ve diğ.(2005), çeşitli baharatlardan elde ettikleri ekstraktlarda toplam fenolik bileşik miktarlarının 10,2 – 22,5 mg GAE / g baharat arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu farklılığın bitki türlerinin yanısıra, iklim, toprak yapısı gibi yetiştirme koşulları ile ekstraksiyon yöntemi gibi çeşitli faktörlerin etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diğer yandan, bu çalışmada elde edilen toplam fenol sonuçları, Dorman ve diğ., 2004 tarafından Türkiye’de yetişen bazı Lamiaceae familyasına ait bitki türleri

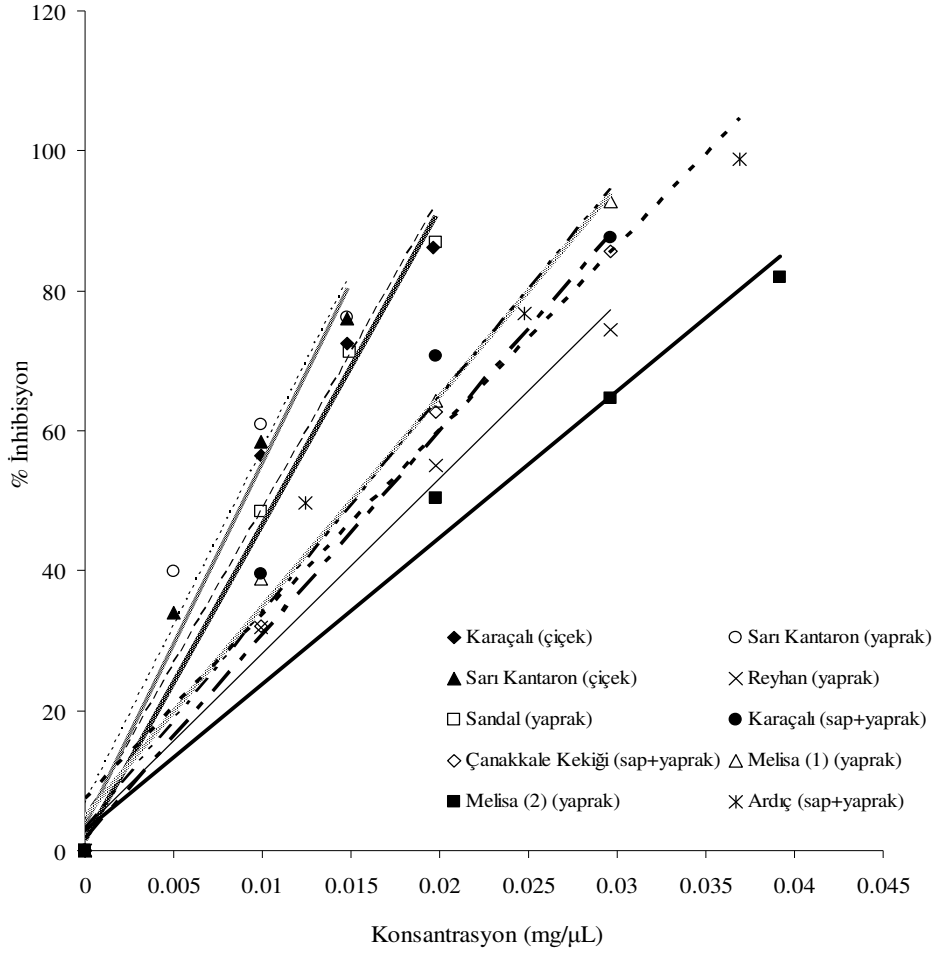
için saptanan değerlerle (77,6 mg GAE / g – 151 mg GAE / g bitki) paralellik göstermektedir . Buna karşın, aynı araştırmacılar, başka bir çalışmalarında inceledikleri 9 farklı nane türünün fenolik bileşik içeriklerinin çok daha yüksek düzeyde (128,1 – 230,8 mg GA / kuru ekstrakt ağırlığı) olduğunu saptamışlardır (Dorman ve diğ., 2003).

4.2. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Aktiviteleri

“Yöntem” bölümünde belirtildiği gibi hazırlanan bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla, TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) ve DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Tablo 5-6 ve 7-8’ de sırasıyla, bitki ekstraktlarına ilişkin saptanan TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) ve IC₅₀ değerleri verilmiştir.

4.2.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) yöntemi

“Yöntem” bölümünde ayrıntılı bir şekilde verildiği gibi, her örnek için 6 dakika sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek konsantrasyonuna karşı bir grafiğe aktarılıp lineer regresyon analizi uygulanmış ve böylece, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Şekil 6’da TEAC yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite gösteren ilk on bitki ekstraktına ilişkin elde edilen eğriler gösterilmiştir. Örneklere ilişkin eğrilerin eğimi, troloks standart eğrinin eğimine oranlanarak örneklerin TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 5 ve 6).



Şekil 6. En yüksek antioksidan aktivite gösteren ilk on bitkiye ait ekstrakt konsantrasyonlarının ABTS^{•+} radikali inhibisyonu üzerine etkisi.

Tablo 5. Bitkilerin TEAC yöntemine göre antioksidan kapasiteleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	TEAC (μmol Trolox / g kuru ağırlık)*
Sarı Kantaron	Çiçek	1472,36 ± 23,58
Sarı Kantaron	Yaprak	1456,75 ± 24,66
Sandal	Yaprak	1284,38 ± 21,99
Karaçalı	Çiçek	1281,52 ± 11,77
Melisa (1)**	Yaprak	887,01 ± 7,43
Karaçalı	Sap+Yaprak	858,96 ± 8,48

Yerel İsim	İncelenen Kısım	TEAC ($\mu\text{mol Trolox / g}$ kuru ağırlık)
Çanakkale Kekiği	Sap + Yaprak	838,96 \pm 17,91
Ardıç	Sap+Yaprak	757,64 \pm 7,62
Reyhan	Yaprak	720,34 \pm 14,05
Melisa (2)	Yaprak	601,73 \pm 10,17
Sumak	Tohum	590,20 \pm 1,33
Karabaşotu	Yaprak	493,73 \pm 7,79
Yabani Zeytin	Yaprak	478,53 \pm 12,29
Nane	Yaprak	461,41 \pm 7,26
Melisa (2)	Çiçek	444,26 \pm 0,75
Karabaşotu	Çiçek	441,94 \pm 3,15
Biberiye (1)	Yaprak	424,39 \pm 0,96
Adaçayı	Yaprak	420,64 \pm 9,86
Kara Kekik (1)	Çiçek	412,54 \pm 2,37
Yabani Zeytin	Sap	386,82 \pm 7,53
Kekik (1)	Yaprak	379,36 \pm 4,80
Melisa (1)	Sap	369,88 \pm 3,43
Kara Kekik (2)	Sap+Yaprak	343,02 \pm 4,26
Hayıt	Çiçek	339,17 \pm 7,39
Biberiye (2)	Yaprak	337,61 \pm 3,23
Hayıt	Yaprak	337,17 \pm 5,94
Ardıç	Tohum	329,65 \pm 3,40
Defne	Yaprak	324,91 \pm 5,27
Kara Kekik (1)	Sap+Yaprak	313,50 \pm 7,02
Şerbetçiotu	Yaprak	294,83 \pm 1,10
Adaçayı	Sap	289,22 \pm 4,42
Reyhan	Sap	266,42 \pm 3,40
Yabani Nane	Sap+Yaprak	265,62 \pm 5,00
Nane	Sap	260,46 \pm 2,99
Dağçayı	Çiçek	238,36 \pm 5,03

Yerel İsim	İncelenen Kısım	TEAC ($\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$)*
Kekik (1)	Çiçek	237,71 \pm 2,87
Dağçayı	Yaprak	233,57 \pm 5,80
Biberiye (1)	Sap	146,68 \pm 1,90
Hatmi çiçeği (2)	Çiçek	145,49 \pm 1,94
Kekik (1)	Sap	132,39 \pm 2,41
Rezene	Sap	131,00 \pm 1,50
Tatula Şeytan Elması	Yaprak	119,78 \pm 0,56
Şevketibostan	Yaprak	117,37 \pm 1,62
Dağçayı	Sap	113,43 \pm 1,71
Isırganotu (1)	Sap+Yaprak+Çiçek	105,12 \pm 2,19
Biberiye (2)	Sap	104,29 \pm 2,18
Yabani Şerbetçiotu	Koza	102,67 \pm 1,49
Hatmi çiçeği (1)	Çiçek	83,68 \pm 0,07
Şerbetçiotu	Sap	82,14 \pm 0,53
Rezene	Tohum	80,72 \pm 1,71
Ebegümeçi	Sap+Yaprak	56,76 \pm 1,10
Tatula Şeytan Elması	Meyve	49,63 \pm 0,70
Çemen	Tohum	49,58 \pm 0,97
Çörekotu	Tohum	36,38 \pm 1,08
Keten Tohumu	Tohum	25,49 \pm 0,74
Kışniş	Tohum	23,15 \pm 0,14
Şevketibostan	Gövde (kök)	17,61 \pm 0,44

* TEAC değerleri “ ortalama \pm standart sapma” (n=3) şeklinde ifade edilmiştir.

** Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).

Tablo 6. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin TEAC yöntemine göre antioksidan kapasiteleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	TEAC ($\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$)*
Kekik (2)	Çiçek	477,43 \pm 4,42
Kekik (2)	Sap+Yaprak	403,58 \pm 5,49
Kısa Mahmut	Sap+Yaprak	323,05 \pm 6,76
Solucanotu	Çiçek	312,25 \pm 7,50
Kırmızı Kantaron	Çiçek	246,50 \pm 3,56
Kısa Mahmut	Çiçek	226,17 \pm 1,63
Civanperçemi	Çiçek	216,25 \pm 4,89
Civanperçemi	Sap+Yaprak	196,92 \pm 3,66
Solucanotu	Sap+Yaprak	160,99 \pm 2,12
Kırmızı Kantaron	Sap+Yaprak	119,56 \pm 0,89
Kırkboğum	Yaprak	69,25 \pm 0,91
Isırganotu (2)	Sap+Yaprak	64,63 \pm 0,48
Kırkboğum	Sap	39,44 \pm 1,88

* TEAC değerleri “ortalama \pm standart sapma” (n=3) şeklinde ifade edilmiştir.

** Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).

Bitki örneklerinin TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değerleri 1472,36 ile 17,61 $\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$ arasında değişiklik göstermektedir (Tablo 5). Literatürde, dünyanın farklı bölgelerinde yetişen bitki türlerinin troloks eşdeğer antioksidan kapasitelerine ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Çin’de yetişen bazı bitki türlerinin metanol ekstraktlarından elde edilen TEAC değerlerinin 0,97 ile 265 $\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$ arasında değiştiği saptanmıştır (Li ve diğ., 2008). Başka bir çalışmada ise, Ürdün’de yetişen bazı bitki türlerine ilişkin TEAC değerlerinin 10,1 ile 720 $\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$ arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Tawaha ve diğ., 2007). Yakın zamanda Amazon bölgesinde yetişen bitkilerin antioksidan kapasitesi üzerine yapılmış olan bir araştırmada da, benzer TEAC değerleri (1,0 – 347 $\mu\text{mol Trolox / g kuru ağırlık}$) elde

edilmiştir (Silva ve diğ., 2007). Bu çalışma sonuçlarıyla kıyaslandığında, Çanakkale bölgesinde yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin genel olarak çok daha yüksek düzeyde (1472,36 – 17,61 µmol Trolox / g kuru ağırlık) antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Diğer yandan, Asya ve batı ülkelerinden seçilmiş 26 bitki türünün metanol ekstraktları ile yapılan bir çalışmada, çalışmamızda elde edilen sonuçlara yakın değerler (5,5 – 1687 µmol Trolox / g kuru ağırlık) saptanmıştır (Shan ve diğ., 2005).

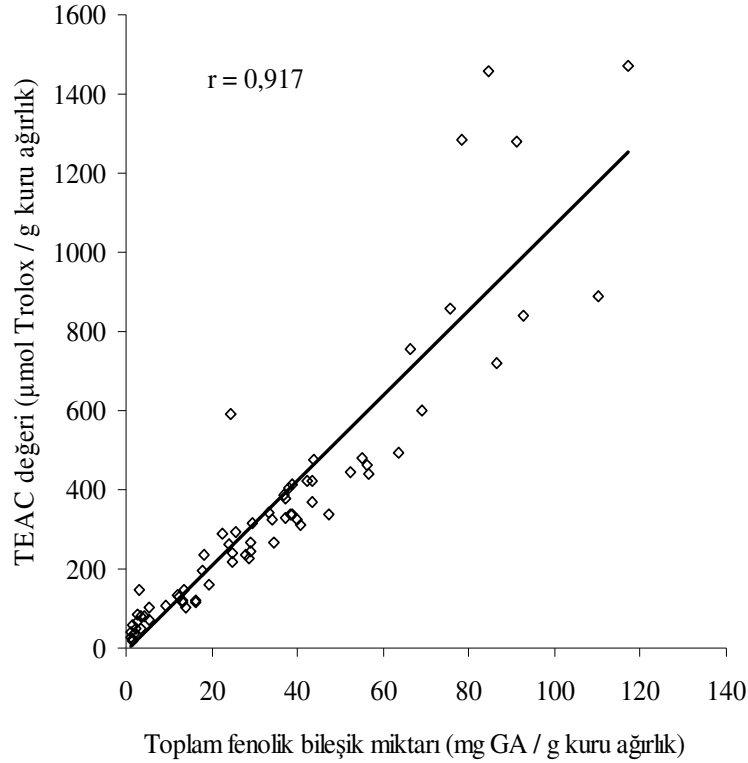
İncelenen bitkiler arasında, en yüksek fenol içeriğine sahip olduğu saptanan sarı kantaron bitkisinin çiçek kısımlarının, aynı zamanda en yüksek TEAC değerine (1472,36 µmol Trolox / g kuru ağırlık) sahip olduğu, yani en yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yine, sarı kantaron bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen ekstrakt da oldukça yüksek bir TEAC değeri (1456,75 µmol Trolox / g kuru ağırlık) göstermiştir. Benzer şekilde, Zheng ve Wang (2001) tıbbi bitkilerin antioksidan aktivitelerini inceledikleri bir çalışmada, sarı kantaron bitkisinin ORAC yöntemine göre en yüksek antioksidan aktiviteyi (16,72 µmol Trolox / g taze ağırlık) gösterdiğini saptamışlardır. Son yıllarda, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) bitkisi, antidepresan, antiviral, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gibi çeşitli farmakolojik etkileriyle dünya çapında bitkisel kaynaklı diyet tamamlayıcı maddelerin başında gelmektedir (Radulovic ve diğ., 2007). Yakın zamanda, ülkemizin kuzeyinde yetişen *Hypericum perforatum* popülasyonlarının biyoaktif maddeleri belirlenmiştir (Çırak ve diğ., 2007).

Çalışmada, sandal ağacı yaprakları ile karaçalının çiçeklerinden elde edilen ekstraktlar da oldukça yüksek TEAC değerleri (1284,38 ve 1281,52 µmol Trolox / g kuru ağırlık) vererek güçlü antioksidan aktivite sergilemişlerdir. Antibakteriyel etkisi ile bilinen karaçalının (*Paliurus spina-christii*), diüretik olarak ve diyare ile romatizmaya karşı yaygın şekilde kullanıldığı bildirilmektedir (Brantner ve Males, 1999). Sandal ağacı (*Arbutus andrachne*) da, kireçlenme, egzama, gut hastalığı, romatizma ve ürinar sistem hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (Atrooz ve diğ., 2007). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada da, *Arbutus andrachne*'nin Ürdün'de yetişen bitkiler arasında en kuvvetli antioksidan aktiviteyi

gösterdiği belirtilmiştir (Tawaha ve diğ., 2007). Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, *Arbutus andrachne*'nin metanol ekstraktı için TEAC değerini, 720 µmol Trolox / g kuru ağırlık olarak saptamıştır. Bu değer, Çanakkale bölgesinden toplanılan aynı bitki için belirlenen değerden (1284,38 µmol Trolox / g kuru ağırlık) oldukça düşük olsa da, bu durum coğrafik ve iklim koşulları ile bitkilerin toplanma zamanı, analizlerde incelenen kısımları ve ekstraksiyon koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabilir.

Yüksek TEAC değerleri ile öne çıkan diğer bitkiler melisa (887,01 µmol Trolox / g kuru ağırlık), Çanakkale kekiği (838,96 µmol Trolox / g kuru ağırlık), ardıç (757,64 µmol Trolox / g kuru ağırlık) ve reyhandır (720,34 µmol Trolox / g kuru ağırlık). Biberiye ve adaçayı yapraklarından hazırlanan ekstraktlar ise birbirlerine oldukça yakın düzeyde antioksidan aktivite (sırasıyla 424,39 ve 420,64 µmol Trolox / g kuru ağırlık) sergilemişlerdir. Çalışmada elde edilen TEAC değerlerine bakıldığında, Lamiaceae familyasına ait bitki türlerinin genel olarak yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu görünmektedir. Shan ve diğ. (2005), Yeni Zelanda'da yetişen kekik, adaçayı, biberiye ve reyhan gibi Lamiaceae familyasına ait bitkilerden hazırladıkları metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemişler ve TEAC değerlerini sırasıyla 1006,7 µmol Trolox / g kuru ağırlık, 518,9 µmol Trolox / g kuru ağırlık, 378 µmol Trolox / g kuru ağırlık ve 295,9 µmol Trolox / g kuru ağırlık olarak saptamışlardır. Bu değerler, çalışmada elde edilen değerlerle kıyaslandığında, Çanakkale bölgesinde yetişen biberiye ve reyhanın Yeni Zelanda'da yetişenlerden daha yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Diğer yandan, Çanakkale kekiği ve adaçayı, Yeni Zelanda'da yetişenlere kıyasla daha düşük düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir. Tawaha ve diğ. (2007) ise, Ürdün'de yetişen biberiyeden elde edilen metanol ekstraktının antioksidan kapasitenin, Çanakkale bölgesinde yetişen biberiyenin antioksidan kapasitesinden daha düşük (274 µmol Trolox / g kuru ağırlık) düzeyde olduğunu belirlemişlerdir. Daha önce de değinildiği gibi bu durumun, bitki türlerinin farklı oluşunun yanı sıra coğrafi koşullar, iklim ve toprak yapısı ile bitkilerin toplanma zamanı, analizlerde incelenen kısımları ve ekstraksiyon koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Şevketibostan bitkisinin gövde kısmının en düşük TEAC değerine (17,61 µmol Trolox / g kuru ağırlık) sahip olduğu saptanmıştır. Genel olarak, bitkilerin sap ve tohum kısımlarından elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitelerinin, yaprak ve çiçek ekstraktlarına göre daha düşük seviyede olduğu gözlenmektedir (tablo 5 ve 6). Bu durum, sap ve tohum kısımlarının daha düşük fenol içeriğiyle açıklanabilmektedir (tablo 3 ve 4). Benzer şekilde, Silva ve diğ. (2007) Amazon bölgesinde yetişen bazı tıbbi bitkilerin yapraklarına ilişkin TEAC değerlerinin genellikle sap ve gövdeleri için elde edilen değerlerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Şekil 7' de gösterildiği gibi, bitki ekstraktlarının TEAC değerleri ile toplam fenol içerikleri arasında kuvvetli bir korelasyon ($r = 0,917$) olduğu belirlenmiştir. Her iki yöntemin de aynı redoks reaksiyonuna dayandığı düşünüldüğünde bu durum pek de şaşırtıcı değildir (Huang ve diğ., 2005). Nitekim, literatürde çeşitli bitkilere ilişkin toplam fenol ile TEAC değerleri arasında kuvvetli ilişkiler olduğunu gösteren çok sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür. Örneğin, Djeridane ve diğ. (2006) Cezayir' de yetişen ve özellikle sindirimi kolaylaştırmak amacıyla kullanılan 11 farklı tıbbi bitkinin toplam fenol ve flavonoid içeriği ile TEAC değerleri arasında pozitif bir ilişki ($r = 0,891$) olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde, Amazon bölgesindeki bazı tıbbi bitkiler için de toplam fenol ile TEAC değerleri arasında yüksek bir korelasyon ($r = 0,938$) saptanmıştır (Silva ve diğ., 2007). Ayrıca, Tawaha ve diğ. (2007) da Ürdün' de yetişen bazı bitkilerin toplam fenol içerikleri ile TEAC değerleri arasında pozitif bir ilişki ($r = 0,892 - 0,851$) olduğunu belirlemişlerdir.

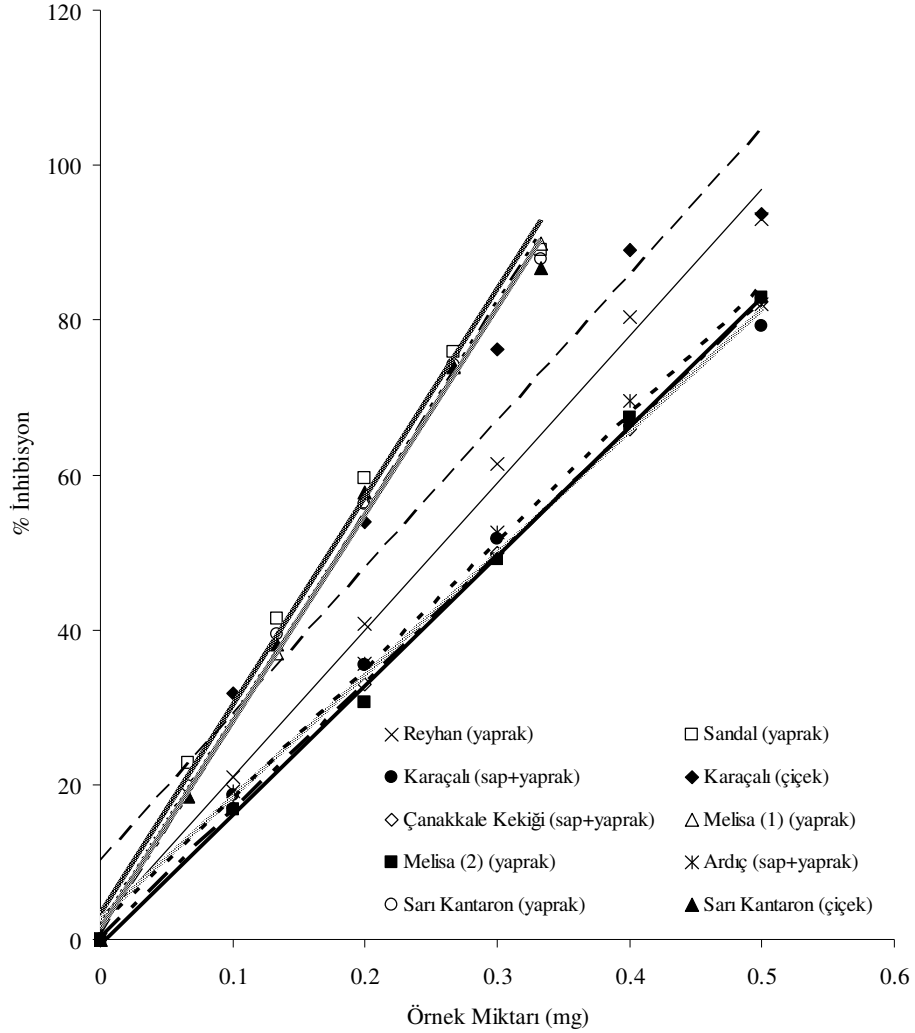


Şekil 7. Bitki ekstraktlarının toplam fenol içerikleri ile TEAC değerleri arasındaki ilişki

4.2.2. DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil) yöntemi

“Yöntem” bölümünde belirtildiği gibi, her örnek için belirlenen inhibisyon değerleri örnek miktarlarına karşı bir grafiğe aktarılıp lineer regresyon analizi uygulanmış ve böylece, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. İncelenen bitki ekstraktları arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanan ilk on bitkiye ilişkin inhibisyon eğrileri Şekil 8’de gösterilmiştir. Eğrileri tanımlayan eşitlikler kullanılarak da her örneğe ilişkin IC_{50} değerleri (radikalin %50’sinin inhibisyonunu sağlayan örnek miktarı) hesaplanmıştır. Tablo 7’de görüldüğü gibi, incelenen bitki örneklerinin IC_{50} değerleri $0,174 \pm 0,002$ ile $42,475 \pm 1,761$ mg kuru ağırlık arasında değişiklik göstermektedir. Bu yöntemle göre, en düşük IC_{50} ($0,174 \pm 0,002$ mg) değerine sahip olan sandal ağacı yapraklarının antioksidan kapasitesinin en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Sandal ağacı yaprağını, $0,181 \pm 0,003$ mg IC_{50} değeriyle sarı kantaron bitkisinin yaprakları izlemektedir.



Şekil 8. En yüksek antioksidan aktivite gösteren ilk on bitkinin DPPH• radikali inhibisyonu üzerine etkisi.

Genel olarak, TEAC yöntemi ile DPPH yönteminin birbirine yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Nitekim, incelenen bitkiler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ilk on bitki, her iki yöntem sonuçlarına göre de değişiklik göstermemektedir. Ancak, TEAC ve IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında bu iki yöntem arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır ($r = 0,441$). Benzer şekilde,

incelenen bitkilerin toplam fenol içerikleri ile IC₅₀ değerleri arasında da bir korelasyon saptanamamıştır (r = 0,537). Buna karşın, Dorman ve diğ. (2004), Türkiye’ de yetişen ve kekik ile mercanköşkün de aralarında bulunduğu Lamiaceae familyasına ait yedi farklı bitki türünde yaptıkları çalışmada, toplam fenol ile DPPH değerleri arasında yüksek bir korelasyon (r = 0.914) bulunduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 7. Bitkilerin DPPH yöntemine göre antioksidan kapasiteleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	IC ₅₀ (mg kuru bitki ağırlığı)*
Sandal	Yaprak	0,174 ± 0,002
Sarı Kantaron	Yaprak	0,181 ± 0,003
Melisa (1)**	Yaprak	0,182 ± 0,002
Sarı Kantaron	Çiçek	0,183 ± 0,002
Karaçalı	Çiçek	0,211 ± 0,001
Reyhan	Yaprak	0,253 ± 0,004
Ardıç	Sap+Yaprak	0,292 ± 0,004
Karaçalı	Sap+Yaprak	0,302 ± 0,008
Çanakkale Kekiği	Sap + Yaprak	0,303 ± 0,004
Melisa (2)	Yaprak	0,304 ± 0,005
Karabaşotu	Yaprak	0,333 ± 0,004
Sumak	Tohum	0,351 ± 0,007
Melisa (2)	Çiçek	0,379 ± 0,008
Yabani Zeytin	Yaprak	0,437 ± 0,009
Biberiye (1)	Yaprak	0,443 ± 0,005
Nane	Yaprak	0,458 ± 0,006
Karabaşotu	Çiçek	0,495 ± 0,010
Melisa (1)	Sap	0,503 ± 0,006
Adaçayı	Yaprak	0,516 ± 0,007
Biberiye (2)	Yaprak	0,550 ± 0,004
Hayıt	Çiçek	0,606 ± 0,004
Hayıt	Yaprak	0,607 ± 0,018

Yerel İsim	İncelenen Kısım	IC ₅₀ (mg kuru bitki ağırlığı)
Ardıç	Tohum	0,655 ± 0,010
Yabani Zeytin	Sap	0,660 ± 0,004
Kekik (1)	Yaprak	0,700 ± 0,036
Reyhan	Sap	0,737 ± 0,015
Defne	Yaprak	0,758 ± 0,009
Yabani Nane	Sap+Yaprak	0,759 ± 0,012
Kara Kekik (2)	Sap+Yaprak	0,760 ± 0,009
Kara Kekik (1)	Sap+Yaprak	0,773 ± 0,012
Nane	Sap	0,787 ± 0,021
Kara Kekik (1)	Çiçek	0,852 ± 0,019
Dağçayı	Yaprak	0,892 ± 0,042
Adaçayı	Sap	0,893 ± 0,012
Şerbetçiotu	Yaprak	0,895 ± 0,006
Kekik (1)	Çiçek	1,120 ± 0,040
Dağçayı	Çiçek	1,178 ± 0,048
Biberiye (1)	Sap	1,345 ± 0,077
Rezene	Sap	1,565 ± 0,021
Kekik (1)	Sap	1,719 ± 0,040
Şevketibostan	Yaprak	1,920 ± 0,016
Tatula Şeytan Elması	Yaprak	2,458 ± 0,016
Isırganotu (1)	Sap+Yaprak+Çiçek	2,568 ± 0,120
Dağçayı	Sap	2,622 ± 0,035
Biberiye (2)	Sap	5,535 ± 0,051
Şerbetçiotu	Sap	8,209 ± 0,111
Yabani Şerbetçiotu	Koza	8,245 ± 0,200
Rezene	Tohum	11,620 ± 0,120
Tatula Şeytan Elması	Meyve	13,413 ± 0,465
Kışniş	Tohum	21,437 ± 0,257
Hatmi çiçeği (1)	Çiçek	21,602 ± 0,232

Yerel İsim	İncelenen Kısım	IC ₅₀ (mg kuru bitki ağırlığı)
Hatmi çiçeği (2)	Çiçek	23,459 ± 1,188
Keten Tohumu	Tohum	24,932 ± 0,071
Şevketibostan	Gövde (kök)	27,840 ± 1,064
Çörekotu	Tohum	29,892 ± 0,028
Çemen	Tohum	30,477 ± 0,643
Ebegümeçi	Sap+Yaprak	42,475 ± 1,761

* IC₅₀ değerleri “ ortalama ± standart sapma ” (n=2) şeklinde ifade edilmiştir.

** Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).

Tablo 8. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin DPPH yöntemine göre antioksidan kapasiteleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	IC ₅₀ (mg kuru bitki ağırlığı)*
Kısa Mahmut	Sap+Yaprak	0,520 ± 0,011
Kekik (2)**	Sap+Yaprak	0,609 ± 0,021
Kekik (2)	Çiçek	0,650 ± 0,008
Solucanotu	Çiçek	0,692 ± 0,027
Kısa Mahmut	Çiçek	0,749 ± 0,018
Civanperçemi	Çiçek	1,027 ± 0,020
Civanperçemi	Sap+Yaprak	1,035 ± 0,015
Kırmızı Kantaron	Çiçek	1,198 ± 0,021
Solucanotu	Sap+Yaprak	1,259 ± 0,038
Kırkboğum	Yaprak	2,811 ± 0,028
Kırmızı Kantaron	Sap+Yaprak	3,333 ± 0,074
Isırganotu (2)	Sap+Yaprak	12,154 ± 0,086
Kırkboğum	Sap	16,878 ± 0,213

* IC₅₀ değerleri “ ortalama ± standart sapma ” (n=2) şeklinde ifade edilmiştir.

** Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).

4.3. Bitki Ekstraktlarının Askorbik Asit İçerikleri

İnsan vücudunda birçok biyolojik aktiviteye sahip olan askorbik asit özellikle elektron transferinde ve süperoksit ile hidroksil radikallerinin de içinde bulunduğu serbest radikallere karşı korunmada oldukça etkin bir bileşiktir (Podsdek, 2005).

Askorbik asit standart eğrisinin denkleminde hesaplanarak, "mg / 100 g kuru ağırlık" olarak ifade edilen askorbik asit miktarları Tablo 9 ve 10'da verilmiştir. Tablolarda görüldüğü gibi, incelenen bitki örneklerinin askorbik asit içerikleri 461,811 ile 11,224 mg / 100 g kuru ağırlık arasında değişiklik göstermektedir. İncelenen bitkiler arasında, karaçalı bitkisinin çiçek kısımlarının en yüksek düzeyde askorbik asit içerdiği saptanmıştır (461,811 mg / 100 g kuru ağırlık). Aynı bitkinin sap ve yaprak kısımlarının da yüksek düzeyde askorbik asit içerdiği belirlenmiştir (395,788 mg / 100 g kuru ağırlık). Yüksek askorbik asit içeriğiyle dikkat çeken bir diğer bitki de sarı kantarondur (170,271 mg / 100 g kuru ağırlık). Diğer yandan, pazardan kurutulmuş olarak temin edilen kırkboğum (yaprak) ise incelenen bitkiler arasında en düşük (11,224 mg / 100 g kuru ağırlık) askorbik asit içeriğe sahip olan bitki olarak saptanmıştır.

Yüksek antioksidan aktivite sergileyen bitkilerin aynı zamanda yüksek askorbik asit konsantrasyonuna sahip oldukları görülmektedir. Ancak, incelenen bitkilerin askorbik asit içerikleri ile TEAC ($r=0,076$) ve IC_{50} ($r= 0,004$) değerleri arasında bir korelasyon saptanamamıştır.

Analiz sonuçlarına genel olarak bakıldığında pazardan kurutulmuş biçimde temin edilen bitki örneklerinin diğerlerine kıyasla çok daha düşük düzeyde askorbik asit içerdiği görünmektedir (Tablo 10). Bitki türlerinin farklı oluşunun yanı sıra, örneklerin kurutulması sırasındaki ortam koşullarının da bu konuda etkili bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Nitekim, bitkiler kurutma esnasında güneş ışığına maruz bırakıldığı takdirde, taze bitki dokularında birtakım reaksiyonlar gerçekleşerek, fitokimyasalların kompozisyonunda önemli değişiklikler meydana gelebilmektedir. Kurutmanın etkisini incelemek amacıyla *Lamiaceae* familyasının 3 farklı türünde yapılan bir çalışmada, bitkilerin taze iken ve kurutulduktan sonra

askorbik asit düzeyleri incelenmiş, ve taze bitki örneklerinin kurutulmuş olanlara oranla çok daha yüksek düzeyde askorbik asit içerdiği saptanmıştır (Capecka ve diğ., 2005). Çalışmada, taze nane ve melisa örneklerinin askorbik asit içerikleri sırasıyla 52,6 ve 53,2 mg / 100 g düzeyinde saptanırken, kurutma sonrası örneklerin askorbik asit içeriklerinin sırasıyla 4,5 ve 3,3 mg / 100 g düzeyine düştüğü belirlenmiştir. Kurutulmuş örneklerde saptanan bu askorbik asit konsantrasyonları, Çanakkale bölgesinde yetişen nane ve melisa bitkilerinin askorbik asit içerikleriyle karşılaştırıldığında, oldukça düşük düzeyde oldukları görünmektedir (Tablo 9). Bu durumun, tür, orijin ve yetiştirme koşulları farklılığı ile ekstraksiyon ve analiz yöntemi farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 9. İncelenen bitkilerin askorbik asit içerikleri

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Askorbik asit konsant. (mg / 100 g kuru ağırlık)
Karaçalı	Çiçek	461,811
Karaçalı	Sap+Yaprak	395,788
Sarı Kantaron	Yaprak	170,271
Şerbetçiotu	Yaprak	93,057
Ardıç	Sap+Yaprak	88,887
Sarı Kantaron	Çiçek	88,019
Çemen	Tohum	87,324
Karabaşotu	Çiçek	83,675
Isırganotu (1)*	Sap+Yaprak+Çiçek	80,200
Şevketibostan	Yaprak	74,814
Yabani Zeytin	Yaprak	73,250
Melisa (2)	Yaprak	69,949
Hatmi çiçeği (2)	Çiçek	67,691
Tatula Şeytan Elması	Meyve	65,258
Şerbetçiotu	Sap	64,713
Yabani Şerbetçiotu	Koza	63,694
Hatmi çiçeği (1)	Çiçek	63,521

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Askorbik asit konsant. (mg / 100 g kuru ağırlık)
Çanakkale Kekiği	Sap + Yaprak	63,173
Sumak	Tohum	62,986
Nane	Yaprak	62,131
Hayıt	Yaprak	61,979
Tatula Şeytan Elması	Yaprak	61,333
Melisa (1)	Yaprak	60,741
Reyhan	Yaprak	60,567
Ardıç	Tohum	59,296
Sandal	Yaprak	57,787
Hayıt	Çiçek	56,848
Çörekotu	Tohum	53,382
Biberiye	Yaprak	51,532
Biberiye (2)	Yaprak	50,490
Kekik (1)	Çiçek	49,969
Nane	Sap	48,926
Melisa (2)	Çiçek	47,536
Kekik (1)	Yaprak	46,668
Adaçayı	Yaprak	46,494
Şevketibostan	Gövde (kök)	45,278
Keten Tohumu	Tohum	44,409
Kara Kekik (1)	Çiçek	43,366
Yabani Zeytin	Sap	43,019
Karabaşotu	Yaprak	42,671
Kişniş	Tohum	42,144
Rezene	Tohum	41,977
Melisa (1)	Sap	40,238
Kara Kekik (1)	Sap+Yaprak	39,534
Reyhan	Sap	39,370
Adaçayı	Sap	36,938

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Askorbik asit konsant. (mg / 100 g kuru ağırlık)
Ebegümeçi	Sap+Yaprak	36,590
Kara Kekik (2)	Sap+Yaprak	35,374
Defne	Yaprak	32,137
Yabani Nane	Sap+Yaprak	31,726
Dağçayı	Çiçek	31,378
Biberiye (2)	Sap	27,556
Biberiye (1)	Sap	20,432
Rezene	Sap	19,564
Dağçayı	Yaprak	16,436
Kekik (1)	Sap	15,220
Dağçayı	Sap	15,046

* *Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).*

Tablo 10. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin askorbik asit içeriği

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Askorbik asit konsant. (mg / 100 g kuru ağırlık)
Kırmızı Kantaron	Çiçek	74,012
Kısa Mahmut	Sap+Yaprak	68,647
Kırmızı Kantaron	Sap+Yaprak	65,430
Isırganotu (2)*	Sap+Yaprak	61,783
Civanperçemi	Çiçek	58,482
Solucanotu	Çiçek	54,558
Kekik (2)	Çiçek	49,447
Civanperçemi	Sap+Yaprak	40,817
Kısa Mahmut	Çiçek	40,749
Solucanotu	Sap+Yaprak	38,260
Kekik (2)	Sap+Yaprak	29,988
Kırkboğum	Sap	19,563

Yerel İsim	İncelenen Kısım	Askorbik asit konsant. (mg / 100 g kuru ağırlık)
Kırkboğum	Yaprak	11,224

* *Bitki isimleri yanında yer alan numaralar, bitkilerin toplandığı bölge farklılıklarını göstermektedir (Bakınız, Tablo 1 ve 2).*

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada ulaşılmış bulunan başlıca sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1. İncelenen bitkilerin pek çoğunun toplam fenol içeriklerinin oldukça yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenolik madde miktarı tayininde incelenen bitkiler arasında, sarı kantaron bitkisinin çiçek kısımlarının en yüksek düzeyde ($117,2 \pm 0,636$ mg gallik asit / g kuru ağırlık), buna karşın kırkboğum bitkisinin saplarının ise en düşük düzeyde ($1,1 \pm 0,035$ mg gallik asit / g kuru ağırlık) fenolik bileşik içerdiği saptanmıştır.

2. Bitkilerin incelenen kısımlarına göre toplam fenolik bileşik miktarlarına bakıldığında, fenolik bileşiklerin bitkilerin özellikle yaprak ve çiçeklerinde, sap ve tohumlarına oranla çok daha yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir.

3. TEAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite tayininde, en yüksek fenol içeriğine sahip olduğu saptanan sarı kantaron bitkisinin çiçek kısımlarının, aynı zamanda en yüksek TEAC değerine ($1472,36$ μ mol Trolox / g kuru ağırlık) sahip olduğu, yani en yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği; buna karşın şevketibostan bitkisinin gövde kısmının en düşük TEAC değerine ($17,61$ μ mol Trolox / g kuru ağırlık) sahip olduğu saptanmıştır.

4. Genel olarak, bitkilerin sap ve tohum kısımlarından elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitelerinin, yaprak ve çiçek ekstraktlarına göre daha düşük seviyede olduğu gözlenmektedir. Bu durum, sap ve tohum kısımlarının daha düşük fenol içeriğiyle açıklanabilmektedir.

5. DPPH yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite tayininde incelenen bitki örneklerinin IC_{50} (radikalın %50'sinin inhibisyonunu sağlayan örnek miktarı) değerleri $0,174 \pm 0,002$ ile $42,475 \pm 1,761$ mg kuru ağırlık arasında değişiklik

göstermiştir. Bu yöntemle göre, en düşük IC_{50} ($0,174 \pm 0,002$ mg) değerine sahip olan sandal bitkisinin yapraklarının antioksidan kapasitesinin en yüksek düzeyde; en yüksek IC_{50} ($42,475 \pm 1,761$ mg) değerine sahip olan ebegümece bitkisinin yaprak ve saplarının antioksidan kapasitesinin ise en düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir.

6. Genel olarak, TEAC yöntemi ile DPPH yönteminin birbirine yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Nitekim, incelenen bitkiler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ilk on bitki, her iki yöntem sonuçlarına göre de değişiklik göstermemektedir. Ancak TEAC ve IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında bu iki yöntem arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır ($r = 0,441$).

7. Literatürdeki birçok çalışmaya uygun olarak, bitki ekstraktlarının TEAC değerleri ile toplam fenol içerikleri arasında kuvvetli bir korelasyon ($r = 0,917$) olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, her iki yöntemin de aynı redoks reaksiyonuna dayanıyor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer yandan, incelenen bitkilerin toplam fenol içerikleri ile IC_{50} değerleri paralellik gösteriyor olmasına rağmen, bu iki değer arasında bir korelasyon saptanamamıştır ($r = 0,537$).

8. 2,6-diklorofenolindofenol– ksilen ekstraksiyon yöntemine göre spektrofotometrik olarak yapılan askorbik asit tayininde, karaçalı bitkisi çiçeklerinin en yüksek ($461,811$ mg / 100 g kuru ağırlık), kırkboğum bitkisi yapraklarının ise en düşük ($11,224$ mg / 100 g kuru ağırlık) düzeyde askorbik asit içerdiği saptanmıştır.

9. Yüksek antioksidan aktivite sergileyen bitkilerin aynı zamanda yüksek askorbik asit konsantrasyonuna sahip oldukları görülmektedir. Ancak, incelenen bitkilerin askorbik asit içerikleri ile TEAC ($r=0,076$) ve IC_{50} ($r= 0,004$) değerleri arasında bir korelasyon saptanamamıştır.

10. Genel olarak bakıldığında, pazardan kurutulmuş biçimde temin edilen bitki örneklerinin diğerlerine nazaran çok daha düşük düzeyde askorbik asit içerdiği görülmektedir. Bitki türlerinin farklı oluşunun yanı sıra örneklerin kurutulması sırasındaki ortam koşullarının da bu konuda etkili bir faktör olabileceği, pazardan

temin edilen bitkilerin kurutma esnasında güneş ışığına maruz bırakıldığından dolayı yapısındaki askorbik asit konsantrasyonunun azalmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma Çanakkale bölgesinde yetişen pek çok bitki türünün etkili birer antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. İncelenen bitkiler arasında özellikle, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), sandal ağacı (*Arbutus andrachne*) ve karaçalı (*Paliurus spina-christii*), doğal antioksidan kaynağı olarak en ümit verici bitkilerdir. Dolayısıyla, gıdalarda doğal antioksidan kaynağı olarak sentetik antioksidanların yerine kullanılmaları açısından gelecek vaad etmektedirler. Ancak, gıda endüstrisinde kullanılmadan önce bu bitkilerin etkinliklerinin, gerçek gıda sistemlerinde, çeşitli proses ve depolama koşullarında test edilmesi gerekmektedir. Bunun yanısıra, söz konusu bitkilerin insan sağlığı açısından uygunlukları da test edilmelidir. Ayrıca, özellikle toplam fenol açısından zengin olan bitki türlerinin biyolojik olarak aktif olan bileşiklerinin tanımlanmasının da yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Al-Fatimi M., Wurster M., Schröder G. ve Lindequist U., 2007. Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Selected Medicinal Plants from Yemen, *J Ethnopharmacol.*, 111: 657-666.
- Altınışik M., 2000. *Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar*. 21 Nisan 2008, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf>
- Anonim, 1951. Methods of Vitamin Assay. The Association of Vitamin Chemists. Inc. Interscience Publishers. Inc. p:301 New York.
- Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., Mcdonald, S. ve Robards K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.*, 127:183-198.
- Argolo A.C.C., Sant'Ano A.E.G., Pletsch M. ve Coelho L.C.B.B., 2004. Antioxidant Activity of Leaf Extracts from Bauhinia Monandra. *Bioresource Technol.*, 95:229-233.
- Atrooz O.M., Omary A.A., Khamas W.A., Al-Shaikhly A.A.J., ve Salim M.M., 2007. The Effects of Alcoholic Extract of *Arbutus andrachne* on Some Biochemical Parameters and Visceral Organs in Rats. *Int J Food Sci Technol.*, 42(9): 1046–1051.
- Balasundram N., Sundram K. ve Samman S., 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial By Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chem.*, 99(1): 191–203.
- Benvenuti S., Pellati F., Melegari M. ve Bertelli D., 2004. Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of *Rubus*, *Ribes* and *Aronia*. *J Food Sci.*, 69(3): 164–169.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. ve Berset C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Sci Technol.*, 28: 25–30.
- Brantner A.H. ve Males Z., 1999. Quality Assessment of *Paliurus spina-christi* Extracts. *J Ethnopharmacol.*, 66(2): 175–179.

- Cai Y., Luo Q., Sun M. ve Corke H., 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer. *Life Sci.*, 74: 2157–2184.
- Capecka E., Mareczek A. ve Leja M., 2005. Antioxidant Activity of Fresh and Dry Herbs of Some Lamiaceae Species. *Food Chem.*, 93: 223–226.
- Chanwitheesuk A., Teerawutgulrag A., Rakariyatham N., 2005. Screening of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds of Some Edible Plants of Thailand, *Food Chem.*, 92: 491-497.
- Chen K., Plumb G.W., Bennett R.N. ve Bao Y., 2005. Antioxidant Activities of Extracts from Five Antiviral Medicinal Plants, *J Ethnopharmacol.*, 96: 201-205.
- Choe E. ve Min D.B., 2006. Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 46: 1–22.
- Clark J.P., Hunsicker J.C. ve Megremis C.J., 1990. Tocopherols: Nature's Antioxidant. *Food Australia.*, 42(5): 262-263.
- Cuvelier M.-E., Berset C. ve Richard H., 1994. Antioxidant Constituents in Sage (*Salvia officinalis*), *J Agric Food Chem.*, 42: 665-669.
- Çalıkoğlu E ve Bayrak A., 2005. Gıdalarda Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri. Gıda Mühendisliği 4. Kongresi, Ankara, 29 Eylül-01 Ekim.
- Çırak C., Radušienė J., Sağlam Karabük B. ve Janulis V., 2007. Variation of Bioactive Substances and Morphological Traits in *Hypericum perforatum* Populations from Northern Turkey. *Biochem Syst Ecol.*, 35(7): 403-409.
- Dang M.N., Takácsová M., Nguyen D.V. ve Kristiánová K., 2001. Antioxidant Activity of Essential Oils from Various Spices. *Nahrung/Food*, 45: 64-66.
- Decker E.A., Warner K., Richards M.P. ve Shahidi F., 2005. Measuring Antioxidant Effectiveness in Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4303-4310.

- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. ve Vidal N., 2006. Antioxidant Activity of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chem.*, 97: 654–660.
- Dorman H.J.D., Bachmayer O., Kosar M. ve Hiltunen R., 2004. Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Lamiaceae Species Grown in Turkey. *J Agric Food Chem.*, 52: 762–770.
- Dorman H.J.D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. ve Hiltunen R., 2003. Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *J Agric Food Chem.*, 51: 4563-4569.
- Erdemoğlu N., Turan N.N., Cakıcı I., Sener B. ve Aydın A., 2006. Antioxidant Activities of Some Lamiaceae Plant Extracts. *Phytother Res.*, 20: 9–13.
- Ferreira A., Proenca C., Serralheiro M.L.M. ve Araujo M.E.M., 2007. The In Vitro Screening for Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of Medicinal Plants from Portugal. *J Ethnopharmacol.*, 108(1): 31–37.
- Frankel E.N., 1999. Food Antioxidants and Phytochemicals: Present and Future Perspectives, *Feet/Lipid*, 101(12): 450-455.
- Hinneburg I., Dorman H.J.D. ve Hiltunen R., 2006. Antioxidant Activities of Extracts from Selected Culinary Herbs and Apices. *Food Chem.*, 97: 122–129.
- Huang D., Ou B. ve Prior R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem.*, 53: 1841–1856.
- Jang H.D., Chang K.S., Huang Y.S., Hsu C.L., Lee S.H. ve Su M.S., 2007. Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chemistry*, 103 (3): 749- 756.
- Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T. ve Yankova T., 2005. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants. *J Ethnopharmacol.*, 96: 145–150.
- Katalinic V., Milos M. ve Jukic M., 2006. Screening of 70 Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenols. *Food Chem.*, 94: 550–557.

- Kırca A. ve Özkan M., 2007. Değişik Amaçlı Bazı Test ve Analiz Yöntemleri, *Gıda Analizleri*, ed: Cemeroğlu B., Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34, Ankara, p: 463-487.
- Kikuzaki H. ve Nakatani N., 1993. Antioxidant Effects of Some Ginger Constituents, *J Food Sci.*, 58: 1407-1410.
- Koca N. ve Karadeniz F., 2005. Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. *Gıda* 30(4): 229-236.
- Larson R.A., 1988. The Antioxidants of Higher Plants, *Phytochem.*, 27(4): 969-978.
- Li H-B., Wong C-C., Cheng K-W. ve Chen F., 2008. Antioxidant Properties In Vitro and Total Phenolic Contents in Methanol Extracts from Medicinal Plants. *LWT-Food Sci Technol.*, 41: 385–390.
- Maisuthisakul P., Suttajit M. ve Pongsawatmanit R., 2007. Assessment of Phenolic Content and Free Radical-Scavenging Capacity of Some Thai Indigenous Plants. *Food Chem.*, 100: 1409–1418.
- Mothana R.A.A. ve Lindequist U., 2005. Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants of the Island Soqotra. *J Ethnopharmacol.*, 96: 177-181.
- Pietta P., Simonetti P. ve Mauri P., 1998. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. *J Agric Food Chem.*, 46: 4487–4490.
- Podsdek A., 2007. Natural Antioxidants and Antioxidant Capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT- Food Science and Technology*, 40(1): 1-11.
- Poullain C., Girard-Valenciennes E. ve Smadja J., 2004. Plants from Reunion Island: Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Antioxidant Activities. *J. Ethnopharmacol.*, 95: 19-26.
- Prior R.L., Wu X. ve Schaich K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem.*, 53: 4290–4302.
- Proestos C., Boziaris I.S., Nychas G.-J.E. ve Komaitis M., 2005. Analysis of Flavonoids and Phenolic Acids in Greek Aromatic Plants: Investigation of

Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. *Food Chem.*, 95: 664–671.

Radulovic N., Stankov-Jovanovic V., Stojanovic G., Melcerovic A.S., Spitteller M. ve Asakawa Y., 2007. Screening of In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Nine *Hypericum* Species from the Balkans. *Food Chem.*, 103(1): 15–21.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. ve Rice-Evans C., 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10): 1231–1237.

Reddy V., Urooj A. ve Kumar A., 2005. Evaluation of Antioxidant Activity of Some Plant Extracts and Their Application in Biscuits. *Food Chem.*, 90: 317–321.

Roginsky V. ve Lissi E.A., 2005. Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chem.*, 92: 235–254.

Rojas R., Bustamante B., Bauer J., Fernandez I., Alban J. ve Lock O., 2003. Antimicrobial Activity of Some Selected Peruvian Medicinal Plants. *J Ethnopharmacol.*, 88: 199-204.

Rosas-Romero A. ve Saavedra G., 2005. Screening Bolivian Plants for Antioxidant Activity. *Pharmacol Biology*, 43(1): 79–86.

Salvat A., Antonacci L., Fortunato R.H., Suarez E.Y. ve Goday H.M., 2004. Antimicrobial Activity in Methanolic Extracts of Several Plant Species from Northern Argentina. *Phytomedicine*, 11:230-234.

Sanchez-Moreno C., 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci. Tech. Int.*, 8(3): 121-137.

Shahidi F., 2000. Antioxidants in Food and Food Antioxidants. *Nahrung*, 44(3): 158-163.

- Shan B., Cai Y.Z., Sun M. ve Corke H., 2005. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J Agric Food Chem.*, 53: 7749–7759.
- Silva E.M., Souza J.N.S., Rogez H., Rees J.F. ve Larondelle Y., 2007. Antioxidant Activities and Polyphenolic Contents of Fifteen Selected Plant Species from the Amazonian Region. *Food Chem.*, 101(3): 1012–1018.
- Singleton V.L. ve Rossi J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Viticult.*, 16: 144-153.
- Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M. ve Knez Z., 2005. Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols In Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities, *Food Chem.*, 89: 191-198.
- Spanos G.A. ve Wrolstad R.E., 1990. Influence of Processing and Storage on the Phenolic Composition of Thompson Seedless Grape Juice. *J Agric Food Chem.*, 38: 1565–1571.
- Tachakittirungrod S, Okonogi S ve Chowwanapoonpohn S., 2007. Study on Antioxidant Activity of Certain Plants in Thailand: Mechanism of Antioxidant Action of Guava Leaf Extract. *Food Chem.*, 103(2): 381-388.
- Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. ve El-Elimat, T., 2007. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Selected Jordanian Plant Species. *Food Chem.*, 104(4): 1372–1378.
- Tsai T.H., Tsai P.J. ve Ho S.C., 2005. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Several Commonly Used Spices. *Journal of Food Science*, 70(1): 93-97.
- Vagi E., Rapavi E., Hadolin M., Vasarhelyine Peredi K., Balazs A., Blazovics A. ve Simandi B., 2005. Phenolic and Triterpenoid Antioxidants from *Origanum majorana* L. Herb and Extracts Obtained with Different Solvents. *J Agric Food Chem.*, 53: 17–21.
- Veliöglu S., 2000. Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda*, 25(3): 167-176.

- Vertuani S., Bosco E., Braccioli E. ve Manfredini S., 2004. Water Soluble Antioxidant Capacity of Different Teas- Determination by Photochemiluminescence. *NUTRAfoods*, 3(2): 5-11.
- Winston G.W., Regoli F., Dugas A.J., Fong J.H. ve Blanchard, K.A., 1998. A Rapid Gas Chromatographic Assay for Determining Oxyradical Scavenging Capacity of Antioxidants and Biological Fluids. *Free Radical Biol. Med.*, 24: 480-493.
- Wojdylo A., Oszmiański J. ve Czemerys R., 2007. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs. *Food Chem.*, 105(3): 950–958.
- Yanishlieva N.V., Marinova E. ve Pokorny J., 2006. Natural Antioxidants from Herbs and Spices. *Eur J Lipid Sci Technol.*, 108: 776–793.
- Zheng W. ve Wang S.Y., 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J Agric Food Chem.*, 49: 5165–5170.

Tablolar

Tablo 1. İncelenen bitkilerin yerel ve botanik isimleri ile toplandıkları bölge, bitkinin evresi ve toplanma zamanları.....	25
Tablo 2. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkiler.....	27
Tablo 3. İncelenen bitkilerin toplam fenol içerikleri	36
Tablo 4. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin toplam fenol içerikleri	38
Tablo 5. Bitkilerin TEAC yöntemine göre antioksidan kapasiteleri	41
Tablo 6. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin TEAC yöntemine göre antioksidan kapasiteleri	44
Tablo 7. Bitkilerin DPPH yöntemine göre antioksidan kapasiteleri	50
Tablo 8. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin DPPH yöntemine göre antioksidan kapasiteleri	52
Tablo 9. İncelenen bitkilerin askorbik asit içerikleri	54
Tablo 10. Kurutulmuş halde pazardan temin edilen bitkilerin askorbik asit içeriği...	56

Şekiller

Şekil 1. Reaktif oksijen türevlerinin oluşumu	4
Şekil 2. Singlet oksijen molekülleri	10
Şekil 3. Gallik asit standart eğrisi	29
Şekil 4. Troloks standart eğrisi	32
Şekil 5. Askorbik asit standart eğrisi	34
Şekil 6. En yüksek antioksidan aktivite gösteren ilk on bitkiye ait ekstrakt konsantrasyonlarının ABTS ^{•+} radikali inhibisyonu üzerine etkisi.	41
Şekil 7. Bitki ekstraktlarının toplam fenol içerikleri ile TEAC değerleri arasındaki ilişki	48
Şekil 8. En yüksek antioksidan aktivite gösteren ilk on bitkinin DPPH [•] radikali inhibisyonu üzerine etkisi.	49

Yaşam Öyküsü

1983 yılında Kayseri’de doğdu. 2001 yılında girdiği Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik- Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2005 yılında mezun oldu ve aynı bölümde yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Kırcı Toklucu’nun danışmanlığında yüksek lisans çalışmasını sürdürmektedir.