

**ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ALİÇ (*Crataegus monogyna*) BİTKİSİNİN YAPRAKLARININ  
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**Emrah DİKİCİ**

**Danışman: Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL**

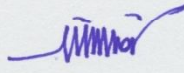
**KİMYA  
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN  
2012**

**Her Hakkı Saklıdır**

Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında, Emrah DİKİCİ tarafından hazırlanan bu çalışma 11/09/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

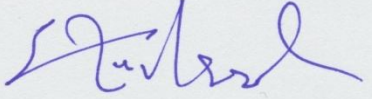
Başkan : Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

imza: 

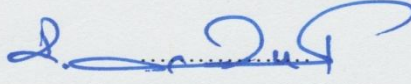
Üye : Doç. Dr. Ercan BURSAL

imza: 

Üye : Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

imza: 

Yukardaki sonucu onaylarım.



Doç. Dr. Recep POLAT  
Enstitü Müdürü

**ÖZET**

Yüksek Lisans Tezi

**ALIÇ (*Crataegus monogyna*) BİTKİSİNİN YAPRAKLARININ  
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Emrah DİKİCİ

Erzincan Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

Bu çalışma alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının antioksidan aktivitesini belirlemek maksadı ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla alıçın yaprak kısımları Erzincan ili İliç ilçesi Bağıştaş köyünden 2011 yılı mayıs ayı sonlarında toplandı, kurutuldu ve etanol ekstresi hazırlandı. Etanol ekstresi hazırlanan alıç (*Crataegus monogyna*) yaprakları üzerinde ferrik tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite, kuprak metodu ile  $\text{Cu}^{2+}$  ve potasyum ferriksiyanat indirgeme metodu ile  $\text{Fe}^{3+}$  iyonları indirgeme kapasitesi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) giderme aktivitesi tayinleri, toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktar tayinleri yapıldı. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonluk etanol ekstresinin linoleik asit emülsiyonunun lipit peroksidasyonunu %40,9 inhibe ettiği gözlemlendi. Aynı konsantrasyonda BHT % 68,3, troloks'un ise % 29,9'lük bir inhibisyona sahip olduğu gözlemlendi. Toplam fenolik içeriği trolokstan daha fazla olduğu tespit edilen alıç (*Crataegus monogyna*) yüksek DPPH giderme ve metal indirgeme aktivitesi sergiledi. Etanol ekstresi elde edilen *Crataegus monogyna* bitkisinin antioksidan aktivitesi araştırılırken, butillenmiş hidroksi toluen (BHT),  $\alpha$ -tokoferol ve onun suda çözünen bir analogu olan troloks referans antioksidan bileşikleri olarak kullanıldı.

2012, 60 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Alıç, *Crataegus monogyna*, Antioksidan Aktivite, Metal İndirgeme

**ABSTRACT**

Master Thesis

**DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AKTIVITIE OF HAWTHORN  
(*Crataegus monogyna*)****Emrah DİKİCİ**Erzincan University  
Faculty of Sciences and Arts  
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

This study had been aimed to examine the antioxidant activitie of leaves of hawthorn (*Crataegus monogyna*). For this purpose, leaves of hawthorn (*crataegus monogyna*) was collected from Bağıştaş village which İliç, a town of Erzincan province in May 2011. It was dried and ethanol extraction was prepared. On prepared ethanol extraction, total antioxidant activity was determined by ferrocyanate reduction method, reduction capacity of  $\text{Cu}^{2+}$  was determined by Cuprac method, reduction capacity of  $\text{Fe}^{3+}$  ions were determined by thiocyanate reduction method, the activitiy of scavenging of 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) was determined and was determined the total amount of the compound of phenolic and flavonoid. It was observed that  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  concentrated of ethanol extract obtained from hawthorn (*Crataegus monogyna*) plant inhibited the lipid peroxidation of linoleic acid emulsion as 40.9 % respectively. In the same concentration, Butylated hydroxy toluene (BHT) and trolox caused inhibitions of 68.3% and 29.9 %, respectively. The content of total phenolic activity, DPPH scavenging and metal reduction activity of hawthorn (*Crataegus monogyna*) which was detected more than trolox. Butylated hydroxy toluene (BHT),  $\alpha$ -tocopherol and its an analoge which is solved in water, namely Trolox, were used as reference antioxidant compounds, while the antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus monogyna*) plant whose ethanol extraction was taken out was examined.

2012, 60 pages

**Keywords:** Hawthorn, *Crataegus monogyna*, Antioxidant activity, Metal reduction

**TEŞEKKÜR**

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra yakın ilgi ve desteği ile her zaman yanımda olan kıymetli hocam Erzincan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL'a desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Kimyasal malzeme temininde ve bilgi ve tecrübelerini aktarmada hiçbir yardımını esirgemeyen hocam Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e desteklerinden dolayı minnettarım.

Tez çalışmam esnasında bana destek olan Kimya Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR'a ve Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa KORKMAZ'a ayrıca teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Ekrem ADIGÜZEL'e ve grup arkadaşlarım Fatih TOZOĞLU, Mesut IŞIK ve Hüseyin KAMBUR'a yardımlarından dolayı minnettarım.

Çalışmalarım esnasında manevi desteklerini esirgemeyen aileme, kardeşim Merve DİKİCİ'ye ve kuzenim Zehra ALTAY'a her türlü desteklerinden dolayı sonsuz şükranlarımı sunarım.

Emrah DİKİCİ

Ağustos, 2012

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
KISALTMALAR LİSTESİ .....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	viii
TABLolar LİSTESİ .....	x
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>18</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>20</b>
3.1. Materyal .....	20
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler .....	20
3.1.2. Yararlanılan malzeme, alet ve cihazlar .....	23
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması .....	21
3.1.3.a. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler .....	21
3.1.3.b. Ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kuvveti tayini ile ilgili çözeltiler .....	21
3.1.3.c. Kuprak metoduna göre idirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler .....	22
3.1.3.d. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler .....	22
3.1.3.e. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler .....	23
3.1.3.f. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler .....	23
3.2. Yöntem .....	24
3.2.1. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) bitkisinin yapraklarının toplanması ve kurutulması .....	24
3.2.2. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) bitkisinin yapraklarının etanol ekstraktlarının hazırlanması .....	24
3.2.3. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini .....	24
3.2.4. Ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kuvveti tayini .....	25
3.2.5. Kuprak metoduna göre idirgeme kapasitesi tayini .....	25
3.2.6. DPPH• serbest radikallerini giderme aktivitesi tayini .....	26
3.2.7. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini .....	26
3.2.8. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini .....	27

<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....</b>	<b>29</b>
4.1. Antioksidan Araştırma Bulguları.....	29
4.1.1. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini bulguları .....	29
4.1.2. Ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kuvveti bulguları .....	32
4.1.3. Kuprak metodu ile ilgili bulgular.....	33
4.1.4. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi bulguları .....	34
4.1.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini bulguları .....	36
4.1.6. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayini bulguları .....	38
4.2. Tartışma .....	40
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>42</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>48</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>60</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	Yüzde Değer
°C	Santigrat derece
•	Radikal
$\alpha$	Alfa

### Kısaltmalar

BDE	Bağ Disosiyasyon Enerjisi
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
DPPH•	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türü
R•	Organik Radikal
ROO•	Peroksit Radikali
RO•	Alkoksi Radikali
RS•	Tiyil Radikali
RSO•	Sülfenil Radikali
RSO <sub>2</sub> •	Tiyil Peroksit Radikali
IP	İyonizasyon potansiyeli
TBHQ	Tersiyerbüttilhidrokinon
PG	Propil galat
POD	Peroksidaz
GSSG-Rx	Glutasyon redüktaz
GAE	Gallik asit ekivalent
SOD	Süperoksit dismutaz



$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen Peroksit
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit Radikali
$\text{Ph}_3\text{C}$	Trifenilmetil
QE	Kuarsetin ekivalent
L	Lipid

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması.....	5
Şekil 1.2. $\alpha$ -Tokoferolün lipit serbest radikallerini söndürdükten sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi.....	12
Şekil 1.3. Önemli bir antioksidan olan $\beta$ -karotenin yapısı.....	14
Şekil.1.4. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) ağacının meyve ve yaprak kısımları .....	16
Şekil.1.5. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) ağacının meyve ve yaprak kısımları .....	17
Şekil 4.1. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) bitkisinden elde edilen etanol ekstresinin 10 $\mu$ g/ml konsantrasyonda toplam antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT, ve troloks ile karşılaştırması .....	30
Şekil 4.2. Standart bir antioksidan olan BHT'nin kimyasal yapısı.....	31
Şekil 4.3. Doğal bir antioksidan olan $\alpha$ -tokoferol ve onun suda çözünen analogu olan troloksun kimyasal yapıları.....	31
Şekil 4.4. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) yapraklarının etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu$ g/ml) indirgeme kuvvetlerinin $\alpha$ -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması.....	32
Şekil 4.5. Alıç( <i>Crataegus monogyna</i> ) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu$ g/ml) kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan $\alpha$ -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması.....	33
Şekil 4.6. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi.....	34
Şekil 4.7. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) yapraklarının etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarda (10–30 $\mu$ g/ml) DPPH serbest radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHT, $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	35
Şekil 4.8. Standart bir fenolik bileşik olan ve aynı zamanda kuvvetli antioksidan olan galik asitin açık yapısı .....	36
Şekil 4.9. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için hazırlanan standart grafik .....	37
Şekil 4.10. Standart ve kuvvetli bir antioksidan olan kuersetinin açık yapısı .....	38

Şekil 4.11. Toplam flavonoit miktarı tayini için hazırlanan standart grafiği .....	39
Şekil 5.1. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalının giderilmesi .....	49
Şekil 5.2. L-Karnitin ile DPPH radikali arasında öne sürülen radikal giderme mekanizması.....	46

**TABLULAR LİSTESİ**

	Sayfa
Tablo 1.1. Reaktif oksijen türleri .....	2
Tablo 1.2. Reaktif azot türleri .....	3
Tablo 4.1. Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> ) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin 1 mg'ında bulunan toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarının ekivalent olarak miktarı .....	37

## 1.GİRİŞ

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda, yaşlanma, kanser ve dejeneratif hastalıklarda (kardiyovasküler hastalıklar, katarak gibi) anahtar rolü vücutta bulunan serbest radikallerin üstlendiği belirlenmiştir (Atoui *et al.*, 2005). Serbest radikaller, vücutta meydana gelen normal fizyolojik prosesler ve patolojik şartlar altında oluşmaktadır (Mathew and Abraham, 2006 ).

Serbest radikaller ile ilgili çalışmalar Gomberg'in 1900'larda trifenilmetil radikalının ( $\text{Ph}_3\text{C}\cdot$ ) varlığını ispatlamasıyla başladı (Gomberg, 1900). Serbest radikaller, bir orbitalde bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal türlerdir. Radikallerin aktiviteleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle radikal olmayan türlerden daha az kararlıdır. En basit serbest radikal, bir proton ve bir elektron ihtiva eden hidrojen atomudur. Hemen her radikal türü diğer bir radikali veya molekülü farklı bir mekanizma ile etkileyebilir. Bu tür etkileşimlerin seçiciliği, radikallerin konsantrasyonuna, radikalde bulunan ortaklanmamış elektronların lokalizasyonuna ve radikallerin etkileştiği moleküllerin zayıf bağlar içermesine bağlıdır (Uğuzlar, 2009; Weiss, 1935; Waters, 1943; Hey, 1973; Cadogan, 1973; Moad, 1995; Perkins, 1996).

Serbest radikal çiftlenmemiş tek elektronlu atomik ya da moleküler yapılara verilen isimdir. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere 'oksidan moleküller' veya 'reaktif oksijen türleri' de denilmektedir (Çavdar *et al.*, 1997).

Oksijen ve diğer türevleri reaktivitesi yüksek moleküllerdir ve proteinler, lipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerek fonksiyon azalmasına ya da yok olmasına sebep olabilirler. Bu etkilerinden dolayı bunlara reaktif oksijen türleri (ROS) denmektedir. Tablo 1.1.'de bazı reaktif oksijen türleri verilmiştir (Halliwell, 1996).

**Tablo 1.1.** Reaktif oksijen türleri

<b>Radikaller</b>	<b>Formülü</b>	<b>Nonradikaller</b>	<b>Formülü</b>
Süperoksit	$O_2^{\bullet -}$	Hidrojen peroksit	$H_2O_2$
Hidroksi	$OH^{\bullet}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksi	$ROO^{\bullet}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksi	$RO^{\bullet}$	Ozon	$O_3$
Hidroperoksi	$HOO^{\bullet}$	Singlet oksijen	$^1\Delta_g \ ^1O_2$

Reaktif oksijen türleri (ROS), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet -}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ )' dir. Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu radikalik zincir reaksiyonlarını başlatabilirler 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 olurlar (Dawn *et al.*, 1996; Akkus, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Ashwood, 1999).

Bu reaktif türlerden dolayı, moleküler oksijen( $O_2$ ) yaşam molekülü olduğu kadar, ölümün molekülü de olabilir.  $O_2$ , anaeroplara için öldürücü ya da gelişimi durdurucu etkiye sahiptir. Bazı anaeroplara düşük oksijen konsantrasyonlarında (Örneğin: *Bacteroides fragilis* veya *Clostridium novyi* Tip A) yaşayabilirken bazıları da (*Treponema denticola* ve bazı *Clostridia* türleri) ancak oksijenin hiç olmadığı ortamlarda yaşayabilirler. Anaeroplara gelişebilmek için indirgeyici bileşiklere ihtiyaç duyarlar.  $O_2$  ise hücre bileşenlerini oksitleyerek anaeroplara biyosentetik reaksiyonları için gerekli olan bu indirgeyici maddeleri ortadan kaldırır.  $O_2$ 'in indirgenmesi ayrıca reaktif oksijen türlerinin de oluşmasına sebep olur. Bunlar

hücreye zarar verirler, yeni reaktif türlerin oluşumuna ve hücrenin ölümüne neden olurlar (Ünal, 2006).

Anaeroplardaki bazı enzimler doğrudan O<sub>2</sub> tarafından da inhibe edilebilirler. Örneğin; *Clostridium pasteurianum*'un nitrogenaz enzimi, O<sub>2</sub> ile inaktive olmaktadır. Nitrogenaz enzimi, havadaki azot gazını (N<sub>2</sub>) amonyağa (NH<sub>3</sub>) çevirerek, sınırlı azot bileşiklerinin bulunduğu ortamlarda organizmanın hayatta kalmasını sağlar. Ancak tüm azot bağlayan türler anaerop değildir (Ünal, 2006).

Reaktif oksijen türlerinin yanı sıra bazı reaktif azot türleri de (RNS) vücutta meydana gelmektedir. **Tablo 1.1** ve **1.2**'de gösterilen reaktif oksijen ve reaktif azot türleri oksidatif strese en çok sebep olan önemli faktörlerdendir. (Köksal, 2007; Aruoma ve Cuppett, 1997).

**Tablo 1.2.** Reaktif azot türleri

<b>Radikaller</b>	<b>Formülü</b>	<b>Nonradikaller</b>	<b>Formülü</b>
Nitrik oksit	NO•	Nitröz asit	HNO <sub>2</sub>
Azot dioksit	NOO•	Nitrozil katyonu	NO <sup>+</sup>
		Nitroksi anyonu	NO <sup>-</sup>
		Diazot tetraoksit	N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
		Peroksinitrit	ONOO <sup>-</sup>
		Peroksinitröz asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
		Alkilperoksi nitritler	ROONO

Reaktif türlerden bazıları insan metabolizmasının vazgeçilmez bir parçasıdır ve anormal şartlarda konsantrasyona bağlı olarak artış görülebilir. Bazı reaktif türler ise insan vücudunda çok az üretilir ya da hiç üretilmez; dış kaynaklı olarak alınabilir.

Sigara dumanı, hava kirliliği, pestisitler, radyasyon, serbest geçiş metali iyonları gibi iç ya da dış kaynağa bağlı olarak reaktif türler meydana gelebilir (Köksal, 2007; Gülçin *et al.*, 2003).

Radikaller eşleşmemiş elektronları eşleştirme (karşısındaki atom ya da molekülden elektron alma veya verme) eğiliminde oldukları için kararsızdırlar ve bu kararsızlıkları onların kimyasal olarak aktif olmalarını sağlar (Köksal, 2007).

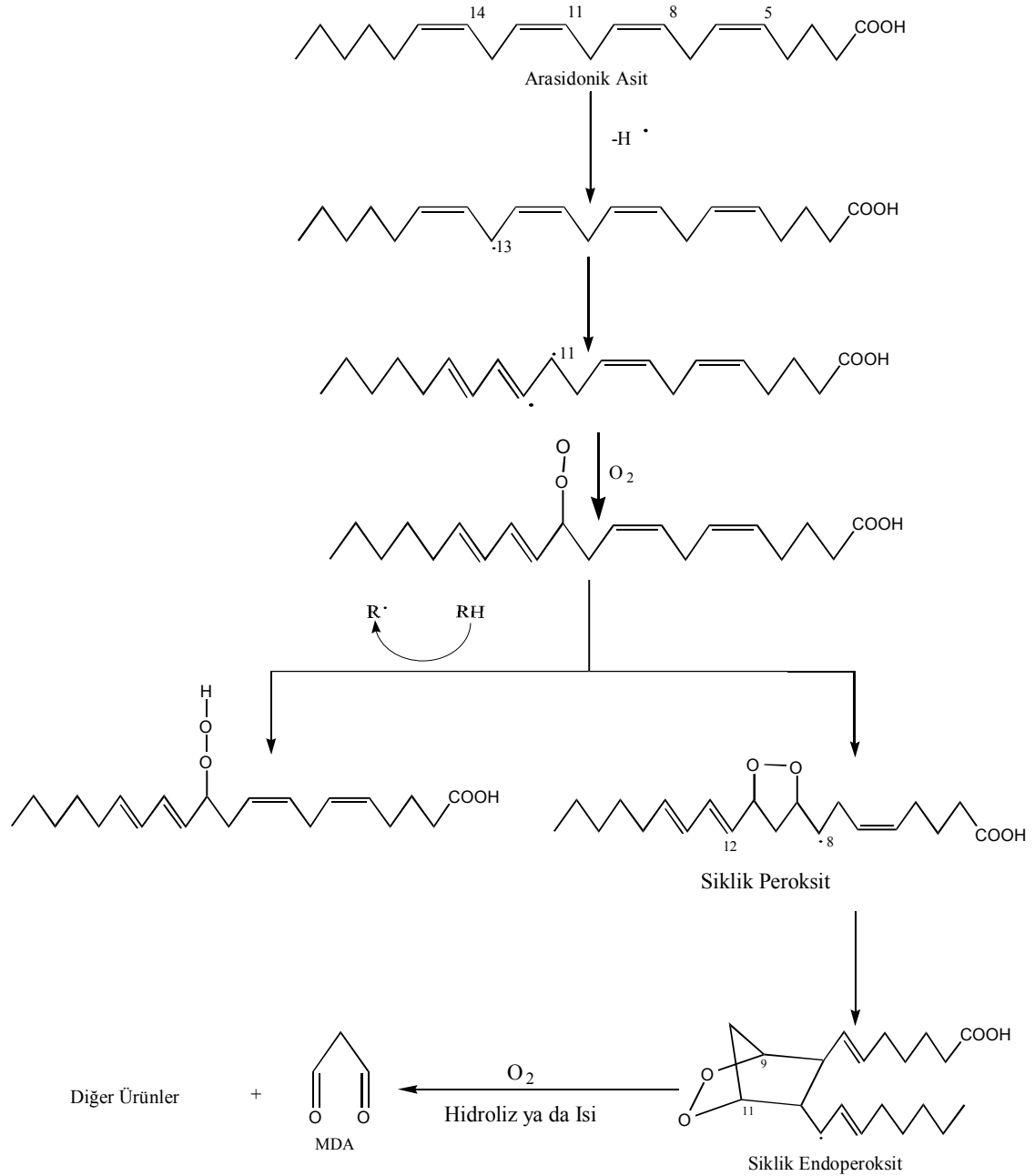
Reaktif türlerin zararlı etkilerinin temel sebebi radikal olmaları, radikal oluşumuna sebep olabilmeleri veya yükseltgeme potansiyellerinin daha yüksek olmalarından kaynaklanmaktadır. Oksidatif stres sürecinde meydana gelen reaktif oksijen türleri nükleik asitleri, proteinleri ve lipitleri oksitleyebilir (Stadtman, 2002). Reaktif oksijen türleri ile biyomoleküller arasındaki reaksiyon, radikalik zincir reaksiyonu şeklinde olduğu için, oksidatif hasar da zincirleme şeklindedir. Bu zincirleme reaksiyon, yeni reaktif türler oluşturmakta ve bunlar da diğer biyomoleküllere zarar vermektedir. Bu durum organizmada ilerleyen dönemlerde daha belirgin hal almaktadır (Berlett ve Stadtman, 1997; Szweda *et al.*, 2002; Stadtman, 2002; Sohal, 2002; Grune *et al.*, 2004).

Oksidatif stres süresince üretilen reaktif türlerin yaşlanmaya sebep olduğu da bilinmektedir. Çünkü yaşlanmayla beraber reaktif oksijen türlerinin biyomoleküller üzerindeki oksidatif hasarda bir artış söz konusudur (Berlett ve Stadtman, 1997; Szweda *et al.*, 2002; Stadtman, 2002; Sohal, 2002; Grune *et al.*, 2004). Ayrıca oksidatif hasarın birçok hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber, *in vivo* olarak proteinlerin fonksiyonel olarak değişmeleri için yeterli olacak derecede oksidasyon bilinmemektedir (Heinecke, 2002).

Reaktif oksijen türleri tarafından en fazla etkilenen moleküllerin, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Organizmada yeterli miktarda reaktif atom ya da molekül varlığında lipit peroksidasyonu kolaylıkla başlayabilir. Oksijenin sebep olduğu lipit peroksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur (Aruoma ve Cuppett, 1997). Lipit peroksidasyonu, hücrenin hayati fonksiyonları için



de zararlıdır (Davies, 2000). **Şekil 1.1**'de araşidonik asidin otooksidasyon mekanizması gösterilmektedir.



**Şekil 1.1.** Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması (Gülçin, 2002).

Ayrıca zamanla arterlerin yağ birikmesi sonucu daralması ve sertleşmesi olayı olarak bilinen aterosklerozisin gelişmesinde lipit peroksidasyonunun, özellikle de LDL'nin

oksidatif modifikasyonunun katkısı oldukça büyüktür (Devaraj ve Jialal, 1998; Kaul *et al.*, 2001; Heinecke, 2002).

Proteinler de lipitler gibi oksidatif stresten etkilenirler. Proteinlerin oksidasyonu genellikle OH• tarafından başlatılır ve sürecin seyri oksijen, süperoksit ya da onun protonlanmış hali olan HO<sub>2</sub>• tarafından belirlenir (Berlett ve Stadtman, 1997). Diğer reaktif türler de protein oksidasyonunda yer alabilirler (Dalle-Donne *et al.*, 2003). Reaktif oksijen türleri amino asit rezidülerinin yan zincirlerini de oksitleyebilir. Bu şekilde istenmeyen protein-protein etkileşimleri oluşabilir ve proteini parçalayabilecek şekilde protein iskeletini oksitleyebilirler. Benzer oksidatif hasarlar serbest geçiş metal iyonlarının varlığında da olmaktadır (Berlett ve Stadtman 1997; Stadtman 2002). Protein yan zincirlerinde bulunan özellikle prolin, arginin, lisin ve treonin gibi amino asitler oksitlendiği zaman, aldehitler ve ketonlarda olduğu gibi karbonil grupları oluşur. Bu gruplar kimyasal olarak kararlıdır ve proteinlerin oksidatif parçalanması sonucu oluşabilmektedirler (Dalle-Donne *et al.*, 2003). Ayrıca kanser çeşitleri, Parkinson ve Alzheimer gibi birçok hastalığın DNA'nın oksidatif hasarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Evans *et al.*, 2004).

Reaktif türlerin yukarıda bahsedilen olumsuz etkilerine karşılık, aeroplara bu etkileri önleyecek ya da tolere edecek sistemlere sahiptir. Oksidatif hasarın önündeki en önemli engel, atmosferdeki oksijen konsantrasyonu (150 mmHg) ile dokulardaki oksijen konsantrasyonu (30 mmHg) arasındaki büyük farktır (Mavi, 2005).

Canlı organizmanın serbest radikallere ve normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendini koruması gerekir. Reaktif oksijen ve azot türlerine karşı özellikle aeroplara çeşitli savunma sistemlerine sahiptir. Bu sistemler genel olarak “Antioksidan Sistem” olarak bilinirler (Bursal, 2009). Antioksidanlar vücudumuzda lipid peroksidasyonu ve diğer serbest radikalik reaksiyonları inhibe ederek radikal giderici olarak görev görürler. Bu şekilde radikallerden kaynaklanan çeşitli hastalıkları engellerler (Gençaslan, 2007).

Organizmada sürekli reaktif oksijen ve azot türleri (ROS ve RNS) üretilmekte, buna karşılık antioksidan sistem tarafından istenilmeyen bu etkiler giderilmektedir. Bu

durum bir denge halinde süreklilik arz eder. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması ise ‘‘Oksidatif Stres’’ olarak deęerlendirilir (Köksal, 2007).

Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen ve azot türlerinin miktarında artış olur ve dolayısıyla bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Bu durumdan başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere metabolizmadaki birçok sistem olumsuz etkilenir (Lambeth, 2004). Olumsuz etkilenen bu sistemler, diğer periferik sistemleri de etkilerler ve zincirleme olarak devam eder. Bu durum radikalik zincir reaksiyonu sonlanıncaya kadar antioksidan sistem tarafından prosesin bir yerinde devam eder. Aksi durumda bu reaktif türler hücrenin doğrudan ya da dolaylı olarak ölümüne sebep olurlar (Moldovan ve Moldovan, 2004).

Antioksidanların bitkisel kaynaklı olanları serbest radikal giderici, peroksit parçalayıcı, oksidatif enzim inhibitörü ve sinerjist olarak fonksiyon görürler (Larson, 1988). Antioksidanlar; ‘‘enzimatik ve enzimatik olmayan yapılardan oluşan radikalleri ve onların reaksiyonlarını önlemeye çalışan maddeler’’ olarak tanımlanabilir (Fidan ve Dünder, 2007).

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek metabolizmanın onlardan etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Serbest radikallerin yüzden fazla hastalığa sebep olduğu bilinmektedir (Arouma, 1997). Bu hastalıkların başında kalp ve kardiyovasküler hastalıklar, kanserler ve artirit gelmektedir. Antioksidanlar hepimizin bildiği C vitamini , E vitamini ve A vitaminin ön maddesi olan  $\beta$ -karoten, bitki ve sebzelerin genelde renkli maddelerini oluşturan flavonoidler ve bunlardan elektron alan selenyum, çinko gibi maddelerdir. Serbest radikaller, en dış yörüngede bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomlardan elektron almaya çalışan atomlardır (Çalışkan, 2006).

Serbest radikal oluşturan kaynaklar radyasyon, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği oluşturan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler

gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir (Çalışkan, 2006).

Genelde oksijen, hidrojen ve hidroksi tipinde olan bu serbest radikaller ( $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot$ ,  $\text{HOO}\cdot$  gibi) elektron açıklarını elektron verme özelliği yüksek olan antioksidanlardan sağarlarsa bir başka biyomolekülü indirgememiş olurlar ya da serbest radikaller tarafından etkilenmiş biyomoleküller, antioksidanlardan elektron alarak yenilenebilir. Teorik olarak mümkün görünse de antioksidanların vücudun tüm bölümlerine mesela beyin omurilik sıvısına, kemik iliği veya bazı dokulara, kanda bulunduğu konsantrasyonda girmesi mümkün değildir. Bunun yanı sıra, antioksidanlar elektron aldıklarında bu elektronları verebilecekleri başka akseptörlerinde yanlarında bulunması gerekir. Belki bu nedenle doğal olarak alınan birbirine benzer ve bir arada bulunan antioksidanlar ilaç gibi alınan saf ve tek tip antioksidanlardan daha değerlidirler. Antioksidanlar açısından zengin olan beslenme alışkanlıklarında bazı hastalıkların az görünmesi söz konusudur. Bu konuda Fransızlarda kalp hastalığının, Güneydoğu Asya da yaşayanlarda meme kanserinin az bulunması örnek olarak verilebilir (Çalışkan, 2006).

Genel bir tanım olarak antioksidan, oksidasyona karşı koyan ve oksijen ya da peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyen maddedir. Bu maddelerin çoğu çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Biyolojik olarak ise antioksidan madde, havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik veya doğal madde olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar geniş bir alana sahiptir. Oksijen ve azot 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 *et al.*, 2005).

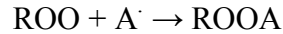
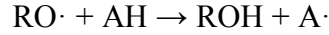
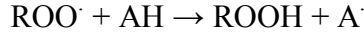
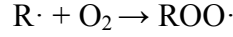
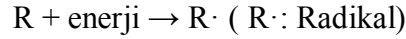
Temel antioksidan kaynakları dörde ayrılmıştır (Prior *et al.*, 2005).

- 1- Enzimler (Süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz)
- 2- Büyük moleküller (Albumin, Ferritin ve diğer proteinler)

- 3- Küçük moleküller (Askorbik asit, urik asit, tokoferol, karotenoidler, polifenoller)  
 4- Bazı hormonlar (Östrojen, melatonin)

Hidrojen atomu verme kabiliyetine sahip kimyasal bileşenler de antioksidan aktivite gösterirler. Böylelikle, radikalleri radikal olmayan kimyasal türlere çevirerek, okside olmuş antioksidan radikallere dönüşürler. Antioksidanların molekül yapısı sadece hidrojen atomu verme açısından değil, aynı zamanda radikalleri düşük reaktiviteli hale getirip lipitler ile reaksiyona girmesini engellemesi açısından da oldukça uygundur (Madhavi, 1996).

Antioksidan etki mekanizması basitçe aşağıda gösterildiği gibidir.



Aktif bir antioksidanın molekülü ( $A\cdot$ ) enerjisini radikal moleküllerine aktarmamakta, genellikle inaktif moleküllere okside olmaktadır (Tozoğlu, 2011, Gülçin, 2002).

Her bir oksidan ve antioksidan farklı kimyasal ve fiziksel karaktere sahiptir. Her bir antioksidan reaksiyon sistemine bağlı olarak çoklu mekanizmaları ile ya da farklı bir tekli mekanizma ile rol alabilir. Ayrıca antioksidanlar, farklı radikal ya da oksidan kaynağa karşı farklı cevap verirler. Örneğin; Karotenoidler, fenoller ile kıyaslandığında peroksil radikallerine karşı iyi radikal yakalayıcısı değildirler. Öte yandan singlet oksijene karşı fenolik ve diğer antioksidanlar neredeyse etkisiz kalırken karotenoidler iyi bir radikal giderici etkiye sahiptir (Prior *et al.*, 2005).

Bir maddenin antioksidan kapasitesi fiziksel faktörler, substrat faktörleri, gıda maddesinin fizikokimyasal durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Yüksek oksijen basıncı, oksijenle temas yüzeyinin genişliği, ısıtma ve ışığa maruz kalma gibi durumlar zincir reaksiyonunun başlama ve yayılma basamaklarını hızlandırdığından antioksidan aktivite azalacaktır. Farklı sıcaklıklarda antioksidan aktivite değişiklik gösterir. Antioksidan aktivitesi konsantrasyonun yükselmesi ile artar. Oksidasyonun yeterli bir derecede engellenebilmesi için konsantrasyon belli bir kritik değerin üzerinde olmalıdır (Pokorny *et al.*, 2001).

Canlılarda antioksidan sistemleri, metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınan (ekzojen) antioksidan sistemler olmak üzere iki türdür (Gülçin, 2001). 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. En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini),  $\beta$ -karoten (A vitamini) ve polifenolik yapıdaki bileşikler sayılabilir. Doğal antioksidanlar yeşil sebzelerde (Gülçin *et al.*, 2004), tohumlarda (Gülçin *et al.*, 2005a), baklagiller ve meyvelerde, A vitamini, C vitamini, E vitamini ve bazı B vitamini içeren besinlerde bol miktarda bulunur (Cao *et al.*, 1996; Gülçin *et al.*, 2005).

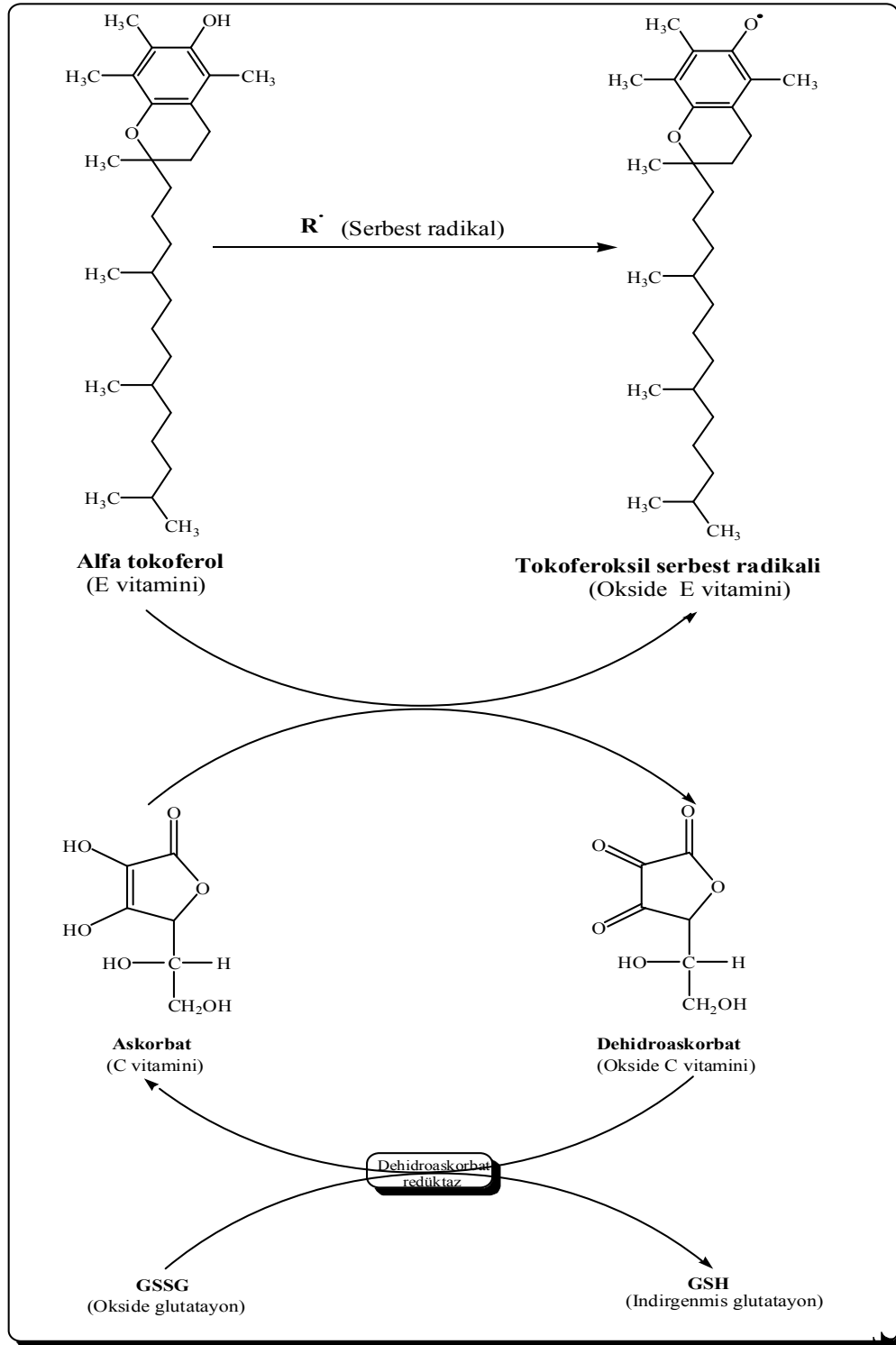
Sentetik antioksidanlara bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer bütihidrokinon (TBHQ), propil galat (PG) ve troloks gibi maddeler örnek verilebilir. Sentetik antioksidanlar genellikle gıdalarda oluşan problemleri çözmede ve gıdaların raf ömürlerini uzatmak amacıyla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

Doğal antioksidanlar bitkilerin bütün kısımlarında mevcuttur. Bunlar karotenoitler, vitaminler, fenoller, flavonoitler, 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 (Larson, 1988).

Sebze ve meyveler de birçok antioksidan içerirler (Cao *et al.*, 1996). Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt *et al.*, 1990). Bundan dolayı bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi, kanser ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir (Ames *et al.*, 1993). En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoitler ve skualen sayılabilir. Askorbik asit bitkiler ve birçok memeli tarafından karaciğerde glukozdan sentezlenir. Askorbik asit bazı enzimlerde kofaktör olarak görev yapar. Bunlardan en önemlisi, kollagenin biyosentezinde yer alan prolinin hidroksiproline enzimatik hidroksilasyonu gibi hidroksilasyon reaksiyonlarına katılmasıdır. Ayrıca askorbik asit dopamin- $\beta$ -hidroksilaz aktivitesi için de gereklidir (Padayatty *et al.*, 2003; Arrigoni ve De Tullio, 2002).

Askorbik asitin en önemli özelliği indirgeyici bir molekül olmasıdır. Askorbik asit  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeyebilir. *In vivo* olarak indirgeyici özelliğinden dolayı, bazı organik radikallerin söndürülmesinde de önemli rolü vardır. Ayrıca  $\alpha$ -tokoferol lipit serbest radikallerini söndürdükten sonra **Şekil 1.2'**de görüldüğü gibi tokoferoksil radikale dönüşmektedir. Tokoferoksil radikali ise askorbik asit tarafından tekrar yenilenir ve tekrar  $\alpha$ -tokoferole dönüştürülmektedir (Köksal, 2007).



**Şekil 1.2.**  $\alpha$ -Tokoferolün lipit serbest radikallerini ( $R^\bullet$ ) söndürdüktan sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi ve tekrar C vitamini tarafından rejenere edilmesi (Gülçin, 2002).



Demir ve bakır iyonlarının, hidroksilasyonu gerçekleştirebilmeleri için hidroksilaz enzimlerinin aktif merkezlerinde indirgenmiş halde bulunmaları gerekir. Bu özellik, bir kofaktör olan askorbik asit tarafından sağlanır. Bir molekülün indirgeme kapasitesi onun antioksidan potansiyelinin bir göstergesidir. Oksidasyona uğrayan moleküller, indirgeme potansiyelinin yüksek olmasından dolayı askorbik asit tarafından indirgenebilirler. Bu sebeple askorbik asit antioksidan kapasite sergilemektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Doğal antioksidanlardan biri olan polifenolik bileşiklerin çıkış maddeleri fenoldür. Fenolik bileşikler, bitkilerin yaprak, dal, meyve ve çiçeklerinde güneş ışığı yardımıyla fotomorfogenez reaksiyonları sonucu oluşan organik bileşiklerdir (Jung *et al.*, 2005). Fenolik bileşikler miktarca bitkilerde fazladır. Flavonoidler; inflamasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerin aktivitelerini inhibe ederler ve hormonların zararlı etki oluşturmalarını engelleyerek mikrozomal lipid peroksidasyon reaksiyonlarını önleyebilirler (Fidan ve Dündar, 2007).

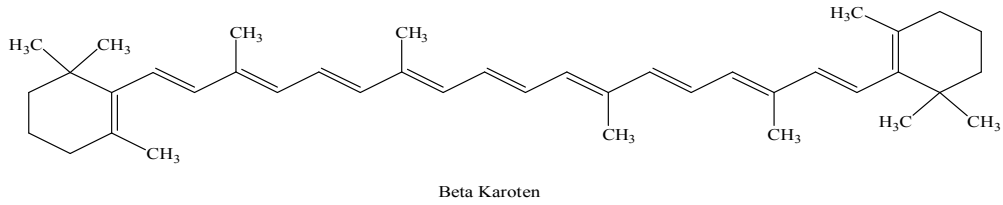
Fonksiyonel besinlerden biri olan flavonoidler antioksidan aktiviteye sahiptirler. Tüm flavonoidler 3'- 4' dihidroksi konfigürasyonuna sahiptirler ve buna bağlı olarak antioksidan aktivite gösterirler (Fidan ve Dündar, 2007).

Flavonoidler ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek ve süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif aktivite gösterirler (Fidan ve Dündar, 2007).

Diğer bir önemli antioksidan E vitamini'dir. Tokoferoller, E vitamini olarak da bilinir. Tokoferoller içerisinde biyolojik açıdan en önemli olanı  $\alpha$ -tokoferoldür. Tokoferoller, gıda maddelerinin bozulmasını engelleyen ve uzun ömürlü olmalarında rol oynayan önemli bir doğal antioksidan gruptur (Ruiz-Lopez *et al.*, 1995). Mitokondri membranında yaklaşık 2000 fosfolipid başına bir  $\alpha$ -tokoferol bulunmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

E vitamini eksikliğinde birçok canlıda bazı olumsuz etkiler görülmüştür. Bu etkiler ise ekzojen antioksidanlar tarafından tolere edilmektedir. Bu durum, E vitamininin *in vivo* olarak lipid peroksidasyonunu önleyici bir rol üstlendiğini göstermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Bir başka antioksidan olan  $\beta$ -karoten bitkilerde bulunan ve  $\alpha$ -tokoferol gibi peroksil ve alkoksil radikalleri ile reaksiyona girebilen bir moleküldür. Bu sebeple lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu engelleyebilir. Ayrıca iyi bir singlet oksijen söndürücüdür (Halliwell ve Gutteridge, 1989).



**Şekil 1.3.** Önemli bir antioksidan olan  $\beta$ -karotenin yapısı (Köksal, 2007).

Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıl ve baklagillerde, meyvelerde, şifalı bitkilerde ve bitki kaynaklı içeceklerde bol miktarlarda bulunur (Foo ve Porter 1981; Namiki 1990). Bu kaynaklarda bulunan antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler gibi fenolik bileşikler, alkaloidler, klorofil, protein, amin gibi azotlu bileşikler, polifonksiyonlu organik asitler ve karotenlerdir (Larson, 1988; Hudson, 1990; Aruoma ve Cuppett, 1997; Endo *et al.*, 1985). Maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlar yirminci yüzyılın başlarından beri kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kanserejen olabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına dair ciddi sınırlama veya yasaklar getirilmiştir (Haigh, 1986; Van Esch, 1986). Sentetik antioksidanlar hakkındaki bu şüpheler, doğal antioksidanlara olan eğilimi arttırmış ve bu alandaki çalışmalar ise bitki kaynaklı antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Doğal kaynaklı E ve C vitamini uzun yıllardır besinlerde ayrı ayrı veya sinerjistik etkiden dolayı birlikte antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak tokoferol ve askorbik asidin antioksidan aktivitesi nispeten sentetik antioksidanlardan daha düşüktür (Nishina, 1991).

Biyolojik sistemlerde katalaz (CAT), peroksidaz (POD), glutatyon redüktaz (GSSG-Rx) ve süperoksit dismutaz (SOD) antioksidan etkiye sahip başlıca enzimlerdendir. Vücutta görev yapan antioksidan enzimler aktivitelerini doğrudan ve dolaylı olarak gerçekleştirmelerine göre iki ayrı grupta incelenebilir. Doğrudan antioksidan aktivite gösteren enzimlerin en önemlileri arasında CAT, POD ve SOD sayılabilir. Dolaylı yoldan aktivite gösteren enzimlerin en önemlileri ise glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz ve kinon redüktaz enzimleridir. Bundan dolayı savunma sisteminde CAT, POD, GSSG-Rx ve SOD gibi antioksidan enzimler büyük öneme sahiptir (Mavi, 2005).

Alıç yaprağı, Hawthorn (*Crataegus monogyna*) türlerinden olan 10 m kadar yükselebilen, dikenli, beyaz, veya pembe çiçeklere sahip ağacın yaprak kısımlarıdır. Türkiyede 20 kadar *Crataegus monogyna* türü bulunmaktadır. Meyve 6-10 mm çapında 1-3 tohumlu, esmer-kırmızı veya kırmızı renklidir. Batı ve güney Anadoluda yaygın bir bitkidir. (Baytop, 1999)



Şekil.1.4. Alıç (*Crataegus monogyna*) ağacının meyve ve yaprak kısımları



**Şekil.1.5.** Alç (*Crataegus monogyna*) ağacının meyve ve yaprak kısımları

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisi Anadolu ve Avrupada yaygın bir ağaç olup, Beyazdiken, Ekşi Muşmula, Edran, Geviş, Yemişen, Geyikdikeni, Kuşyemişi gibi farklı adlarla anılmaktadır. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yaprağı ve çiçeği Alman resmi gazetesinde 19.07.1994 tarihinde (Heftnummer:133, ATC-code:c01EF) yayımlanarak modern bitkisel ilaç olarak kabul edilmiştir. Günümüzde modern tıbbi tedavinin vazgeçilemez bir parçası olarak kullanılmaya devam edilmektedir, Avrupa'da hazır ilaç olarak da (Crægium, Crataegutt, Crataegysat, Faros, Orthangin) bulunmaktadır. Alıç yaprağı ve çiçeği ESCOP ve WHO monografilerinde de yer almaktadır. Alıç (*Crataegus monogyna*) ağacının (*Crataegus monogyna laevigata* DC, C. Monogyna JE, C. Oxyacantha ve ilaç rehberinde yer alan diğer türler) çiçeklenme dönemi başlangıcında 7 cm.ye kadar dal uçları yaprak ve çiçekleri toplanıp gölgede kurutularak kullanılır.

Literatürde alıç (*Crataegus monogyna*) ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bunların başında alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin *in vivo* ve *in vitro* ortamda antioksidan etkileri ve selenite bağlı katarakt önleme etkisi gelir. (Wang *et al.*, 2011) Diğer bir çalışmada ise alıçın fenolik asit içeriği ve *in vitro* ortamda antiradikal özellikleri değerlendirilmiştir (Öztürk ve Tuncel, 2011). Wang ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise alıç (*Crataegus monogyna*) meyvesinin antioksidan kapasitesi belirlenmiştir (Wang *et al.*, 2011). Ayrıca alıç (*Crataegus monogyna*) meyvesinin mikro dalga destekli ekstraksiyonunun antioksidan aktivitesi ve polifenollerin yüzey metodolojisi araştırılmıştır (Liu *et al.*, 2010). Park ve arkadaşları da alıç (*Crataegus monogyna*) meyvesinin olgunlaşma evrelerinde fenolik miktar ve antioksidan aktivite değişimine bakmıştır (Park *et al.*, 2010). Yine alıç (*Crataegus monogyna*) ve ginkgo (mabet ağacı) bitki ekstraktlarının fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesi üzerinde çalışılmıştır (Bernatonieneae *et al.*, 2010). 2010 yılında Liu ve arkadaşları alıç (*Crataegus monogyna*) meyvesinde bulunan pirosiyanidin optimizasyonu, saflaştırılması ve antioksidan aktivitesi üzerinde çalışmıştır (2010). Ayrıca alıç meyvelerinin taze ve kurutulmuş hallerinin fenolik profilleri ve antioksidan aktiviteleri hakkında da çalışılmıştır (Froehlicher *et al.*, 2009).

Dalli ve arkadaşları da 2008 yılında alıç (*Crataegus monogyna*) özütlerinin insandaki nütrofil fonksiyonları inhibe edici etkisi üzerinde çalışma gerçekleştirmiştir (2008). Yine alıç (*Crataegus monogyna*) türlerinin serbest şeker karakterizasyonu hakkında ayrı bir çalışmada mevcuttur (Balta *et al.*, 2007). Başka bir çalışmada ise alıç (*Crataegus monogyna*) meyvelerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiştir (Özcan *et al.*, 2005).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (Ferrozin), linoleik asit,  $\alpha$ -tokoferol, polioksietilensorbitan monolaurat (Tween-20) ve trikloroasetik asit (TCA), Potasyum ferrisiyanür ( $K_3Fe(CN)_6$ ), Potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ), Gallik asit, FCR, Kuarsetin, Alüminyum nitrat ( $Al(NO)_3$ ), trikloroasetikasit (TCA) Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Almanya'dan satın alındı. Amonyum tiyosiyanat Merck'ten satın alındı.

##### 3.1.2. Yararlanılan Malzeme, Alet ve Cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1208
Derin dondurucu	: Sanyo, Japan
pH-metre	: Hanna Instrument
Hassas terazi	: Scaltec SBA 41
İnkübatör	: Elektro-Mag (0-300°C)
Otomatik pipetler	: Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
Vorteks	: Fisons, Whirlimixer
Evaporatör	: Heidolph 94200, Bioblock Scientific
Saf su cihazı	: Firstreem Calypso MK 1 Glass Still
Magnetik karıştırıcı	: Stuart Scientific
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm <sup>3</sup> 'lük Kuartz Küvet



### 3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

#### 3.1.3.a. Toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,04 M pH: 7,4 fosfat tamponu hazırlanması: 1,135 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  alındı 180 ml destile suda çözüldü ve pH-metre kullanılarak pH'sı 7,4'e ayarlandı. Destile su ile toplam hacmi 200 ml'ye tamamlandı.
2. Linoleik asit emülsiyonunun hazırlanması: 0,017 M'lık linoleik asit emülsiyonu hazırlamak için 265  $\mu\text{l}$  linoleik asit 50 ml ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.
3. %3,5'luk HCl çözeltisinin hazırlanması: %37'lik HCl'den 9,46 ml alınarak 100 ml'ye destile suyla tamamlandı.
4. 20 mM  $\text{FeCl}_2$  çözeltisi hazırlanması: 281 mg  $\text{FeCl}_2 \cdot 3/4\text{H}_2\text{O}$ , %3,5'luk HCl ile çözümlenerek hacim aynı çözeltiyle 100 ml'ye tamamlandı.
5. %30'luk  $\text{NH}_4\text{SCN}$  çözeltisinin hazırlanması: 15 g  $\text{NH}_4\text{SCN}$  saf suda çözüldü ve hacim 50 ml'ye tamamlandı.

#### 3.1.3.b. $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{Fe}^{2+}$ indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,2 M pH: 6,6 fosfat tamponunun hazırlanması: 6,24 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  yaklaşık 180 ml destile suda çözüldü ve pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlandı. Toplam hacim 200 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.
2. %1'lik  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  çözeltisinin hazırlanması: 1,5 g  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  destile suda çözüldü ve toplam hacim 150 ml'ye destile su ile tamamlandı.

3.  $10^{-3}$ luk TCA çözeltisinin hazırlanması: 15 g TCA destile suda çözüldü ve toplam hacmi 150 ml'ye destile suyla tamamlandı.
4. %0,1'lik  $\text{FeCl}_3$  çözeltisinin hazırlanması: 165 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

### 3.1.3.c. $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^{+}$ indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,01 M'lık  $\text{CuCl}_2$  çözeltisinin hazırlanması: 47 mg  $\text{CuCl}_2$  alındı ve 50 ml destile suda çözüldü.
2.  $7,5 \times 10^{-3}$  M'lık etanolik neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 78 mg Neokuprin alındı ve 50 ml etanolde çözüldü.
3. 1M'lık  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  tamponunun hazırlanması (pH: 6,5):7,7 g  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  alındı ve 80 ml saf suda çözüldü, pH-metre ile pH'sı 6,5'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye saf su ile tamamlandı

### 3.1.3.d. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler

1.  $10^{-3}$  M'lık DPPH• çözeltisinin hazırlanması: 39 mg DPPH• saf etanolda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca etanolda manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 200 ml'ye tamamlandı.

**3.1.3.e. Toplam fenolik bileşik miktar tayininde kullanılan çözeltiler**

1. %2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi: 2 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100 ml'lik balon jode 80 ml saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.
2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

**3.1.3.f. Toplam flavonoit miktar tayini ile ilgili çözeltiler**

1. 1 M'lık  $\text{CH}_3\text{COONa}$  çözeltisi: 8,2 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  alınıp 80 ml saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.
2. %10'luk  $\text{AlNO}_3$  çözeltisi: 10 ml  $\text{AlNO}_3$  alınıp hacmi destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının toplanması ve kurutulması**

Deneyleerde kullanılan alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yaprak kısımları Erzincan ili İliç ilçesi Bağıštaş köyünden 2011 yılı mayıs ayı sonlarında temin edildi. Erzincan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Korkmaz tarafından tanımlandı. Daha sonra bitki yaprakları küçük parçalara ayrılarak oda sıcaklığında gölgede kurutuldu. Kurutulan nümuneler deneyleerde kullanılmaya kadar karanlıkta muhafaza edildi.

#### **3.2.2. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının etanol ekstresinin hazırlanması**

Etanol ekstresi için blenderde öğütölmüş ve toz haline getirilmiş alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yaprağından 20 g numune 1 litrelik ağzı kapalı erlende numunenin yirmi katı etanol ile (400 ml) manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca karıştırıldı. Elde edilen etanol ekstresi süzgeç kâğıdından süzöldü. Süzölmüş ekstreler birleştirilerek evaporatörde 40°C’de etanol uzaklaştırıldı.

#### **3.2.3. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini**

Toplam antioksidan aktivite tayini ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Mitsuda *et al.*, 1966). Öncelikle stok çözeltiler hazırlandı. Bu amaçla 20 mg etanol ekstreleri 20’şer ml etanolde çözünenek hazırlandı. İstenilen miktarlara karşılık gelen konsantrasyonlarda stok çözeltilerden vezin kaplarına otomatik pipetlerle pipetlendi ve hacim tampon çözeltiliyle 2,5 ml’ye tamamlandı.

Daha sonra her bir vezin kabına 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak 2,5 ml tampon çözelti ve 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. İnkübasyon 37°C’de gerçekleştirildi.

Her altı saatte bir vezin kaplarından 100’er µl alındı 4,7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu 100 µl Fe<sup>2+</sup> çözeltisi daha sonra da 100 µl SCN<sup>-</sup> çözeltisi ilave edildi. Kör olarak 4,8 ml etanol bulunan deney tüpüne 100 µl Fe<sup>2+</sup> ve 100 µl SCN<sup>-</sup> çözeltilerinin ilavesiyle hazırlandı. Numunelerin 500 nm’deki absorbanları köre karşı okundu.

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

Toplam indirgeme kuvveti tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı (Yen ve Chen 1995). Taze hazırlanan stok çözeltilerden 10, 20 ve 30 µg/ml olacak şekilde alındı ve deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 1 ml’ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2,5 ml 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6) ve 2,5 ml %1’lik potasyum ferrisiyanür [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] ilave edildikten sonra karışım 50°C’de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 ml %10’luk triklorasetik asit (TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2,5 ml alındı ve bunun üzerinede 2,5 ml destile su ve %0,1’lik 0,5 ml FeCl<sub>3</sub> ilave edildikten sonra absorban 700 nm’de köre karşı okundu. Kör olarak destile su kullanıldı. Kontrol olarak numune yerine su kullanıldı.

#### 3.2.5. Cu<sup>2+</sup>- Cu<sup>+</sup> indirgeme kuvveti tayini

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin kuprik iyonu (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme kapasiteleri Apak ve arkadaşlarının kullandığı Kuprak metodunun (2006) hafif bir modifikasyonuna göre yapıldı. Bunu için deney tüplerine 0,01 M’lık 0,25 ml CuCl<sub>2</sub> çözeltisi ilave edildi. Bunun üzerine 0,25 ml 7,5x10<sup>-3</sup> M’lık etanolde çözülmüş neokuprin çözeltisi ve 0,25 ml 1M’lık amonyum asetat tamponu aktarıldı. Çözelti karıştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlarda (10–30 µg/ml) alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının etanol ekstresi ve standartlar ilave edildi.

Yarım saatlik bir inkübasyondan sonra 450 nm'de absorbanları kaydedildi. Reaksiyon karışımının artan absorbanı artan kuprik iyon ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesini göstermektedir.

### 3.2.6. DPPH• serbest radikalleri giderme aktivitesi tayini

DPPH serbest radikal giderme Blois göre yapıldı metoduna (1958). Serbest radikal olarak DPPH•'ın 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 10, 20 ve 30  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH• çözeltisinden 1 ml ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbanları kaydedildi. Kontrol olarak, 3 ml etanol ve 1 ml DPPH• çözeltisi kullanıldı. Azalan absorban geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

### 3.2.7. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini

Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının etanol ekstresinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı FCR ile belirlendi (Singleton *et al.*, 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, 400, 500 ve 600  $\mu\text{g}$  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  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisinden 1,5 ml ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra numunelerin absorbanı 760 nm'de destile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol olarak numune yerine destile su kullanıldı.

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Gülçin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre değerlendirildi (Gülçin 2005).

Daha önce hazırlanan her bir stok çözeltiden 1000 µl alındı 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 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edildi. Numuneler iki saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu süre sonunda numunelerin absorbansı saf sudan oluşan köre karşı 760 nm'de okundu. Bu işlemler üçer defa tekrarlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit ekivalent miktarı standart grafikten elde edilen aşağıdaki denklem yardımıyla bulundu. Bulgular gallik asit ekivalent (GAE) ve mikrogram olarak verildi (r<sup>2</sup> 0,9884).

$$\text{Absorbans}_{(\lambda 760\text{nm})} = 0,002 \times [\text{Gallik asit}] + 0,0025$$

### 3.2.8. Toplam flavonoit miktarı tayini

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstralarında bulunan toplam flavonoit miktarı Park ve arkadaşlarının yapmış olduğu metoda göre toplam olarak belirlendi (1997). Standart flavonoit bileşik olarak kuarsetin kullanıldı. Bunun için önce standart grafik çizildi. Bu amaçla 25 mg kuarsetin 25 ml destile suda çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden 10, 20, 30, 40 ve 50 µg kuarsetin içeren çözelti deney tüplerine aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 0,1 ml (1 M) suda hazırlanmış CH<sub>3</sub>COOK ve 0,1 ml (%10) Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> çözeltilerini içeren 4,3 ml etanol çözeltisi ilave edilerek vortekste karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbansları etanolden oluşan köre karşı kaydedildi. Toplam flavonoit konsantrasyonu kuarsetinin standart olarak kullanıldığı aşağıda verilen standart grafik denkleminde mikrogram kuarsetin ekivalent (QE) ve mikrogram olarak hesaplandı (r<sup>2</sup>: 9785).

$$\text{Absorbans}_{(\lambda 415\text{nm})} = 0,0147 \times [\text{Kuarsetin}]$$

Alıç (*Crataegus monogyna*) yaprak kısımlarının etanol ekstralarında bulunan toplam flavonoit miktarını belirlemek için toplam fenolik bileşik miktarı tayininde kullanılan stok çözeltilerden deney tüplerine sırasıyla 1000 µg ekstre ihtiva eden stok çözelti aktarıldı.

Daha sonra ise deney tüplerine aktarılan farklı miktarlardaki ekstreler 0,1 ml (1M) suda hazırlanmış potasyum asetat ve 0,1 ml (%10) alüminyum nitrat çözeltilerini içeren 4,3 ml etanol çözeltisi ile seyreltildi ve vorteksde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbansları aynı şekilde kaydedildi.



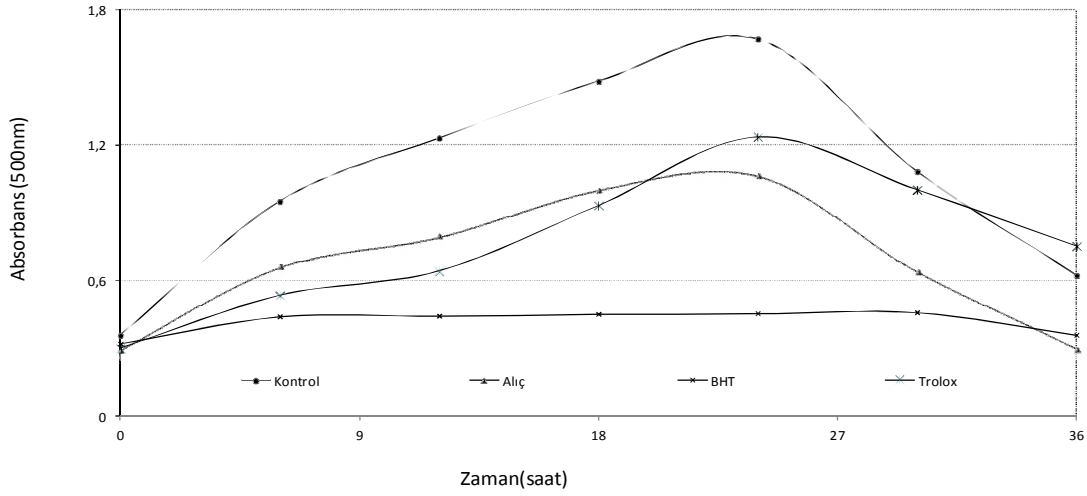
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Son yıllarda antioksidan aktivite gösteren bitkilerin gıda alanındaki kullanımları hakkında oldukça fazla sayıda çalışmalar yapıldı ve bu yoğun çalışmalar halen sürdürülmektedir. Bunun sebebi ise bitkilerin birer antioksidan olan karotenoit, flavonoit ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmaları ve herhangi bir yan etkiye sahip olmamalarıdır (Kulkarni *et al.*, 2006). Ayrıca sıklıkla kullanılan BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanların bazı yan etkilerinin bulunmasından sonra araştırmalar tamamen bitkisel orijinli antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Gülçin *et al.*, 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; 2006b). Mevcut çalışmada da bu metotlar kullanıldı ve bulgular bir doğal ve standart antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol, BHT, ve troloks gibi antioksidan aktiviteleri bilinen standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

##### 4.1. Antioksidan Araştırma Bulguları

###### 4.1.1. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite bulguları

Çalışmada kullandığımız Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstralarının antioksidan aktivitesi ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstralarının toplam antioksidan aktivite tayini için 10  $\mu$ g/ml konsantrasyonları kullanıldı (Şekil 4.1). Şekilde de görüldüğü gibi Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstralarının toplam antioksidan aktivitesi, artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmıştır.



**Şekil 4.1.** Aliç (*Crataegus monogyna*) bitkisinden elde edilen etanol ekstresinin 10 µg/ml konsantrasyonda toplam antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT ve troloks ile karşılaştırması

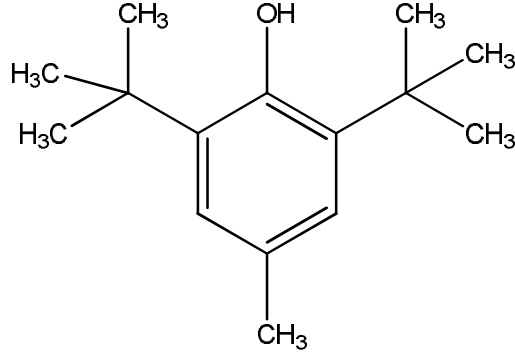
Etanol ekstresinin ve kullanılan standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunu inhibe etme yüzdeleri, kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon süresi olan yirmidördüncü saat temel alınarak hesaplanmış ve hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapılmıştır.

$$\text{Lipit peroksidasyonu inhibisyonu (\%)} = 100 - \left( \frac{A_{\text{Numüne}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \right)$$

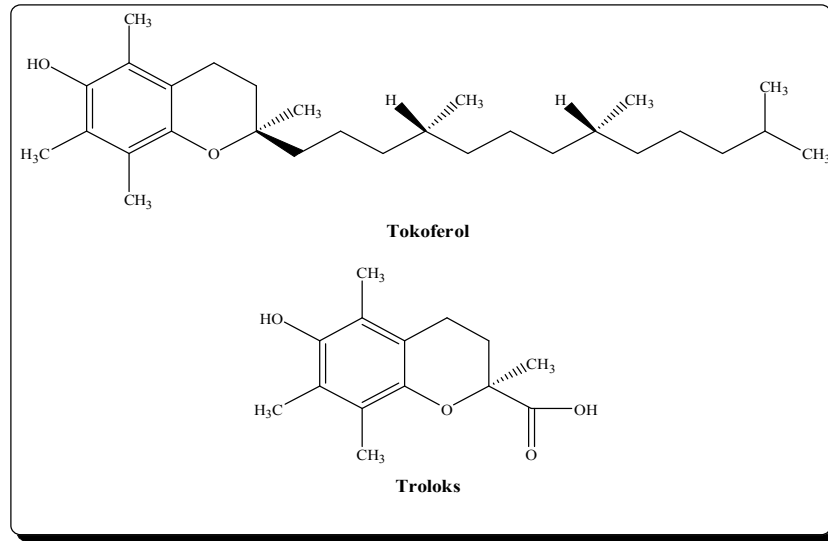
Burada  $A_{\text{Numüne}}$  farklı konsantrasyonlardaki ekstre değerlerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değeri,  $A_{\text{Kontrol}}$  ise kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak, troloks ve BHT kullanıldı (**Şekil 4.1**).

Karşılaştırmalar yapıldığında 10 µg/ml konsantrasyonunda Aliç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresi linoleik asit emülsiyonu peroksidasyonunu %40,9 inhibe ederken aynı konsantrasyonda BHT ve troloks linoleik asit peroksidasyonunu yine sırasıyla % 68,3 ve % 29,9 inhibe ettikleri gözlenmiştir.

Çalışmamızda referans antioksidan olarak kullanılan doğal bir antioksidan  $\alpha$ -tokoferol ile  $\alpha$ -tokoferolun suda çözünen analogu olan troloksun ve BHT'nin kimyasal yapıları Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de verilmiştir.



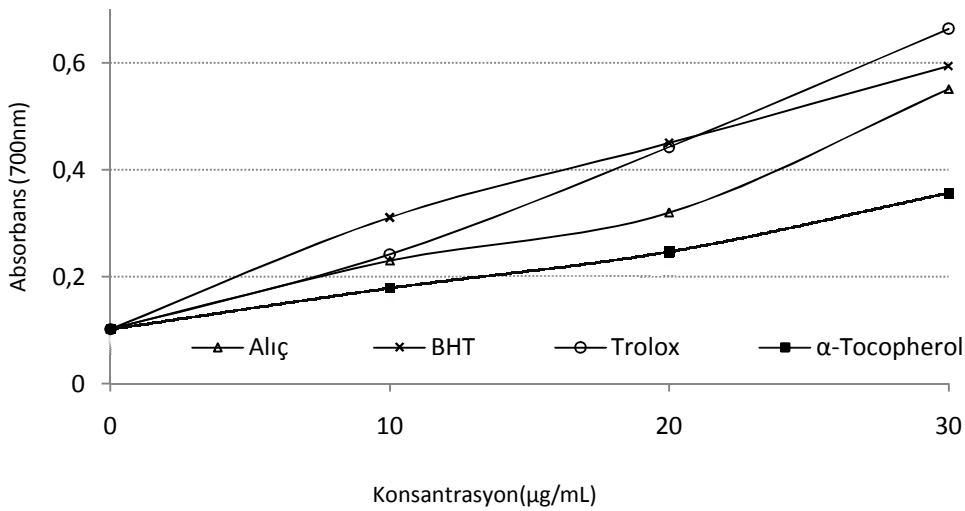
**Şekil 4.2.** Standart bir antioksidan olan BHT'nin kimyasal yapısı



**Şekil 4.3.** Doğal bir antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol ve onun suda çözünen analogu olan troloksun kimyasal yapıları (Köksal, 2007)

#### 4.1.2. Ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme kuvveti (FRAP metodu) bulguları

Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin 2006c; Gülçin *et al.* 2006d). Çalışmada kullanılan alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin indirgeme kapasitesi de toplam antioksidan aktivite gibi artan ekstre konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu ekstrenin indirgeme potansiyeli farklı konsantrasyonlardaki (10–30  $\mu\text{g/ml}$ ) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4.4). Şekilden de görülebileceği gibi indirgeme kapasitesi Trolox>BHT>Alıç> $\alpha$ -Tokoferol şeklinde tespit edilmiştir.

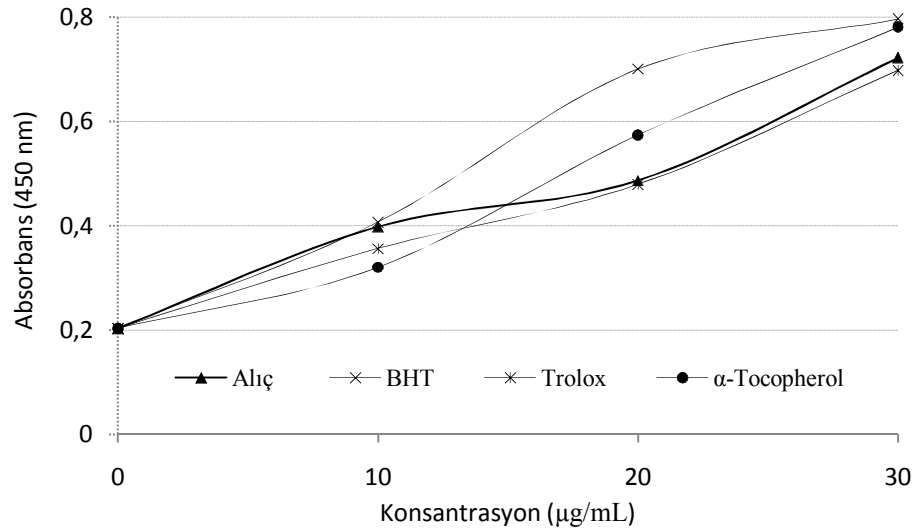


**Şekil 4.4.** Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

#### 4.1.3. Kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) kupröz iyonlarına ( $\text{Cu}^+$ ) indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) bulguları

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi, ferrik iyonlarını ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $\text{Fe}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi gibi ekstrenin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır ve alıç yapraklarının bakır iyonlarını indirgeme kapasitesi kullandığımız standartlardan troloksa göre daha yüksektir.

Bu ekstrenin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbanları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4.5).

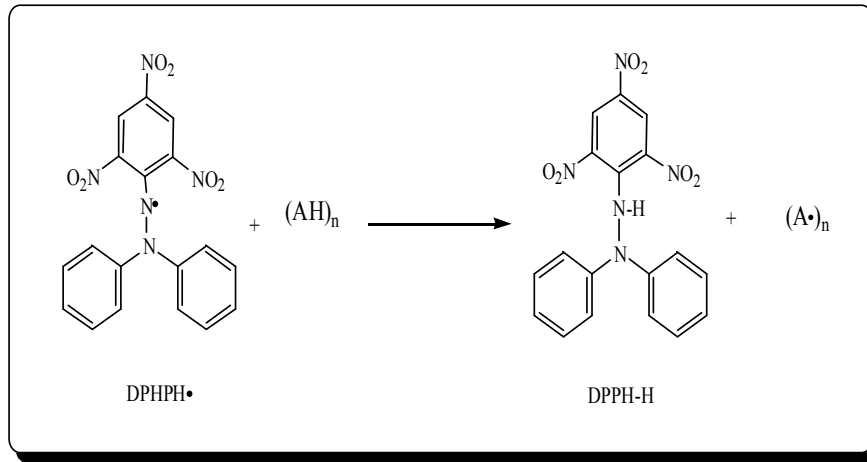


**Şekil 4.5.** Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10–30  $\mu\text{g/ml}$ ) kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

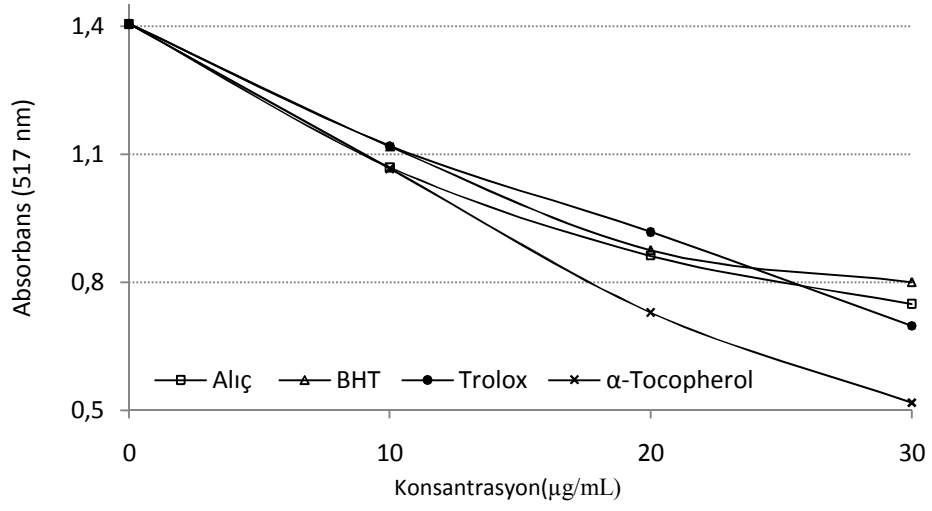
#### 4.1.4. DPPH' serbest radikal giderme aktivitesi bulguları

Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının, DPPH• serbest radikalini giderme aktivitesini tesbiti için yapılan çalışmada BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşikleri kullanılmıştır.

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının, DPPH serbest radikalinin giderilmesinde (Şekil 4.6) farklı etki göstermiştir. DPPH serbest radikalini, Şekil 4.7' den de görülebileceği gibi  $\alpha$ -Tokoferol>Trolox>Alıç>BHT şeklinde giderme aktivitesi tesbit edilmiştir. Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresi standartlara göre daha az fakat standartlara yakın miktarlarda giderdikleri gözlemlenmiştir. Bununla birlikte Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının BHT'ye göre daha fazla miktarda DPPH serbest radikali giderdiği belirlenmiştir.



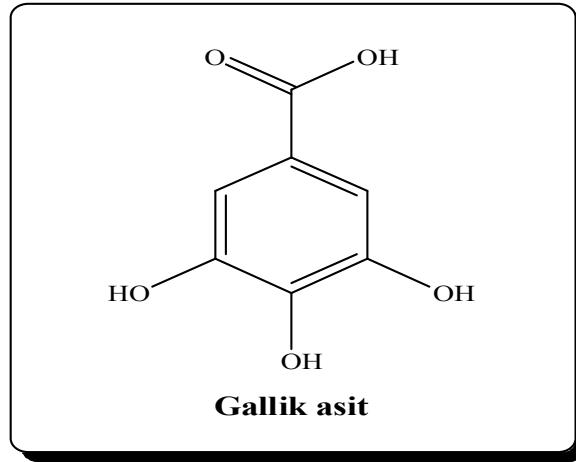
Şekil 4.6. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalini giderilmesi (Gülçin, 2002).



**Şekil 4.7.** Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yapraklarının etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarda (10–30 µg/ml) DPPH serbest radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHT, α-tokoferol ve trolox ile karşılaştırması

#### 4.1.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini bulguları

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstresinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı için standart fenolik bileşik olarak kullanılan galik asitin açık yapısı Şekil 4.8’de görülmektedir.

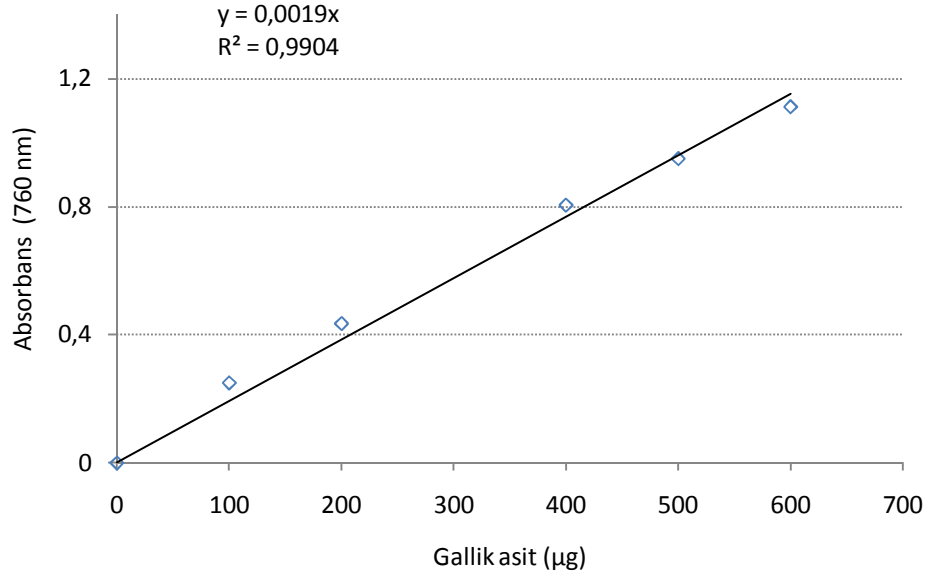


**Şekil 4.8.** Standart bir fenolik bileşik olan ve aynı zamanda kuvvetli antioksidan olan galik asitin açık yapısı

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 ( $r^2$ : 0,9904). Bu amaçla hazırlanan standart galik asit grafiği Şekil 4.9’da verilmiştir.

$$\text{Absorbans}_{(\lambda 760\text{nm})} = 0,0019 \times [\text{Gallik asit}]$$





**Şekil 4.9.** Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için galik asit ile hazırlanan standart grafik

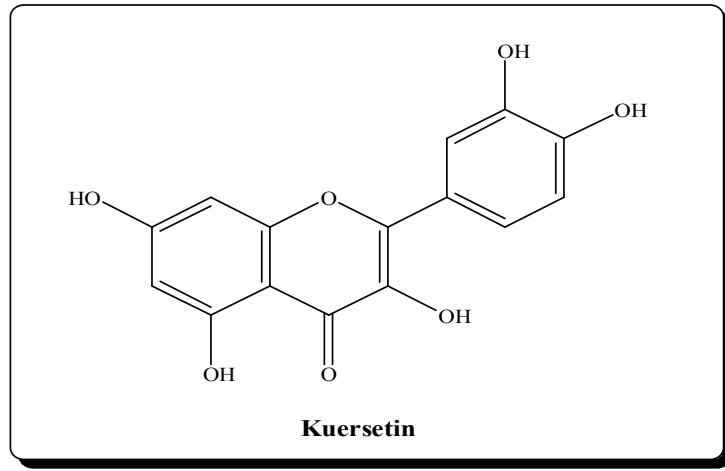
Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin 1 mg'da bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Tablo 4.1'de verilmiştir. Tablo da görüldüğü gibi Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstrlerinin 1 mg'da 161 µg GAE olarak fenolik bileşik bulundu.

	Toplam fenolik bileşik (µg GAE /mg ekstre)	Toplam flavonoid bileşik (µg QE /mg ekstre)
Alıç ( <i>Crataegus monogyna</i> )	161	55,6

**Tablo 4.1.** Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin 1 mg'ında bulunan toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarının ekivalent olarak miktarı

#### 4.1.6. Toplam flavonoid miktarı tayini bulguları

Şekil 4.12’de açık yapısı verilen ve birçok çalışmada standart antioksidan olarak kullanılan kuersetin (Büyükokuroğlu *et al.* 2001; Gülçin *et al.* 2004) çalışmamızda da standart flavonoit olarak kullanıldı. Flavonoidler iki fenil halaksının propan zinciri ile birleşmesinden meydana gelen difenil propan yapısındaki fenolik bileşiklerdir.



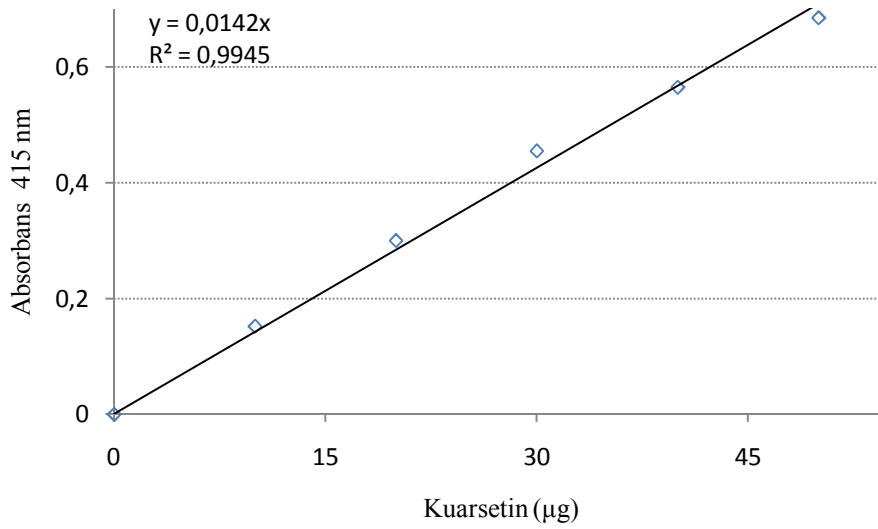
Şekil 4.10. Standart ve kuvvetli bir antioksidan olan kuersetinin açık yapısı

Flavonoitler antioksidan özelliğe sahip olup, kronik kalp hastalıkları gibi birçok hastalığı önleyen önemli bir doğal bileşik grubudur. Bitkilerden elde edilen flavonoitlerin UV ışınlarını absorblayan özellikleri ve antioksidan aktivitelerinden dolayı kanser tedavisinde kemoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Hertog *et al.* 1995). Ayrıca flavonoitlerin lösemi (Larocca *et al.* 1990; Hirano *et al.* 1994) ve yumurtalık kanseri (Benavente-Garcia *et al.* 1997) gibi kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Aliç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstresinde bulunan toplam flavonoit miktarı için öncelikle kuersetin kullanılarak bir standart grafik hazırlandı.

Standart grafikten elde edilen formül yardımıyla her iki ekstrede bulunan toplam flavonoit miktarı kuarsetin ekivalent (QE) olarak hesaplandı ( $r^2$ : 0,9945). Bu amaçla hazırlanan standart kuarsetin grafiği Şekil 4.11’de verilmiştir.

$$\text{Absorbans} = 0.0142x[\text{Kuarsetin}]$$



**Şekil 4.11.** Toplam flavonoit miktarı tayini için hazırlanan kuarsetinin standart grafiği

Toplam flavonoit miktarı tayininde Alıç (*Crataegus monogyna*) yaprak kısımlarından elde edilen 1 mg etanol ekstresinde bulunan toplam flavonoit miktarı **Tablo 4.1**'de verilmiştir. Tablo 4.1'de görüldüğü gibi Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen 1 mg etanol ekstresinde bulunan toplam flavonoit bileşik miktarı 55,6 µg QE olarak bulundu.

## 4.2. TARTIŞMA

Mevcut çalışmada Alıç (*Crataegus monogyna*) yaprak kısımlarının etanol ekstresinin antioksidan özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite,  $Fe^{3+}$ - $Fe^{2+}$  transformasyonu metoduna göre indirgeme kapasitesi, Kuprak metoduna göre kuprik iyonlarını ( $Cu^{2+}$ ) küpröz iyonlarına ( $Cu^+$ ) indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, toplam flavonoid miktarı tayini, toplam fenolik bileşik miktarı tayini gibi farklı biyoanalitik metotlar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı belirlendi. Kullanılan antioksidan ve antiradikal yöntemlerde bulunan aktiviteler kozmetik ve gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan  $\alpha$ -tokoferol ve onun da suda çözünen bir analogu olan troloks ile kıyaslamaları yapıldı. Doğal antioksidanların aktiviteleri, onların biyofonksiyonlarıyla yakından ilgilidir. Kronik hastalıkların, DNA hasarlarının, mutasyonların, karsinogenezin azaltılması, patojenik bakteriyel gelişiminin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde serbest radikallerin gelişiminin sonlandırılmasıyla yakından ilgili olduğu bilinmektedir (Zhu *et al.*, 2002).

Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin çalışılan konsantrasyonlarda (10–30  $\mu$ g/ml), artan konsantrasyon ile beraber toplam antioksidan aktivitede, indirgeme kapasitelerinde, DPPH radikal giderme aktivitelerinde de artış görülmüştür.

Antioksidan ve antiradikal çalışmaların mukayesesinde BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks gibi standart maddeler kullanıldı. Bazı antioksidan analizlerde Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin aktivitesinin kullanılan standartların aynı konsantrasyonlardaki aktivitelerinden daha yüksek olduğu gözlemlendi. Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinin metal indirgeme ve serbest radikal giderme kapasiteleri ile onların fenolik ve flavonoid içerikleri arasında korelasyonun olduğu görülmektedir.

Fenolik bileşikler özellikle flavonoidler hidroksil guruplarında bulunan hidrojenlerini kolaylıkla verebilirler. Çünkü fenolik bileşiklerdeki oksijen ile hidrojen arasındaki bağ, oluşacak fenol radikalinin rezonans kararlılığından dolayı kolaylıkla homolitik olarak parçalanabilir ve böylece üzerinde bir tane elektron bulunduran hidrojen kolaylıkla verilebilir.

Lipit peroksidasyonu, gıda maddelerinin işlenmesinde ve muhafazasında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Yağlarda ve yağlı yiyeceklerde sadece yiyecekleri bozmakla kalmaz, aynı zamanda kansere, mutasyonlara ve yaşlanmaya sebep olan peroksi (ROO•) ve hidroksi (OH•) radikalleri ile reaktif oksijen türleri ve serbest radikalleri de meydana getirir (Yagi, 1987). Lipitlerin oksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur. Çoklu doymamış yağ asitleri, doymuş yağ asitlerine göre hidrojen koparmasıyla oluşan radikalın çift bağın konjugasyonu ile kararlı hale getirmesi ve böylece de hidrojenin daha kolay koparılmasına sebep olmasından dolayı, otooksidasyona daha yatkındırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Bitkilerden elde edilen ekstre veya onlardan saflaştırılmış maddelerin toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için birçok metot mevcuttur (Miller *et al.* 1996). Lipit peroksidasyonunun izlenmesi ve inhibisyonunun ölçülmesi şeklinde ifade edilebilecek total antioksidan aktivite tayini Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarının etanol ekstresinde gerek metal indirgeme ve gerekse DPPH serbest radikal giderme çalışmalarından farklı sonuçlar sergilemiştir. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yaprak kısımlarının etanol ekstreleri metal indirgeme ve DPPH serbest radikal giderme ölçümlerinde yüksek aktivite gösterirken total antioksidan aktivite tayinlerinde durum tersine gerçekleşmiştir. Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin yaprak kısımlarının etanol ekstreleri standartlara oranla daha yüksek fenolik ve flavonoid bileşik içeriyor olması sebebiyle bu ekstrelerin daha iyi indirgen ve serbest radikal gideriyor olmaları gayet kolaylıkla izah edilebilir. Tam olarak bitkinin antioksidan etki mekanizmasının belirlenmesi için HPLC çalışmaları ile bu bitkinin yaprak kısımlarında bulunan bileşiklerin kalitatif ve kantitatif olarak aydınlatılması gerekmektedir.

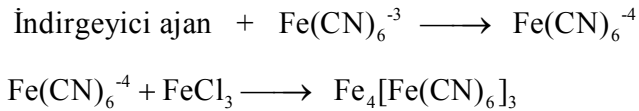
## 5. SONUÇ

Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan kapasite biyoaktif bileşenleri için en çok kullanılan parametreden biridir. Ferrik tiyosiyonat metodu, lipid peroksidasyonu boyunca meydana gelen peroksitin miktarını ölçer. Bu analizde, hava oksijeni tarafından oksitlenen ve emülsiyonda linoleik asidin peroksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler dolaylı olarak ölçülür. Bu metodun esası, linoleik asit emülsiyonunun oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksidin spektrofotometrik olarak 500 nm'de ölçülmesine dayanır. Yüksek absorbands, peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Oluşan hidroperoksit ise  $Fe^{2+}$ 'yi  $Fe^{3+}$ 'e yükseltir. Daha sonra  $Fe^{3+}$ , ilave edilen amonyum tiyosiyanat ile kompleks oluşturarak 500 nm'de maksimum absorbands verir. Alıç (*Crataegus monogyna*) yapraklarından elde edilen etanol ekstresi 30 µg/ml konsantrasyonunda linoleik asit emülsiyonu peroksidasyonunu %40,9 inhibe ederken aynı konsantrasyonda BHT, ve troloks linoleik asit peroksidasyonunu sırasıyla %68,3 ve %29,9 inhibe ettikleri gözlenmiştir.

Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin etanol ekstresinin toplam antioksidan aktivitesinde olduğu gibi indirgeme kapasitesinde de artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. İlk bakışta oksidasyonun indirgeme gücü yüksek olan ekstrelere daha kuvvetli bir şekilde bastırılacağı düşünülebilir. İndirgeme gücü bir bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesinde önemli bir faktördür (Meir *et al.* 1995). Ancak herhangi bir saf maddenin antioksidan özelliği farklı mekanizmalar üzerinden gidebilir. Örneğin, oksidasyonun geçiş metalleri tarafından hızlandırıldığı bir sistemde, antioksidan bileşiğin indirgeme gücü antioksidan özellik yönünden önemli değildir. Ama bileşiğin sadece metal şelatlama özelliğinin olması bile böyle bir sistemde oksidasyonu durduracak veya hızını yavaşlatacaktır. Enzimatik sistemlerde katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin antioksidan özelliği, onların indirgeme güçlerinden veya fenolik bileşik içeriklerinden değil, hidrojen peroksiti uzaklaştırabilme özelliklerinden kaynaklanır (Halliwell and Gutteridge 1989).

Oksidasyonun singlet oksijen tarafından indüklendiği sistemlerde ise etkili antioksidanlar karotenoitlerde olduğu gibi singlet oksijeni giderebilen bileşiklerdir (Halliwell and Gutteridge 1989). Özetle antioksidan bileşikler antioksidan aktivitelerini geçiş metal iyonlarını bağlama, peroksitleri parçalama, hidrojen abstraksiyonunu engelleme, radikal giderme gibi değişik mekanizmalar ile ortaya koyabilirler (Diplock 1997).

Biyoaktif bileşiklerin indirgeme gücünü yansıtan, elektron verme kapasitesinin antioksidan aktivite ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Arabshahi-Delouee and Urooj 2006). Antioksidanlar indirgeyici olabilir ve bir maddenin başka bir maddeyi yükseltgeyerek indirgenmesi reaksiyonu olarak tanımlanan redoks reaksiyonlarında, redüktantlarla oksidanların stabilizasyonu şeklinde olabilir. Bir bileşiğin ya da ham ekstraktın indirgeme kapasitesi  $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{+3}$ 'nin  $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{+2}$ 'ye indirgenmesiyle ölçülebilir. İndirgenmiş ürüne  $\text{Fe}^{3+}$ 'un ilavesi, 700 nm'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  oluşumuna yol açar. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla artan indirgeme kapasitesini göstermektedir.



Bu analizde test çözeltilisinin sarı rengi, antioksidan örneklerin indirgeme kapasitesine bağlı olarak farklı yeşil ve mavi tonlarına dönüşür. Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir (Benzie and Strain 1996). İndirgeme potansiyelini ölçmek için tasarlanmış pek çok sayıda analiz modeli vardır (Wood *et al.* 2006). Mevcut çalışmada ferrik iyonlarını ( $\text{Fe}^{3+}$ ), ferröz iyonlarına ( $\text{Fe}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesinin yanısıra kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ), kupröz iyonlarına ( $\text{Cu}^+$ ) indirgeme kapasitesi de araştırıldı.

Kuprak metodu Apak ve grubu tarafından indirgeme gücü analizi için geliştirilen diğer önemli bir metottur. Bu metot, düşük maliyetli, hızlı ve kararlı bir metottur.

Ayrıca indirgeyici ajanın tipine veya hidrofiliğine bakılmaksızın, farklı antioksidanlar için uygulanabilir bir metottur. Kuprak metodu bir kromojenik redoks reaksiyonu olup fizyolojik pH'ya yakın bir pH'da (pH: 7) gerçekleştirilir (Apak *et al.* 2004). Bu metot, glutatyon gibi tiyol gurubu içeren antioksidanların aktivitelerinin ölçümünde sıklıkla kullanılır (Huang *et al.* 2005).

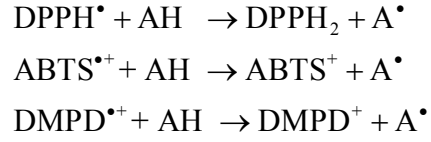
Yapılan çalışmalarda her iki indirgeme metodu arasında bir korelasyon vardır. Her iki metot için yapılan ölçümlerde Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin etanol ekstresinin iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Antioksidan bileşiklerin radikal giderme aktiviteleri, biyolojik sistemlerde, gıda ve farmasötik sanayilerinde serbest radikallerin sağlığa olan zararlı etkilerini gidermek açısından oldukça önemlidir. Bu sistemlerde serbest radikaller meydana gelmekte ve dolayısıyla farmasötik ve gıda sanayinde lipit peroksidasyonunu hızlandırmakta ve ürünün kalitesini düşürmektedir (Min 1998). Son zamanlarda sentetik serbest radikallerin giderilmesi ile ilgili birçok metot geliştirilmiştir. Bunların başında DPPH radikal giderme aktivitesi (Gülçin 2006d), ABTS<sup>•+</sup> giderme aktivitesi (Gülçin *et al.* 2006a), DMPD<sup>•+</sup> giderme aktivitesi (Basile *et al.* 2006), PMS–NADH–NBT sistemi (Gülçin, 2005), ksantin-ksantin oksidaz sistemi (Nagai *et al.* 2001) ve riboflavin-metiyonin-ışık sistemi (Zhishen *et al.* 1999) gibi sistemlerde oluşturulan süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi gibi radikal giderme metotları kullanılmaktadır. Bu kromojen radikal giderme metotları uygulama kolaylığı, hassaslıkları ve analizlerin kısa sürede uygulanabilirliği gibi avantajlardan dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Awika *et al.* 2003; Van den Berg *et al.* 2000; Yu *et al.* 2002).

DPPH•, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> radikallerinin kullanımına dayanan metotlar, yiyecek, içecek ve bitkisel ekstraların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için kullanılan en popüler spektrofotometrik metotlardır. Ayrıca DPPH•, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> giderme metotları hızlı, basit, seçici ve tekrarlanabilir prosedürler olmalarından dolayı antioksidan ekstre veya bileşiklerin aktivitesini belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Özçelik *et al.* 2003).

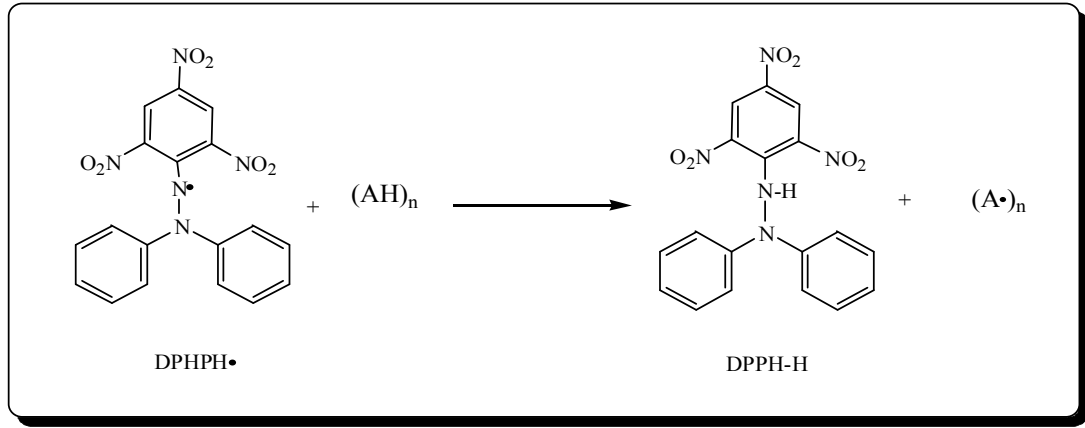


Bir antioksidan madde, bu radikal çözeltilerinden birine eklendiğinde; DPPH•, ABTS<sup>•+</sup> ve DMPD<sup>•+</sup> oluşumunu tersine çeviren antioksidanların varlığından dolayı bir renksizleşme oluşur.



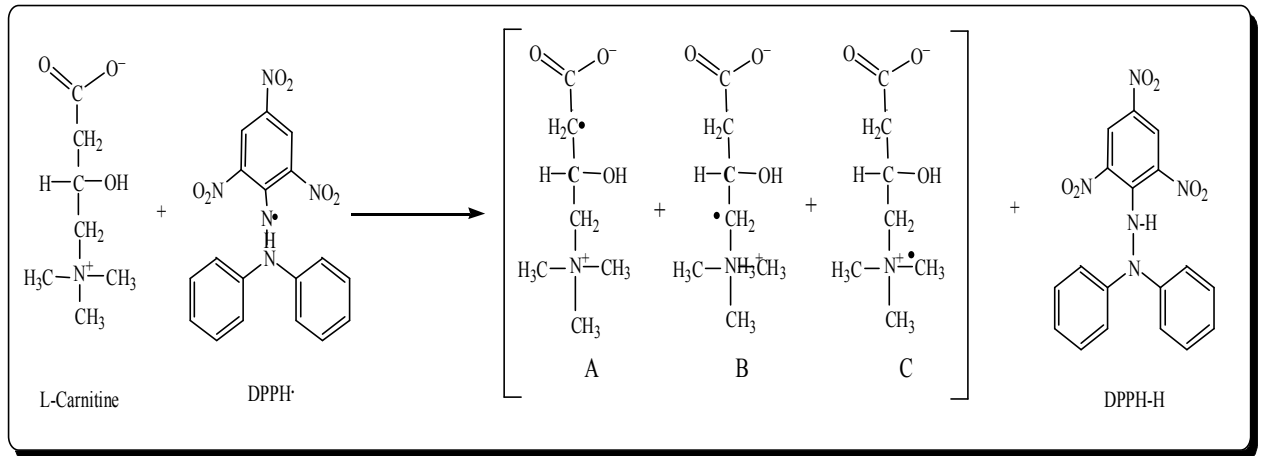
Menekşe renkli DPPH•, pembe renkli DMPD<sup>•+</sup> ve yeşil-mavi renkli ABTS<sup>•+</sup> kromojenlerini kullanmak kolaydır. Bu metotlar yüksek duyarlılığa sahiptir ve aynı zamanda çok sayıda nümunenin analizinde uygundur (Awika *et al.* 2003).

DPPH radikali uzun ömürlü ve azot merkezli bir radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en sık kullanılan metotlardan biridir (Özçelik *vd.* 2003). Bu metotta antioksidan maddeler DPPH radikallerini, sarı renkli difenil-pikrilhidrazine indirger. Bu metodun esası hidrojen veren guruplara sahip antioksidan maddelerin varlığında, alkolde çözünen DPPH radikallerinin redüksiyonuna dayanmaktadır. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi redüksiyon sonucu oluşan, 517 nm'de herhangi bir absorbans vermeyen ve radikal olmayan bir DPPH-H molekülü oluşmaktadır. Dolayısıyla DPPH radikali miktarındaki azalma 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek aktivite tayini yapılabilmektedir. Ortamda bulunan radikal giderici antioksidan veya antiradikal türlerin (AH)<sub>n</sub> varlığında DPPH radikali Şekil 5.1'de belirtildiği gibi indirgenmiş DPPH-H formuna dönüşmektedir (Gülçin 2002).



**Şekil 5.1.** Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi (Köksal, 2007)

Gülçin tarafından DPPH radikal giderme aktivitesi ile ilgili yapılan mekanistik bir çalışmada L-karnitin ile DPPH radikal giderme aktivitesi arasındaki mekanizma aydınlatılmıştır ve bu mekanizma Şekil 5.2’de özetlenmiştir (Gülçin 2006c).



**Şekil 5.2.** L-Karnitin ile DPPH radikali arasında öne sürülen radikal giderme mekanizması (Köksal, 2007)

L-Karnitinde bulunan karbonil gurubu,  $\alpha$ -karbonundaki konjugasyon ile oluşan radikali stabil hale getirir. L-Karnitin molekülünde karboksilat gurubu bir adet karbonil birimine sahiptir.

L-Karnitindeki iki nolü karbon atomundan bir hidrojeni kolayca koparılabilir ve bir L-Karnitin ara ürün radikali oluşabilir. Koparılan hidrojen tarafından da DPPH radikali söndürülebilir. Teorik olarak enerji hesaplamaları yapıldığında da gerçekten Şekil 4.6'da görüldüğü gibi karnitin ara ürün radikallerinden A'nın oluşumunun daha muhtemel olduğu ve diğer ara ürünlerden daha stabil bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışılan bitki ekstresinin standart olarak kullanılan  $\alpha$ -tokoferol ve trolokstan daha az fakat BHT ile yakın değerlerde DPPH serbest radikalının giderdiği belirlenmiştir.

Fenolik bileşikler, singlet oksijen kuençeri, superoksit anyon ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikalleri gidericisi ve metal iyonları şelatörlüğü gibi özelliklerinden dolayı yüksek seviyeli antioksidan bileşikler olarak adlandırılır. Yapılan toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktar tayinlerinde Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin etanol yüksek fenolik ve flavonoit bileşik içerdiği belirlenmiştir. Bu sonuç Alıç (*Crataegus monogyna*) bitkisinin etanol ekstresinin yüksek indirgeme ve serbest radikal giderme özelliklerinin açıklanması açısından önemli bir sonuçtur.

## KAYNAKLAR

Akkus, İ., ‘‘Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri’’, *Mimoz Yayınları*.  
Konya (1995).

Ames, B.M., Shigena, M.K., Hagen, T.M., ‘‘Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing’’, *Proceedings of national Academy of Sciences USA*, 90, 7915–7922 (1993).

Anşin, R., Özkan, Z.C., ‘‘Tohumlu bitkiler (*Spermatophyta*) odunsu taksonlar’’, *KTÜ Basımevi*, 2. Baskı, Trabzon, No: 167,119, 512 s. (1997)

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).

Arabshahi-Delouee S, Urooj A, ‘‘Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves’’, *Food Chemistry*, 102, 1233–1240, (2006).

Arrigoni, O., De Tullio, M.C., ‘‘Ascorbic acid: much more than just an antioxidant’’, *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 1569, 1-9 (2002).

Aruoma, O.I., Cuppett, S.L., ‘‘Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept’’, *AOCS Press*, Champaign, Illinois, p 241 (1997).

Balta, M.F., Yoeruek, I.H., Askin, M.A., ‘‘Characterization of free sugars in hawthorn (*Crataegus monogyna* spp.) species’’, *Asian Journal of Chemistry*, 5675-5680 (2007).

Baytop T., Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Savaş Cilt Evi, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 146-147, 194-195 (1999).

Benavente-Garcia, O., Casillo, O., Marin, F., Ortuno, A. and Del-Rio, J., "Uses and properties of citrus flavonoids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4505– 4515 (1997).

Berlett, B.S., Stadtman, E.R., "Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress" *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313–20316 (1997).

Bernatoniene, J., Petkeviciute, Z., Kalveniene, Z., Masteikova, R., Draksiene, G., Muselik, J., Bernatoniene, R., Lazauskas, R., Savickas, A., "The investigation of phenolic compounds and technological properties of Leonurus, Crataegus monogyna and Ginkgo extracts", *Journal of medicinal plants Research*, 925-931 (2010)

Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, 26, 1199–1200 (1958).

Bursal, E., "Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflastırılması ve karakterizasyonu", Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 6-9 (2009).

Burt S, Ca, Ashwood, Er., "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", *W.B. Saunders Company*, Philadelphia, Pennsylvania (1999).

Büyükokuroğlu, M.E., Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., "In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium", *Pharmacological Research*, 44, 491–495 (2001).

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

Çalışkan, E., "İğde çiçeği (*Elaeagnus angustifolia*) ve Kedi nanesi (*Nepeta catoria*) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi", *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, TOKAT, (2006).

Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., "Reactive oxygen particles and antioxidant defence", *Office Journal of the Turkish Nephrology*, Association, 2-4: 92-95 (1998).

Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, MC., Stella, L., Greco, E., "Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of *Laurus nobilis* L. Leaf Infusion", *Journal of Medicinal Food*, 869-876 (2009).

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Colombo, R., "Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress", *International Journal of Clinical Chemistry and Diagnostic Laboratory Medicine*, 329 (2003).

Dalli, E., Milara, J., Cortijo, J., Morcillo, EJ., Cosin-Sales, J., Sotillo, JF., "Hawthorn extract inhibits human isolated neutrophil functions", *Pharmacological Research*, 445-450 (2008).

Dawn, Bm, Allan, Dm, Colleen, Ms., "Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach", *Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore*, Maryland (1996).

Davies, K.J.A., "Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems", *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 50, 279-289 (2000).

Deiana, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, L., Bonsignore, L., Dessi, MA., "Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Daphne gnidium* L.", *Journal of the American Oil Chemists Society*, 65-70 (2003).

Devaraj S., Jialal, I., "The effects of alpha-tocopherol on critical cells in atherogenesis", *Current Opinion in Lipidology*, 9, 11-15 (1998).

Diplock, A.T., "Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease", *Free Radical Research*, 27, 511-532 (1997).

Endo, Y., Usuki, R., Kareda, T., ‘‘Antioxidant effects on chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark’’, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 62, 1387–1390 (1985).

Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M.S., ‘‘Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance’’ *Mutation Research*, 567, 1–61 (2004).

Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J.L., Trotin, F., Grec, S., ‘‘Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts’’, *Food Chemistry*, 897-903 (2009).

Fidan, A.F., Dündar, Y., ‘‘*Yucca Schidigera* ve içerdığı saponinler ile fenolik bileşiklerinin, hipokolesterolemik ve antioksidan etkileri’’, *Lalahan Hay. Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 47: 31-39 (2007).

Foo, L.Y., Porter, L.J., ‘‘The structure of tannins of some edible fruits’’, *Journal Science Food Agricultural*, 32, 711–716 (1981).

Gençaslan, G., ‘‘Türkiye’de tıbbi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin antioksidan etkilerinin taranması’’, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2-3 (2007).

Grune, T., Jung, T., Merker, K., Davies, K.J.A., ‘‘Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and ‘aggresomes’ during oxidative stress, aging, and disease’’, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 36, 2519-2530 (2004).

Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, 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 (2006a).

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., “Screening of antioxidant and antiradical activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* Tuber”, ***Phytomedicine***, 13, 343–351. (2006b).

Gülçin, İ., “Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine”, ***Life Sciences***, 78, 803–811, (2006c).

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., “Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-hederagenin”, ***Phytotherapy Research***, 20, 130–134,(2006d).

Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M.E., “Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.)”, ***Journal of Ethnopharmacology***, 90, 205–215, (2004c).



Halilova, H., Ercisli, S., ‘‘Several physico-chemical characteristics of cherry laurel (*Laurocerasus Officinalis* Roem.) Fruits’’, ***Biotechnology & Biotechnological Equipment***, 1970-1973 (2010).

Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., ‘‘Free radicals in biology and medicine’’, ***Clarendon Press***, 543, Oxford (1989).

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 (1996).

Haigh, R., ‘‘Safety and necessity of antioxidants: EEC approach’’, ***Food and Chemical Toxicology***, 24, 1031–1036 (1986).

Hassiotis, CN., Dina, EI., ‘‘The effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) on development of two mycorrhizal fungi’’, ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 628-634 (2011).

Heinecke, J.W., ‘‘Oxidized amino acids: Culprits in human atherosclerosis and indicators of oxidative stress’’, ***Free Radical Biology and Medicine*** 32, 1090-1101 (2002).

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).

Hirano, T., Gotoh, M., Oka, K., ‘‘Natural flavonoids and lignans are potent cytostatic agents against human leukemic HL-60 cells’’, *Life Science*, 55, 1061–1069 (1994).

Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L., ‘‘The chemistry behind antioxidant capacity assays’’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856 (2005).

Hudson, B.J.F., ‘‘Food Antioxidants’’, *Elsevier Applied Science, London and New York*, p 1–316.( 1990).

Jung, K.A., Song, T.C., Han, D.S., Kim, I.H., Kim, Y.E., Lee, C.H., ‘‘Cardiovascular protective properties Of kiwifruit extracts in vitro’’, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28: 1782-1785 (2005).

Kaul,N., Devaraj, S., Jialal, I., ‘‘alpha-Tocopherol and atherosclerosis’’, *Experimental Biology and Medicine*, 226 (1), 5–12 (2001).

Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S., ‘‘In vitro and in vivo effects of Laurus nobilis L. leaf extracts’’, *Molecules*, 3378-339 (2010).

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).

Kulkarni, S.D., Tilak, J.C., Acharya R., Rajurkar, N.S., Devasagayam, T.P.A., Reddy, A.V.R., ‘‘Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as an aunction of growth under different conditions’’, *Phytotherapy Research*, 20, 218–227 (2006).

Lambeth, J.D., ‘‘Nox enzymes and the biology of reactive oxygen’’, *Nature Reviews Immunology*, 4 (3), 181–189 (2004).

Larocca, L.M., Piantelli, M., Leone, G., Sica, S., Teofili, L., Benedetti-Panici, P., Scambia, G., Mancuso, S., Capelli, A., Ranelletti, F., "Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukemias: Growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids", *British Journal of Hematology*, 75, 489–495 (1990).

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

Liu, J.L., Yuan, J.F., Zhang, Z.Q., "Microwave-assisted extraction optimised with response surface methodology and antioxidant activity of polyphenols from hawthorn (*Crataegus monogyna pinnatifida* Bge.) fruit" *International Journal Of Food Science And Technology*, 2400-2406 (2010).

Liu, T.X., Cao, Y.N., Zhao, M.M., "Extraction optimization, purification and antioxidant activity of procyanidins from hawthorn (*C. pinnatifida* Bge. var. *major*) fruits" *Food Chemistry*, 1656-1662 (2010).

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

Mathew, S. and Abraham, T.E., "In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extracts assayed by different methodologies", *Food and Chemical Toxicology*, 44, 198-206 (2006).

Mavi, A., "İnsan eritrosit ve lökositlerinden süperoksit dismutaz enziminin saflaştırılması ve bazı ilaçların enzim üzerine etkilerinin incelenmesi", *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, s.52–53 ( 2005).

Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., Hadas, S.P., "Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves", *Journal Agricultural Food Chemistry*, 43, 1813-1819, (1995).

Miller, D.D., ‘‘Mineral’’, *Food Chemistry*, Fennema, O.R. (Ed.), Dekker: New York, p 618–649, (1996).

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Iwami K., ‘‘Antioxidativ action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid’’, *Eiyoto Shokuryo*, 19, 210–214. (1966).

Moldovan, L., Moldovan, N.I., ‘‘Oxygen free radicals and redox biology of organelles’’, *Histochemistry and Cell Biology*, 122, 395-412 (2004).

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

Nishina, A., Kubota, K., Kameoka, H., Osawa, T., ‘‘Antioxidizing component, Musizin, in *Rumex japonicus* Houtt’’, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68, 735-739 (1991).

Özcan, M., Haciseferogullari, H., Marakoglu, T., Arslan, D., ‘‘Hawthorn (*Crataegus monogyna spp.*) fruit: some physical and chemical properties’’, *Journal Of Food Engineering*, 409-413 (2005).

Öztürk, N., Tuncel, M., ‘‘Assessment of phenolic acid content and in vitro antiradical characteristics of hawthorn’’, *Journal Of Medicinal Food*, 664-669 (2011).

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).

Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L., ‘‘Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil’’, *Arquivos de Biologiae Tecnologia*, 40, 97–106 (1997).

Park, Y., Choi, S., Hwang, S., Lee, K., "Changes of phenolics and antioxidant activity during hawthorn (*Crataegus monogyna pinnatifida* Bunge) fruit ripening", *Planta Medica*, 1276-1277 (2010).

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, 3110-3113 (2005).

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

Politeo, O., Jukic, M., Milos, M., "Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*Laurus nobilis* L.) compared to its essential oil", *Croatica Chemica Acta*, 121-126 (2007).

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  $\alpha$ -tocopherol in virgin oil during microwave heating", *Lebensm WissTechnol*, 28, 644-646 (1995).

Stadtman, E.R., "Importance of individuality in oxidative stress and aging", *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 597-604 (2002).

Speroni, E., Cervellati, R., Dall'Acqua, S., Guerra, M.C., Greco, E., Govoni, P., Innocenti, G., "Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. Leaf extracts", *Journal Of Medicinal Food*, 499-504 (2011)

Sohal, R.S., "Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process", *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 37-44 (2002).

Szweda, P.A., Friguete, B., Szweda, L.I., "Proteolysis, free radicals, and aging", *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 29–36 (2002).

T\_Etz, Nw., "Clinical guide to laboratory tests", *W.B. Saunders Company*. Philadelphia, Pennsylvania (1995).

Tozoğlu F., "Erzincan kirazı (*Cerasus erzincanica*; Ş.Yıldırım) sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi" *Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*.Erzincan, (2011).

Türkoglu A., Duru M.E., Mercan, N., Kivrak İ., Gezer, K., "Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill", *Food Chemistry*, 267–273 (2006).

Uğuzlar, H., "Antalya'da yetişen *areceae arum dioscorides* tohumlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini", *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, KONYA (2009).

Ünal, E., "Türkiye florasında doğal olarak yetişen bazı bitki türlerinden antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi", *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı*, ERZURUM (2006).

Wang, H., Zhang, ZS., Guo, Y., Sun, P., Lv, XL., Zuo, YB., "Hawthorn fruit increases the antioxidant capacity and reduces lipid peroxidation in senescence-accelerated mice", *European Food Research And Technology*, 743-751 (2011).

Wang, T., Zhang, P., Zhao, CF., Zhang, Y., Liu, H., Hu, LM., Gao, XM., Zhang, DQ., "Prevention effect in selenite-induced cataract in vivo and antioxidative effects in vitro of *crataegus monogyna pinnatifida* leaves", *Biological Trace Element Research*, 106-116 (2011).

Wood LG, Gibson PG, Garg ML., "A review of the methodology for assessing in vivo antioxidant capacity", *Journal of Sciences of Food and Agriculture* 86, 2057–2066, (2006).

Van Esch, G. J., "Toxicology of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ)", *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1063–1066 (1986).

Yagi, K., "Lipid peroxides and human disease", *Chem. Phys. Lipids*, 45, 337–341 (1987).

Yen, G.C., Chen, H.Y., "Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27–32. (1995).

Zhu, Q.Y., Hackman R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R., Keen, C.L., "Antioxidative activities of oolong tea", *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 6929-6934 (2002).

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2005 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde öğrenimine devam etmektedir.



