

**ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***CENTAUREA TRIUMFETTİ* BİTKİSİNİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Mehmet ANDIÇ

Danışman

Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

KİMYA ANABİLİM DALI

**ERZİNCAN
2012**

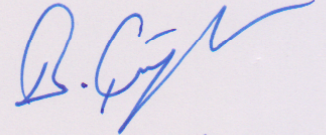
Her Hakkı Saklıdır

Kabul ve Onay

Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında, Mehmet ANDİÇ tarafından hazırlanan bu çalışma 01/10/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

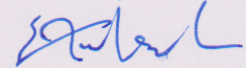
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR

imza:



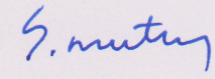
Üye : Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

imza:

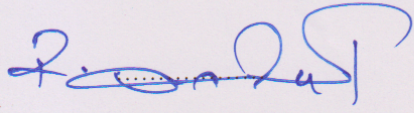


Üye : Yrd. Doç. Dr. Salih MUTLU

imza:



Yukarıdaki sonucu onaylarım



Doç. Dr. Recep POLAT

Enstitü Müdürü

ÖZET**Yüksek Lisans Tezi*****CENTAUREA TRIUMFETTI* BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ****Mehmet ANDIÇ**Erzincan Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı**Danışman:** Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

Bu çalışma *Centaureatriumfetti* bitkisinin antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bitkimeteryali Malatya ili Battalgazi ilçesinin Kemerköprü köyünden toplandı, kurutuldu ve etanol ekstraları hazırlandı. Hazırlanan etanol ekstraları üzerinde kuprak metodu ile Cu^{2+} ve potasyum ferriksiyanat indirgeme metodu ile Fe^{3+} iyonları indirgeme kapasitesi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) giderme aktivitesi tayinleri ve toplam fenolik bileşik miktar tayinleri yapıldı. *C. triumfetti* bitkisinden elde edilen $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonluk etanol ekstralarının linoleik asit emülsiyonunun lipid peroksidasyonunu %74,4 inhibe ettiği gözlemlendi. Aynı konsantrasyonda α -tokoferol %84,3 ve troloks % 81,9'lük bir inhibisyona sebep oldu. Etanolekstrası çıkarılan *C. triumfetti* bitkisinin antioksidan aktivitesi araştırılırken, butillenmişhidroksitoluen (BHT), α -tocopherol ve onun suda çözünen bir analogu olan troloks referans antioksidan bileşikler olarak kullanıldı.

2012, 38 sayfa**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan aktivite, *Centaureatriumfetti*, Metal indirgeme

ABSTRACT**Master Thesis****DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
*CENTAUREA TRIUMFETTI*****Mehmet ANDIÇ**Erzincan University
Faculty of Sciences and Arts
Department of Chemistry**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

This study was conducted to determine the antioxidant activity of *Centaurea triumfetti*. For this purpose plants were collected from Kemerköprü which is the village of Battalgazi, they were dried and their ethanol extracts were prepared. On prepared ethanol extracts, Cu²⁺ and Fe³⁺ reducing capacities, the DPPH scavenging activity and the amount of total phenolic compounds were determined. It was observed that concentrated of ethanol extracts (30 µg mL⁻¹), obtained from *C. triumfetti*, inhibited 74.4% lipid peroxidation of linoleic acid emulsion. In the same concentration of α-tocopherol and trolox caused 84.3% and 81.9% an inhibition, respectively. When issued ethanol extract of *C. triumfetti* antioxidant activity; BHT, α-tocopherol and trolox which is a water-soluble analog of α-tocopherol were used as the reference antioxidant compounds.

2012, 38pages**Keywords:** Antioxidant activity, *Centaurea triumfetti*, Metal reduction.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım da her türlü desteği sağlayan, maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL'a ve Kimya Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR'a, Kimya bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih ÇOLDUR'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Osman Çubuk' a teşekkür ederim.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımız da bizlere göstermiş olduğu yardımlarından dolayı Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e ve çalışmalarım da büyük desteğini gördüğüm çalışma arkadaşım Sayın bilim uzmanı Mesut IŞIK'a şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince her türlü özveri ile yanımda olan eşime ve çocuklarıma da minnettirim.

Mehmet ANDİÇ

Ekim, 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	İ
ABSTRACT	İİ
TEŞEKKÜR	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
TABLolar LİSTESİ	İX
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal.....	19
3.1.1 Yararlanılan Malzeme, Alet ve Cihazlar	18
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
3.1.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	18
3.1.3.a. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler.....	18
3.1.3.b. ABTS Serbest Radikalinin Aktivitesini Giderme ile İlgili Çözelti Hazırlama	19
3.1.3.c. Ferrik İyonlarını (Fe^{3+}) Ferröz İyonlarına (Fe^{2+}) İndirgeme Kuvveti Tayini ile İlgili Çözeltiler.....	19
3.1.3.d. Kuprak Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler ...	19
3.1.3.e. DPPH' Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler.....	21
3.2.Yöntem	21
3.2.1. <i>C. triumfetti</i> Bitkisinin Toplanması ve Kurutulması.....	21
3.2.2. <i>C. triumfetti</i> Bitkisinin Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması	21
3.2.3.Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini.....	21
3.2.4. Ferrik İyonlarını (Fe^{3+}) Ferröz İyonlarına (Fe^{2+}) İndirgeme Kuvveti Tayini ...	22
3.2.5. Kuprak Metoduna Göre İdirgeme Kuvveti Tayini.....	23
3.2.6. DPPH• Serbest Radikallerini Giderme Aktivitesi Tayini.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	24

4.1. Araştırma Bulguları.....	24
4.2. Kuprikiyonlarını (Cu^{2+}) Kupröz İyonlarına (Cu^+)İndirgeme Kuvveti (Kuprak Metodu) Bulguları	24
4.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini Bulguları.....	25
4.4. Ferrik İyonlarını (Fe^{3+}) Ferröz İyonlarına (Fe^{2+}) İndirgeme Kuvveti ile İlgili Bulgular.....	26
4.5. DPPH• Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	27
4.6. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi Bulguları	28
5. SONUÇ	30
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	380

SİMGELER VE KISALTMALAR**Simgeler**

%	Yüzde Değer
°C	Santigrat derece
.	Radikal
α	Alfa

Kısaltmalar

BHA	BütillenmişHidroksianisol
BHT	BütillenmişHidroksitoluen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
GSSG-Rx	GlutasyonRedüktaz
GAE	Gallik Asit Ekvivalent
O_2^-	Süperoksit Radikali
QE	KuarsetinEkvivalent
DPPH•	1,1-difenil-2-pikrahidrazil radikali
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türleri
R•	Organik Radikali
ROO•	Peroksit Radikali
RO•	Alkoksi Radikali
RS•	Tiyil Radikali
RSO•	Sülfenil Radikali
OH•	Hidroksi Radikali
TBHQ	Tersiyerbütihidrokinon
PG	Propil Galat
POD	Peroksidaz
L	Lipid

SOD	SüperoksitDismutaz
MDA	Malondialdehit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
N ₂	Azot Gazı
O ₂	Oksijen Gazı
MnSOD	Mangan İçeren SüperoksitDismutaz
NAD(H) ⁺	NikotinamitAdeninDinükleotit
NADP(H) ⁺	NikotinamitAdeninDinükleotit Fosfat
TCA	Triklor Asetik Asit
UV	Ultraviyole
NH ₃	Amonyak
CuZnSOD	Bakır Çinko SüperoksitDismutaz
FADH ₂	İndirgenmiş FlavinAdeninDinükleotit
FeSOD	Demir İçeren SüperoksitDismutaz
Hb	Hemoglobin
LDL	LowDensityLipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.**Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu 3
- Şekil 2.**Bazı doğal ve sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları 13
- Şekil 3.***C. triumfetti* bitkisinden bir görüntü..... 16
- Şekil 4.***C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstrelerinin bakır indirgeme kuvvetlerinin bir standart antioksidan olan α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....26
- Şekil 5.**Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik.....27
- Şekil 6.***C. triumfetti* bitkilerinin farklı konsantrasyonlardaki ($40-120 \mu\text{g mL}^{-1}$) etanol ekstrelerinin indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α -tokoferol ve troloks karşılaştırması.....28
- Şekil 7.***C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarda ($25-75 \mu\text{g mL}^{-1}$) DPPH serbest radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan α -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması.....29
- Şekil 8.**ABTS^{•+} giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart ABTS^{•+} grafiği...30
- Şekil 9.***C. triumfetti* bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki ($10-30 \mu\text{g/ml}$) etil alkol ekstrelerinin ABTS^{•+} giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....30

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Serbest radikal kaynakları.....	2
Tablo 2. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri.....	6
Tablo 3. Bazı antioksidanlar	9
Tablo 4. Bazı doğal antioksidanlar ve buldukları kaynaklar	12

1.GİRİŞ

Serbest radikaller ile ilgili çalışmalar Gomberg'in 1900'lerde trifenilmetilradikalinin (Ph₃C-) varlığını ispatlanmasıyla başladı. Serbest radikaller, bir orbitalde sadece bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron bulunduran, yüksek aktiviteye sahip atom veya moleküllerdir (Gomberg, 1900).

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlarından dolayı kimyasal olarak çok aktiftirler ve ortamdaki diğer biyomoleküllerle saldıracak onları biyolojik yapılarını bozarlar. Bu radikalik ve reaktif ara ürünler nükleik asitler, proteinler ve lipitleri oksitleyebilir ve metabolizmada olumsuz neticeler oluşturabilirler. Kuantum kimyasına göre bir bağ yapısına ancak iki elektron girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş yönünde olması gerekir. Yani aşağıya doğru dönen bir elektronun eşi yukarıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır. İnsan vücudunun neredeyse tüm elektronları, elektron çifti halinde bulunur. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya ikisi de bir atoma katılır ya da ayrılarak her biri bir atomda kalır. Birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur fakat ayrılırlarsa da serbest radikaller oluşur. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp görevlerine engel olurlar (Fantel 1996; Temple 2000; Stadtman 2002).

Çevre kirliliği, UV, teknoloji ve diğer pek çok etken çeşitli toksik maddelere maruz kalmamıza neden olmaktadır. Bu toksik maddelerden dolayı insanlarda oluşan kalp, kanser, erken yaşlanma gibi hastalıkların sayısı da her geçen gün artmaktadır. Bu hastalıkların oluşumunu hızlandıran etkenlerin başlıca sorumluları serbest radikallerdir.

Serbest radikal oluşumuna alkol, sigara, sıtires, herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, güneş ışınları, X-ışınları, yiyeceklerde bulunana bazı bileşiklere neden olur. Metabolizmada ekzojen ve endojen kaynaklı birçok reaktif oksijen türü ve serbest radikalleri oluşmaktadır. Bureaktif oksijen türleri ve serbest radikaller aynı zamanda hücreler arası iletişim görevi yaparlar. Fakat bunların aşırı miktarda oluşması oksidatif stres, erken yaşlanma, hücre fonksiyonlarının ve

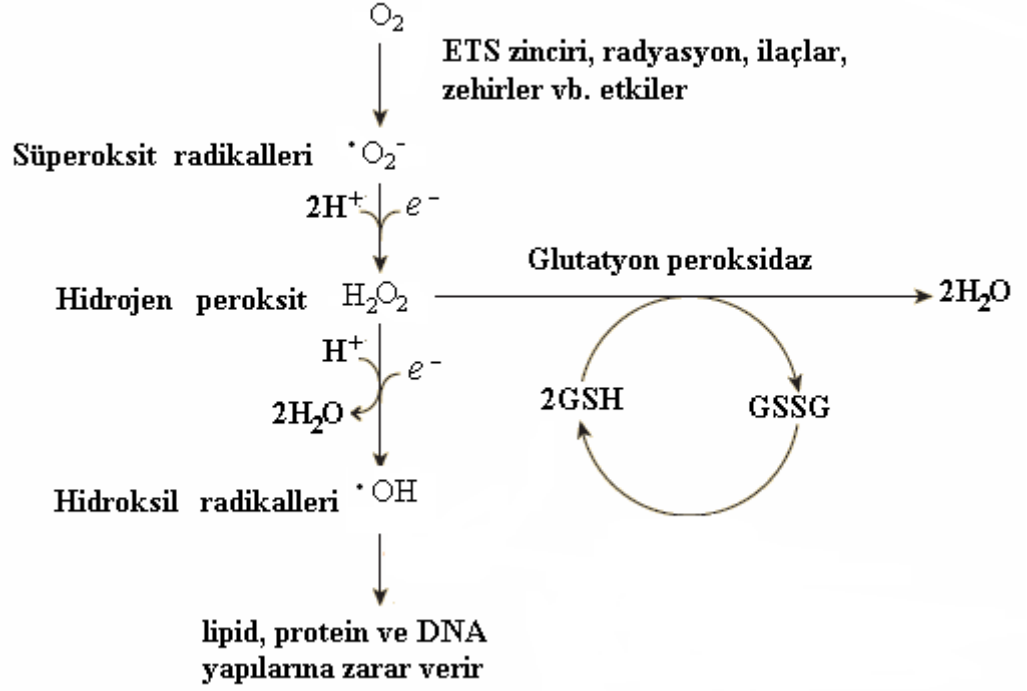
biyokimyasal moleküllerin yapılarının bozulması ile beraber birçok hastalığın oluşmasına sebep olur (Halliwell 1997; NordbergandArner2001).

Hidrojen atomu, bir proton ve bir elektron ihtiva eden basit serbest radikaldir. Hemen her radikal türü başka bir taneciği etkileyebilir. Bu tür etkileşimlerin seçiciliği radikallerin konsantrasyonuna, radikalde bulunan ortaklanmamış elektronların delokalizasyonuna ve radikallerin etkileştiği moleküllerin zayıf bağlar içermesine bağlıdır. (Weiss 1935; Waters 1943; Hey 1973; Cadogan 1973; Moad 1995; Perkins 1996). Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve birçok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ancak serbest radikaller kontrolsüz zincir reaksiyonları gerçekleştirirse hücrede hasarlara neden olur. Vücuttaki çoğu elektronlar çift halde bulunurken, serbest radikaller bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Ama sonuçta serbest radikal kendine bir çift elektron alarak elektron çifti haline geçer, diğer elektron serbest radikal olur (Nelson and Cox 2004; Gülçin 2007).

Tablo 1. Serbest radikal kaynakları

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondrial elektron transport zinciri	Diyet faktörleri
Redoks reaksiyonları	Sigara dumanı
Fagositik ve endotelial hücrelerdeki	Zararlı ışınlar (x-65,5k)
Oksidatif reaksiyonlar	Ksenobiyotikler
Otooksidasyon reaksiyonları	İlaçlar
Araşidonik asit metabolizması	Organik solventler
Enzimler (Ksantinoksidaz, NADPH Oksidaz vs.)	Pestisitler

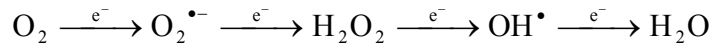
Metabolizmada oluşan ve dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin oluşum yolları aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Nelson and Cox 2004). Serbest radikaller vücuttaki hücrelere saldırır ve tahrip eder. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar.



Şekil 1. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu

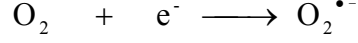
Mitokondrial elektron transport sisteminde, elektronların O_2 'ye transferi sırasında oksijenin kısmi indirgenmiş çok reaktif ürünleri oluşur. Bu reaktif ürünler, biyomoleküllerin yapılarına girerek zarar görmelerine sebep olurlar(Keha ve Küfrevioğlu 2000).

Bu reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalinin (OH^{\bullet}) oluşum reaksiyonları aşağıda verilmiştir.

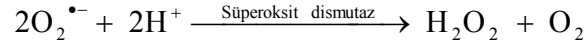


Süperoksit radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz adı verilen bir enzimle inaktive edilirler. Bu radikaller

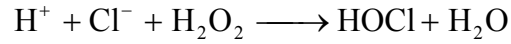
moleküler oksijenin (O_2) mitokondrial elektron transport sisteminde bir elektron alması sonucunda oluşur.



Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığı için nonradikal özelliğe sahip bir reaktif oksijen türüdür. Ancak demir ve bakır gibi atomlarla tepkimeye girerek çok güçlü bir reaktif olan hidroksil radikalini (OH^{\bullet}) oluşturur. Hidrojen peroksit kolayca hücre içerisine girebilir ve hem gruplarında Fe^{2+} 'nin yapısına girerek bunları güçlü oksitleyici durumlarına getirebilmektedir.

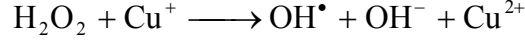
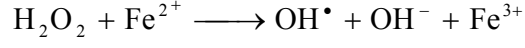


Ayrıca hidrojen peroksit reaktif bir ürün olan hipokloröz asiti ($HOCl$) oluşturmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2000; Asad ve ark.,2004).

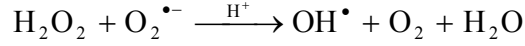


Hidroksil radikali; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere çok güçlü bir şekilde saldırarak oksitleyip yapılarında kalıcı hasarlar bırakan ve yarı ömrü 10^{-9} saniye gibi çok kısa olan bir reaktif oksijen türüdür. Bu radikal yapı, hidrojen peroksitin indirgenmesi sonucunda açığa çıkar. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak adlandırılan bu tepkimeler aşağıda gösterilmiştir (Fantel 1996; Halliwell 2000; Nordberg and Arner 2001).

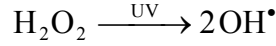
Fenton reaksiyonları:



Haber-Weiss reaksiyonu:



Ayrıca hidrojen peroksitin UV ışınlarının etkisiyle hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir.



Serbest radikaller, reaktif oksijen türlerinden oluşmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin oluşma kaynakları ise elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik kaynaklar ve UV ışınları, radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, beslenme, kanserojen maddeler gibi dış kaynaklardır. (Aksoy 2002; Gülçin 2006). Oksijen kaynaklı olan reaktif radikallerin hücrede aşırı miktarda oluşmaları "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu olay, tüm hücre bileşenleri (karbohidratlar, proteinler, yağlar) üzerinde tahrip edici etkiye sahiptir. Aynı zamanda "hidroksil radikali" başta olmak üzere birçok serbest radikal, genetik materyalimiz olan DNA'daki nükleik asit bazlarının değişimine ve DNA zincirinde kırılmalara neden olarak kanser oluşumu, hücre yaşlanma ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatıp ilerletebilirler (Hertog ve ark., 1993).

Serbest radikaller hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücre metabolizma sırasında oluşabileceği gibi çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve antioksidan dengenin bozulması olarak da

tanımlanmaktadır. Radikaller, lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücrel bileşenlerde hasara yol açabilme özelliğine sahiptir. Oluşan bu hasarın kanser, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilidir ve biyolojik yaşlanma süresinde rol almaktadır. Günümüzde hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edilmektedir(Çakatay ve Kayalı 2004).

Metabolizmada süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalinden başka reaktif oksijen türleri ile reaktif azot türleri de vardır(*Gümüştaş ve Atukeren 2008*).

Tablo 2. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri

Reaktif oksijen türleri		Reaktif azot türleri	
Süperoksit radikali	$O_2^{\bullet-}$	Nitrik oksit radikali	NO^{\bullet}
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Azot dioksit radikali	NOO^{\bullet}
Hidroksit radikali	OH^{\bullet}	Peroksinitrit radikali	$ONOO^{\bullet}$
Hipokloröz asit	$HOCl$	Nitröz asit	HNO_2
Singlet oksijen	1O_2	Nitrozil katyonu	NO^+
Organik radikaller	$RO^{\bullet}, R^{\bullet}, R-S^{\bullet}$	Nitroksi anyonu	NO^-
Peroksil radikali	$RCOO^{\bullet}$	Peroksinitrit	$ONOO^-$

Canlı organizmalar serbest radikallerin zararlarından korunmak için antioksidatif korunma sistemine sahiptirler (Tunalier ve ark., 2002).Antioksidanlar, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerini gidererek zararlı etkilerini engelleyen moleküllerdir(Halliwell 1996; Stadtman 2002).Antioksidanlar vücut içerisinde üretilebilir veya dış kaynaklı olarak alınabilir (Gülçin 2001). İnsanoğlu hayatı boyunca yaşamın beraberinde getirdiği stres ve benzeri zorlukları aşmak ve hastalıklardan korunmak için takviye kuvvetler almalıdır. Bu tür koruyucu maddeler içerisinde antioksidan maddelerin önemli bir yeri vardır. Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidan maddeler nerdeyse tüm bitkilerde, meyvelerde,

sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidan maddelerin en önemlileri: tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asittir (Yanishlieva, 2001; Hudson, 1990; Shahidi, 2000).

İnsanın yaşı ilerledikçe savunma mekanizmaları zayıfladığından, vücudun serbest radikal dengesi bozulmaktadır. Dengenin yeniden sağlanması için antioksidan içerikli doğal besinleri alınması gerekmektedir. Doğal yollardan aldığımız besinler (doğal antioksidanlar), serbest radikallerin etkilerini azaltarak birçok hastalığı ve erken yaşlanmaya neden olan zincir reaksiyonlarının oluşumunu önlemekte yada geciktirmektedir (Floyd, 1990). Son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin ya da buldukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen olduğu veya negatif sağlık etkilerine neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Namiki, 1990; Pokomy, 1991).

Metabolizma da ekzojen ve endojen kaynaklı birçok reaktif oksijen türü ve serbest radikalleri oluşmaktadır. Bureaktif oksijen türleri ve serbest radikaller aynı zamanda hücreler arası iletişim görevi yaparlar. Fakat bunların aşırı miktarda oluşması oksidatif stres, erken yaşlanma, hücre fonksiyonlarının ve biyokimyasal moleküllerin yapılarının bozulması ile beraber pek çok patolojik rahatsızlıkların oluşmasına sebep olur (Halliwell 1997; Nordberg and Arner 2001).

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (Çavdar ve ark., 1997). Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini azaltarak veya ortadan kaldırarak onların neden oldukları dejeneratif hastalıkları ve erken yaşlanma süreçlerini başlatan zincirleme reaksiyonları engelleyen moleküllerdir. Antioksidanlar bu fonksiyonlarını serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturarak gerçekleştirirler. Eğer serbest radikaller almak istedikleri elektronu antioksidanlardan sağlarsa başka bir yapıya zarar vermezler. Antioksidanlar, organizma tarafından sentezlenen ya da dışardan besinlerle alınan maddeler olup, oksidan moleküllerin hücreye zarar vermesini engellerler (Çavdar ve ark., 1997).

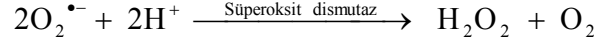
Serbest radikallerle antioksidanlar dengede olduğu sürece oksidatif stresten kaynaklanan zararlar ortaya çıkmaz. Ancak sigara, alkol, pestisitler, gıda katkı maddeleri, petrokimya ürünleri, otomobil egzozlarından çıkan ağır metaller, çok çeşitli endüstriyel kimyasallar, X- ışınları, UV ışınları, hatta stres ve egzersiz yapılmaması gibi serbest radikal oluşumuna neden olan pek çok etken bulunmaktadır. Bu anlamda serbest radikallerle antioksidan moleküller arasındaki dengenin korunması ve sürdürülmesi çok önemlidir. Antioksidan bakımından zengin yiyeceklerin tüketilmesi ya da antioksidan ilaçların kullanılması bu dengenin korunması ve sürdürülmesini sağlamaktadır. Bu nedenle bitkilerin antioksidan içeriklerinin araştırılması günümüzde saydığımız nedenlerle oldukça önem kazanmıştır. Diğer taraftan yiyeceklerin üretimi ve depolama sürecinde bozulmasını geciktiren veya önleyen sentetik antioksidanların çeşitli yan etkileri vardır. Daha sağlıklı yiyecekler üretmek için sentetik antioksidanlara alternatif olarak doğal kaynaklı antioksidan maddeler bulabilmek amacıyla bitkilerin bu özelliklerinin incelenmesi yönündeki araştırmalar artmıştır (Çavdar ve ark.,1997).

Tablo 3. Bazı antioksidanlar

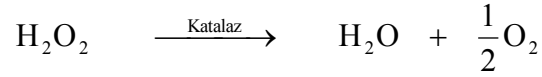
Antioksidan enzimler	Enzim yapısında olmayan antioksidanlar
Süperoksit dismutaz	A Vitamini (β -Karoten)
Katalaz	C Vitamini (Askorbik asit)
Süperoksit redüktaz	E Vitamini (α -Tokoferol)
Peroksiredoksinler	Proteinler (transferin, ferritin, albumin, bilirubin)
Peroksidazlar	Hormonlar (serotonin, melatonin)
Glutasyon redüktaz	Fenolik bileşikler (polifenoller, flavonoidler)
Glutasyon S-transferaz	Lipoik asit, ürik asit, glutasyon

Süperoksit dismutaz enzimi, aerobik hücrelerde süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Süperoksit dismutaz enziminin mitokondri ve sitozolde bulunan farklı izoenzimleri vardır. Mitokondride bulunan

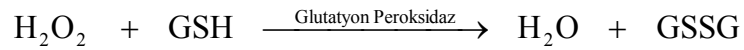
süperoksit dismutaz enzimi, Mn^{2+} ihtiva eder ve yüksek konsantrasyonda bulunmasından dolayı oluşan süperoksitlerin büyük çoğunluğunu gidermektedir (*Keha ve Küfrevioğlu, 2000*).



Katalaz enzimi, hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Böylece H_2O_2 'ten Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikalinin oluşumu engellenir (Halliwell, 1999).



Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerinin indirgenmesini gerçekleştirir. Bu enzim 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksiti su'ya indirgeyerek hidroksil radikalinin oluşma riskini azaltır. GSH ise okside glutatyona (GSSG) yükseltgenir.



Canlılarda antioksidan sistemleri, metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınan (ekzojen) antioksidan sistemler olmak üzere iki türdür (*Gülçin, 2001*).

Ekzojen antioksidanlar ise doğal ve sentetik olmak üzere iki ana grupta incelenebilir. En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), β -karoten (A vitamini) ve polifenolik yapıdaki bileşikler sayılabilir. Doğalantioksidanlar en çok yeşil sebzelerde (Gülçin ve ark.,2004b), tohumlarda (Gülçin 2005b), baklagiller ve meyvelerde, A vitamini, C vitamini, E vitamini ve

bazı B vitamini içeren besinlerde bulunur (Cao ve ark., 1996;Gülçin ve ark., 2005a). Ayrıca antioksidan yapılar sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde ve köklerde bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve ark.,1990).

Endojen antioksidan sistemi, antioksidan enzimler, proteazlar ve fosfolipaz gibi enzimler, glutatyon, ürik asit ve çeşitli metal bağlayıcılarından oluşurken (Bursal, 2009)ekzojen antioksidan sistem ise; doğal ve sentetik olmak üzere iki ana grupta incelenebilir.

Doğal antioksidanlardan α -tokoferol (E vitamini), yağda çözünen önemli bir antioksidandır. Hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli işlevler görmektedir. Lipit peroksil radikalleri, diğer doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek zincirleme lipit peroksidasyon reaksiyonları oluştururlar. α -Tokoferol, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan doymamış yağ asitlerini, reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerine karşı korur. α -Tokoferol, lipit peroksil radikalleri (LOO^{*}) ile tepkimeye girerek bunların reaktifliğini giderir. Böylece zincir kırıcı etki yaparak lipit peroksidasyonunu engeller.

Diğer bir doğal antioksidan olan askorbik asit (C vitamini) ise suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikalini giderir. Askorbik asit serbest radikallerin hücre içinden uzaklaştırılmasında önemli rol oynamaktadır. Bundan dolayı bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi, kanser ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir (Ames ve ark.,1993).

Askorbik asit bitkiler ve birçok memeli tarafından karaciğerde glukozdan sentezlenir. Mikroorganizmalarda askorbik asit yoktur. İnsanda ise esansiyeldir. Askorbik asit, kolayca hidrojen atomu vererek dehidroaskorbik asite dönüşen kuvvetli bir indirgeyici ajandır. Dehidroaskorbik asit de aynı zamanda antioksidan etkiye sahiptir.

Besinlerin ısıtılması sırasında askorbik asit büyük ölçüde etkisini kaybetmektedir (Keha ve Küfrevioğlu 2000; Arrigoni and De Tullio 2002; Padayatty ve ark.,2003).

Tablo 4. Bazı doğal antioksidanlar ve buldukları kaynaklar

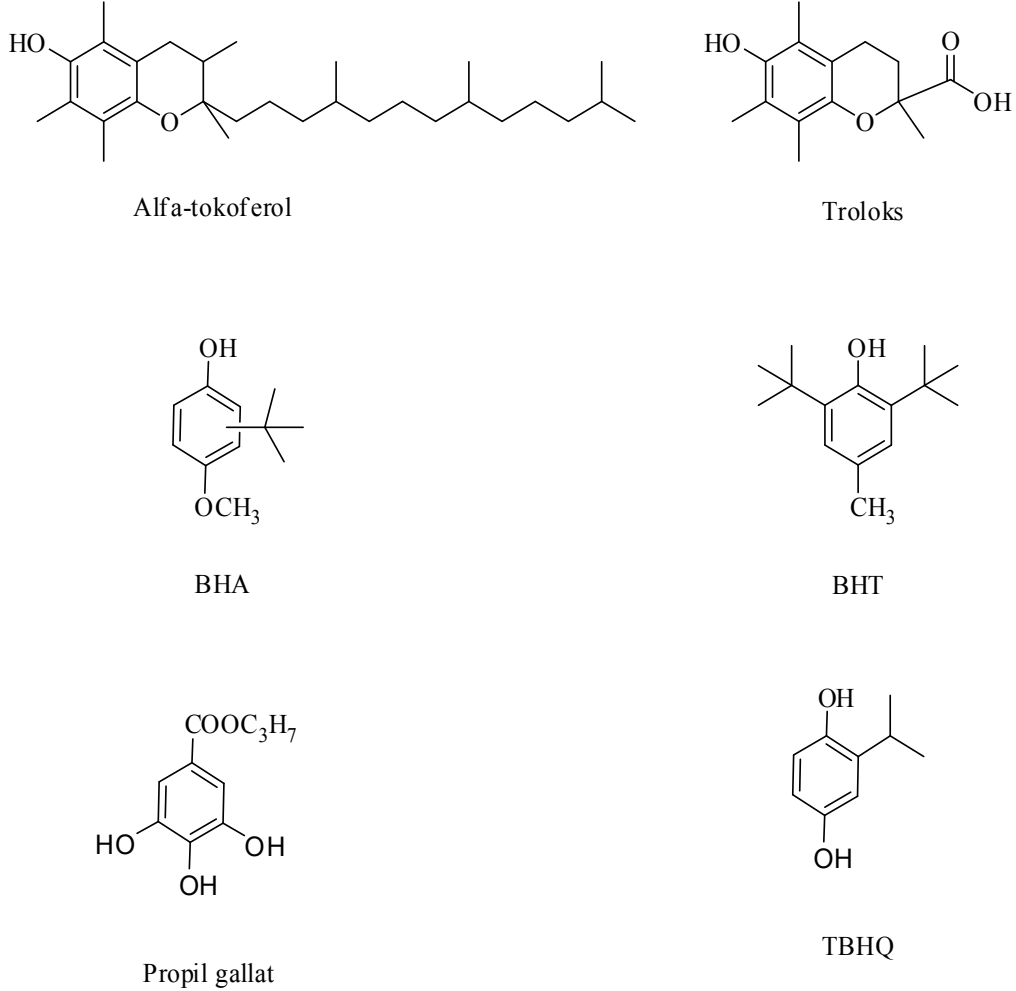
Antioksidan türü	Bulunduğu kaynaklar
Katekinler	Yeşil çay
Flavonoitler	Tahıllar, meyve ve sebzeler
Polifenoller	Meyvelerin çekirdek ve tohumları
Karotenoitler	Bitkisel yağlar
Tokoferoller	Bitkisel yağlar

Sentetik antioksidanlara bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyerbütillhidrokinon (TBHQ), propil galat (PG) ve troloks gibi maddeler örnek verilebilir. Sentetik antioksidanlar genellikle gıdalarda oluşan problemleri çözmede ve gıdaların raf ömürlerini uzatmak amacıyla kullanılmaktadır(Bursal, 2009).

Sentetik antioksidanlar gıdalarda; gıdaların oksidasyonu sonucu oluşan bozulmalar, koku oluşumu, tatların bozulması ve vitamin miktarındaki azalmaları gibi oluşan problemleri çözmek için yani bunların raf ömürlerini uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olabileceğini ortaya koyan çalışmalardan sonra kullanımlarına ciddi sınırlama ve yasaklar getirilmiştir (Haigh 1986).

Antioksidanların çoğu çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Daha biyolojik olarak ise antioksidan madde, havanın oksijeni ile bozulma riski taşıyan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik veya doğal maddeler olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar geniş bir alana sahiptir. Oksijen ve nitrojen gibi reaktif türlerin insanlardaki normal fizyolojik fonksiyonları üzerindeki ters etkilerini oldukça önemli şekilde azaltan diyetel

antioksidanlardan, yağların bozunmasını engelleyen maddeler içeren antioksidanlara kadar geniş bir kullanıma sahiptirler (Huang ve ark.,2005).



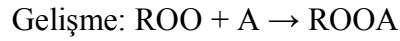
Şekil 2. Sıklıkla kullanılan bazı doğal ve sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları

Temel antioksidan kaynakları dörde ayrılmıştır (Prior ve ark.,2005).

- 1- Enzimler; Süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz
- 2- Büyük moleküller; Albumin, Ferritin ve diğer proteinler
- 3- Küçük moleküller; Askorbik asit, ürik asit, tokoferol, karetonoidler, polifenoller (Epigallokateşin, epigallokateşingallat, epikateşin, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, ferulik asit, kumarik asit vb)
- 4- Bazı hormonlar; Östrojen, melatonin vb.

Antioksidanların molekülleri hidrojen atomu vererek birincil radikalleri radikal olmayan kimyasal türlere çevirerek düşük reaktiviteli hale getirirler. Böylece radikallerin lipidler ile reaksiyona girmesini engellemesi açısından oldukça önemli bir fonksiyon yerine getirilmi olur.(Madhavi, 1996.).

Antioksidan etki mekanizması basitçe aşağıda gösterildiği gibidir.



Antioksidanyapılarfarklıkimyasal ve fiziksel özellikler gösterirler. Her bir antioksidan reaksiyon sistemine göre çoklu ya da farklı bir tekli mekanizma ile etkileşime girebildikleri gibi, farklı radikal ya da oksidan kaynağına farklı tepki verebilirler(Prior ve ark.,2005).

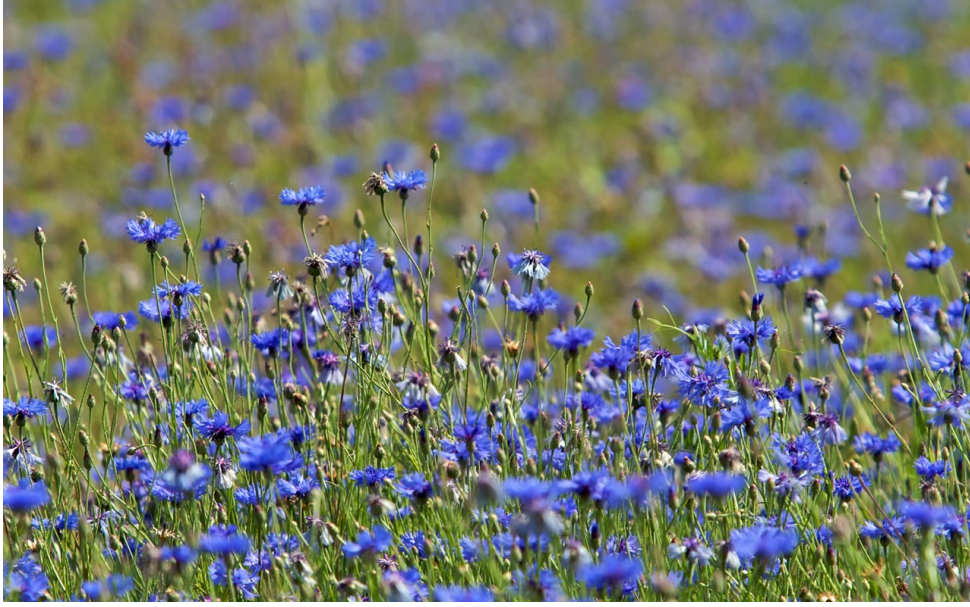
Antioksidan aktivitesi; fiziksel-kimyasal faktörler, substrat faktörleri, gıda maddesinin fizikokimyasal durumu,konsantrasyonun yükselmesi, oksijen basıncı ve sıcaklık gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilirler (Larson 1988).

Doğal antioksidanlar bitkilerin bütün kısımlarında mevcuttur. Bunlar karotenoitler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitleri içerir. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar singlet ve triplet oksijen kuençeri, serbest radikal gidericisi, peroksit parçalayıcısı, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak fonksiyon görürler. Sebze ve meyvelerde birçok antioksidan içerirler (Cao ve ark.,1996). Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve ark., 1990). Bundan dolayı bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi, kanser ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir (Ames ve ark.,1993). En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoitler ve skualen sayılabilir. Askorbik asit bitkiler ve birçok

memeli tarafından karaciğerde glukozdan sentezlenir. (Padayatty ve ark.,2003; Arrigoni ve De Tullio, 2002).

Diğer bir önemli antioksidan E vitamini dir. Tokoferoller, E vitamini olarak da bilinir. Tokoferoller içersinde biyolojik açıdan en önemli olanı α -tokoferoldür. Tokoferoller, gıda maddelerinin bozulmasını engelleyen ve uzun ömürlü olmalarında rol oynayan önemli bir doğal antioksidan guruptur (Ruiz-Lopez ve ark.,1995).

2.KAYNAK ÖZETLERİ



Şekil 3. *Centaurea triumfetti* bitkisinden bir görünüş

C. triumfetti peygamberçiçeği cinsine ait bir bitkidir. *C. triumfetti* çayırlar ve subalpin çim yamaçlarında, kuru ve güneşli yerleri tercih eder. Türe ait bireyler deniz seviyesinden 2000 m yüksekliklere kadar yayılış gösterirler. Kireçli toprakları tercih ederler. Bu bitki güney ve orta Avrupa'nın dağlarında yaygındır. Bazen bu bitki bahçe ve parklarda süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Mavi kantoron olarak ta bilinen bitki, tahıl tarlalarında kendiliğinden yetişen bir bitkidir. Çiçeklidir ve ılık yerlerde yetişir. Çiçekleri mor ya da mavi renkte olup odun tabanlı çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçeklenme dönemi Haziran ve Temmuz ayları arasındadır. Türkiye'de Uşak, Konya, Malatya ve Isparta illerinde yaygın olarak görülmektedir (Baytop, 1999).

Centaurea cinsi Asteraceae familyasının büyük bir üyesidir. *Centaurea* cinsine ait türler tek yıllık, 2 yıllık yada çok yıllık olabilmektedir. Nadiren dikenli dallara sahip

küçük çalılar veya çok hücreli tüylere sahip büyük çalılardır. *Centaurea* türlerinin çoğu Avrasya kıtasında yetiştirilip 1970 ten fazla türü bulunmaktadır. Yaklaşık olarak bunların 500 türü geleneksel olarak taksonomik sorunludur. Bu açıdan çalışması zordur. Bu yüzden daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. (Wagenits 1975, Deywis 1988) Bazı türleri süs bitkisi olarak park ve bahçelerde ayrıca baharat için de yetiştirilmektedir. Bu cinsin çoğu üyeleri geleneksel tıpta halk tarafından ilaç olarak kullanılmaktadır (Baytop 1995). *Cantaure* büyük bir cins olup 180 den fazla türe sahiptir. Türkiye florasında 114 türü endemiktir. Türkiye’de ve birçok ülkede *Cantaure* bitkisinin biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (Tepe ve Ark., Uğur ve Ark.). Türkiye’de daha çok İç Anadolu Bölgesinde yetiştirilen bu bitkilerin antioksidan özellikleri incelenmiştir. Genellikle geleneksel tedavi yöntemlerinde çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmışlardır. *Centaurea* bitkisinin toprak üstü kısmı hemoroid, apse tedavisi, peptik ülser ve soğuk algınlığında kullanılmaktadır. Bu yüzden biyolojik kanıtlar olsun diye aktiviteleri incelenmiştir (Scalse ve ark.). Diyabet, ishal, romatizma, sıtma ve hiper tansiyon hastalıkları için kullanılmışlardır (Muhammed shobe, 1999).

Bir maddenin antioksidan etkisi ortamdaki serbest radikalleri gidermesine bağlıdır. Bileşenlerin ortamdaki serbest radikallerden kaynaklanan sarı-yeşil renkli karışımın renk açılmasına dayanan absorbans değişimleri 517 nm de ölçülür. DPPH metoduna göre yapılan radikal giderme deneylerinde ölçülen absorbanslara bağlı olarak, DPPH minkalibrasyon grafiğinden faydalanılarak antioksidan aktivite hesaplanmıştır. *C. triumfetti*'nin sentetik antioksidan olan BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması şekil 8'de verilmiştir. *C. triumfetti*'nin ortamdaki serbest radikalleri giderme oranı hesaplanan değerleri dikkate alındığında BHT, α -tokoferol ve troloks göre daha düşük olduğu görülmektedir, DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan değerleri dikkate alındığında, değeri ne kadar küçükse antioksidan aktivitesi de o kadar fazladır denilebilir. Bunun anlamı aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda giderilen maddeler daha kuvvetli aktivite göstermektedir. BHT, α -tokoferol ve troloks *C. triumfetti*'ya göre ortamdaki serbest radikalleri giderme açısından daha kuvvetlidir. *C. triumfetti* bitkisinin liyofilize etanolekstrelerinin farklı

konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) ABTS^{•+} giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması(Şekil.9.) verilmiştir. *C. triumfetti*'nin ortamdaki serbest radikalleri giderme değerleri dikkate alındığında BHA BHT, α-tokoferol ve troloks göre daha düşük olduğu görülmektedir, ABTS^{•+} kalibrasyon eğrisinden hesaplanan değerleri standart antioksidantlardan yüksektir. Bu değeri ne kadar yüksekse antioksidan aktivitesi de o kadar düşüktür denilebilir. Bunun anlamı aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda giderilen maddeler daha kuvvetli aktivite göstermektedir. Ferrik iyonlarını (Fe³⁺) ferröz iyonlarına (Fe²⁺) indirgeme kuvveti ile ilgili çalışmalarda kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçinve ark., 2006). Çalışmada kullanılan *C. Triumfetti* bitkisinin etanol ekstrelerinde indirgeme kapasitesi artan konsantrasyon olarak arttığı görülürken, bitki ekstresinin indirgeme potansiyeli, farklı konsantrasyonlardaki (40–120µgmL⁻¹) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. Şekil 6'den görülebileceği gibi *C. triumfetti*'nin kullanılan α-tokoferol'e yakın fakat daha az indirgeme potansiyeli göstermiştir. Ortamdaki Fe⁺³ iyonlarının Fe⁺² iyonlarına indirgeyebildiği ölçüde, bileşenlerin antioksidan aktiviteleri belirlendi. Bunun için, ortamdaki mavi-yeşil renkli kompleksteki renk açılımının spektrofotometrik olarak 700 nm de absorbans değişimlerinden faydalanıldı. Bitkilerdeki fenolik maddelerin toplam konsantrasyonu hesaplanırken mutlaka bir standart fenolik maddeye göre yapılır. Bunun için öncelikle gallik asitten standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrede bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit ekivalent (GAE) olarak hesaplandı (Şekil.5). Bu standartların dışında daha başka fenolik madde de ihtiva edebileceği de unutulmamalıdır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Yararlanılan Malzeme, Alet ve Cihazlar

İnkübatör	: Elektro-Mag (0-300°C)
Otomatik pipetler	: Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
Vorteks	: Fisons, Whirlimixer
Evaporatör	: Heidolph 94200, BioblockScientific
Saf su cihazı	: FirstreemCalypso MK 1 GlassStill
Magnetik karıştırıcı	: StuartScientific
UV-Şpektrofotometre küveti	: 3 cm ³ 'lük Kuartz Küvet
UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1208
Derin dondurucu	: Sanyo, Japan
pH-metre	: Hanna Instrument
Hassas terazi	: Scaltec SBA 41

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1,1-difenyl-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, linoleik asit, α - tokoferol, polioksietilensorbitanmonolaurat (Tween-20) ve trikloroasetik asit (TCA) Amonyum tiyosiyanat.

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

3.1.3.a. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler

% 2'lik Na₂CO₃ çözeltisi: 2 g Na₂CO₃ 100 mL'lik balon jodede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanıldı.

3.1.3.b.ABTS Serbest Radikalinin Aktivitesini Giderme ile İlgili Çözelti Hazırlama

0,15 g ABTS ve 0,04g $K_2O_8S_2$ alınıp 100 ml suda alınıp çözüldükten sonra toplam hacim saf su ile 500 mL tamamlandı.

3.1.3.c.Ferrik İyonlarını (Fe^{3+}) Ferröz İyonlarına (Fe^{2+}) İndirgeme Kuvveti Tayini ile İlgili Çözeltiler

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

0,2 MpH: 6,6 fosfat tamponunun hazırlanması: 2,46 g Na_2HPO_4 yaklaşık 80 mL destile suda çözüldü ve pH metre kullanılarak pH'sı 6,6 olarak ayarlandı. Toplam hacim 100 mL olacak şekilde destile su ile tamamlandı.

%1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin hazırlanması: 2,5 g $K_3Fe(CN)_6$ destile suda çözüldü ve toplam hacim 250 mL'ye destile su ile tamamlandı.

% 1'lik $FeCl_3$ çözeltisinin hazırlanması: 0,1 g $FeCl_3.6H_2O$ destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.d.Kuprak Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

0,01 M'lık $CuCl_2$ çözeltisinin hazırlanması: 0,067 g $CuCl_2$ alındı ve 50 mL destile suda çözüldü.

$7,5 \times 10^{-3} M$ 'lik etanolik neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 117 mg Neokuprin alındı ve 75 mL etanolde çözüldü.

1 M'lık NaCH₃COO tamponunun hazırlanması (pH: 6,5): 4,7 g NaCH₃COO alındı ve 50 mL saf suda çözüldü, pH-metre ile pH'sı 6,5'e ayarlandı ve toplam hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.

3.1.3.e. DPPH• Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler

10⁻³ M'lık DPPH• çözeltisinin hazırlanması: 0,025 g DPPH• etanolde tamamen çözüneceye kadar sekiz saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. *C. triumfetti* Bitkisinin Toplanması ve Kurutulması

Deneyleerde kullanılan *C. triumfetti* bitkisi Malatya'nın Battalgazi ilçesine bağlı Kemerköprü köyünden toplandı. Erzincan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Korkmaz tarafından teşhis edildi. Bitkinin bir örneği Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklanmaktadır. Toplanan bitki numuneleri küçük parçalara ayrılıp oda sıcaklığında gölgede kurutulduktan sonra, antioksidan aktivite ölçümü ile ilgili çalışmalarda kullanılmaya kadar soğuk ortamda saklanmıştır.

3.2.2. *C. triumfetti* Bitkisinin Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması

Etanol ekstresi için blenderde öğütülmüş ve toz haline getirilmiş *C. triumfetti* bitkisine ait numunelerden 25 g alınarak 1 litrelik ağzı kapalı erlen üzerine numunenin yirmi katı etanol (500 mL) ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen etanol ekstreleri süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzölmüş ekstreler birleştirilerek içinde bulunan etanol uzaklaştırıldı.

3.2.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

C. triumfetti bitkisinin etanol ekstrelerinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı FCR ile belirlendi (Singleto ve ark., 1999). Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Bunun için önce bir standart grafik çizildi. Bu amaçla 25 mg gallik asit 25 mL destile suda çözüldü ve 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 100-200-300-400-500-600 µg gallik asit içeren çözeltiler erlenlere aktarıldı ve hacim destile suyla 23 mL'ye tamamlandı. Erlenlere sırasıyla 0,5 mL FCR ve 3 dakika sonra da %2'lik Na₂CO₃ çözeltilerinden 1,5 mL ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra numunelerin absorbansı 760

nm’de destile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol için numune yerine destile su kullanıldı.

C. triumfetti bitkisinin etanol ekstralarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Gülçin’ inin yaptığı çalışmaya göre değerlendirildi (Gülçin, 2005). Daha önce hazırlanan her bir stok çözeltilerden 1 mg alındı ve vezin kaplarına aktarıldı ve hacim 23 mL’ye destile suyla tamamlandı. Karışıma 0,5 mL FCR ve 3 dakika sonra da 1,5 mL %2’lik Na₂CO₃ ilave edildi. Numuneler iki saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu süre sonunda numunelerin absorbanansı saf sudan oluşan köre karşı 750 nm’de okundu. Bu işlemler üçer defa tekrarlandı. Numunelerin absorbanans değerlerine karşılık gelen gallik asit ekivalent miktarı standart grafikten elde edilen aşağıdaki denklem yardımıyla bulundu. Bulgular gallik asit ekivalent (GAE) ve mikrogram olarak verildi.

$$\text{Absorbans}_{(\lambda 760\text{nm})} = 0.0014 \times [\text{GAE } (\mu\text{g})]$$

3.2.4. Ferrik İyonlarını (Fe³⁺) Ferröz İyonlarına (Fe²⁺) İndirgeme Kuvveti Tayini

Toplam indirgeme kuvveti tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı (Oyaizu, 1986). Taze hazırlanan stok çözeltilerden 40, 80 ve 120 µg mL⁻¹ olacak şekilde alındı ve deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 1 mL’ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 1 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6) ve 1 mL %1’lik potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ilave edildikten sonra karışım 50 °C’de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 1 mL %10’luk TCA ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2,5 mL alındı ve bunun üzerinede 1 mL destile su ve %0,1’lik 0,25 mL FeCl₃ ilave edildikten sonra absorbanans 700 nm’de köre karşı okundu.

3.2.5. Kuprak Metoduna Göre İdirgeme Kuvveti Tayini

Bunun için deney tüplerine 0,01 M'lık 0,125 mL CuCl_2 çözeltisi ilave edildi. Bunun üzerine 0,125 mL $7,5 \times 10^{-3} \text{M}$ 'lık etanolik neokuprin çözeltisi ve 0,125 mL 1M'lık amonyumasetat tamponu aktarıldı. Çözelti karıştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlarda (40–120 $\mu\text{g/mL}$) *C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstraktları ve standartlar ilave edildi. Kırkdakikalık bir inkübasyondan sonra 480 nm'de absorbansları kaydedildi. Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesini göstermektedir. *C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstraktlarının kuprik iyonu (Cu^{2+}) indirgeme kapasiteleri Apak ve arkadaşlarının (2006) kullandığı Kuprak metodunun hafif bir modifikasyonuna göre yapıldı.

3.2.6. DPPH' Serbest Radikallerini Giderme Aktivitesi Tayini

Serbest radikal olarak DPPH'in 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 25, 50 ve 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktararak toplam hacimleri 2 mL olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH' çözeltisinden 0,5 mL ilave edildi. 40 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedildi. Kontrol olarak, 2 mL etanol ve 0,5 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans kalan DPPH' çözeltisinin serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

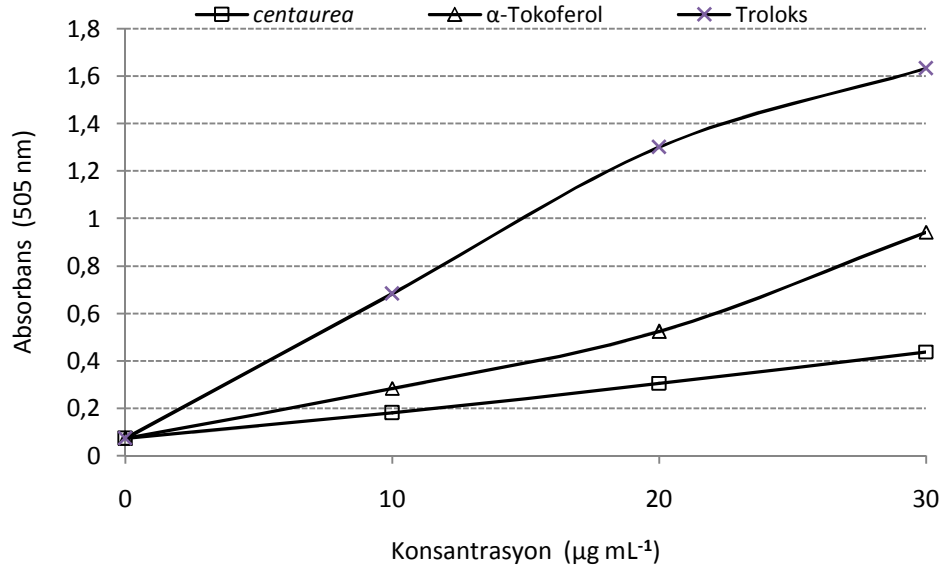
4.ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Araştırma Bulguları

Antioksidan aktivite tayin metodları, gıda, farmasötik veya tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme kapasitesinin araştırılması, DPPH•, ABTS^{•+} ve O₂^{•-} radikal gidermesi, serbest olmayan bir reaktif oksijen türü olan H₂O₂'nin giderilmesi gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Gülçin 2005; Gülçin 2006b). Mevcut çalışmada da bu metotlar kullanıldı ve bulgular doğal ve standart antioksidanaktiviteleri bilinen α -tokoferol ve troloks gibi antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

4.2.Kuprikiyonlarını (Cu²⁺) Kupröz İyonlarına (Cu⁺) İndirgeme Kuvveti (Kuprak Metodu) Bulguları

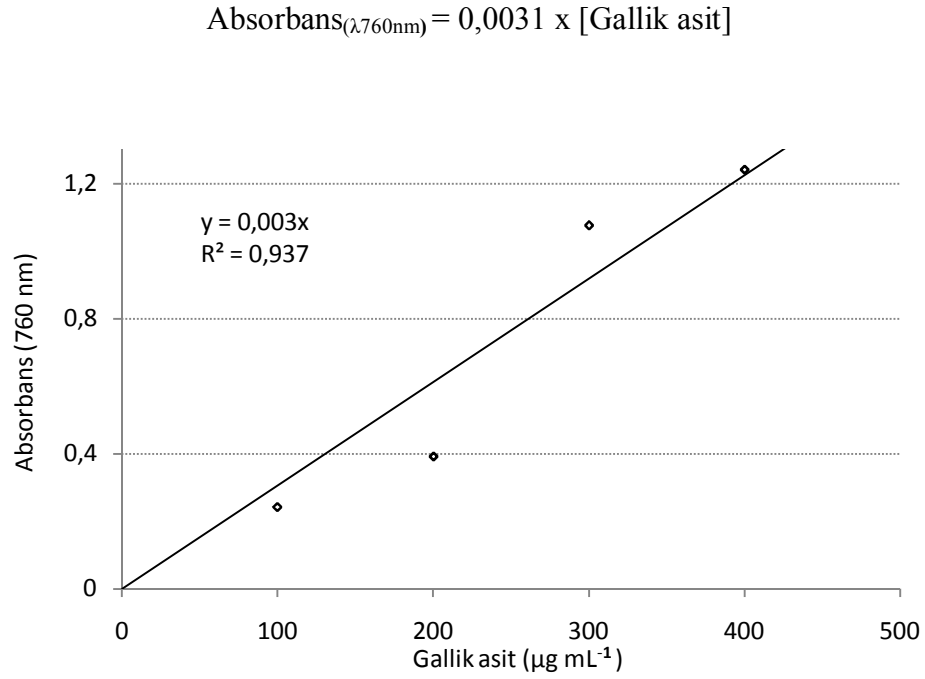
C. triumfetti bitkisinin etanol ekstresinin kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi, ferrik iyonlarını (Fe³⁺) ferröz iyonlarına (Fe²⁺) indirgeme kapasitesi gibi ekstrelerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Etanol ekstresinin kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30 μ g/ml) çözeltilerinin 505nm'deki absorbanları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4.C. *triumfetti* bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki (10–30 µg mL⁻¹) etanol ekstralarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

4.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini Bulguları

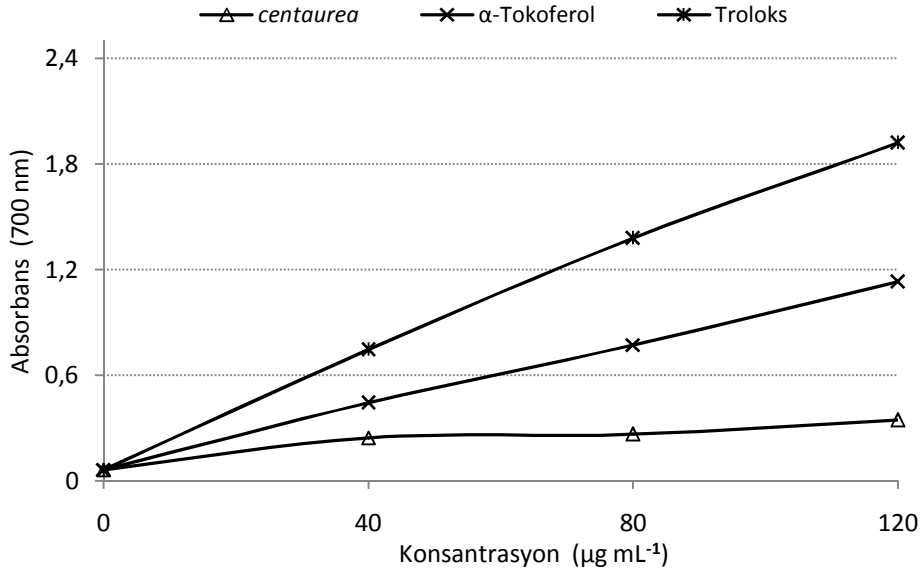
Bunun için öncelikle gallik asitten standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrede bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit ekvalent (GAE) olarak hesaplandı (r^2 : 0,9371). Bu amaçla hazırlanan standart gallik asit grafiği Şekil 5' de verilmiştir.



Şekil 5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

4.4. Ferrik İyonlarını (Fe^{3+}) Ferröz İyonlarına (Fe^{2+}) İndirgeme Kuvveti ile İlgili Bulgular

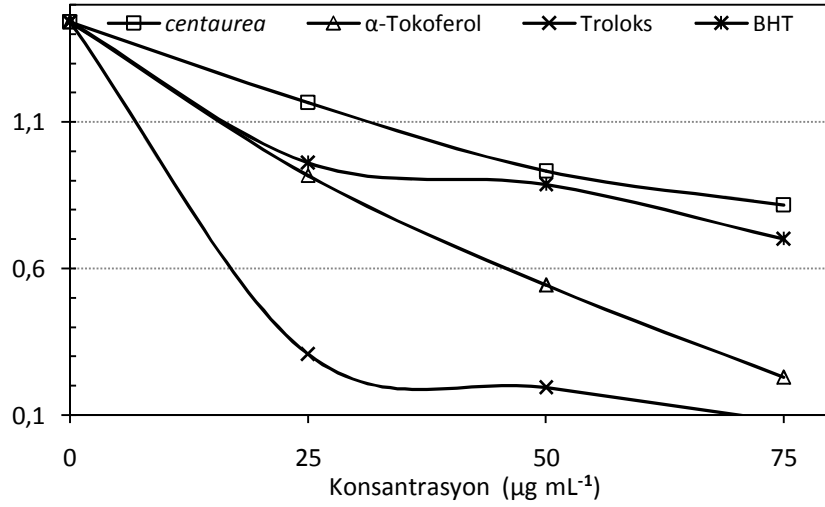
Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin vd, 2006). Çalışmada kullanılan *C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstratlarında indirgeme kapasitesi artan konsantrasyon olarak arttığı görülürken, bitki ekstresinin indirgeme potansiyeli, farklı konsantrasyonlardaki ($40\text{--}120\mu\text{g mL}^{-1}$) çözeltilerinin 700 nm 'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. Şekil 6'dan görülebileceği gibi *C. triumfetti*'nin kullanılan α -tokoferol'e yakın fakat daha az indirgeme potansiyeli göstermiştir.



Şekil 6.C. *triumfetta* bitkilerinin farklı konsantrasyonlardaki (40-120 µg mL⁻¹) etanol ekstralarının indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

4.5. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

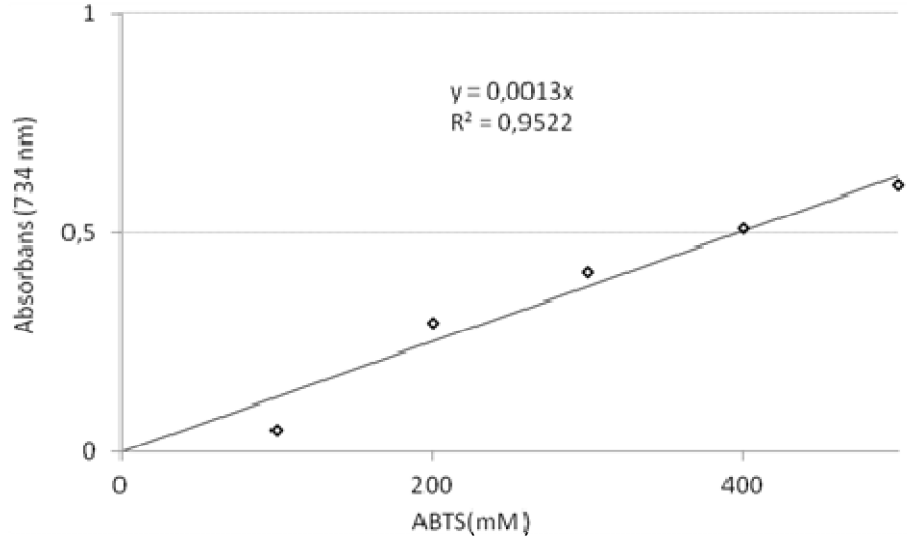
C. triumfetta bitkisinin DPPH• serbest radikalini giderme aktivitesini tesbiti için yapılan çalışmada BHT, α-tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşiklerini kullanılmıştır. *C. triumfetta* bitkisinin etanol ekstraları ile standart antioksidanlar 30 µg/ml konsantrasyonunda sırasıyla şu şekilde DPPH radikali giderme aktivitesi sergilediler Troloks > α-tokoferol > BHT > *C. triumfetta*.



Şekil 7.C. *triumfetta* bitkisinin farklı konsantrasyonlarda ($25\text{--}75 \mu\text{g mL}^{-1}$) etanol ekstralarının DPPH serbest radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan α -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

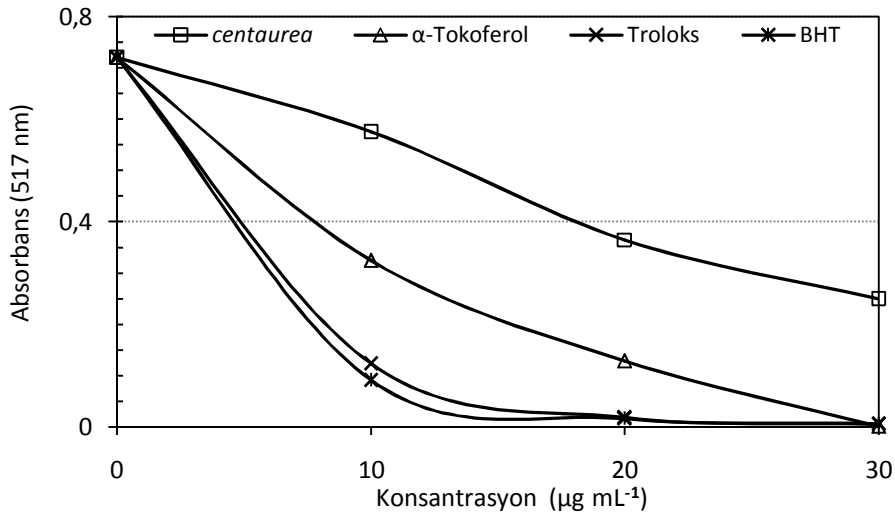
4.6. ABTS⁺ Giderme Aktivitesi Bulguları

ABTS⁺ giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstraların veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Miller ve ark.,1996; Gülçin ve ark.,2007). *C. triumfetta* bitkisinin etanol ekstresi ile çalışmada kullanılan α -tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşiklerin ABTS⁺ giderme aktiviteleri tayini için öncelikle standart grafik oluşturuldu (Şekil 8).



Şekil 8. ABTS⁺ giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart ABTS⁺ grafiği

ABTS⁺ giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan ABTS⁺ miktarı standart grafikten elde edilen yukarıdaki denkleme göre hesaplandı.



Şekil 9. *C. triumfetti* bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/ml}$) etanol ekstresinin ABTS⁺ giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

5.SONUÇ

C. triumfetti bitkisinin antioksidan aktivite özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda Fe^{3+} - Fe^{2+} transformasyonu metoduna göre indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, kuprak metoduna göre kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) küpröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitesi, farklı biyoanalitik metotlar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı belirlendi. Kullanılan antioksidan ve antiradikal yöntemlerde bulunan aktiviteler kozmetik ve gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan α -tokoferol ve onun suda çözünen bir analogu olan troloks ile mukayese edildi.

Antioksidan çalışmaların mukayesesinde α -tokoferol ve troloks gibi standart maddeler kullanıldı. Bazı antioksidan analizlerde *C. triumfetti* bitkisinin etanol ekstralarının aktivitesinin kullanılan standartların aynı konsantrasyonlardaki aktivitelerine yakın olduğu gözlemlendi.

C. triumfetti bitkisinin etanol ekstralarının toplam antioksidan aktivitesinde olduğu gibi indirgeme kapasitesinde de artan konsantrasyona bağlı olarak *C. triumfetti* bitkisinin indirgeme kapasitesi arttığı belirlenmiştir. İlk bakışta oksidasyonun indirgeme gücü yüksek olan ekstralardan daha kuvvetli bir şekilde bastırılacağı düşünülebilir. İndirgeme gücü bir bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesinde önemli bir faktördür. Ancak herhangi bir saf maddenin antioksidan özelliği farklı mekanizmalar üzerinden yürüyebilir. Örneğin, oksidasyonun geçiş metalleri tarafından hızlandırıldığı bir sistemde, antioksidan bileşiğin indirgeme gücü antioksidan özellik yönünden önemli değildir. In vivo olarak serbest demir ve bakırın varlığı kontrol edilebilmektedir (Meir ve ark.,1995).Demir iyonları barsaklar tarafından emilir ve transferin proteinleri tarafından ferrik iyonları (Fe^{3+}) formunda demir ihtiyacı olan hücrelere taşınır ve ferröz iyonları (Fe^{2+}) şeklinde ferritin ve hemosiferin proteinlerinde depolanır. Spesifik olarak transferine bağlı olan demir iyonları serbest radikal reaksiyonlarına katılmazlar. Fazla olan demir iyonları ise birer “demir havuzu” olan ferritin ve hemosiferinde depolanırlar. İnsan plazmasında

bulunan bakırın büyük bir kısmı serbest radikal reaksiyonlarını uyarmayan bir formda olup, seruplazmin proteinine bağlı haldedir (Halliwell, 1994).

Bazı hemostatik durumlar değiştiğinde hidroksil radikali oluşur (Chevion ve ark., 1993). Doku hasarları sonucu fagositlerin aktivasyonu veya lizis olmuş hücrelerden geçiş metal iyonlarının yayılması sonucu serbest oksijen türleri oluşabilmektedir. Bu durum hücre ve dolayısıyla doku hasarını daha da hızlandırır. Örneğin travmatik beyin hasarı sonucu demir iyonlarına bağlı serbest radikalik reaksiyonlar meydana gelebilir. Parkinson hastalığı, substantia nigrada mevcut hücrelerin ölümü sonucu meydana gelmektedir. Demir iyonları ölü hücrelerin parçalanması sonucu açığa çıkmaktadır. Böylece parkinson hastalığına yakalanan hastalar oksidatif strese maruz kalır. Bu durumda serbest radikalik reaksiyonlar muhtemelen substantia nigranın dejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır. Bunun yanısıra serbest oksijen radikalleri, enzim ve proteinlerin yapılarında bulunan aminoasitlerin tiyol guruplarını da oksitleyerek deaktive ederler. Ayrıca hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini de oksitleyerek hücre hasarlarına da sebep olmaktadır (Köksal, 2007). Son zamanlarda antioksidan aktivite gösteren bitkilerin gıda ve beslenme alanlarındaki kullanımları hakkında oldukça fazla sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar halen yoğun bir şekilde devam etmektedir. Bunun sebebi ise bitkilerin birer antioksidan olan karotenoit ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmaları ve bu bileşiklerin herhangi bir yan etkiye sahip olmamalarıdır (Kulkarnive ark.,2006).

Sıklıkla kullanılan BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanların bazı yan etkilerinin bulunmasından sonra araştırmalar tamamen bitkisel orijinli antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Gülçin ve ark.,2006a). Antioksidan aktivite tayin metodları, gıda, farmasötik veya tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme kapasitesinin araştırılması, DPPH• radikal gidermesi gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Gülçin, 2005; Gülçin, 2006).

Mevcut çalışmada da bu metotlar kullanıldı ve bulgular birer doğal ve standart antioksidan olan α -tokoferol ve troloks, BHT gibi antioksidan aktiviteleri bilinen standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

DPPH \cdot ve ABTS $^{2+}$ radikallerinin kullanımına dayanan metotlar, yiyecek, içecek ve bitkisel ekstraların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için kullanılan en popüler spektrofotometrik metotlardır. Ayrıca DPPH \cdot , ABTS $^{2+}$ ve DMPD $^{2+}$ giderme metodları hızlı, basit, seçici ve tekrarlanabilir prosedürler olmalarından dolayı antioksidan ekstre veya bileşiklerin aktivitesini belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Özçelik ve ark.,2003).

C. triumfetti bitkisinin antioksidan aktivitesini belirlemek için kullanılan metodların çoğunda bitkinin standart antioksidan olarak kullanılan bileşiklere yakın aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmamızın bitkilerin antioksidan özelliklerinin incelenmesi araştırmalarında yararlanılacak bir çalışma olduğu muhtemeldir.

Yapılan çalışmalarda, toplam antioksidan aktivite kapasitesi, DPPH serbest radikali giderme kapasitesi, toplam fenolik miktarı, iyon indirgeme kapasitesi gibi parametreler kullanılarak *C. triumfetti* bitkisinin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen bulgulardan *C. triumfetti* bitkisinin antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *C. triumfetti* bitkisinin α -tokoferol, troloks ve BHT gibi referanslarla mukayesesi ile de elde edilen sonuçlar desteklenmiştir.

C. triumfetti bitkisinin DPPH \cdot serbest radikal giderme aktivitesi tayini, ferrik iyonlarını (Fe $^{3+}$) ferröz iyonlarına (Fe $^{2+}$) indirgeme kuvveti tayini ve kuprak metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini ile de genel olarak *C. triumfetti* bitkisinin iyi bir antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Ames, B.M., Shigenaga, M.K. and Hogen, T.M. Oxidants, Antioxidants and the Degenerative Disease of Ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, 7915-7922 (1993).

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir S.E, Erça E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57, 292–304, (2006).

Bursal E., “Kivi Meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) Antioksidan ve Antiradikal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Karbonik Anhidraz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu” Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 6-9 (2009).

Cao, G.H., Sofic, E., Prior, R.L. Antioxidant capacity of tea and common vegetable. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44: 3426–3431. (1996).

Chevion, M., Liang, Y., Harel, R., Berenhshtein, E., Uretzky, G., Kitrossky, N., “Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible productive criteria for tissue injury” *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 90, 1102–1106, (1993).

Çavdar C, Sifil A, Çamsar. T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*;3-4: 92-95. (1997).

Dawn B. M., Allan D. M., Colleen M. S., Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, *Maryland* (1996).

Fantel, A.G., Reactive oxygen species in developmental toxicity: *Review and Hypothesis*. *Teratology*, 53, 96-217 (1996).

Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*, 223, 759-767 (2006).

Gülçin, İ., Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve baz. in vivo etkilerinin incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, s.114. (2002).

Gülçin, İ., “The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds”, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56, 491-499, (2005a).

Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, İ.G., Küfrevioğlu, Ö.İ., Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.).*Acta Alimentaria*, 34, 193-202, (2005).

Gülçin, İ., Köksal E., Elmastas, M., Aboul-Enein H.Y.. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. KOCH var. *joannis*. *Research Journal of Biological Sciences*, 2, 372-382. (2007).

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R.. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: a-Hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside F. *Planta Medica*, 70, 561-563. (2004a).

Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., “Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.)”, *Food Chemistry*, 87, 393–400, (2004).

Halliwell, B. And Gutteridge, J. M. C., Free radicals in biology and medicine., *Clarendon Press Oxford Antioxidants: A Per. View. Nutr. Rev.*, 52, 253-265 (1989).

Halliwell, B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31: 261-272. (1999).

Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press*, 543, Oxford, (1989).

Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. And Van de putte, B., , Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 41: 1242-1246 (1993).

Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ., Biyokimya, *Aktif Yayınevi*, Erzurum (2000)

Köksal, E., “Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi” *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*. Erzurum (2007).

Pratt, D.E., Hudson, B.J.F.,. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants: Hudson B.J.F. ED: *Elsevier*: Amsterdam, 17-192 (1990).

Singleton, V.L., Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods of Enzymology*, 299, 152–178 (1999).

Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, 543, **Oxford** (1989).

Halliwell, B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end *Rev.*,55: S44-S52.ofthe beginning). *Free Radical Research*,31, 261-272.(1999)

Nelson, D.L. and Cox, M.M.,. Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth edition. *W.H. Freeman and Company, New York*. (2004).

Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y.H., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S.L., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., Levine, M. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18-35 (2003).

Ames, B.M.,Shigena, M.K., Hagen, T.M., “Oxidants, antiacidants and the degenerative diseases of ageing”, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, 7915–7922 (1993).

Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., “Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 3426-3431 (1996).

Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., ‘Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence’, *Office Journal of the Turkish Nephrology Association*, 2-4: 92-95 (1998).

Gülçin, İ., Oktay, M., Kireçci, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., ‘Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts’, *Food Chemistry*, 83, 371–382 (2003).

Gülçin, İ., “The Antioxidant and Radical Scavenging Activities Of Black Pepper (*Piper Nigrum*) Seeds”, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56: 491-499 (2005a).

Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, İ.G., Küfrevioğlu, Ö.İ., “Evaluation Of Antioxidant Activity of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.)”, *Acta Alimentaria*, 34: 193-202 (2005b).

Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., “Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.)”, *European Food Research and Technology*, 223, 759–767. (2006).

Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., “Free Radicals in Biology and Medicine”, *Clarendon Press*, 543, Oxford (1998).

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., “Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease:An overview”, *Methods in Enzymology*, 186, 1–85, (1990).

Halliwell, B., “Antioxidant in Human Health and Disease”, *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50 (1997).

Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., ‘Flavonoid intake and

long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study”, *Archives of Internal Medicine*, 155, 381-386 (1995).

Larson, R.A., “The antioxidants of higher plants”, *Phytochemistry*, 27, 969–978 (1988).

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., “Food Antioxidants: Technological”, *Toxicological and Health Perspectives*. Markel Dekker, Newyork, pp 41-50.(1996).

Namiki, M., “Antioxidants/antimutagens in food”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29, 273-3 (1990).

Padayatty, S.J.,Katz, A., Wang, Y.H., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S.L., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., Levine, M., “Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention”, *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18–35 (2003).

Prior, R.L., Wu, X., Scaich, K., “Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113 (2005).

Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., “Antioxidants in food”, *CRC Press*, USA (2001).

Pratt, D.E., Hudson, B.J.F., “Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants” *Hudson B.J.F. Ed.; Elsevier*; Amsterdam, pp 17-192 (1990).

Ruiz-Lopez, M.D., Artacho, R., Fernandez Pinena, M.A., Lopez, G., Serrana, H., Lopez Martinez, M.C., “Stability of α -tocopherol in virgin oil during microwave heating”, *Lebensm Wiss Technol*, 28, 644-646 (1995).

Aksoy, Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22, 442-448. (2002).

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Malatya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya’da tamamladı. İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü’nden 2001 yılında mezun oldu. Mezuniyet sonrası Ardahan ilimizin Çağlayık Köyü İlköğretim Okulunda sınıf öğretmeni olarak başlamış olduğu öğretmenlik mesleğini halen Malatya-Kernek Anadolu Lisesinde Kimya Öğretmeni olarak sürdürmektedir. 2010 yılında, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başlamış olup, halen aynı alanda yüksek lisans öğreniminedevam etmektedir. Evli olup, iki çocuk babasıdır.