

**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BAZI ŞİFALI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN  
İÇERİKLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Mehmet Emin DİKEN**

**Balıkesir, Temmuz 2009**

T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI ŞIFALI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN İÇERİKLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Emin DİKEN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap DOĞAN

Sınav Tarihi : 03.08.2009

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN

Doç. Dr. Serap DOĞAN (Danışman)

Doç. Dr. Turgut KILIÇ

Balıkesir, Temmuz 2009

## ÖZ

### BAZI ŞİFALI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN İÇERİKLERİ

Mehmet Emin DİKEN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi / Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap DOĞAN)

Balıkesir, 2009

Bu çalışmada bazı tıbbi bitkilerin  $\alpha$ - tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit gibi antioksidan içerikleri ile toplam fenolik madde ve protein içerikleri sırasıyla HPLC ve UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlendi. Deneysel sonuçlardan; i. bitkilerin antioksidan, fenolik ve protein içeriklerinin bitki türlerine göre farklılıklar gösterdikleri, ii. en fazla  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit içeriğine sahip türlerin sırasıyla *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha piperita* L. ve *Equisetum hyemale* L.'nin, iii. genelde en yüksek antioksidan içeriğe sahip türün *Equisetum hyemale* L.'nin, iv. bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri ile gallik asit ve  $\beta$ -karoten ile ferulik asit arasında bir ilişkinin olabileceği, ve v. en yüksek fenolik ve protein içeriğine sahip bitki türlerinin sırasıyla *Hypericum perforatum* L. ve *Glycyrrhiza glabra* L.'nin oldukları bulundu.

**ANAHTAR KELİMELER:** Şifalı bitkiler, antioksidan, toplam fenolik içerik, toplam protein miktarı, HPLC

## ABSTRACT

### ANTIOXIDANT CONTENTS OF SOME MEDICINAL PLANTS

Mehmet Emin DİKEN

Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology

(Master. Thesis / Supervisor: Associated. Prof. Dr. Serap DOĞAN)

Balıkesir, 2009

In this study, the antioxidant and, total phenolic and proteine contents such as  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, ferulic acid and gallic acid and of some medicinal plants were determined by HPLC and UV-Visible spectrophotometer, respectively. From the experimental results, it was found that i. The contents of antioxidant, phenolic and protein of plants were different according to plant types, ii. the types, which have the most  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene, ferulic acid and gallic acid contents, were *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha piperita* L. and *Equisetum hyemale* L., respectively, iii. in general, *Equisetum hyemale* L. had the most antioxidant content, iv. there will be a relationship between  $\alpha$ -tocopherol and gallic acid contents, and between  $\beta$ -carotene and ferulic acid contents of plants, and v. *Hypericum perforatum* L. ve *Glycyrrhiza glabra* L. had the most phenolic and protein contents, respectively.

**KEY WORDS:** Medicinal plants; antioxidant; total phenolic content; total protein amount, HPLC

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>ÖZ, ANAHTAR SÖZCÜKLER</b>	ii
<b>ABSTRACT, KEYWORDS</b>	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iv
<b>SEMBOL LİSTESİ</b>	vi
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	viii
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b>	ix
<b>ÖNSÖZ</b>	xi
<b>1.GİRİŞ</b>	1
1.1 Antioksidan moleküller	4
1.1.1 $\alpha$ -Tokoferol	5
1.1.2 $\beta$ -Karoten	6
1.1.3 Ferulik Asit	6
1.1.4 Gallik Asit	6
1.2 Çalışmada Kullanılan Şifalı Bitkiler	7
1.2.1 <i>Equisetum hyemale</i> L. (Atkuyruğu)	8
1.2.2 <i>Eruca sativa</i> Miller. (Roka)	8
1.2.3 <i>Hypericum perforatum</i> L. (Sarı Kantaron)	8
1.2.4 <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (Meyan)	9
1.2.5 <i>Anethum graveolens</i> L. (Dereotu)	9
1.2.6 <i>Cichorium endivia</i> L. (Hindiba)	10
1.2.7 <i>Achillea millefolium</i> L. (Civan Perçemi)	10
1.2.8 <i>Centaureum erythraea</i> Rafn subsp. <i>erythraea</i> Rafn. (Kırmızı Kantaron)	10
1.2.9 <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Biberiye)	11
1.2.10 <i>Lavandula stoechas</i> L. (Karabaş Otu)	11
1.2.11 <i>Lavandula angustifolia</i> Miller. (Lavanta)	12
1.2.12 <i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor. (Ada çayı)	12
1.2.13 <i>Sideritis dichotoma</i> Huter (Adaçayı)	13

1.2.14 <i>Melissa officinalis</i> L. subsp. <i>officinalis</i> (Oğulotu)	13
1.2.15 <i>Origanum onites</i> L. (Kekik)	14
1.2.16 <i>Thymbra spicata</i> L. var <i>spicata</i> (Karakekik)	14
1.2.17 <i>Mentha piperita</i> L. (Nane)	15
1.2.18 <i>Urtica dioica</i> L. (Isırgan otu)	15
1.2.19 <i>Agropyrum repens</i> L. (Ayrıkotu)	15
1.2.20 <i>Zea mays</i> L. (Mısır)	16
1.3 Literatür Özeti	16
1.4 Çalışmanın Amacı	19
<b>2. MATERYAL VE METOT</b>	
2.1 Materyal	21
2.2 Metotlar	21
2.2.1 Bitki Örneklerinin Hazırlanması	21
2.2.2 Antioksidan Bileşenlerin Belirlenmesi	21
2.2.2.1 $\alpha$ -Tokoferolün Kalibrasyon Eğrisi	21
2.2.2.2 $\beta$ -Karotenin Kalibrasyon Eğrisi	22
2.2.2.3 Ferulik Asitin Kalibrasyon Eğrisi	22
2.2.2.4 Gallik Asitin Kalibrasyon Eğrisi	22
2.2.3 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	22
2.2.3.1 $\alpha$ -Tokoferolün Ekstraksiyonu	23
2.2.3.1.1 Metot 1	23
2.2.3.1.2 Metot 2	23
2.2.3.2 $\beta$ -Karotenin Ekstraksiyonu	24
2.2.3.3 Ferulik Asitin Ekstraksiyonu	24
2.2.3.4 Gallik Asitin Ekstraksiyonu	24
2.2.4 Bitki Ekstraktlarının Protein İçeriklerinin Belirlenmesi	25
2.2.5 Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi	25
<b>3. BULGULAR</b>	
3.1 HPLC Analiz Sonuçları	27
3.1.1 Antioksidanlara Ait Kalibrasyon Eğrileri	27
3.1.2 Antioksidan Madde Miktarının Belirlenmesi	31
3.1.2.1 $\alpha$ -Tokoferol Tayini	31
3.1.2.2 $\beta$ -Karoten Tayini	37

3.1.2.3 Ferulik Asit Tayini	43
3.1.2.4 Gallik Asit Tayini	49
3.2. Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Tayini	55
3.2.1 Kalibrasyon Eğrisi	55
3.2.2 Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri	56
3.3 Bitkilerin Toplam Protein İçeriklerinin Tayini	58
3.3.1 Kalibrasyon Eğrisi	58
3.3.2 Bitkilerin Toplam Protein İçerikleri	59
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMA</b>	
4.1 Bitkilerin Antioksidan Bileşenleri	61
4.1.1 Bitkilerin $\alpha$ -Tokoferol İçerikleri	61
4.1.2 Bitkilerin $\beta$ -Karoten İçerikleri	63
4.1.3 Bitkilerin Ferulik Asit İçerikleri	65
4.1.4 Bitkilerin Gallik Asit İçerikleri	67
4.2 Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri	69
4.3 Bitkilerin Protein İçerikleri	69
4.4 Sonuçlar	72
<b>KAYNAKLAR</b>	74

## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	Antioksidan moleküllerin kimyasal yapısı	7
Şekil 1.2	<i>Equisetum hyemale</i> L.	8
Şekil 1.3	<i>Eruca sativa</i> Miller	8
Şekil 1.4	<i>Hypericum perforatum</i> L.	8
Şekil 1.5	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	9
Şekil 1.6	<i>Anethum graveolens</i> L.	9
Şekil 1.7	<i>Cichorium endivia</i> L.	10
Şekil 1.8	<i>Achillea millefolium</i> L.	10
Şekil 1.9	<i>Centaureum erythraea</i> Rafn subsp. <i>Erythraea</i> Rafn.	10
Şekil 1.10	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	11
Şekil 1.11	<i>Lavandula stoechas</i> L.	11
Şekil 1.12	<i>Lavandula angustifolia</i>	12
Şekil 1.13	<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	12
Şekil 1.14	<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	13
Şekil 1.15	<i>Melissa officinalis</i> L.	13
Şekil 1.16	<i>Origanum onites</i> L.	14
Şekil 1.17	<i>Thymbra spicata</i> L. var. <i>spicata</i>	14
Şekil 1.18	<i>Mentha piperita</i> L.	15
Şekil 1.19	<i>Urtica dioica</i> L.	15
Şekil 1.20	<i>Agropyrum repens</i> L.	15
Şekil 1.21	<i>Zea mays</i> L.	16
Şekil 3.1	Bitki ekstraktlarındaki $\alpha$ - tokoferol miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi	28
Şekil 3.2	Bitki ekstraktlarındaki $\beta$ -karoten miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi	29
Şekil 3.3	Bitki ekstraktlarındaki gallik asit miktarlarını hesaplamak için	30



	çizilmiş kalibrasyon eğrisi	
şekil 3.4	Bitki ekstraktlarındaki ferulik asit miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi	31
şekil 3.5	çalışma bitkilerinin $\alpha$ -tokoferol içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri	32
şekil 3.6	çalışma bitkilerinin $\beta$ -karoten içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri	38
şekil 3.7	çalışma bitkilerinin ferulik asit içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri	44
şekil 3.8	çalışma bitkilerinin gallik asit içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri	50
şekil 3.9	Bitki ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri için çizilmiş kalibrasyon eğrisi	56
şekil 3.10	Bitki ekstraktlarındaki protein miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi	59
şekil 4.1	Bitki ekstraksiyonlarından elde edilen $\alpha$ -tokoferol miktarları	62
şekil 4.2	Bitki ekstraksiyonlarından elde edilen $\beta$ -karoten miktarları	64
şekil 4.3	Bitki ekstraksiyonlarından elde edilen ferulik asit miktarları	66
şekil 4.4	Bitki ekstraksiyonlarından elde edilen gallik asit miktarları	68
şekil 4.5	Bitkilerden ekstraktlarından elde edilen toplam fenolik madde miktarları	70
şekil 4.6	Bitkilerden ekstraktlarından elde edilen protein madde miktarları	71

## ÇİZELGE LİSTESİ

<b><u>Çizelge No</u></b>	<b><u>Adı</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 3.1	$\alpha$ -tokoferolün kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler	27
Çizelge 3.2	$\beta$ -karotenin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler	28
Çizelge 3.3	Gallik asitin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler	29
Çizelge 3.4	Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler	30
Çizelge 3.5	3.5 Bitkilerin $\alpha$ -tokoferol içerikleri	36
Çizelge 3.6	Bitkilerin $\beta$ -karoten içerikleri	42
Çizelge 3.7	Bitkilerin ferulik asit içerikleri	48
Çizelge 3.8	Bitkilerin gallik asit içerikleri	54
Çizelge 3.9	Toplam fenolik madde tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisine ait deneysel veriler	55
Çizelge 3.10	Bitki ekstrelerindeki toplam fenolik madde içerikleri	56

## ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde ve tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Serap DOĞAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her zaman bilgisine başvurduğum değerli hocam Doç. Dr. Mehmet DOĞAN'a; ihtiyaç duyduğum zamanlarda beni yalnız bırakmayan değerli hocalarım Arş. Gör. Yasemin TURHAN ve Pınar TURAN'a; laboratuvar arkadaşlarım Serap MUTLU, Taner ÖZCAN ve M. Polat KORA'ya ve ev arkadaşlarım Özgür SOYLU ve Erdal ARABACIOĞLU'na teşekkür ederim.

Her zaman güzel bir aileye sahip olduğum için ne kadar şanslı olduğumu hissettiren ve hayatım boyunca attığım her adımda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

Bu tezi 2009/5 nolu proje ile destekleyen Balıkesir Üniversite Rektörlüğü  
Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

**Balıkesir-2009**

**Mehmet Emin DİKEN**

## 1. GİRİŞ

İnsanlar tarihin çok eski dönemlerinden beri bitkilerden sadece gıda temininde değil, ayrıca koku ve tat verici, yakacak, silah, ilaç, barınak yapımı gibi alanlarda da yararlanmışlardır. Özellikle şifalı bitkilerden elde edilen özütler ile birçok hastalık tedavi edilmeye çalışılmış ve buna istinaden şifacılık bir meslek olarak ortaya çıkmıştır. Ancak 1800'lü yıllardan itibaren bitkilerden ilk etken maddelerin daha sonra sentetik olarak üretilmeye başlanmasıyla ilaç endüstrisi doğmuş ve eski geleneksel metotlar büyük ölçüde bir kenara bırakılmışlardır. Ancak, özellikle son 25-30 yılda, modern tıpta kullanılan sentetik ilaçların tedavide istenen başarıyı sağlayamamaları, birçok olumsuz yan etkiye sahip olmalarına karşın genelde tek olumlu etkiye sahip olmaları ve benzeri nedenlerle, "alternatif tıp" adıyla bilinen geleneksel metotlara, yani bitkilerden elde edilen özütlerle tedaviye karşı gittikçe artan bir ilgi ortaya çıkmıştır. Bitkilerden elde edilen ve adına "drog" denilen özütler, sentezi pahalı olan bazı ilaçların üretiminde halen kullanılmaktadırlar. Bitki özütlerinden elde edilen doğal ilaçlar, çoğunlukla çok önemli bir yan etkiye sahip olmamakla birlikte, olumlu birden fazla etkiyi bünyelerinde taşımaktadırlar ve bu durum onları sentetik olan ilaçlara göre daha cazip hale getirmektedir. Bundan dolayı yıllardır tıbbi etkiye sahip bitkisel ilaç araştırmaları oldukça ilgi duyulan bir araştırma alanı haline gelmiştir [1-6].

20. yüzyılın başlarında sanayi inkılabının başlaması ile hızlı sanayileşmenin sonucu olarak yer altı ve yer üstü kaynakları hızla kirletilmiştir. Özellikle atmosfere salınan zararlı gazlar ozon tabakasının incelmesinde büyük rol oynamıştır. Ozon tabakasının incilmesi güneş ışınlarının zararlı etkilerini beraberinde getirmiştir. Bunun yanında kimya sanayinin gelişmesi ile çeşitli alanlarda kullanılan herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar gibi ürünler üretilmeye başlanmıştır. Bu da somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve insanlarda kanser, hızlı yaşlanma, kalp hastalıkları gibi zararlı etkileri olan serbest radikallerin oluşumunu arttırmıştır. Günümüzün en ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde

getirmiştir. Bu da beraberinde yeni arayışlar ve yan etkisiz tedavi yöntemlerini akla getirmiştir. Son 20 yıldır şifalı bitkilere yani doğal antioksidanlara büyük önem verilmiştir [7]. Şifalı bitkiler, özellikle antioksidan moleküller içeriği açısından zenginliği nedeniyle, birçok çalışmanın odak noktası olmuştur. Son yıllarda şu üç temel nedenden dolayı doğal antioksidanların araştırılmasına gösterilen ilgi artmıştır;

1. Sayısız klinik ve epidemiyolojik çalışma, bu bitkilerin tüketilmesi ile beraber, kanser ve kardiyovasküler düzensizlikler ve diyabet gibi kronik rahatsızlıkların gelişme riskinin azaldığını göstermiştir,
2. Yiyecek ve meşrubatlardaki sentetik antioksidanların devamlı tüketiminin potansiyel zararlı etkileri olabileceği düşünülmüştür,
3. Halk, doğal ve diyetle alınan antioksidanların sentetik olanlardan daha güvenli olduğunu kavramıştır [8].

Amerika'da vitamin destek tabletleri ve bitkisel ilaç satışı son yıllarda % 60 oranında artmış durumdadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre insanların % 80'i doğal tedaviye inanmaktadır. Türkiye'de de durum bundan farklı değildir. Sağlıklı yaşam için vitamin, mineral ve antioksidan madde satışı ülkemizde de giderek büyüyen bir pazar durumunu almıştır. Artık insanların yediği ve içtiğinden tat alamaması doğal olanı ve tabiiliği tetiklemiş, bilim dünyasını da bu doğrultuda araştırmalara sevk etmiş durumdadır [9].

Antioksidan moleküller, günümüzde oluşan birçok rahatsızlığa sebebiyet veren ajanlar olan genel reaktif oksijen türlerini inaktive ederler. Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir [10]. Reaktif oksijen türleri UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara ve alkol gibi pek çok yolla da oluşabilmektedir. Serbest radikal miktarı endojen sellüler çöpçü sisteminin kapasitesini aşarsa, önemli hücresel hasar meydana gelebilir. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir [11]. Serbest radikaller antioksidan savunmayı aşarlarsa ise ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, amfizem, bronşit ve alkolik

karaciğer hastalıkları gibi yaşlanmayla başlayan dejeneratif bozuklukların da yer aldığı patolojik durumlara daha sıklıkla rastlanılmaktadır [6,12]. Yaygın reaktif oksijen türleri arasında süperoksit ( $O_2^{\bullet}$ ), hidroksil ( $HO^{\bullet}$ ), hidroperoksi ( $HO_2^{\bullet}$ ), peroksi ( $ROO^{\bullet}$ ), alkoksi ( $RO^{\bullet}$ ) ile radikal olmayan singlet oksijen ( $^1O_2$ ), ozon ( $O_3$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), nitrik oksit ( $NO$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^{\bullet}$ ) sayılabilirler [6,13].

Fenolik asitler hidrojen veya elektron vermelerine göre antioksidan moleküller olarak görev yaparlar [14]. Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir. Bu nedenle uzun yıllardır besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini arttırmak için katkı olarak kullanılan baharat ve aromatik bitkiler giderek önem kazanmaktadır [15]. Bitki fenoliklerinin birçok araştırmacı tarafından hastalıklara direnç sağladığı belirtilmektedir. Fenolik asitlerin bir çeşit mantar cinsinin *in vitro* ortamda gelişimine mani olduğu deneylerle gösterilmiştir. Literatürde fenolik asitlerin ve flavonoidlerin bir grubunun antibiyotik, antifungal ve antiinflamatuvar olarak görev yaptığı ifade edilmektedir [14]. Yiyecek endüstrisinde olduğu gibi sanayi ve benzeri alanlarda da bu moleküllerden faydalanılmaktadır. Polifenoller, kozmetik, boya ve kağıt üretimi gibi birkaç endüstriyel alanda, bronzlaşma ajanı ve katkı olarak yiyecek endüstrisinde kullanılmaktadır [14]. Özellikle yiyecek endüstrisinde lipid peroksidasyonunu engellemek için antioksidanlara başvurulur. Endüstriyel proseslerde besinlerin saklama süresini uzatmak için esas olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak pek çok araştırmacı uzun zamandır besin prosesleşmesinde kullanılan bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) gibi bazı sentetik antioksidanların canlı organizmalarda karsinojenik etki gösterdiğine dikkat çekmektedirler [15]. Bu nedenle; son yıllarda yeni, daha güvenli ve ucuz antioksidan maddelerin bulunması için doğal ürünlerin üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır.

Bir hidroksil grubunu içeren aromatik bir halkaya sahip geniş bir madde gurubuna, fenolik bileşikler denilmektedir [16]. Fenol bileşikleri veya polifenoller bitkiler aleminde en yaygın bulunan maddeler grubunu oluşturmaktadır. Bu bileşikler bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanmakta ve günümüzde 8000'den fazla fenol bileşiği yapısı bilinmektedir. Bitkisel polifenollerin sağlık üzerine etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu bileşiklerin güçlü bir antioksidan oldukları, vücutta oluşan serbest radikalleri nötralize ederek kalp-damar hastalıklarını engelledikleri belirlenmiş ve hatta yaşlanmayı geciktirdiği ileri sürülmüştür. Polifenoller, yüksek kimyasal aktiviteye sahip olmaları, DNA, enzimler ve proteinlere bağlanabilme özellikleri nedeniyle serbest radikallere karşı savunma gösterdikleri de bilinmektedir [17]. Ayrıca buldukları bitkileri korumada da büyük rol oynarlar. Karbonhidratlar, antifungal, antibakteriyel ve antiviral aktiviteler gösteren fenoliklerin köküdürler. Bunların yüksek konsantrasyonları spor çimlenmesini ve fungusların gelişimini engeller. Fenoliklerin toksisitesi bunların yapısına bağlı olarak değişiklik gösterir ve genel olarak o-dihidroksi fenolikler yüksek oranda toksiktirler. Bazı fenolikler fungal enzimlerin üretimini inhibe eder ve patojenler tarafından üretilen enzimlerin akvitesini durdururlar. Fenolikler patojenler tarafından toksin üretimini bastırır veya bunların ürettiği toksinleri detoksife ederler [16].

### **1.1 Antioksidan Moleküller**

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen moleküllere antioksidan moleküller denir. Antioksidanları 6 sınıfta değerlendirmek mümkündür:

1. Serbest yağ radikallerini inaktive eden gerçek antioksidanlar (örneğin fenolik bileşikler),
2. Hidroperoksitlerin serbest radikallere parçalanmasını önleyen hidroperoksit kararlılığını arttırıcılar (fenolik bileşikler gibi),
3. Gerçek antioksidanların aktivitesini arttıran sinerjistler (sitrik asit, askorbik asit gibi),



4. Ağır metalleri bağlayarak inaktif hale getiren metal kelat yapıcılar (fosforik asit, maillard bileşikleri ve sitrik asit gibi),
5. Singlet oksijeni triplet oksijen haline çeviren singlet oksijen sönmüleyiciler (karotenler),
6. Radikalik olmayan bir yolla hidroperoksitleri indirgeyen hidroperoksit indirgeyici maddeler (proteinler ve amino asitler gibi) [6,18].

Antioksidanlar oksidasyonu iki tür etki ile durdurabilirler. Bunlardan birincisi serbest radikal süpürücü etkisidir. Bu durumda bileşik “primer antioksidan” adını alır. İkincisi ise doğrudan radikal süpürme etkisini içermeyen bir mekanizma yardımı ile ortaya çıkar. Örneğin metal iyonlarının bağlanması, oksijenin süpürülmesi, hidroperoksitlerin radikal olmayan türlere dönüştürülmesi, UV ışığı absorplama veya singlet oksijenin deaktivasyonu bu mekanizmalara örnek olarak verilebilir. Bu durumdaki bileşiğe ise “sekonder antioksidan” adı verilir. Primer antioksidanlara vitamin E gibi fenolik bileşikler örnek verilebilir. Bu gibi bileşikler, gıdaların veya organizmaların serbest radikallerden etkilenme sürecinde tüketilirler. Sekonder antioksidanlar ise genelde ortamda başka bir bileşen varsa etki gösterirler. Örneğin, sitrik asit gibi bloke edici (kompleks haline getirmek suretiyle) maddeler ancak ortamda metal iyonu varsa ve askorbik asit gibi indirgeyici maddeler de ancak ortamda tokoferoller yada diğer primer antioksidanlar varsa etkinlik göstermektedirler [6,19].

### **1.1.1 $\alpha$ -Tokoferol**

Evans ve Bishop, 1922 yılında ratların diyetlerine ekşimiş yağ katılarak beslenmeleri sonucu ortaya çıkan fetal reabsorpsiyonu, sebzelerdeki bir maddenin önlediğini fark etmiş ve bu maddeye tokoferol adını vermişler. Vitamin E uzun bir süre bir antisterilite vitamini olarak algılanmıştır. Bugün artık vitamin E radikal giderme, zincir kırma, baskılama, onarma, endojen antioksidan savunma kapasitesini artırma ve intraselüler enzim kinaz kayıplarını önleme mekanizmalarının tümünü kullanabilen güçlü bir antioksidan olduğu kabul edilmektedir [20]. Tokoferoller, hidroksil grubundaki hidrojeni, lipid peroksil radikaline vermek suretiyle antioksidan etki gösterirler.  $\alpha$ -tokoferolden bu şekilde oluşan radikal, geri kalan tek elektronun

aromatik halka yapısı üzerine delokalize olmasıyla kararlılık kazanır [6,21]. Biyolojik membranların lipid tabakaları arasında bulunur ve bu bölgede yapısal rol oynar [22].  $\alpha$ -Tokoferolün yapısı Şekil 1.1’de görülmektedir.

### 1.1.2 $\beta$ -Karoten

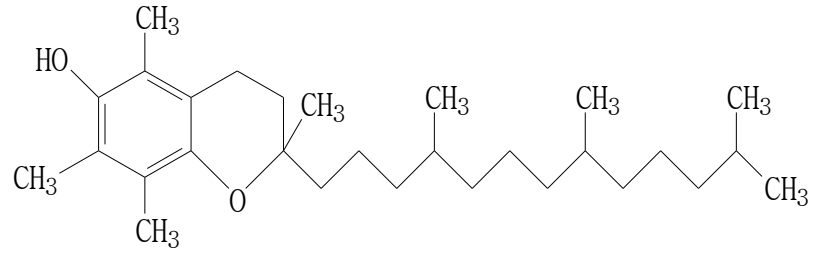
Karotenoidler, sadece bitkiler aleminde sentezlenir, ama besin zinciri aracılığıyla hayvanlara transfer edilirler. Bazı karotenoidlerin spesifik görevlere sahip oldukları veya önemli pro-vitamin oldukları bilinmektedir [23]. Bir pro-vitamin A bileşiği olan  $\beta$  karoten, kanser ve ateroskleroz gibi hastalıklar da dahil oksidasyon ile oluşan hastalıkları kontrol etmede önemli bir rolü olması nedeni ile diyetel yağda çözünebilir antioksidan olarak görev yapmaktadır [24]. Karotenoidler, singlet oksijen ( $^1O_2$ ) oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu baskılayan önemli antioksidanlardır [25].  $\beta$ -karotenin yapısı Şekil 1.1’de verilmektedir.

### 1.1.3 Ferulik Asit

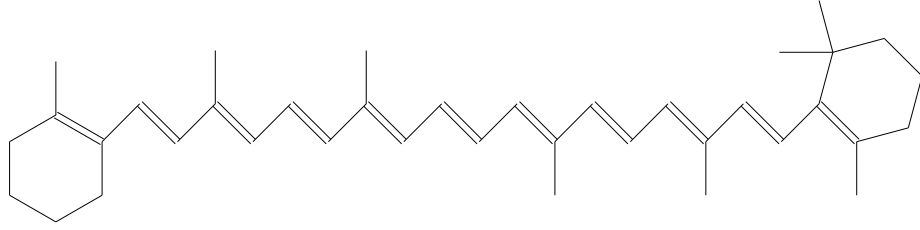
Ferulik asit kısaca  $C_{10}H_{10}O_4$  formüllü bitki orijinli fenolik bir bileşiktir. Sistematik isimlendirmeye göre, ferulik asit 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)propenoik asit olarak adlandırılır [26]. Farmakolojik çalışmalar, ferulik asitin trombositlerin kümeleşmesine engel olduğu, koroner kan akış hızını arttırdığı, düz kasların kasılıp gevşemesini sağladığı, anti-aritmik etkilere hükmettiği, oksit giderici, bağışıklığı teşvik edici, anti-inflamatuar vs. etkilerde bulunduğu göstermiştir [27]. Ferulik asidin yapısı Şekil 1.1’de verilmektedir.

### 1.1.4 Gallik Asit

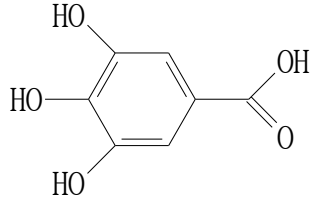
Gallik asit hidroliz olabilen tanenlerden (gallotanen) elde edilen, tıp ve eczacılıktan boya, kimya ve besin endüstrilerine kadar çok geniş bir alanda çeşitli amaçlarda kullanılan bir organik asittir. Gallik asit, anti mantar, antioksidan ve anti viral etkilere sahiptir. Normal hücrelere zarar vermeden, kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterir [28]. Gallik asidin yapısı Şekil 1.1’de verilmektedir.



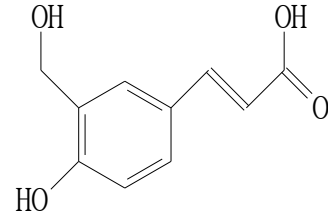
$\alpha$ -Tokoferol



$\beta$ -Karoten



Gallik Asit



Ferulik Asit

Şekil 1.1 Antioksidan moleküllerin kimyasal yapıları

## 1.2 Çalışmada Kullanılan Şifalı Bitkiler

Bir kısmı ülkemizde endemik olarak yetişen ve ticari potansiyeli yüksek olan *Equisetum hyemale* L., *Eruca sativa* Miller, *Hypericum perforatum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Anethum graveolens* L., *Cichorium endivia* L., *Achillea millefolium* L., *Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn., *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula stoechas* L., *Lavandula angustifolia* Miller, *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor., *Sideritis dichotoma* Huter, *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, , *Mentha piperita* L., *Urtica dioica* L., *Agropyrum repens* L., *Zea mays* L. gibi bitki türleri çalışmamızda çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

### 1.2.1 *Equisetum hyemale* L. (Atkuyruğu)



*Equisetum hyemale* L. (Atkuyruğu), Equisetaceae familyasına ait bir türdür. Şekil 1.2, *Equisetum hyemale* L.'nin fotoğrafını göstermektedir. Atkuyruğu kanamalarda, kan kusmalarda, mesane ve böbrek rahatsızlıklarında, taş ve kum rahatsızlıklarında yeri doldurulamaz şifalı bir bitkidir [29].

Şekil 1.2 *Equisetum hyemale* L.

### 1.2.2 *Eruca sativa* Miller (Roka)



*Eruca sativa* Miller (Roka) Brassicaceae (turpgiller) familyasından, yaprakları salata olarak yenen acımsı bir tadı olan bir bitkidir. Öksürük dindirici, kuvvet verici, iştah açıcı ve uyarıcı etkisinden dolayı tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır [30]. Şekil 1.3, *Eruca sativa* Miller'in fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.3 *Eruca sativa* Miller

### 1.2.3 *Hypericum perforatum* L. (Sarı Kantaron)



Hypericaceae familyasına ait olan sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Türkiye'nin batı ve doğusunda yetişir. Kantaron türlerinin metanol ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitelerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmektedir [31]. Şekil 1.4, *Hypericum perforatum* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.4 *Hypericum perforatum* L.

#### 1.2.4 *Glycyrrhiza glabra* L. (Meyan)



Şekil 1.5 *Glycyrrhiza glabra* L.

Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.), yaklaşık 120–150 cm'e kadar boylanabilen, Baklagiller ailesinden çok yıllık çalimsı bir bitkidir. Akdeniz ülkelerinde, Güneydoğu Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde yetişir [32]. Şekil 1.5, *Glycyrrhiza glabra* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

#### 1.2.5 *Anethum graveolens* L. (Dereotu)



Şekil 1.6 *Anethum graveolens* L.

*Anethum graveolens* L., Apiaceae familyasına ait bir yıllık bir bitkidir. Halk arasında dereotu olarak bilinen bu bitki 90–120 cm uzunlukta gelişir ve ince uzun dallanmış dallara, parçalı olarak ayrılmış yapraklara sahiptir. Bu bitki Güneybatı Asya'nın doğal bitkisidir ve Avrupa, Hindistan ve Amerika'da kültürü yapılmaktadır. Literatürde dereotu yapraklarının tüketiminin, kanser riskini azalttığı belirtilmektedir [33]. Şekil 1.6, *Anethum graveolens* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

### 1.2.6 *Cichorium endivia* L. (Hindiba)



Asteraceae familyasına ait olan *Cichorium endivia* L. (Hindiba), Avrupa, Batı Asya ve Kuzey Amerika'ya uzanan tipik bir Akdeniz yerel bitkisidir [34]. Şekil 1.7, *Cichorium endivia* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.7 *Cichorium endivia* L.

### 1.2.7 *Achillea millefolium* L. (Civanperçemi)



Asteraceae familyasına ait olan *Achillea millefolium* L. çok yıllık otsu bir bitkidir. Yaprakları yünlü ve parçalıdır. Boyları 5–100 cm arasında değişir. Ülkemizde yaklaşık olarak 40 tür *Achillea* bulunmaktadır. Civanperçemi olarak bilinen bu bitki kanamayı durduran etkisinden dolayı tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır [35]. Şekil 1.8, *Achillea millefolium* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.8 *Achillea millefolium* L.

### 1.2.8 *Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn. (Kırmızı Kantaron)



*Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn., Gentianaceae (kızılkantarongiller) familyasına ait olan bu bitki sindirimi kolaylaştırma, mideyi kuvvetlendirici, kasları gerici, temizleyici, sakinleştirici ve ateş düşürücü etkilerinden dolayı geleneksel tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır [36]. Şekil 1.9, *Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.9 *Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn.

### 1.2.9 *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye)



Halk arasında biberiye olarak bilinen ve Batı ve Güney Anadolu'da lokal olarak yetişen *Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae familyasına ait bir bitki türüdür. Ekstreleri antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olup et ve yağların kalitesinin bozulmadan saklanması sağlamaktadır [1,6]. Şekil 1.10, *Rosmarinus officinalis* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.10 *Rosmarinus officinalis* L.

### 1.2.10 *Lavandula stoechas* L. (Karabaş otu)



*Lavandula stoechas* L., Lamiaceae familyasına ait bir *Lavandula* üyesidir. *Lavandula stoechas* L., Akdeniz bölgesinde geniş bir şekilde dağılmış olup Fransa, İtalya ve İspanya'da kültürü yapılmaktadır. Bitkinin tedavi edici önemi iyi bir şekilde belgelenmiş ve bu bitkiden hazırlanmış ilaçların çoğu tıbbi bitkiler kitabında kayıt edilmiştir [37]. Şekil 1.11, *Lavandula stoechas* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.11 *Lavandula stoechas* L.

### 1.2.11 *Lavandula angustifolia* Miller (Lavanta)



*Lavandula angustifolia* Miller, Lamiaceae familyasına ait çok yıllık otsu bir bitkidir. *Lavandula angustifolia* Miller, insanlar arasında güçlü bir aromatik ve tıbbi bitki olarak bilinmektedir. Bu bitki dünyanın farklı bölgelerinde gastrointestinal, sinirsel ve romatizmal hastalıkların tedavisinde geleneksel ve halk ilacı olarak kullanılmaktadır [38]. Şekil 1.12, *Lavandula angustifolia* Miller'in fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.12 *Lavandula angustifolia* Miller

### 1.2.12 *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.(Ada Çayı)



*Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor., Lamiaceae familyasının bir üyesi olup Akdeniz'in güneyinde ve balkanlarda yetişir. Türkiye'nin bazı bölgelerinde *Sideritis* türleri tatlandırıcı ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Anten kısımları kuvvet verici, gaz giderici, iltihap önleyici ajan, antispazmodik, idrar söktürücü, sindirim düzenleyici ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılır [39]. Şekil 1.13, *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.'in fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.13 *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.



### 1.2.13 *Sideritis dichotoma* Huter (Adaçayı)



Türkiye’de bulunan 45 sideritis türünün 34’ü endemiktir. *Sideritis dichotoma* Huter, Türkiye’de yaygın olarak bitkisel çay olarak kullanılmaktadır. Lamiaceae familyasına ait bu tür, tüylü yapraklı ve sarı çiçekli otsu bir bitkidir. Anavatanı Türkiye’dir. Halk arasında genellikle “Dağ Çayı, Yayla Çayı” olarak isimlendiren bu türden hazırlanan çay soğuk algınlığı, öksürük ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır [15]. Şekil 1.14, *Sideritis dichotoma* Huter’in fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.14 *Sideritis dichotoma* Huter

### 1.2.14 *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*(Oğulotu)



Lamiaceae familyasına ait olan *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*, Güney Avrupa ve Anadolu’da yaygın olarak yetişmektedir. Literatürde antioksidan içerik bakımında zengin olduğu ve kanser riskini azalttığı belirtilmiştir [8]. Şekil 1.15, *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*’in fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.15 *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*

### 1.2.15 *Origanum onites* L. (Kekik)



*Origanum onites* L., Lamiaceae familyasına ait bir bitki olup halk arasında Bilyalı Kekik, Taş Kekiği, İzmir Kekiği olarak tanınmaktadır. Ülkemizin Ege ve Akdeniz bölgesinde yetişen bir bitkidir. Toprak üstü kısımlar midevi olarak, soğuk algınlığı, baş ağrısı gibi durumlarda kullanılır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi tespit edilmiştir. Yüksek miktarda fenol içermesi nedeni ile antibakteriyel, antispazmodik ve antiseptik etkileri bilinmektedir [40]. Şekil 1.16, *Origanum onites* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.16 *Origanum onites* L.

### 1.2.16 *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (Karakekik)



Lamiaceae familyasına ait olan *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, Türkiye’de karakekik adı ile ticareti yapılan; 50 cm kadar boylanabilen tüylü, pembe çiçekli, çalı görünümlü çok yıllık otsu bir bitkidir. Literatürde antifungal ve antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmektedir [41]. Şekil 1.17, *Thymbra spicata* L. var. *spicata*'nın fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.17 *Thymbra spicata* L. var. *Spicata*

### 1.2.17 *Mentha piperita* L. (Nane)



Lamiaceae familyasına ait olan *Mentha piperita* L. su nanesi ve kıvırcık naneden melezdir. *Mentha piperita* L.'nin esansiyel yağ ekstraktları hem antimikrobiyal hem serbest radikalleri nötralleştirme yeteneğine sahiptir [42]. Şekil 1.18, *Mentha piperita* L'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.18 *Mentha piperita* L.

### 1.2.18 *Urtica dioica* L. (Isırgan Otu)



Isırgan otu (*Urtica dioica* L.), Urticaceae familyasına ait bir yıllık otsu bir bitkidir. Isırgan otunun antiinflamatuvar, antiviral, antioksidan ve immun sistem stimulatörü olarak davrandığı ve bu etkilerini de yapısında bulunan çok sayıda flavanol glikozidler vasıtasıyla gerçekleştirdiği belirtilmektedir [43]. Şekil 1.19, *Urtica dioica* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.19 *Urtica dioica* L.

### 1.2.19 *Agropyrum repens* L. (Ayrıkotu)



*Agropyrum repens* L. (Ayrıkotu), Poaceae familyasına ait yabancı bir bitkidir. Ayrıkotu dünyanın bütün soğuk ve ılıman bölgelerinde yetişen sarımtırak ve beyaz renkte bir bitkidir. Böbrek ve mesane taşlarının atılmasına yardımcı olur [44]. Şekil 1.20, *Agropyrum repens* L.'nin fotoğrafını göstermektedir.

Şekil 1.20 *Agropyrum repens* L.

### 1.2.20 *Zea mays* L. (Mısır)



Buğdaygiller (Poaceae) familyasından olan *Zea mays* L.'nin anayurdu Güney Amerika'dır. Amerika Kıtası'nın keşfinden sonra denizciler tarafından Avrupa'ya; oradan Afrika kıtasına ve daha sonra Mısır üzerinden ülkemize getirilmiş bir yıllık, dayanıklı tahıl ve kültür bitkisidir. Kimyasal içeriğinden dolayı mısır püskülü son yıllarda epidemiyolojik çalışmaların odak noktası olmuştur. Şekil 1.21, *Zea mays* L.'nin fotoğrafını göstermektedir [45].

Şekil 1.21 *Zea mays* L.

### 1.3 Literatür Özeti

Gülçin ve arkadaşları, lavanta çiçeği ve karanfil tomurcuklarının etanol ve su ekstraktlarındaki BHT, BHA ve alfa tokoferol düzeylerini incelediler [46]; Barış ve arkadaşları, *Achiella biebersteinii* Afan. (Asteraceae)'in metanol ekstraktının antioksidan aktivitesini DPPH ve beta-karoten/linoleik asit testleri kullanarak değerlendirdiler [47]; Güllüce ve arkadaşları, *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* (nane)'nin metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi DPPH ve beta-karoten/linoleik asit testleri kullanarak incelediler [48]; Bektaş ve arkadaşları, *Nepeta flavida* (nane)'nin çeşitli ekstraktlarının (hexan, diklormetan, metanol) ve esansiyel yağının antioksidan aktivitesini ve kimyasal bileşimini incelemişler ve ekstraktlar arasında en güçlü aktiviteyi metanol ekstraktının gösterdiğini buldular [49]; Sacan ve arkadaşları, Türkiye'de hem tıpta hemde yiyecek olarak kullanılan *Eruca sativa* (roka)'nın su ekstraktının antioksidan aktivitelerini incelediler [50]; Katalinic ve arkadaşları 70 tıbbi bitkinin fenolik içeriğini ve buna bağlı olarak toplam antioksidan kapasitelerini belirlediler [51]; Toronsoco ve arkadaşları, biberiye bitkisindeki antioksidan fenolikler olan rosmarinik ve karnosik asit içeriklerini HPLC cihazı ile tayin ettiler [52]; Gadow ve arkadaşları, aspalathinin (*Aspalathus linearis*), lipid oksidasyonuna karşı alfa-tokoferol ve BHT'den daha az koruma yaptığı belirlemişlerdir [53];

Sultana ve arkadaşları, 22 bitki (9 sebze, 5 meyve ve 8 tıbbi bitki) türünün kaempferol, quercetin ve myricetin flavonollerini RP-HPLC ile belirlediler [54]; Wang ve arkadaşları biberiye, adaçayı, lavanta, melisa, kekik ve nanedeki rosmarinik asit ve kafeik asit miktarlarını HPLC cihazı ile belirlediler [55]; Meral ve arkadaşları üç hypericum türünün metanol ekstraktlarındaki antioksidan içeriklerini incelediler [56]; Wang ve arkadaşları, 12 meyve ve yaygın 5 meyve suyunun toplam antioksidan kapasitesini ORAC metodunu kullanarak ölçtüler [57]; Lu ve arkadaşları, *Salvia officinalis* (adaçayı) polifenollerinin antioksidan aktivitelerini, flavon glikozid içeriklerini ve rosmarinik asit türevlerinin DPPH ve süperoksit radikallerini (SOD) temizleme kapasitelerini değerlendirdiler [58]; Kazanawa ve arkadaşları, bir flavonoid kaynağı olan meyan kökünün (*Glycyrrhiza glabra* L.) prostat kanseri üzerine laboratuvar koşullarında antitümör aktivitesini araştırdılar [59]; Kahkönen ve arkadaşları, yenilebilir ve yenilmeyen bitki materyallerinden 92 fenolik ekstraktın toplam antioksidan aktivitesini metil linoleat otooksidasyonu ile araştırdılar [60]; Bunea ve arkadaşları ıspanağın karotenoid ve toplam fenolik madde içeriğini araştırdılar; ve ıspanağın toplam fenol madde içeriğinin 2088 mg GAE/kg ve sabunlaştırılmış örneklerdeki luteinin miktarını 37–53 µg/kg, β-karotenin miktarını 18–31 µg/kg, violaxanthinin miktarını 9–23 µg/kg ve noxanthinin miktarını (10–22 µg/kg) olarak buldular [61]; Kim ve arkadaşları, Kore’den seçilmiş bazı meyve ve sebzelerin karotenoid ve tokoferol içeriklerini araştırdılar; ve meyvelerdeki β-karoten miktarını 33–2589 µg/100g ve α-tokoferol miktarını 0,18–0,55 mg/100g olarak buldular [62]; Marinova ve Ribarova, Bulgaristan’da yetişen yumuşak meyvelerin (berrylerin) karotenoid içeriklerini HPLC ile belirlediler ve en yüksek β-karoten içeriğine böğürtlenin sahip olduğunu (101,4 µg/100g) buldular [63]; Andre ve arkadaşları 23 adet doğal patatesin temel karotenoid ve tokoferol miktarlarını HPLC-DAD cihazı ile belirlediler [64]; Singht ve arkadaşları, taze *Brassica* sebzelerinin vitamin C, β-karoten, lutein, α-tokoferol ve toplam fenolik madde içeriklerini reverse fazlı bir HPLC cihazı kullanarak tayin ettiler ve β-karoten içeriğini 0.81 mg/100g, α-tokoferol içeriğini 0,47 mg/100g ve toplam fenol madde içeriğini 63.4mg/100g olarak buldular [65]; Wall, Hawaii bölgesinden topladığı papaya ve muz örneklerinin askorbik asit, vitamin A ve mineral bileşimini belirledi [66]; Kornsteiner ve arkadaşları, 10 farklı fındık türünün tokoferol ve karotenoid içeriğini, HPLC ve toplam fenolik madde miktarını ise fotometrik olarak analiz ettiler [67]; Barba ve

arkadaşları, sebzelerdeki  $\beta$ -karoten ve likopenin belirlenmesi için optimize bir HPLC metodu geliştirdiler ve deney sonucunda en yüksek  $\beta$ -karoten içeriğinin (6,3–9,6 mg/100g) havuçta olduğunu buldular [68]; Gama ve Sylos, Brazilian Valencia portakal suyunun  $\beta$ -karoten içeriğini 1,92 mg/L olarak belirlediler [69]; Zuniga ve arkadaşları, *Capsicum annuum* L.'nin üç türünün karotenoid içeriğini normal ve reverse faz-HPLC kullanarak karşılaştırmalı olarak belirlemişler ve sonuçta Ancho türünün en yüksek  $\beta$ -karoten miktarına (262  $\mu$ g/100g) sahip olduğunu buldular [70]; Skerget ve arkadaşları, Akdeniz Bölgesinden topladıkları *Olea europea*, *Hypericum perforatum*, *Crataegus laevigata*, *Origanum vulgare* ve *Lauris nobilis* gibi doğal 5 bitki materyalinin metanol ekstraktlarının fenolik içeriklerini sırasıyla 144 g GA/kg, 191 g GA/kg, 160 g GA/kg, 186 g GA/kg ve 99,7 g GA/kg olarak belirlediler [71]; Vilasova-Martinez ve arkadaşları, kurutulmuş yengeç kabuğundaki vitamin E ve karotenoid miktarlarını HPLC cihazını kullanarak sırasıyla 23,3mg/100g ve 0,2 mg/100g olarak belirlediler [72]; Szymanska ve Kruk, bazı bitki türlerinin karşılaştırmalı olarak tokoferol içeriklerini HPLC cihazını kullanarak belirlediler ve test ettikleri bitkiler arasında en yüksek tokoferol içeriğine sahip türün *Ficus elastica* (301  $\mu$ g/g) olduğunu buldular [73]; Machado ve arkadaşları, *Moringa oleifera*'nın yaprak, çiçek ve taze tohumlarının tokoferol içeriğini araştırmışlar ve tokoferol içeriğini tohumda 95,9  $\mu$ g/g, yaprakta 744,5  $\mu$ g/g ve çiçekte 305,7  $\mu$ g/g olarak buldular [74]; Wang ve arkadaşları, HPLC metodu ile hamamelidinin yaprak, sürgün ve kabuğunun gallik asit ve kateşin miktarını araştırmışlar ve gallik asit miktarını ağırlıkça yüzde (%w/w) olarak kabukta 0.59, sürgünde 0,12 ve yaprakta 0,21 olarak buldular [75]; Ross ve arkadaşları, Kanada'da yetişen üç farklı (pinto bean, black bean, dark red kidney bean) kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) türünün gallik asit ve ferulik asit içeriklerini araştırmışlar ve pinto bean, black bean ve dark red kidney bean için gallik asit ve ferulik asit içeriklerini sırasıyla 0 mg/100g, 4,11 mg/100g ve 0 mg/100g; ve 23,47 mg/100g, 17,01 mg/100g ve 13,8 mg/100g olduğunu buldular [76]; Peng ve arkadaşları, çeşitli kamelya türlerinin gallik asit içeriklerini HPLC cihazını kullanarak belirlemişler ve *C. sinensis*, *C. asamica*, *C. ptilophylla*, ve *C. asamica* var *kucha* gibi kamelya türlerinin gallik asit içeriklerinin sırasıyla % 0,13; 0,59; 0,29 ve 0,08 (w/w) olduğunu buldular [77]; Andreasen ve arkadaşları (2000), 17 farklı çavdar (*Secale cereale* L.) türünün fenolik bileşik içeriğini HPLC metodu ile araştırmışlar ve kuru ağırlık başına 900–1170  $\mu$ g/g ile en fazla ferulik asitin

bulduğunu belirlemişlerdir [78]; Özkan ve Baydar, dört farklı Türk üzümünden yapılan kırmızı şarapların fenolik içeriklerini reverse faz-HPLC metodu ile araştırmışlar ve şaraplarda en fazla bulunan fenolik asitlerin gallik asit (13,25-16,39 mg/L) ve ferulik asit (0-0,23 mg/L) olduğunu belirlemişler [79]; Jankovska ve arkadaşları, reverse faz-HPLC ve UV/VIS spektroskopisi ile şeker pancarının ferulik asit içeriğini % 0,3–0,9 (w/w) aralığında olduğunu belirlediler [26]; Tekeli ve arkadaşları, Konya Tuz Gölü çevresinden toplanan *Centaurea pterocoula* truatv.'nın gallik asit içeriğini 2,84 µg/g ve ferulik asit içeriğini 250,9 µg/g olarak belirlediler [80].

#### 1.4 Çalışmanın Amacı

Antioksidan moleküller, kanser, inflamatuvar, kalp ve ateroskleroz gibi birçok hastalığın tetikçisi olan serbest radikallere karşı vücudu koruma görevi üstlenen maddelerdir. Son yıllarda gelişmekte olan teknoloji serbest radikallerin vücutta fazla miktarda üretilmesine sebep olmuştur. İnsanların, serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklara yakalanmamak için antioksidan tabletlere bilinçsiz bir şekilde başvurduğu bilinmektedir. Ancak yapılan birçok araştırmada antioksidan moleküllerin tablet halinde ve bir uzmana danışılmadan bilinçsizce alınmasının vücuda yarar yerine zarar verdiği ispatlanmıştır. Günümüzde, sentetik antioksidanların güvenilirlikleri üzerinde artan endişelerden dolayı çeşitli bitkisel materyallerden doğal antioksidanların elde edilmesi üzerinde gıda endüstrisinin yoğun bir ilgisi oluşmuştur. Bu durum doğal antioksidan kaynağı olarak büyük bir potansiyele sahip olan tıbbi ve aromatik bitkilerin, özellikle et, süt ve fırıncılık ürünleri gibi yağlı gıdalarda oksidasyonu önlemek amacıyla kullanımının giderek artmasına neden olmuştur. Bu nedenle bu çalışmadaki amacımız;

1. Türkiye için ticari öneme sahip baharat, çay gibi farklı şekillerde tükettiğimiz bazı bitki türlerinin (*Equisetum hyemale* L., *Eruca sativa* Miller, *Hypericum perforatum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Anethum graveolens* L., *Cichorium endivia* L., *Achillea millefolium* L., *Centaureum erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn., *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula stoechas* L., *Lavandula angustifolia* Miller, *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.,

*Sideritis dichotoma* Huter, *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, , *Mentha piperita* L., *Urtica dioica* L., *Agropyrum repens* L., *Zea mays* L.) toplam fenolik madde içerikleri ile  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik asit, gallik asit gibi antioksidan içeriklerini belirlemek,

2. Daha sonraki çalışmalar için temel oluşturacak bir veri bankasını literatüre ve gıda sektörüne kazandırmaktır.

Yapılan literatür taramasında bazı şifalı bitkilerin antioksidan molekül içerikleri hakkında yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Mevcut çalışmalar genelde bitkilerin antioksidan madde içeriklerinden ziyade toplam antioksidan madde miktarlarını belirlemeye yöneliktir. Bu çalışmada bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik asit ve gallik asit gibi antioksidan madde içerikleri ile fenolik madde içerikleri sırasıyla HPLC ve UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlenmektedir.



## **2. MATERYAL VE METOT**

### **2.1 Materyal**

Bu çalışmada kullanılan bitkilerin 17 tanesi 2008 Haziran-Ağustos ayları arasında Balıkesir ili sınırları içerisinde ve diğer üç tanesi (*Agropyrum repens* L., *Cichorium endivia* L. ve *Equisetum hyemale* L.) Trakya bölgesinden ve kimyasal maddeler ise Sigma-Aldrich, Lab-Scan, J.T. Baker ve Merck'ten temin edildi. Antioksidan madde miktar tayinleri UV-Visible dedektörlü C-18 kolonlu PerkinElmer HPLC cihazı ve toplam fenolik ve protein içerikleri ise PerkinElmer Lambda 25 UV-Visible spektrometre kullanılarak belirlendi.

### **2.2 Metotlar**

#### **2.2.1 Bitki Örneklerinin Hazırlanması**

Toplanan bitkiler birkaç defa distile su ile yıkanarak, karanlıkta, hava akımının olduğu bir yerde ve oda sıcaklığında kurutulduktan sonra bilyalı değirmen (Retsch PM100) yardımıyla toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitki örnekleri cam kavanozlara konularak oda sıcaklığında saklandı.

#### **2.2.2 Antioksidan Bileşenlerin Belirlenmesi**

##### **2.2.2.1 $\alpha$ -Tokoferolün Kalibrasyon Eğrisi**

Saf  $\alpha$ -tokoferol diklormetan içerisinde çözüldükten sonra 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm'lik 5 tane standart çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltiler HPLC'de 295 nm'de mobil faz olarak 95:5 oranlarında sırasıyla metanol ve diklormetan kullanılarak 2 mL/dakika'lık akış hızında 10 dakika yürütüldü [72].

#### **2.2.2.2 $\beta$ -Karotenin Kalibrasyon Eğrisi**

Saf  $\beta$ -karoten tetrahidrofuran içerisinde çözündükten sonra 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm'lik 5 tane standart çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltiler HPLC'de 450 nm'de mobil faz olarak 55:40:5 oranlarında sırasıyla asetonytril, metanol ve tetrahidrofuran kullanılarak 2 mL/dakika'lık akış hızında 20 dakika yürütüldü [65].

#### **2.2.2.3 Gallik Asitin Kalibrasyon Eğrisi**

Saf gallik asit metanol içerisinde çözündükten sonra 25, 50, 100, 125 ve 150 ppm'lik 5 tane standart çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltiler HPLC'de 212 nm'de mobil faz olarak 79,9:20:0,1 oranlarında sırasıyla saf su, metanol ve orto-fosforik asit kullanılarak 1 mL/dakika'lık akış hızında 15 dakika yürütüldü [75].

#### **2.2.2.4 Ferulik Asitin Kalibrasyon Eğrisi**

Saf ferulik asit mobil faz içerisinde çözündükten sonra 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm'lik 5 tane standart çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltiler HPLC'de 310 nm'de mobil faz olarak hacimce 88:12 oranlarında sırasıyla metanol ve pH'sı 5,4 olan 0,01 M sitrat tamponu kullanılarak 1 mL/dakika'lık akış hızında 40 dakika yürütüldü [26].

#### **2.2.3 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması**

Ekstraksiyon yöntemleri belirlenirken hem antioksidan moleküller hem de bitkiler göz önünde bulunduruldu. Bitki içerikleri birbirinden farklı oldukları için bazı durumlarda aynı antioksidan molekül için birden fazla ekstraksiyon yöntemine başvuruldu.

### 2.2.3.1 $\alpha$ -Tokoferolün Ekstraksiyonu

$\alpha$ -tokoferol ekstraksiyonu için iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Nedeni ise bazı bitkilerde  $\alpha$ -tokoferol ile aynı dalga boyunda bir den fazla maddenin girişim yapması ve  $\alpha$ -tokoferol pikinin bu maddelerin piklerinden ayırlamamasıdır. *Equisetum hyemale* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Sideritis dichotoma* Huter, *Zea mays* L. bitkileri için metot 1; *Eruca sativa* Miller, *Hypericum perforatum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Anethum graveolens* L., *Cichorium endivia* L., *Achiella millefolium* L., *Lavandula stoechas* L., *Lavandula angustifolia* Miller, *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor., *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, *Mentha piperita* L., *Urtica dioica* L., *Agropyron repens* L. bitkileri için metot 2 kullanıldı.

#### 2.2.3.1.1 Metot 1

5 gr toz haline getirilmiş bitki örneği bir behere konularak üzerine 50 mL metanol ilave edildi. Karışım 20 dakika ultrasounda tabii tutulduktan sonra süzüldü. Ekstrakt tekrar metanol ile yıkandı ve ekstraktlar birleştirildi. Ekstraktlar 32 °C'de evapore edildi. Balonun dibinde kalan katı kısma 3 mL metanol ilave edildi. Bu çözelti 0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirildikten sonra 20  $\mu$ L'si HPLC cihazına enjekte edildi [81].

#### 2.2.3.1.2 Metot 2

2 gr toz haline getirilmiş bitki örneği 15 mL hekzan ile iki defa ekstrakte edildi ve daha sonra ekstraktlar birleştirildi. Hekzan evaporator ile 35 °C'de uzaklaştırıldı. Balonun dibinde kalan katı kısım 3 mL hekzan ile çözüldü. Ekstraktın 1 mL'si alındı ve üzerine 1 mL etil asetat eklendi. Bu çözelti, 0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirildikten sonra 20  $\mu$ L'si HPLC'ye enjekte edildi [7].

### 2.2.3.2 $\beta$ -Karotenin Ekstraksiyonu

Kurutulmuş, öğütülmüş ve homojenize edilmiş bitki örneğinden 10 gram alınarak 25 mL aseton ile ışısız ortamda 4 kez ekstrakte edildi. Ekstraktlar birleştirildi ve bir ayırma hunisine alındı. Bu ekstraktın üzerine 100 mL dietil eter ve % 10'luk NaCl çözeltisinden 100 mL ilave edildi. Fazlar ayrıldı ve doygun Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ile yıkandı. Eter fazı, suyu gidermek için Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile kurutuldu. Karotenoidleri içeren eter fazı % 20 KOH ve % 20 metanol içeren çözeltinin 100 mL'si ile sabunlaştırıldı. Karışım 1 saat bekletildi ve fazlar ayrıldı. Organik faz nötralleşinceye kadar 4 defa distile su ile yıkandı ve daha sonra 35 C<sup>0</sup>'de çözücüsü uzaklaştırıldı. Kalan katı kısım 3 mL tetrahidrofuran ile çözüldükten sonra 0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirildi ve 20  $\mu$ L'si cihaza enjekte edildi [69].

### 2.2.3.4 Ferulik Asitin Ekstraksiyonu

2 gr toz haline getirilmiş bitki örneği, 25 mL metanol-formik asit (95/5) karışımı ile karıştırıldı. Karışım 100 dakika ultrasounda tabii tutuldu. Bunun üzerine 95:5 oranında hazırlanmış metanol-%2'lik NaHCO<sub>3</sub> çözeltisi eklendi. Ekstrakt süzöldü ve süzöntü 0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirildikten sonra bunun 20  $\mu$ L'si HPLC cihazına enjekte edildi [26].

### 2.2.3.3 Gallik Asitin Ekstraksiyonu

Gallik asittin ekstraksiyonu Wang ve arkadaşlarının metodunun modifiye edilmesi ile gerçekleştirildi. 1 gr toz haline getirilmiş bitkinin üzerine 2 mL saf su ve 3 mL metanol ilave edildi. Karışım 40 dakika ultrasounda tabii tutuldu. Karışım süzöldükten sonra süzöntünün toplam hacmi 5 mL olacak şekilde geriye kalan posa tekrar metanol ile yıkandı ve 0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirildi. Hazırlanan ekstrenin 20  $\mu$ L'si HPLC'ye enjekte edildi [75].

#### **2.2.4 Bitki Ekstraktlarının Protein İçeriklerinin Belirlenmesi**

Bitki ekstraktlarının protein içeriği, standart olarak bovin serum albumin kullanılarak Bradford metoduna göre tayin edildi [82]. Bu yöntem fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie Brilliant-Blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan kompleks 595 nm’de maksimum absorbans göstermektedir. Bu yöntemin diğer protein tayin yöntemlerinden üstün tarafı, kısa sürede uygulaması, bozucu faktörlerin söz konusu olmaması ve protein-boya kompleksinin çözeltilerde uzun süre kalmasıdır. Bu yöntemin hassasiyeti 1–100 µg arasındadır [83].

1 mL’inde 1 mg protein içeren standart sığır albumin çözeltilisinden tüplere 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µL konuldu. 5 mM fosfat tamponu (pH=6,5) ile tüplerin hacmi 0,1 mL’ye tamamlandı. Bunun üzerine 5 mL Coomassie Brilliant-Blue G-250 reaktifi her tüpe ilave edildi. Tüpler vorteks ile karıştırıldıktan sonra karanlıkta 30 dakika bekletildi. 30 dakika sonra 595 nm’de 3 mL’lik küvetlerde köre karşı absorbans değerleri ölçüldü. Kör olarak 0,1 mL fosfat tamponu bulunan tüp kullanıldı. Deneyler üç kez tekrar edilerek sonuçlar üç ölçümün ortalaması alınarak verildi. Bitkilerin protein içerikleri, kalibrasyon eğrisi yardımı ile okunan absorbans değerine karşılık gelen protein miktarlarının belirlenmesi hesaplandı [83].

#### **2.2.5 Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi**

Bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri, Singleton ve Rossi’nin metoduna göre Folin-Ciocalteu belirteci kullanılarak belirlendi [84]. 1 gr bitki örneği oda sıcaklığında % 80’lik sulu etanol içerisinde homojenize edildi. Homojenat 15 dakika 10 000xg ve +4 °C’de santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant başka bir kaba alınarak saklandı. Geriye kalan kalıntı % 80’lik sulu etanol içerisinde iki defa daha ekstrakte edildi ve süpernatantlar birleştirildi. Ağzı açık petri kapları içine konulan süpernatantlar tüm çözücü uçuncaya kadar oda sıcaklığında bırakıldı. Petri kabında kalan kuru kalıntı 5 mL distile su içerisinde çözüldü ve bu ekstraktın 100 µL’si distile su ile 3 mL’ye seyretildi. Daha sonra

üzerine 0,5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 3 dakika bekledikten sonra üzerine % 20'lik NaCO<sub>3</sub>'ün 2 mL'si ilave edildi. Karışım bir vorteks yardımıyla iyice karıştırıldıktan sonra 60 dakika karanlık bir ortamda bekletildi. 60 dakika sonra 650 nm'de absorbansı ölçüldü. Standart kalibrasyon eğrisi katekol kullanılarak hazırlandı. Sonuçlar, bu kalibrasyon grafiği yardımıyla hesaplandı [83].

### 3. BULGULAR

Bu bölümde sırasıyla antioksidan tayinleri için çizilmiş kalibrasyon eğrileri, bitkiden izole edilen antioksidanlara ait HPLC grafikleri, toplam protein ve fenolik madde içeriklerini belirlemek için çizilmiş kalibrasyon eğrileri ve deneysel bulgular verilmektedir.

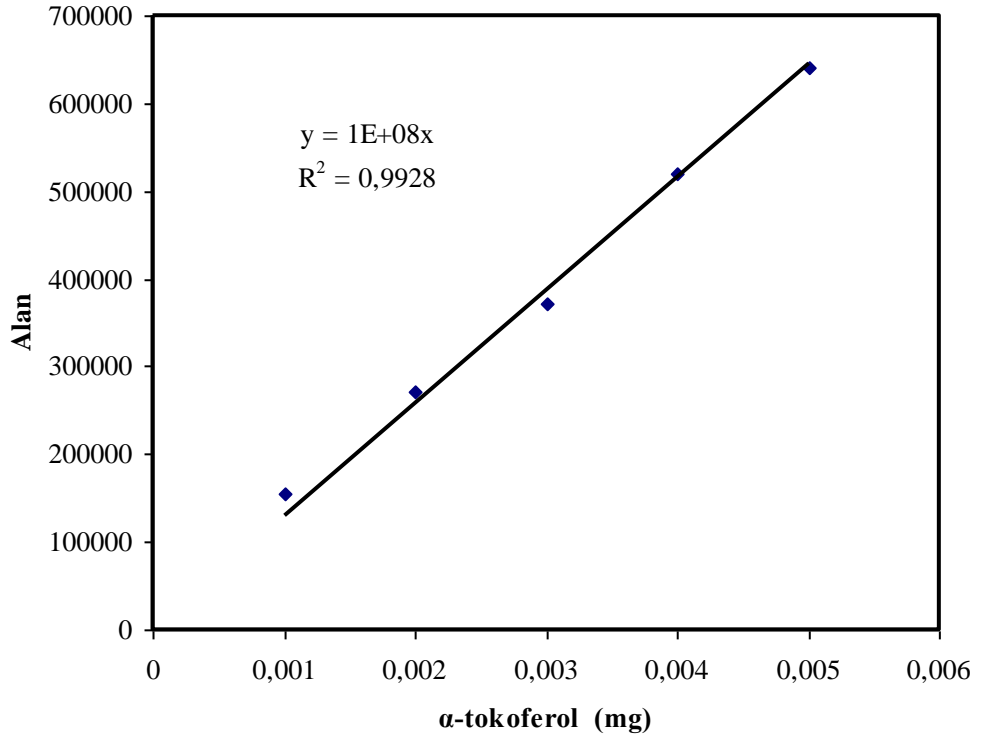
#### 3.1 HPLC Analiz Sonuçları

##### 3.1.1 Antioksidanlara Ait Kalibrasyon Eğrileri

Metot kısmında verilen yöntemlere göre bitkilerdeki  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit miktarlarının belirlenmesi için kalibrasyon eğrilerine ait deneysel veriler UV-Visible dedektörlü HPLC cihazı kullanılarak elde edilmiştir.  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit antioksidanlarının kalibrasyon eğrileri için elde edilmiş deneysel veriler Çizelge 3.1-3.4'de verilerek sırasıyla Şekil 3.1-3.4'de grafik edilmiştir. Şekiller üzerindeki regrasyon katsayılarının değerlerine bakıldığında noktalara arasındaki uyumun oldukça iyi olduğu söylenebilir.

Çizelge 3.1  $\alpha$ -tokoferolün kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler

Konsantrasyon (mg/20 $\mu$ L)	Pik alanı (AU)
0,001	154882
0,002	270818
0,003	372258
0,004	519478
0,005	641202

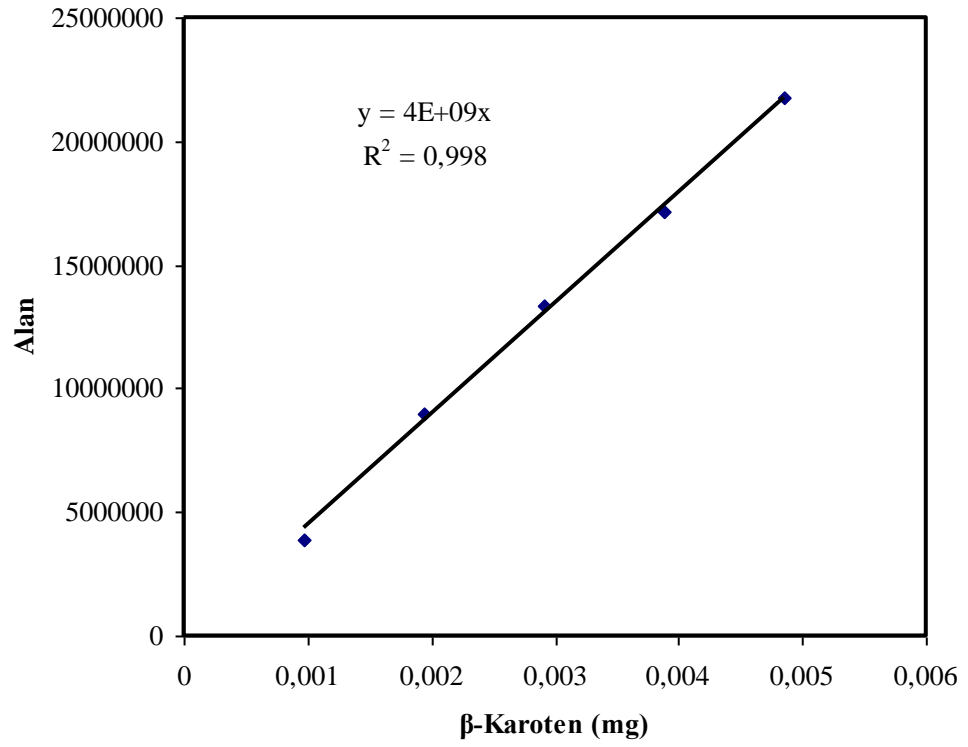


Şekil 3.1 Bitki ekstraktlarındaki α-tokoferol miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.2 β-karotenin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler

Konsantrasyon (mg/20μL)	Pik alanı (AU)
0,00097	3894480
0,00194	8956419
0,00291	13324527
0,00388	17187389
0,00485	21741170

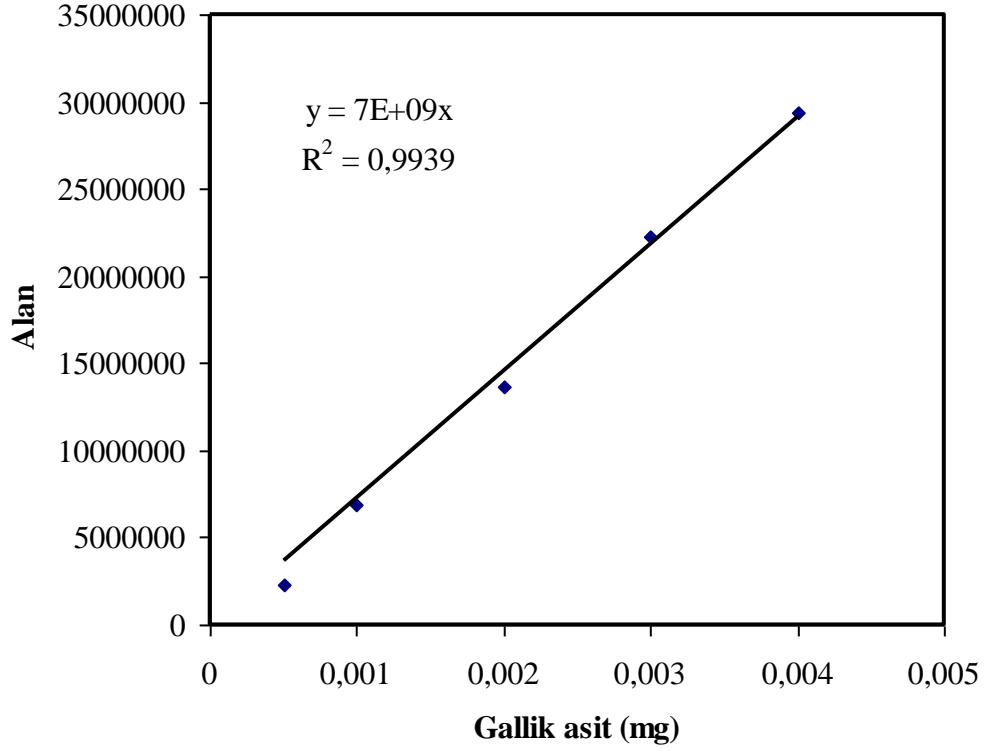




Şekil 3.2 Bitki ekstraktlarındaki β-karoten miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.3 Gallik asitin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler

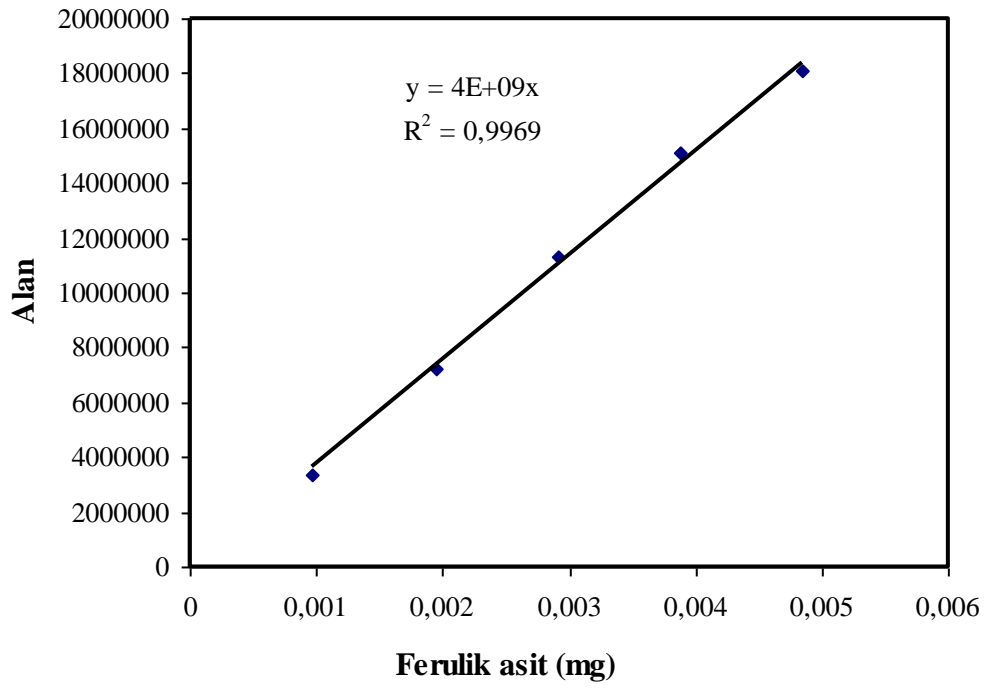
Konsantrasyon (mg/20μL)	Pik alanı(AU)
0,0005	2284778
0,001	6938113
0,002	13685233
0,003	22285129



Şekil 3.3 Bitki ekstraktlarındaki gallik asit miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.4 Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi için elde edilmiş deneysel veriler

Konsantrasyon (mg/20 $\mu$ L)	Pik alanı (AU)
0,00097	3340371
0,00194	7250869
0,00291	11316944
0,00388	15104349
0,00485	18104918

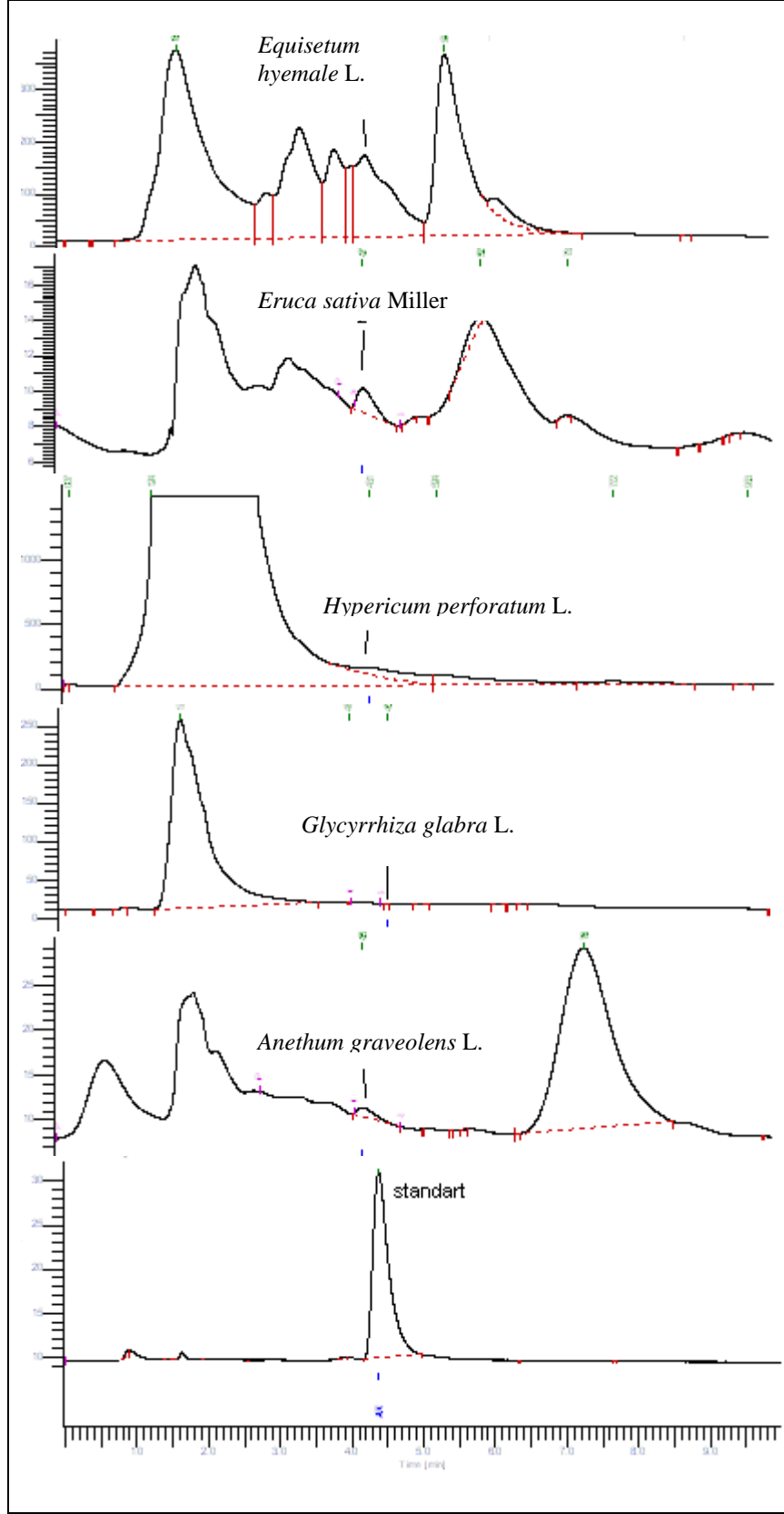


Şekil 3.4 Bitki ekstraktlarındaki ferulik asit miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

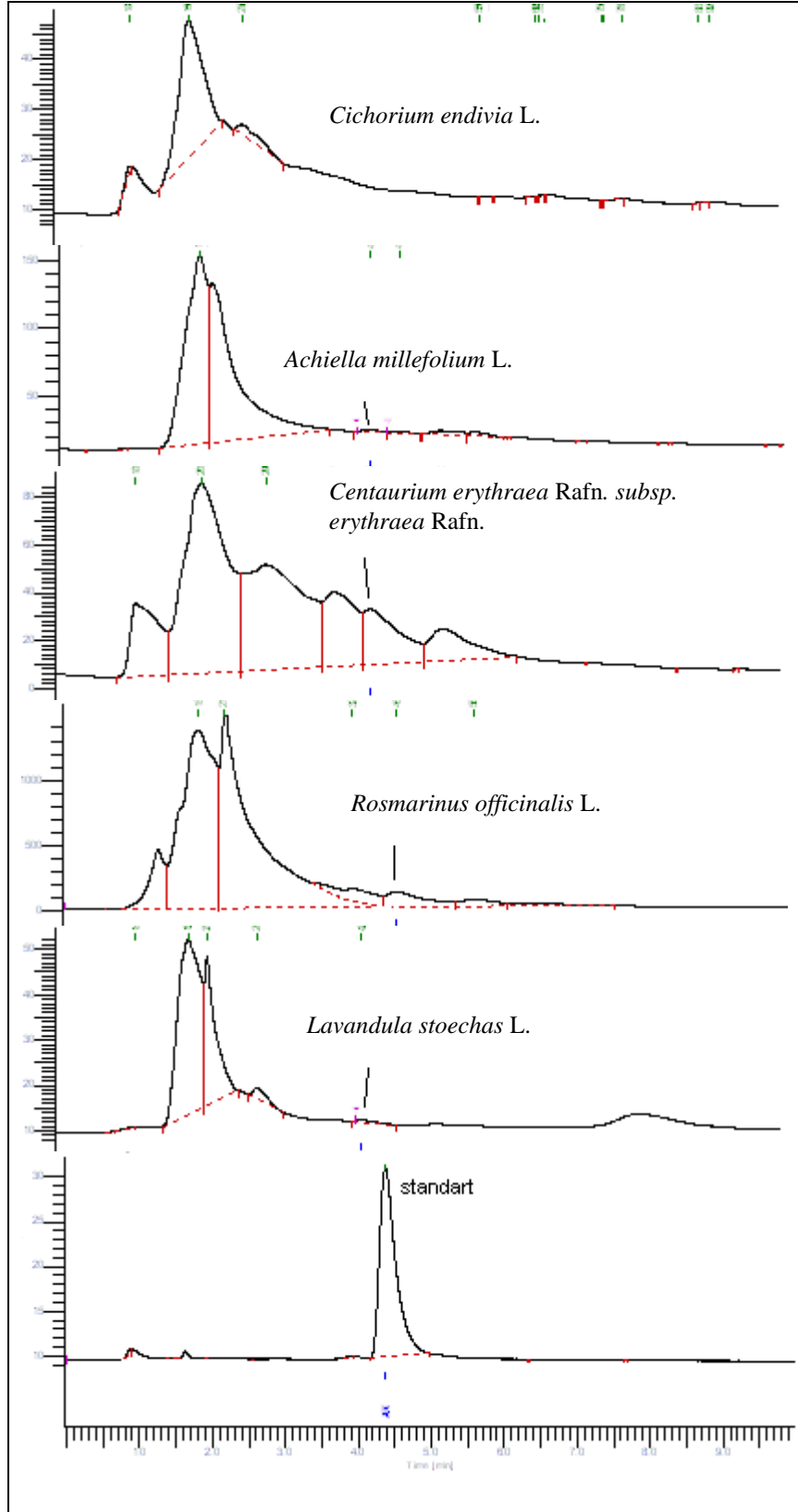
### 3.1.2 Antioksidan Madde Miktarının Belirlenmesi

#### 3.1.2.1 $\alpha$ -Tokoferol Tayini

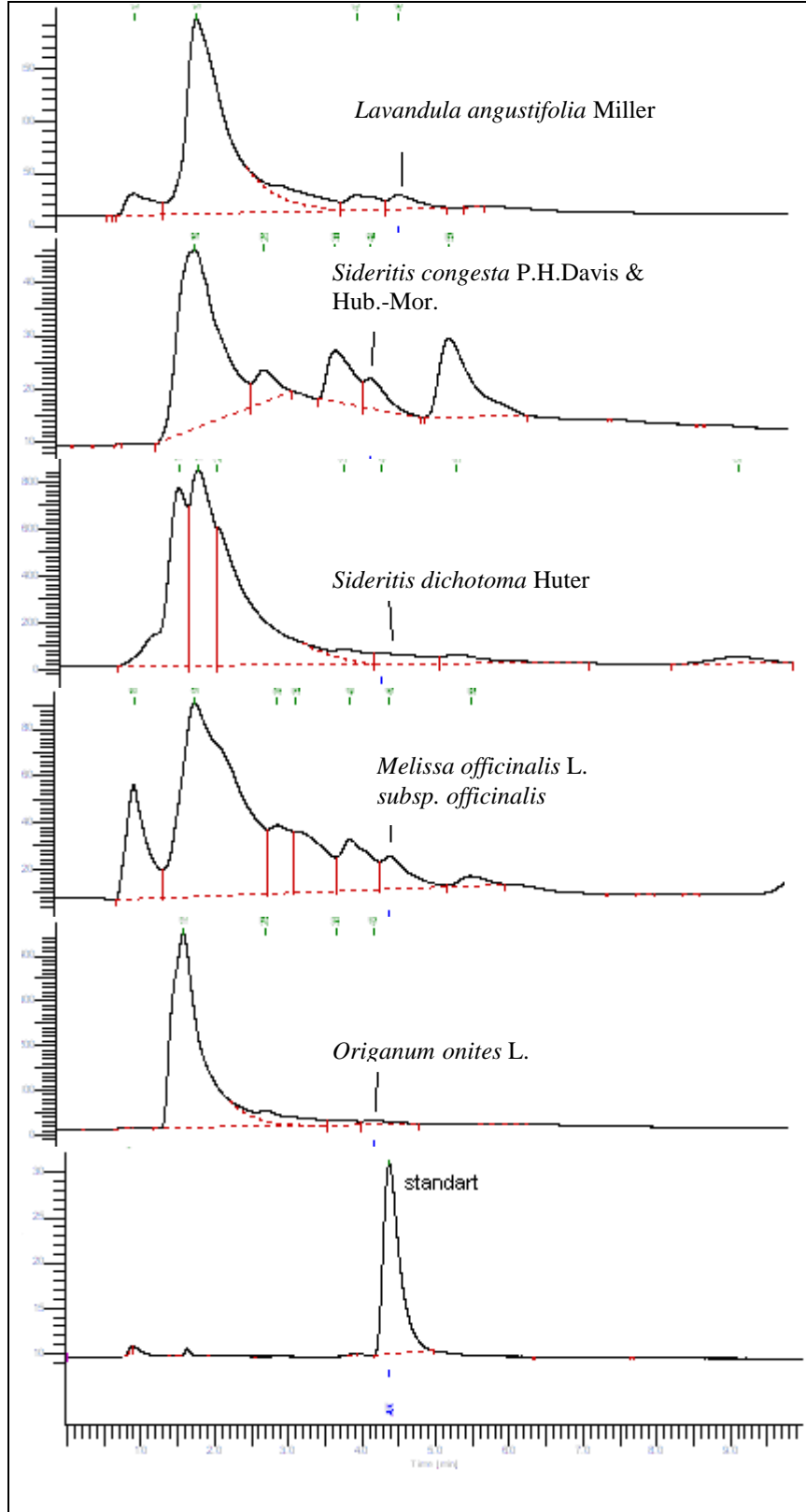
Belirtilen tüm bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içeriklerine ait HPLC spektrumları Şekil 3.5’de gösterilmektedir. Bu spektrumlardaki ilgili pikin alan değerinin kalibrasyon eğrisine ait denklemde yerine konması ile hesaplanan  $\alpha$ -tokoferol miktarları ise Çizelge 3.5’de verilmektedir.



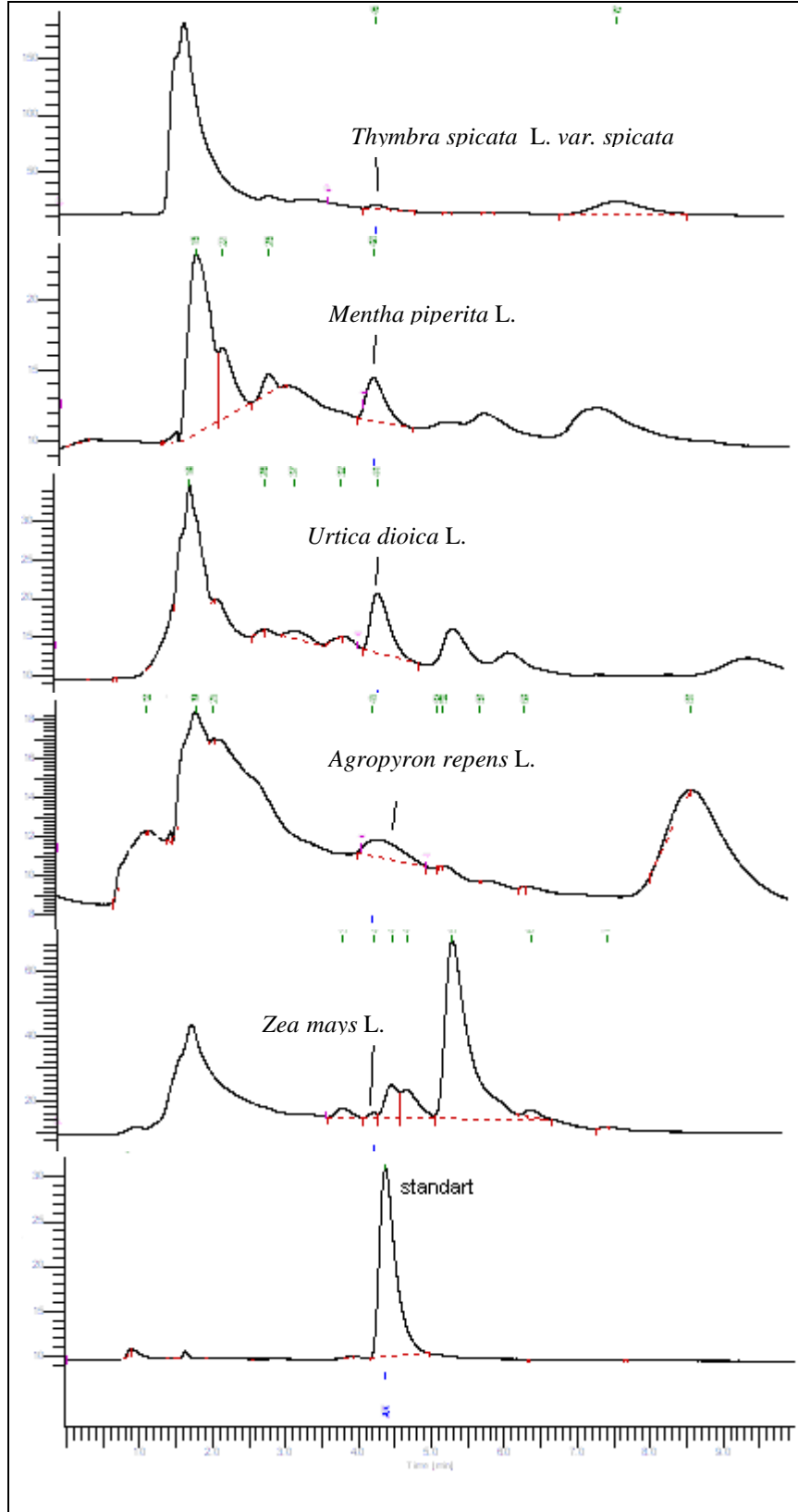
Şekil 3.5 Çalışma bitkilerinin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri



Şekil 3.5'in devamı



Şekil 3.5'in devamı



Şekil 3.5'in devamı

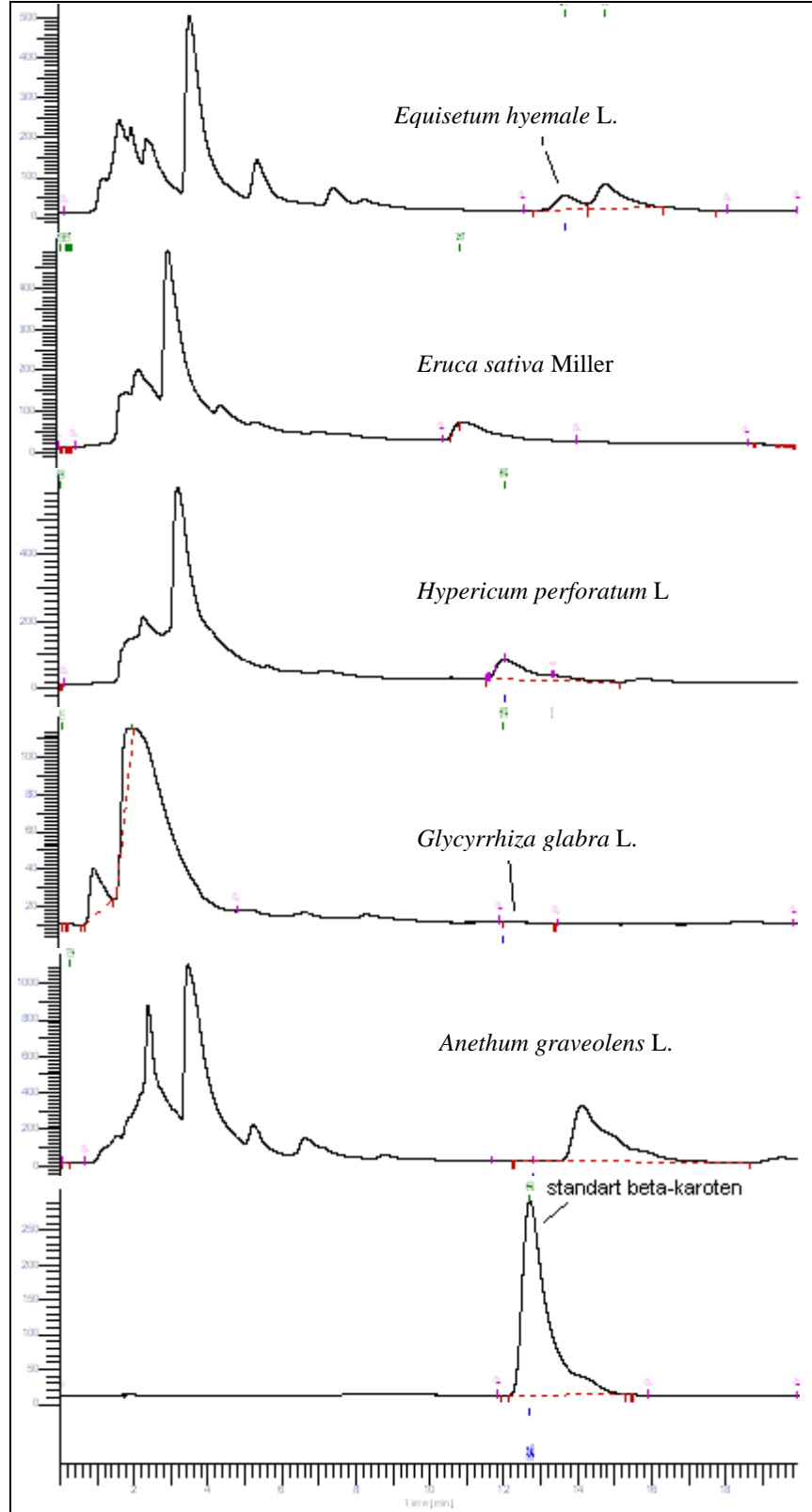
Çizelge 3.5 Bitkilerin  $\alpha$ - tokoferol içerikleri

Bitki türleri	$\alpha$ -Tokoferol (mg/100g)
<i>Equisetum hyemale</i> L.	119,4
<i>Eruca sativa</i> Miller	10
<i>Hypericum perforatum</i> L.	31,65
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	-----
<i>Anethum graveolens</i> L.	1
<i>Cichorium endivia</i> L.	-----
<i>Achiella millefolium</i> L.	0,65
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	32
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	129,75
<i>Lavandula stoechas</i> L.	0,15
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	16,7
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	1,9
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	62,12
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	16,5
<i>Origanum onites</i> L.	6,83
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	25
<i>Mentha piperita</i> L.	3,3
<i>Urtica dioica</i> L.	8,5
<i>Agropyron repens</i> L.	0,4
<i>Zea mays</i> L.	0,3

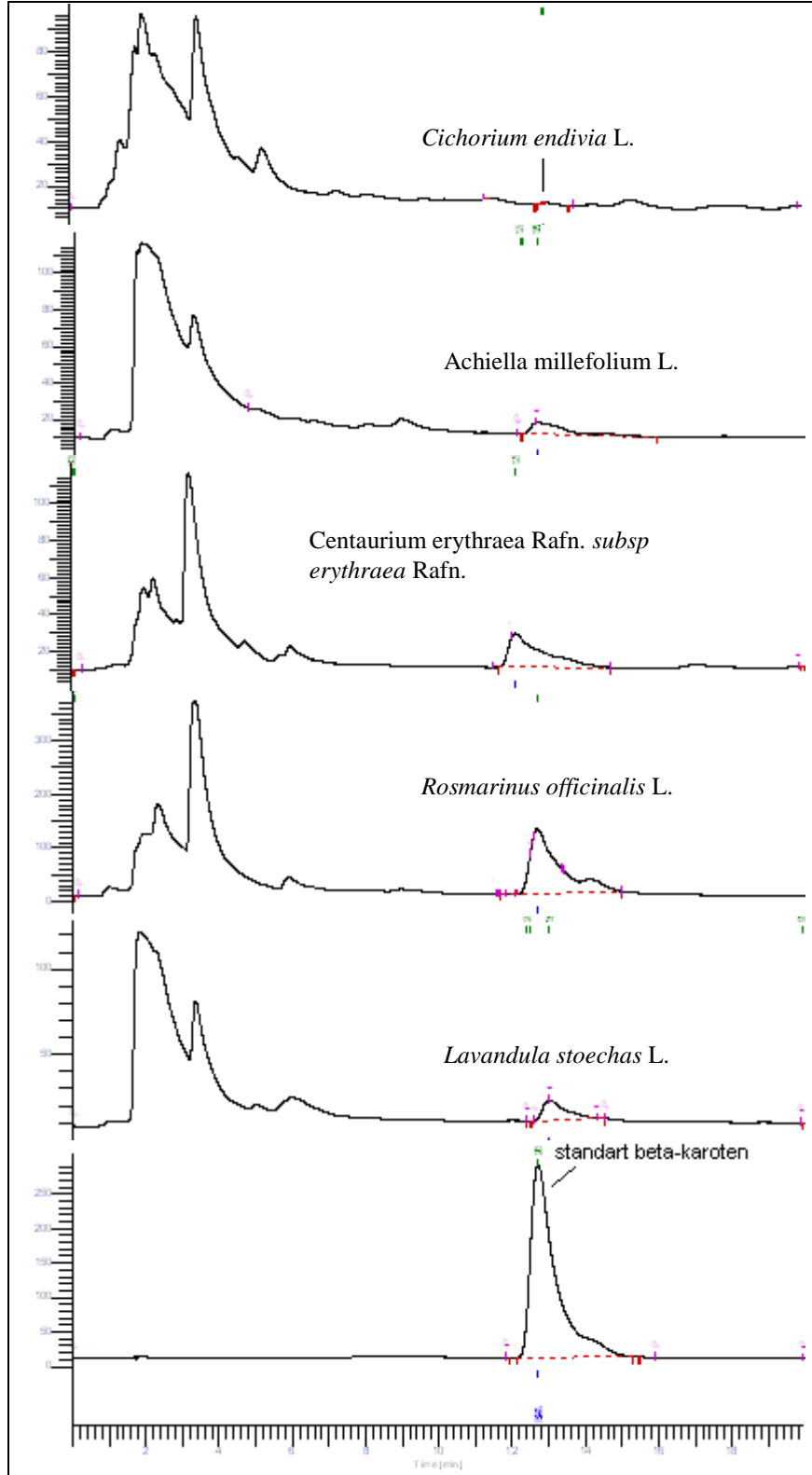


### 3.1.2.2 $\beta$ -Karoten Tayini

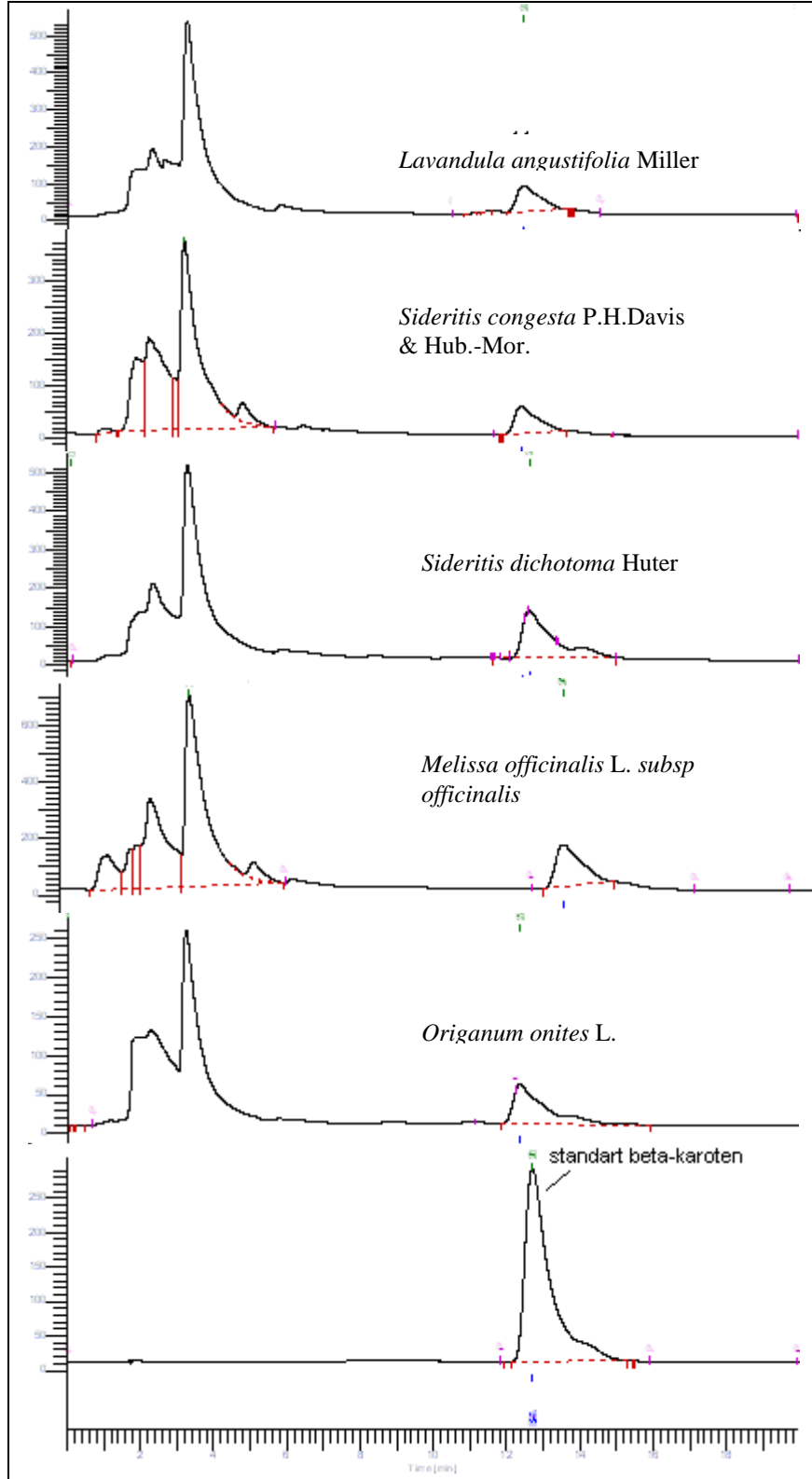
Çalışma bitkilerinin  $\beta$ -karoten içeriklerine ait HPLC spektrumları Şekil 3.6'da gösterilmektedir. Bu spektrumlardaki ilgili pikin alan değerinin kalibrasyon eğrisine ait denklemde yerine konması ile hesaplanan  $\beta$ -karoten miktarları Çizelge 3.6'da verilmektedir.



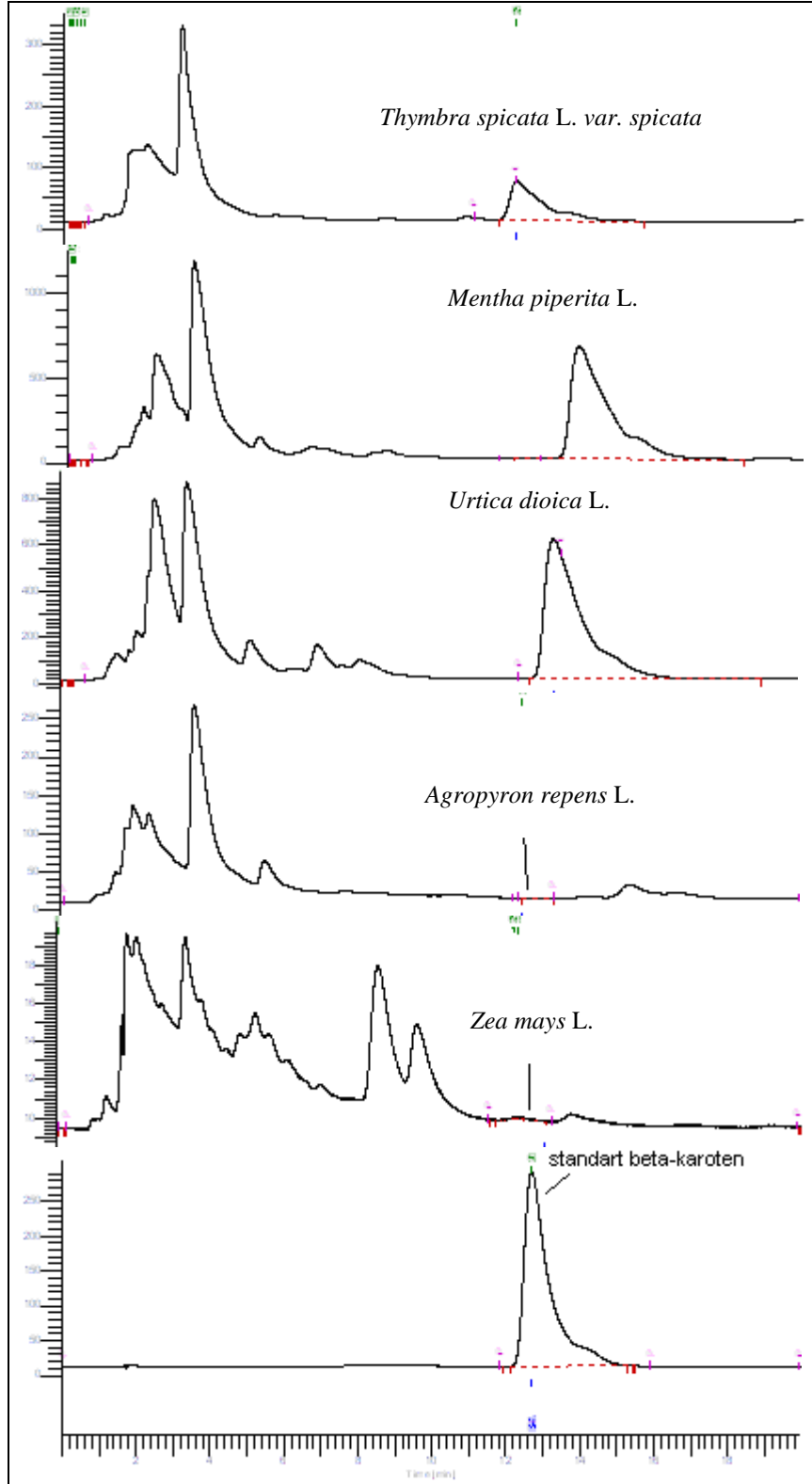
Şekil 3.6 Çalışma bitkilerinin  $\beta$ -karoten içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri



Şekil 3.6'nın devamı



Şekil 3.6'nın devamı



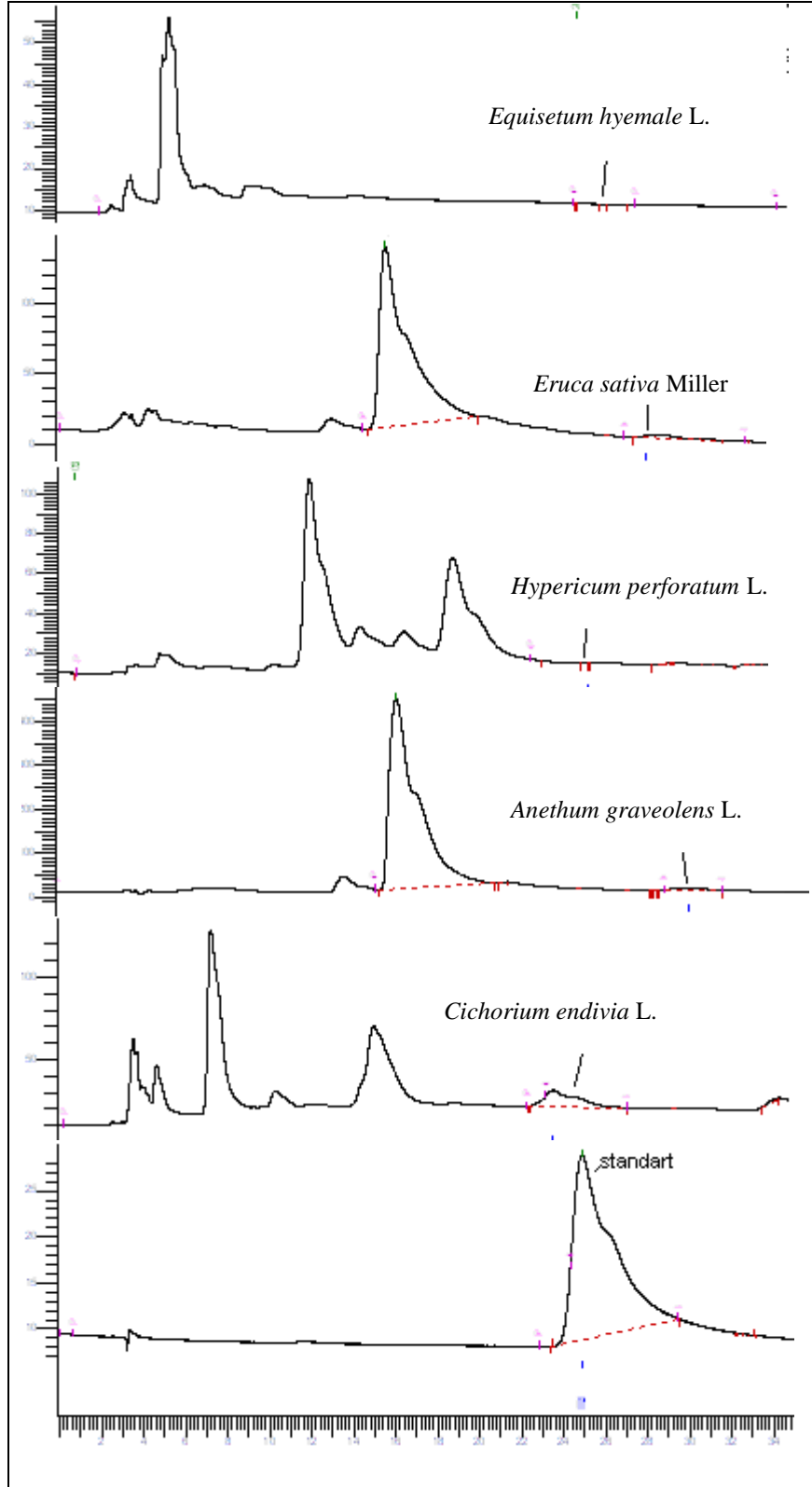
Şekil 3.6'nın devamı

Çizelge 3.6 Bitkilerin  $\beta$ -karoten içerikleri

Bitki türleri	$\beta$ -Karoten (mg/100g)
<i>Equisetum hyemale</i> L.	0,45
<i>Eruca sativa</i> Miller	3,6
<i>Hypericum perforatum</i> L.	1,15
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	-----
<i>Anethum graveolens</i> L.	6,69
<i>Cichorium endivia</i> L.	-----
<i>Achiella millefolium</i> L.	0,15
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	0,45
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2,34
<i>Lavandula stoechas</i> L.	0,15
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	1,05
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	0,75
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	2,25
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	2,25
<i>Origanum onites</i> L.	1,05
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	1,35
<i>Mentha piperita</i> L.	14,25
<i>Urtica dioica</i> L.	11,05
<i>Agropyron repens</i> L.	-----
<i>Zea mays</i> L.	-----

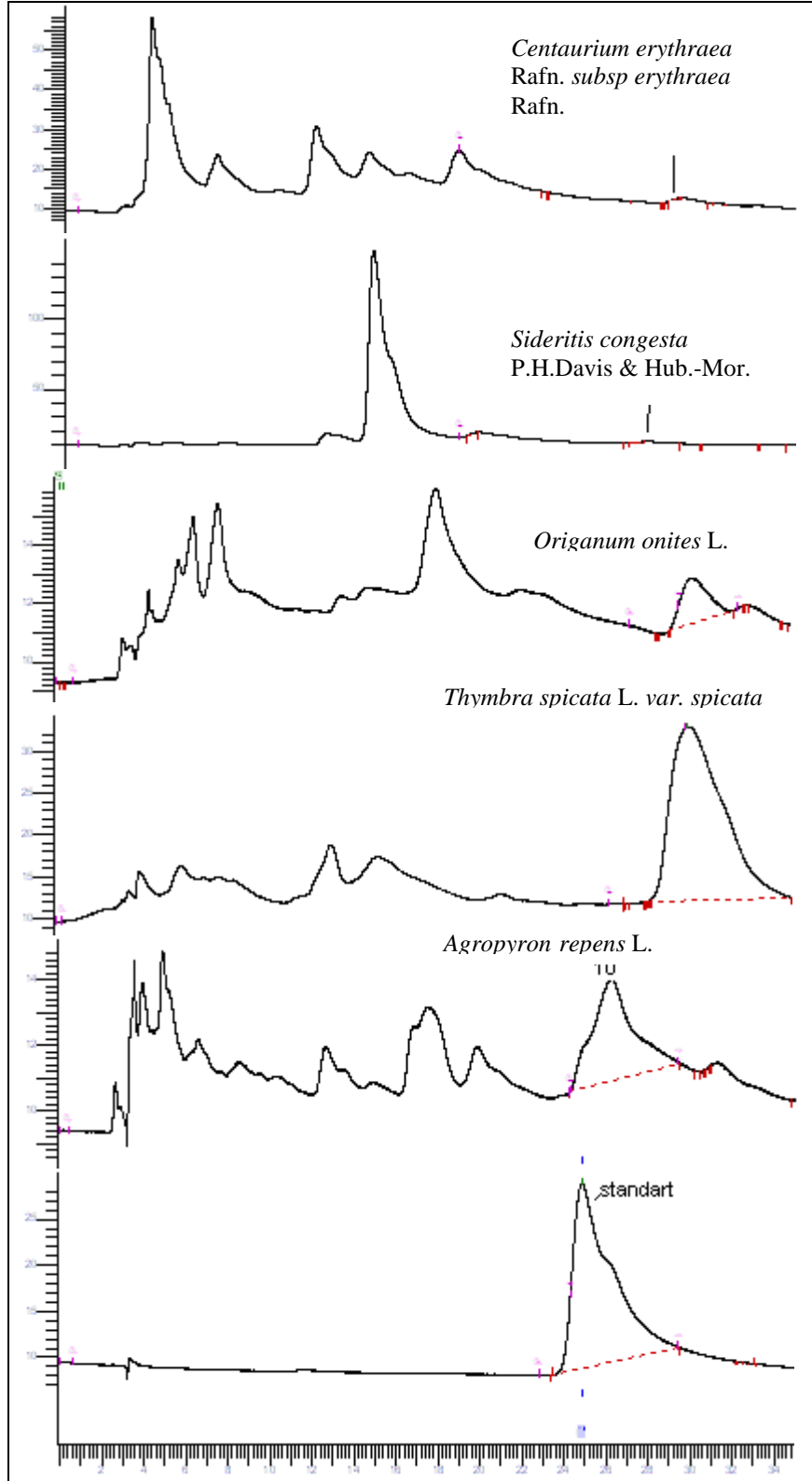
### 3.1.2.3 Ferulik Asit Tayini

Çalışma bitkilerinin ferulik asit içeriklerine ait HPLC spektrumları Şekil 3.7'de gösterilmektedir. Bu spektrumlardaki ilgili pikin alan değerinin kalibrasyon eğrisine ait denklemde yerine konması ile hesaplanan ferulik asit miktarları Çizelge 3.7'de verilmektedir.

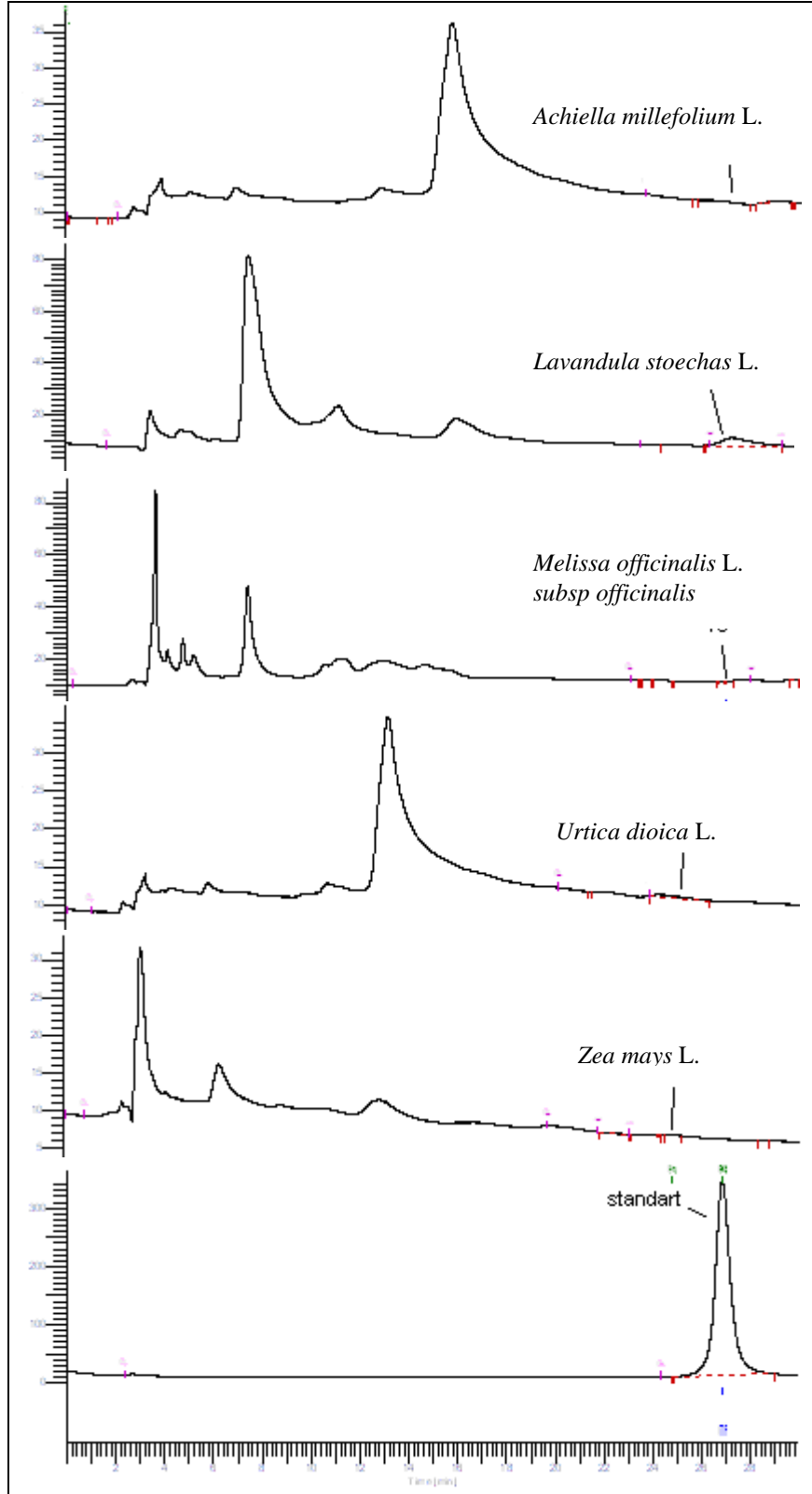


Şekil 3.7 Çalışma bitkilerinin ferulik asit içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri

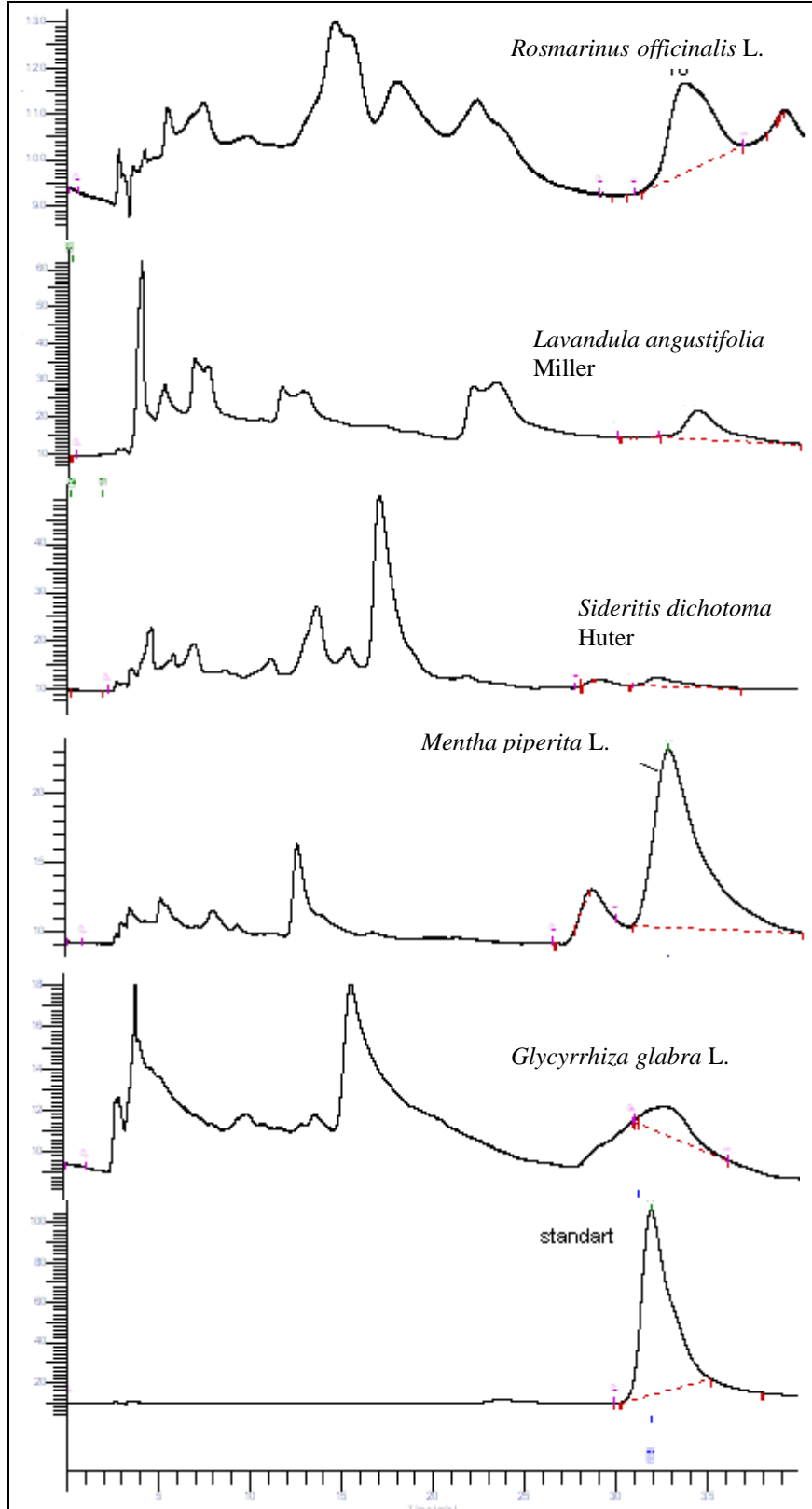




Şekil 3.7'nin devamı



Şekil 3.7'nin devamı



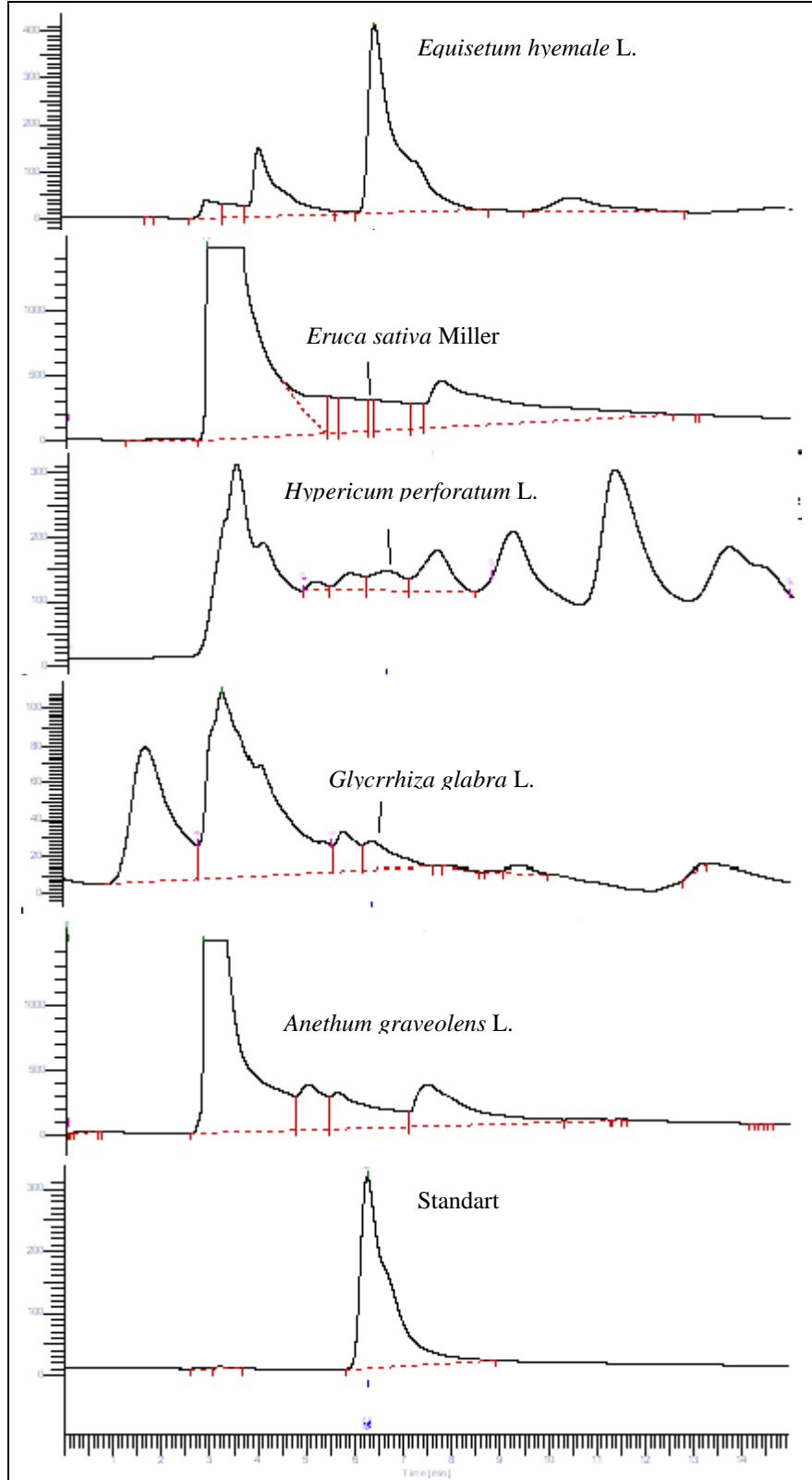
Şekil 3.7'nin devamı

Çizelge 3.7 Bitkilerin ferulik asit içerikleri

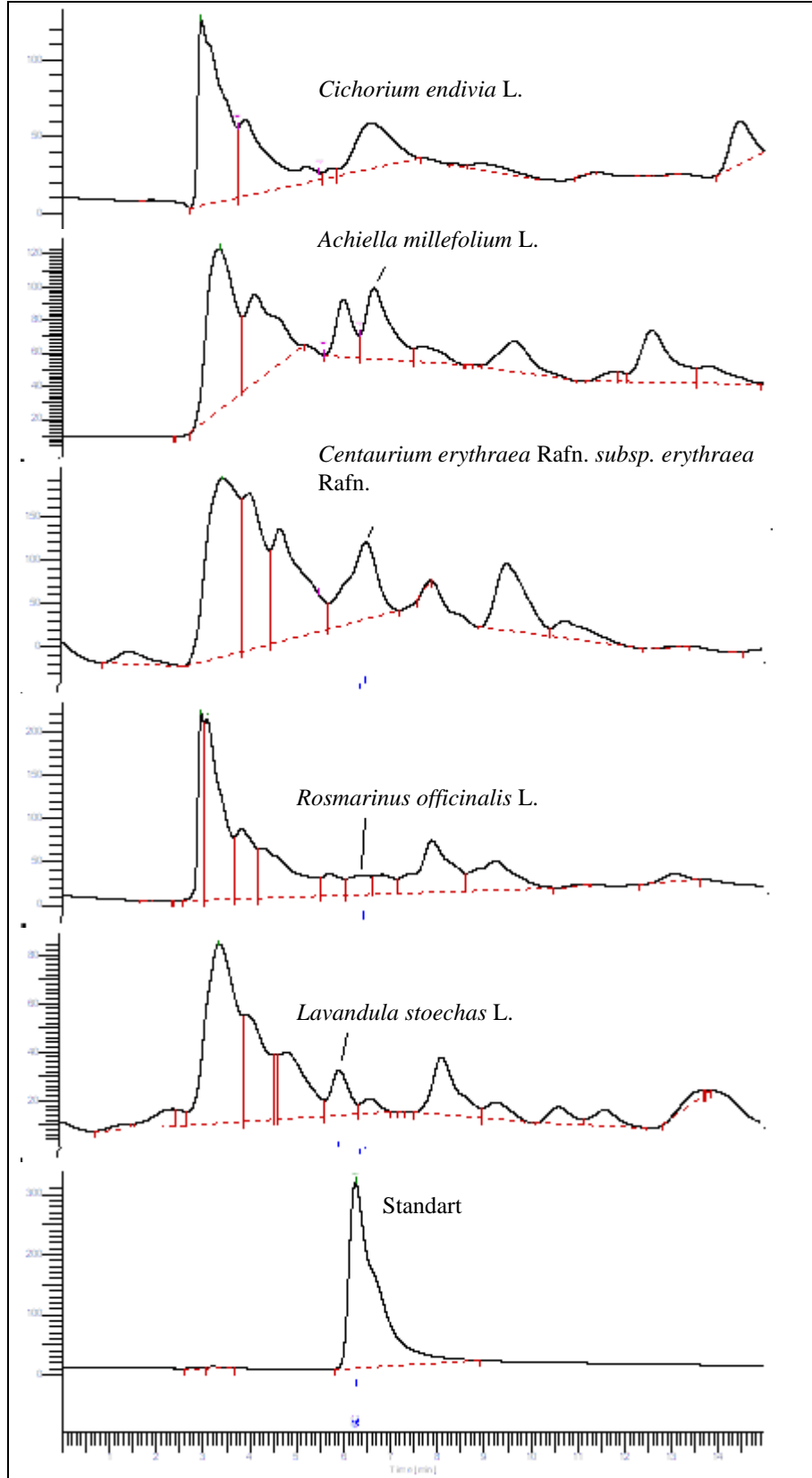
Bitki türleri	Ferulik asit (mg/100g)
<i>Equisetum hyemale</i> L.	-----
<i>Eruca sativa</i> Miller	2,75
<i>Hypericum perforatum</i> L.	-----
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	1,67
<i>Anethum graveolens</i> L.	3,33
<i>Cichorium endivia</i> L.	8,33
<i>Achiella millefolium</i> L.	-----
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	-----
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2,5
<i>Lavandula stoechas</i> L.	2
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	11,25
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	-----
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	2,5
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	-----
<i>Origanum onites</i> L.	7,5
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	15
<i>Mentha piperita</i> L.	25
<i>Urtica dioica</i> L.	7,5
<i>Agropyron repens</i> L.	2,22
<i>Zea mays</i> L.	-----

#### **3.1.2.4 Gallik Asit Tayini**

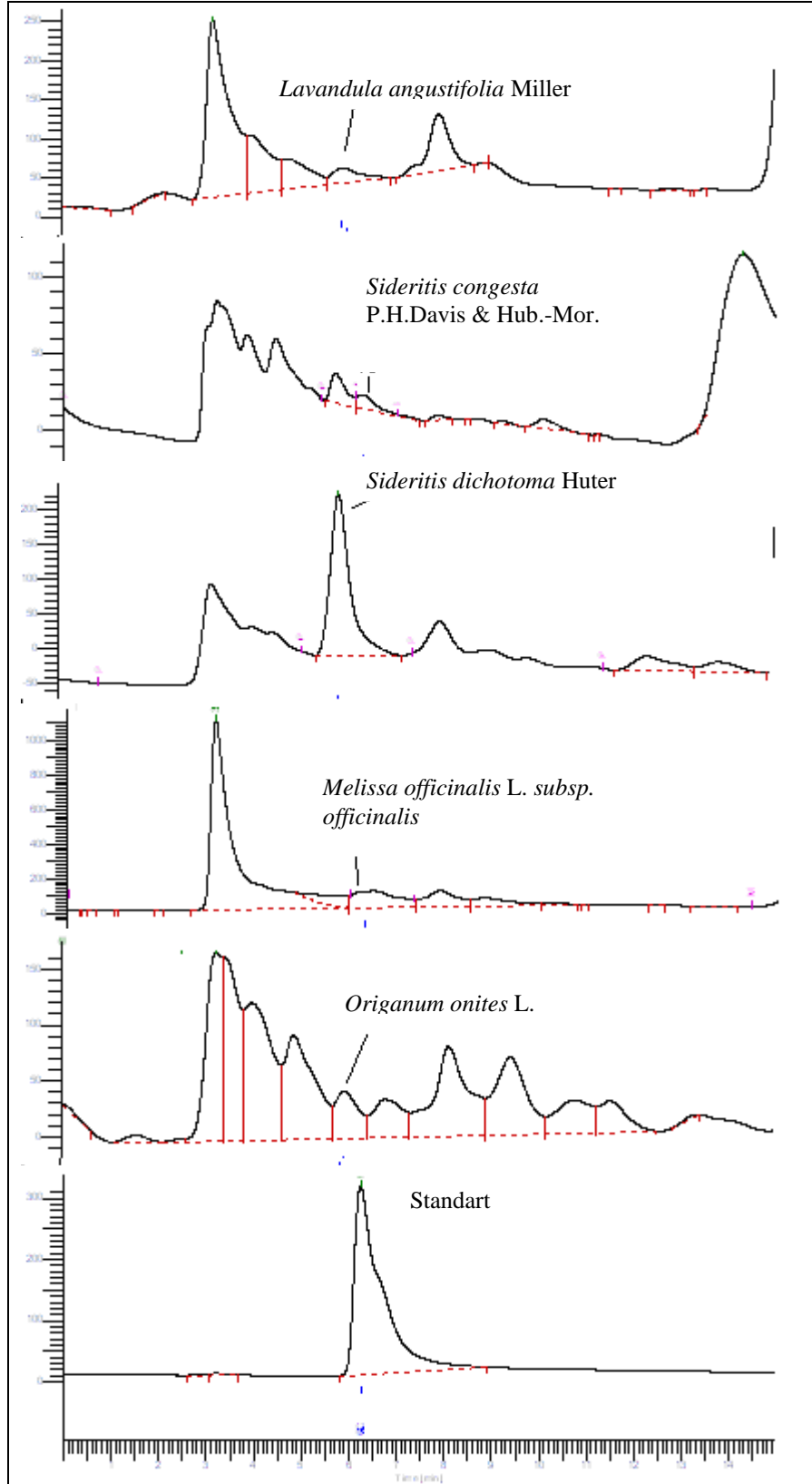
Çalışma bitkilerinin gallik asit içeriklerine ait HPLC spektrumları Şekil 3.8'de gösterilmektedir. Bu spektrumlardaki ilgili pikin alan değerinin kalibrasyon eğrisine ait denklemde yerine konması ile hesaplanan gallik asit miktarları Çizelge 3.8'de verilmektedir.



Şekil 3.8 Çalışma bitkilerinin gallik asit içerikleri için elde edilmiş HPLC grafikleri

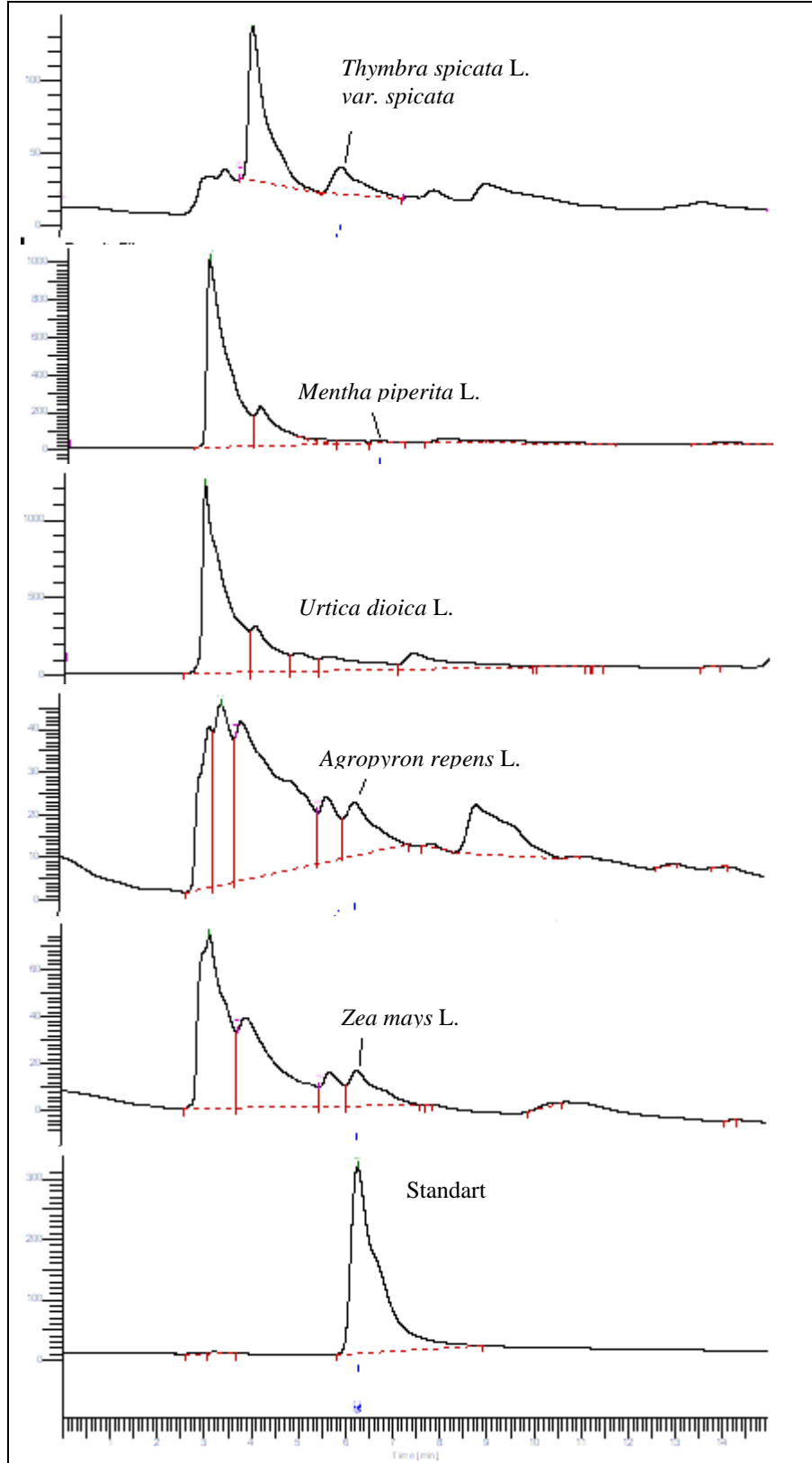


Şekil 3.8'in devamı



Şekil 3.8'in devamı





Şekil 3.8'in devamı

Çizelge 3.8 Bitkilerin gallik asit içerikleri

Bitki türleri	Gallik asit (mg/100g)
<i>Equisetum hyemale</i> L.	122,5
<i>Eruca sativa</i> Miller	12,5
<i>Hypericum perforatum</i> L.	5,83
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	5,83
<i>Anethum graveolens</i> L.	-----
<i>Cichorium endivia</i> L.	5,83
<i>Achiella millefolium</i> L.	3,33
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	19,17
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	5
<i>Lavandula stoechas</i> L.	3,33
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	3,33
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	2,5
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	22,5
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	16,7
<i>Origanum onites</i> L.	5,83
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	6,67
<i>Mentha piperita</i> L.	5
<i>Urtica dioica</i> L.	-----
<i>Agropyron repens</i> L.	6,67
<i>Zea mays</i> L.	5,83

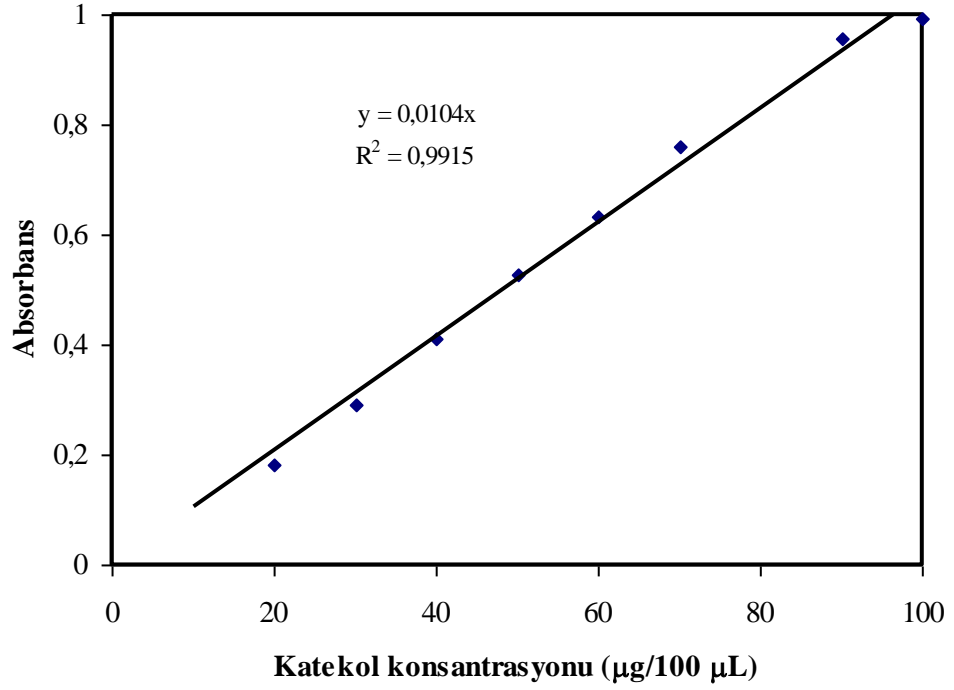
## 3.2 Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Tayini

### 3.2.1 Kalibrasyon Eğrisi

Bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi için çizilen kalibrasyon eğrisine ait deneysel veriler Çizelge 3.9’da verilerek Şekil 3.9’da grafik edilmiştir. Kalibrasyon eğrisine ait regresyon katsayısının değerine bakıldığında noktalar arasındaki uyumun oldukça iyi olduğu söylenebilir.

Çizelge 3.9 Toplam fenolik madde tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisine ait deneysel veriler

Konsantrasyon ( $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$ )	Absorbans değeri
20	0,1816
30	0,2891
40	0,4095
50	0,5287
60	0,6343
70	0,7603
90	0,9575
100	0,9913



Şekil 3.9 Bitki ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

### 3.2.2 Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Çalışmada kullanılan bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri Şekil 3.9'daki kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplandı ve elde edilen deneysel veriler Çizelge 3.10'da verilmektedir. Çizelgeden görüldüğü gibi en yüksek fenolik madde içeriğine sahip türün *Hypericum perforatum* olduğu söylenebilir.

Çizelge 3.10 Bitki ekstrelerindeki toplam fenolik madde içerikleri

<b>Bitki türleri</b>	<b>Fenolik içeriği (mg/100g)</b>
<i>Equisetum hyemale</i> L.	2797
<i>Eruca sativa</i> Miller	609
<i>Hypericum perforatum</i> L.	3771
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	447
<i>Anethum graveolens</i> L.	1220
<i>Cichorium endivia</i> L.	1331
<i>Achiella millefolium</i> L.	767
<i>Centaureum erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	2477
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2157
<i>Lavandula stoechas</i> L.	927
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	783
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	3669
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	2026
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	1411
<i>Origanum onites</i> L.	1833
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	1677
<i>Mentha piperita</i> L.	1857
<i>Urtica dioica</i> L.	1026
<i>Agropyron repens</i> L.	743
<i>Zea mays</i> L.	213

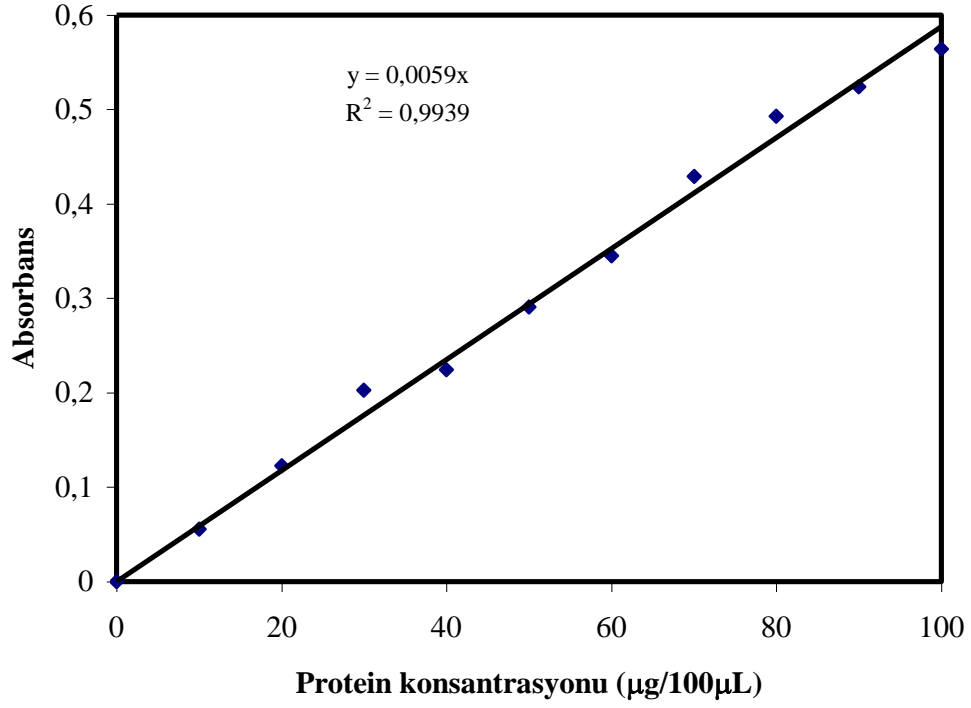
### 3.3 Bitki Ekstraktlarındaki Toplam Protein İçeriklerinin Tayini

#### 3.3.1 Kalibrasyon Eğrisi

Bitki ekstraktlarının toplam protein içerikleri Bradford yöntemine göre çizilmiş kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlendi. Kalibrasyon eğrisinin çizimi için elde edilen deneysel veriler Çizelge 3.11’de verilerek Şekil 3.10’da grafik edilmiştir. Şekildeki regrasyon katsayısı değerinden görüldüğü gibi kalibrasyon eğrisinin çiziminde kullanılan noktalar arasındaki uyumun oldukça iyi olduğu söylenebilir.

Çizelge 3.11 Protein tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisine ait deneysel veriler

Konsantrasyon ( $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$ )	Absorbans değeri
10	0,0557
20	0,1224
30	0,2024
40	0,2245
50	0,2910
60	0,3448
70	0,4289
80	0,4926
90	0,5243
100	0,5643



Şekil 3.10 Bitki ekstraktlarındaki protein miktarlarını hesaplamak için çizilmiş kalibrasyon eğrisi

### 3.3.2 Bitki Ekstraktlarının Protein İçerikleri

Bitki materyallerinin protein içerikleri metot kısmında verilen yönteme göre ekstrakte edildikten sonra Bradford yöntemine göre belirlendi. Bu şekilde bitki ekstraktları için elde edilmiş deneysel veriler Çizelge 3.12’de verilmektedir. Çizelgeden görüldüğü gibi bitki ekstraktlarının protein içerikleri değişmektedir.

Çizelge 3.12 Bitki ekstraktlarındaki toplam protein içerikleri verileri

<b>Bitki türleri</b>	<b>Protein miktarı (mg/100g)</b>
<i>Equisetum hyemale</i> L.	560
<i>Eruca sativa</i> Miller	640
<i>Hypericum perforatum</i> L.	850
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	2170
<i>Anethum graveolens</i> L.	1544
<i>Cichorium endivia</i> L.	527
<i>Achiella millefolium</i> L.	594
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn. <i>subsp erythraea</i> Rafn.	382
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	1866
<i>Lavandula stoechas</i> L.	1308
<i>Lavandula angustifolia</i> Miller	1882
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	609
<i>Sideritis dichotoma</i> Huter	1478
<i>Melissa officinalis</i> L. <i>subsp officinalis</i>	1419
<i>Origanum onites</i> L.	1199
<i>Thymbra spicata</i> L. <i>var. spicata</i>	1200
<i>Mentha piperita</i> L.	1297
<i>Urtica dioica</i> L.	2088
<i>Agropyron repens</i> L.	300
<i>Zea mays</i> L.	999



## 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

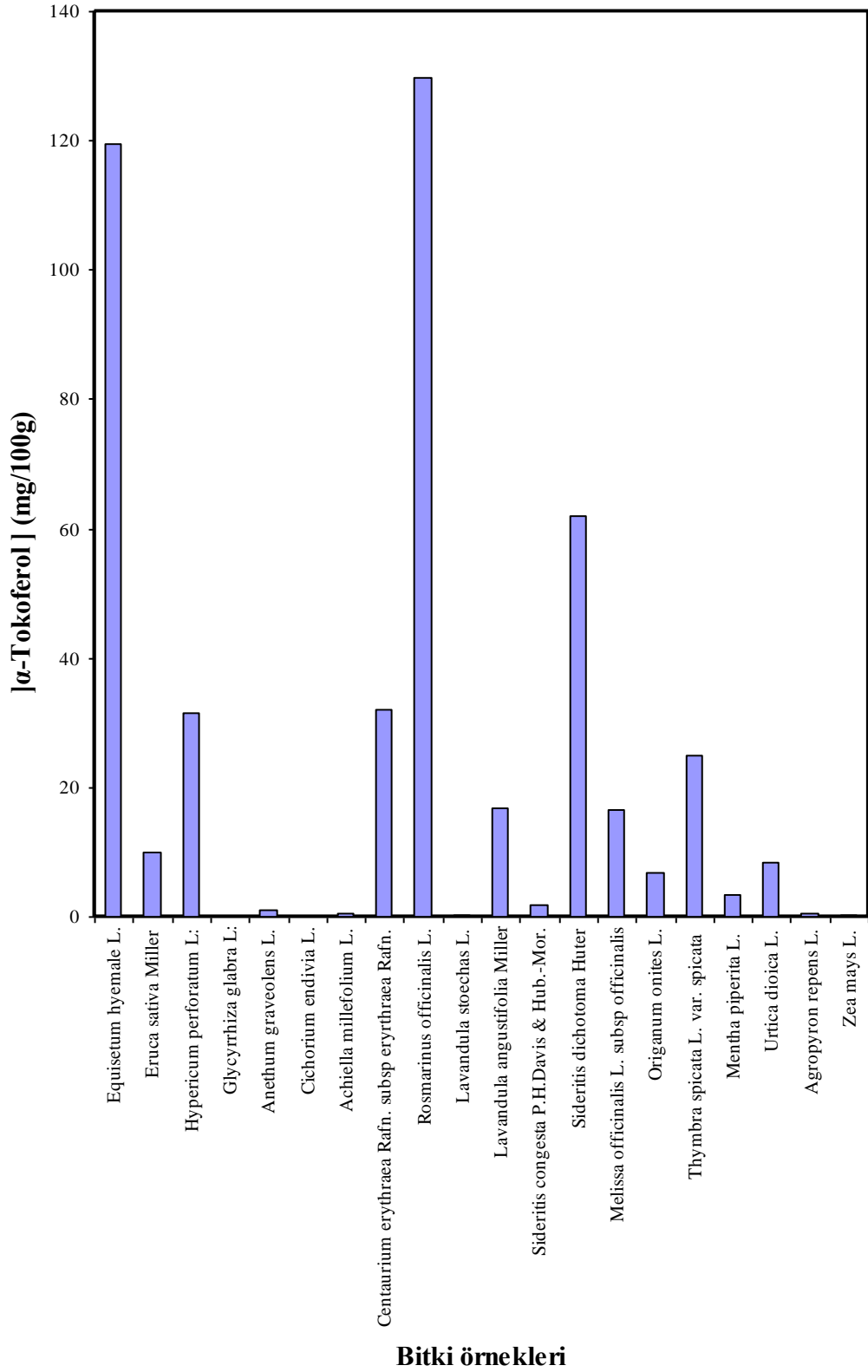
### 4.1 Bitkilerin Antioksidan Bileşenleri

Çalışmada kullanılan bitkilerin ekstraktlarından analiz edilmiş  $\alpha$ - tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit miktarları için elde edilmiş sonuçlar aşağıda tartışılmaktadır.

#### 4.1 1 Bitkilerin $\alpha$ -Tokoferol İçerikleri

Özellikle bitkisel yağlar ve kuruyemişlerde bol miktarda bulunan E vitamininin en güçlü ve doğal formu olan  $\alpha$ -tokoferol; i. doymamış yağları otooksidasyona karşı korur, ii. serbest radikalleri yakalayarak hücre membranının bu radikallerden etkilenmesini engeller ve iii. membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur [45]. Yukarıdaki açıklamalardan görüldüğü gibi  $\alpha$ -tokoferol, vücudu çevrenin olumsuz şartlarına ve vücut içinde oluşan serbest radikallere karşı korumaktadır. Bu nedenle günlük beslenmemizde kullandığımız bitkisel kaynaklı gıdalar büyük bir önem teşkil etmektedir. Bu çalışmada halk arasında şifalı bitkiler olarak adlandırılan 20 farklı bitkinin  $\alpha$ -tokoferol içeriği HPLC'i ile belirlenerek Çizelge 3.5'de verilmişti. Bu çizelgedeki verilerin kullanılmasıyla bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içeriklerini gösteren grafik Şekil 4.1'de verilmektedir. Bu şekilden görüldüğü gibi bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri bitkiden bitkiye önemli farklılıklar göstermektedir. En fazla  $\alpha$ -tokoferol içeriğine sahip bitki türünün *Rosmarinus officinalis* L.'nin olduğu bunu ise genel anlamda *Equisetum hyemale* L. ve *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor'in izlediği söylenebilir. *Glycyrrhiza glabra* L., *Cichorium endivia* L., *Lavandula stoechas* L. ve *Zea mays* L. bitki türlerinde ise  $\alpha$ -tokoferol içeriğine rastlanılmamıştır. Literatürde  $\alpha$ -tokoferol içerikleri belirlenmiş bazı bitki türlerine ait sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmektedir. Literatürdeki sonuçlarla kendi sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda *Equisetum hyemale* L., *Eruca sativa* Miller, *Hypericum perforatum* L., *Centaurium erythraea* Rafn. subsp. *erythraea* Rafn., *Rosmarinus*

*officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Miller, *Sideritis dichotoma* Huter, *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, *Mentha piperita* L. ve *Urtica dioica* L. türlerinin  $\alpha$ -tokoferol içeriklerinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.



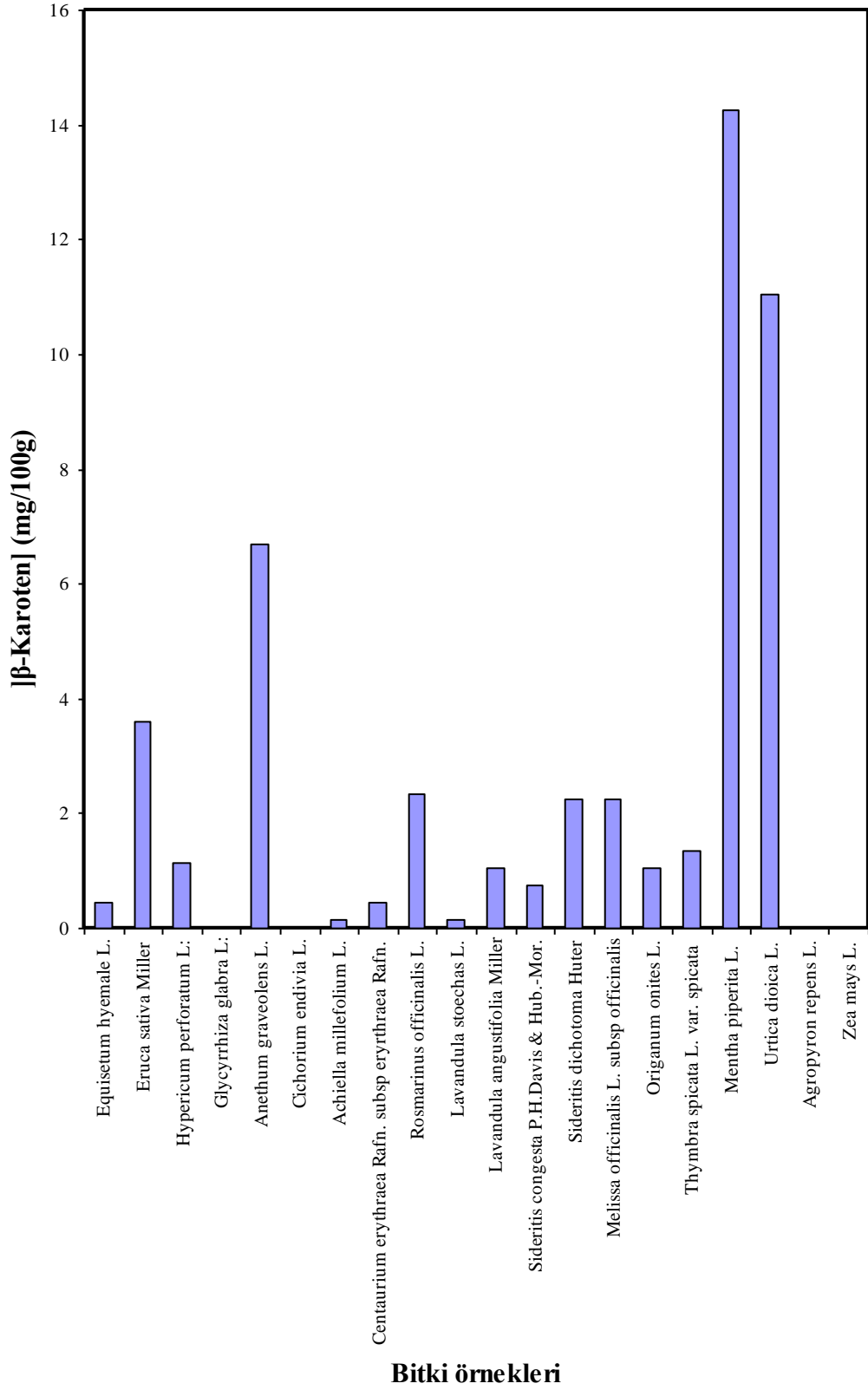
Şekil 4.1 Bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri

Çizelge 4.1 Literatürdeki bazı örneklerin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri

$\alpha$ -tokoferol kaynağı	$\alpha$ -tokoferol içeriği (mg/100g)	Referans
Fındık	24,2–31,4	[67]
<i>Moringa oleifera</i>	9,59–74,45	[74]
<i>Ficus elastica</i>	30,1	[73]
Yengeç	23,3	[72]
<i>Brassica</i> sebzeleri	0,47	[65]
Meyve ve sebzeler (kavun, patates, üzümü)	0,12–3,41	[62]

#### 4.1.2 Bitkilerin $\beta$ -Karoten İçerikleri

Serbest radikallerin nötralize edilmesine yardımcı olan  $\beta$ -karoten, güçlü bir antioksidandır. Bağışıklık sistemini destekleyerek vücudun enfeksiyonlara karşı mücadele etmesini sağlar. Bitkisel kaynaklı bir antioksidan olan  $\beta$ -karoten genelde sarı, turuncu ve koyu yeşil sebzeler ile sarı turuncu meyveler de yaygın olarak bulunur. Bu çalışmada kullanılan bitkiler için belirlenmiş  $\beta$ -karoten içerikleri Çizelge 3.6'de verilmiştir. Bu verilerin kullanılmasıyla çizilmiş grafik Şekil 4.2'de gösterilmektedir. Bu şekilden görüldüğü gibi bitki türlerine bağlı olarak  $\beta$ -karoten içeriklerinin de değiştiği görülmektedir. En fazla  $\beta$ -karoten içeriğine sahip türün *Mentha piperita* L.'nin olduğu ve bunu *Urtica dioica* L., *Anethum graveolens* L. ve *Eruca sativa* Miller'in izlediği bulundu. Ancak *Glycyrrhiza glabra* L., *Agropyrum repens* L. ve *Zea mays* L. gibi bazı bitki türlerinde ise  $\beta$ -karoten içeriğine rastlanmamıştır. Literatürde incelenmiş bazı örneklerin  $\beta$ -karoten içerikleri ise Çizelge 4.2'de verilmektedir. Sonuçlarımızı literatürdeki sonuçlarla kıyaslandığında bitki örneklerinin  $\beta$ -karoten içeriklerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu bitki türlerinin alınması, vücut içerisinde oluşan serbest radikallere karşı vücudumuzun bağışıklı sisteminin artmasına neden olacaktır. Yine bu bitki türlerinin tarımının yapılması ülke ekonomisine de önemli katkılar yapacaktır.



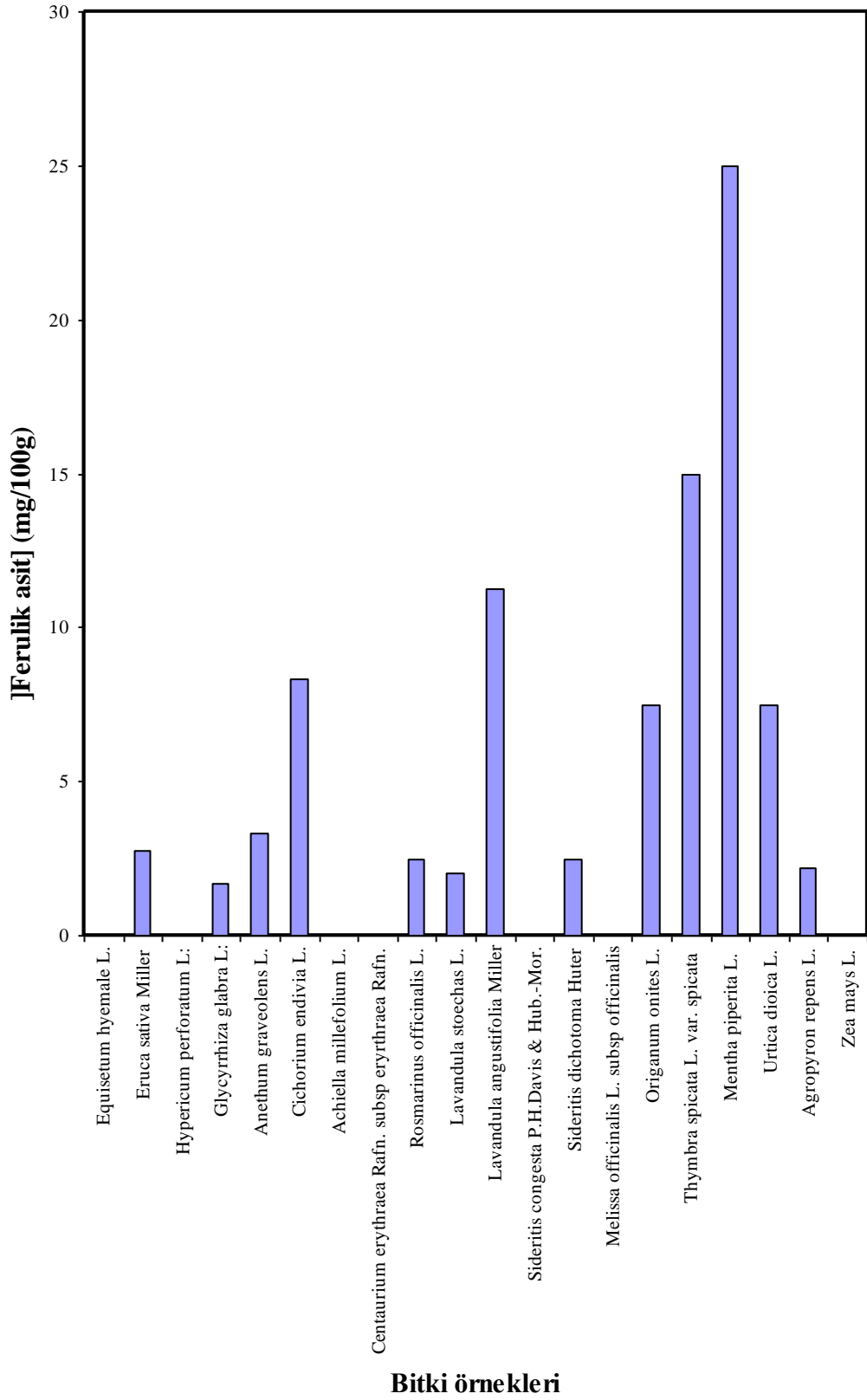
Şekil 4.2 Bitkilerin  $\beta$ -karoten içerikleri

Çizelge 4.2 Literatürdeki bazı örneklerin  $\beta$ -karoten içerikleri

$\beta$ -karoten kaynağı	$\beta$ -karoten içeriği (mg/100g)	Referans
Meyve ve sebzeler (kavun, patates üzümü)	0,033–2,589	[62]
Böğürtlen türleri	0,1	[63]
Patates	0,042-0,219	[64]
<i>Brassica</i> sebzeleri	0,81	[65]
Papaya ve muz	0,232	[66]
Sebzeler	6,3–9,6	[68]
<i>Capsicum annuum</i> L.	0,262	[70]
Yengeç	0,2	[72]

#### 4.1.3 Bitkilerin Ferulik Asit İçerikleri

Ferulik asit, hücre duvarına ve DNA ya zarar veren süperoksit, nitrik oksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikalleri etkisiz hale getiren bir antioksidandır. Bu özelliği ile gıda endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Çizelge 3.7, çalışmada kullanılan şifalı bitkilerin ferulik asit içeriklerini göstermektedir. Çizelge incelendiğinde bitkilerin ferulik asit içerikleri arasında önemli değişikliklerin olduğu görülmektedir. Çizelge 3.7'deki verilerin grafik edilmiş hali Şekil 4.3'de verilmektedir. Çizelge 3.7 ve Şekil 4.3'den görüldüğü gibi en fazla ferulik asit içeriğine sahip bitki türünün *Mentha piperita* L. olduğu bulundu. Yine Şekil 4.3'den *Equisetum hiemale* L., *Hypericum perforatum* L., *Achillea millefolium* L., *Centaurium erythraea* Rafn *subsp erythraea* Rafn., *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor., *Mellisa officinalis* L. *subsp. officinalis* ve *Zea mays* L. gibi bazı bitki türlerinin ferulik asit içeriğine sahip olmadıkları da belirlendi. Sonuçlar literatürdeki örneklerin ferulik asit içerikleri ile karşılaştırıldığında (Çizelge 4.3) çalışmada kullanılan bitkilerin ferulik asit içeriklerinin yüksek olduğu söylenebilir.



Şekil 4.3 Bitkilerin ferulik asit içerikleri

Çizelge 4.3 Literatürdeki bazı örneklerin ferulik asit içerikleri

Ferulik asit kaynağı	Ferulik asit içeriği (mg/100g)	Referans
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	13,08-23,47	[76]
Farklı çavdar türleri	90-117	[78]
<i>Centaurea pterocoula</i>	25,09	[80]

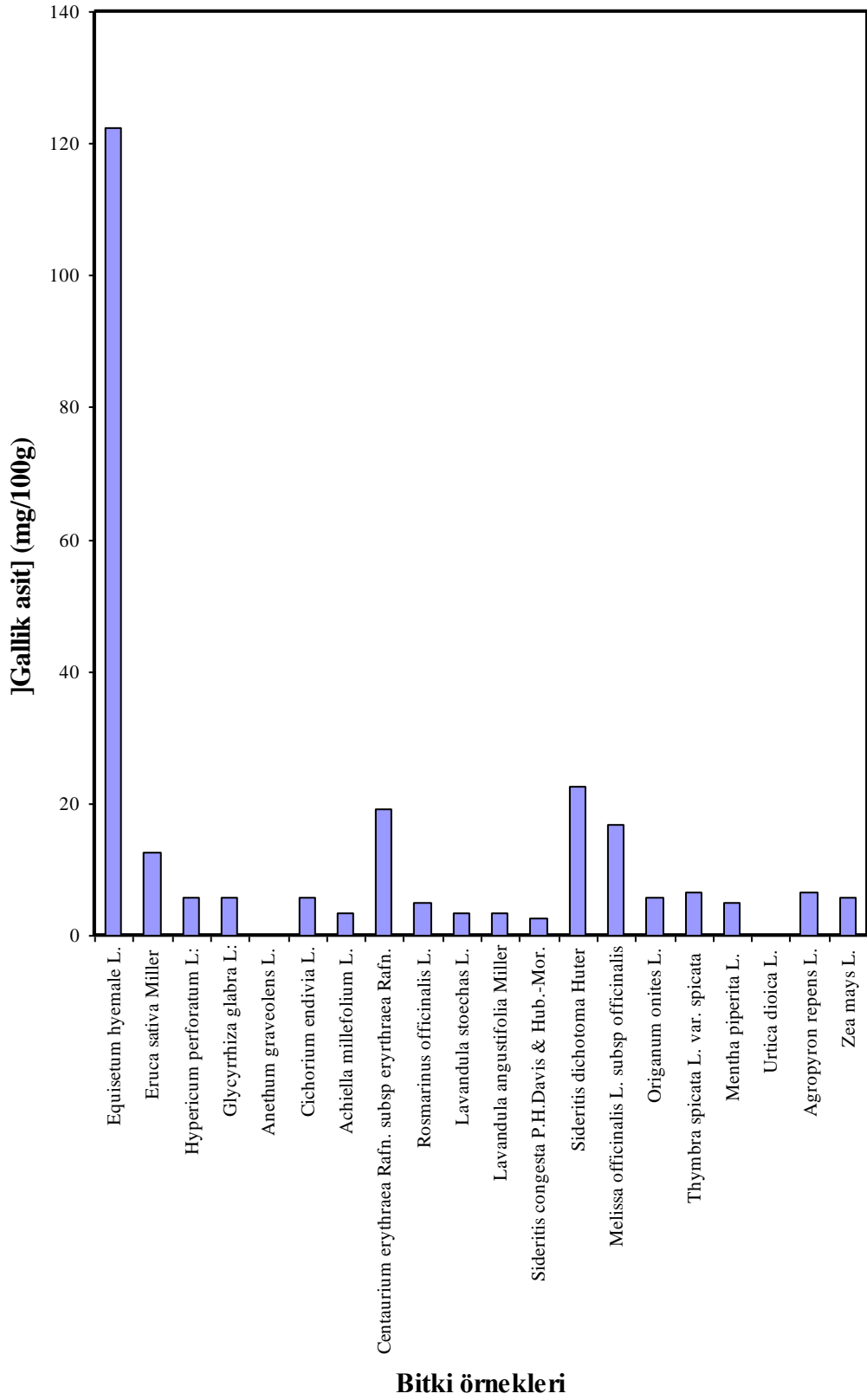
#### 4.1.4 Bitkilerin Gallik Asit İçerikleri

Anti mantar, antioksidan ve anti viral etkiye sahip olan gallik asit, hidroliz olabilen tanenlerden elde edilen, tıp ve eczacılıktan boya, kimya ve besin endüstrilerine kadar çok geniş bir alanda çeşitli amaçlarla kullanılan bir organik asittir. Gallik asitin antioksidan etkiye sahip olması, bu maddeyi içeren bitkileri değerli kılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan bitkilerin gallik asit içerikleri Çizelge 3.8’de verilerek Şekil 4.4’de grafik edilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi *Anethum graveolens* L. ve *Urtica dioica* L. hariç diğer tüm bitkilerin gallik asit içeriğine sahip oldukları görülmektedir. Yine şekilden görüldüğü gibi en yüksek gallik asit içeriğine sahip türün *Equisetum hyemale* L. olduğu da görülmektedir. Çizelge 4.4’de verilen sonuçlarla elde ettiğimiz sonuçları kıyasladığımızda çalışmada kullanılan bitkilerin önemli derecede yüksek gallik asit içeriklerine sahip oldukları görülmektedir.

Çizelge 4.4 Literatürdeki bazı örneklerin gallik asit içerikleri

Gallik asit kaynağı	Gallik asit içeriği	Referans
Hamamelis	0,59 % w/w	[75]
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. türleri	0-4,1 mg/100g	[76]
Kamelya	0,08-0,59 % w/w	[77]
Kırmızı şarap	13,25-16,39 mg/L	[79]





Şekil 4.4 Bitkilerin gallik asit içerikleri

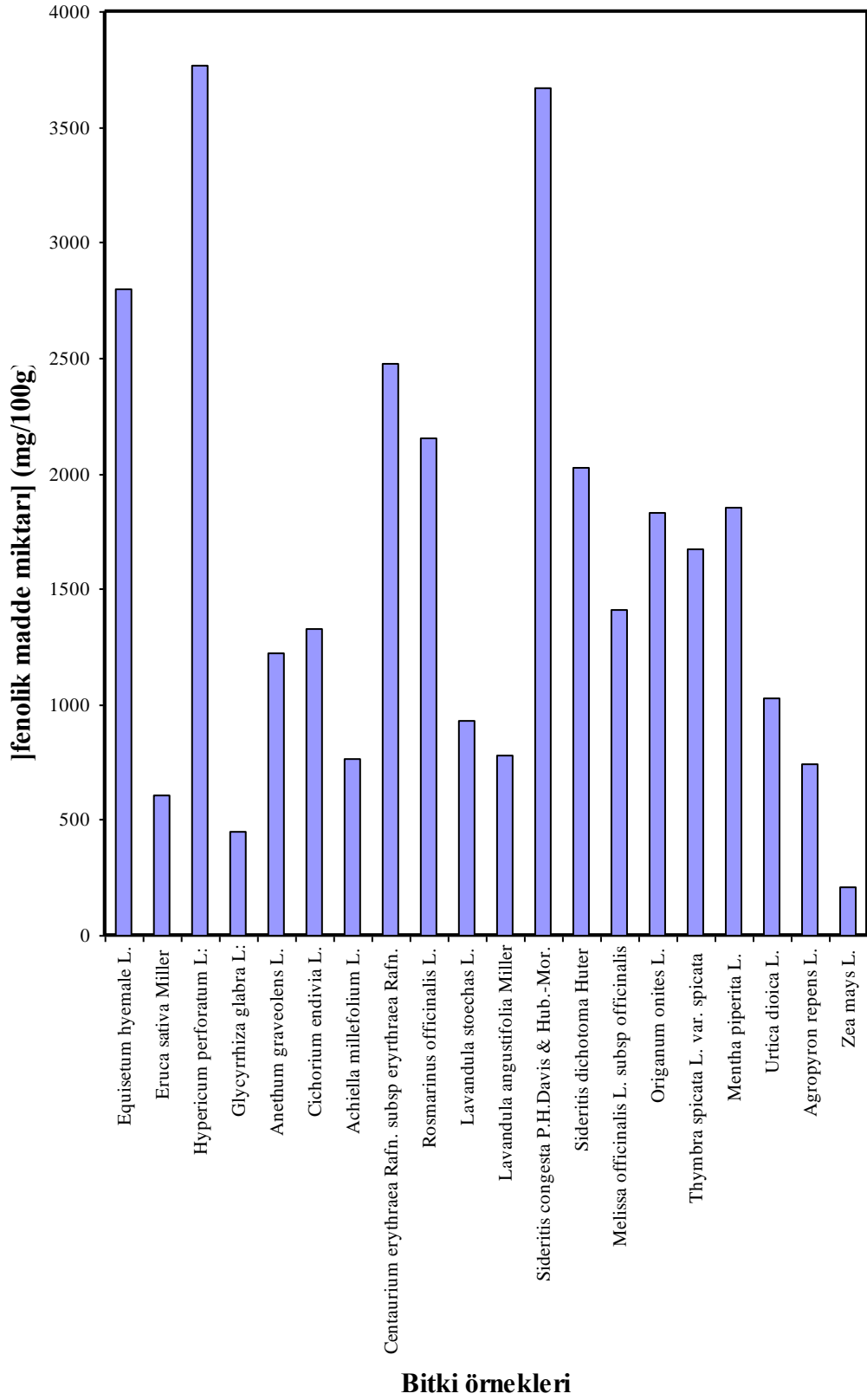
Yukarıda verilen sonuçlara göre en yüksek gallik asit içeriğine sahip olan *Equisetum hyemale* L. aynı zamanda  $\alpha$ -tokoferol içeriği bakımında da zengin bir bitkidir. Diğer taraftan hem  $\beta$ -karoten hem de ferulik asit bakımından en zengin bitki olarak ise *Mentha piperita* L. olarak tayin edilmiştir. Bu sonuç  $\alpha$ -tokoferol ile gallik asit ve  $\beta$ -karoten ile ferulik asit arasında bir ilişkinin olduğunu da ortaya çıkarmaktadır. İçeriğinde  $\alpha$ -tokoferol bulduran tüm bitkiler gallik asit de bulundurmaktadırlar. Buna ilaveten değerler de birbirine yakın bulunmuştur. Böyle bir durum  $\beta$ -karoten ile ferulik asit arasında da görülmüştür.

#### 4.2 Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Fenolik maddeler bitki, sebze ve meyvelerin önemli bileşenleridirler. Bu bileşikler hidroliz ya da oksidasyonla kolaylıkla bozunabilirler ve aynı zamanda çeşitli moleküllerle kovalent bağlı ürünler ve kovalent bağlı olmayan kompleksler oluşturabilirler[85]. Genelde toplam fenolik madde içeriği, bitkilerin, meyvelerin ve sebzelerin kararma derecesine çok önemli katkılar yapar. Bu çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 3.10'de verilerek Şekil 4.5'de grafik edilmiştir. Şekil 4.5'den görüldüğü gibi en yüksek fenolik madde içeriğine sahip türlerin *Hypericum perforatum* L., *Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor., *Equisetum hyemale* L. ve *Centaurium erythaea* Rafn subsp *erythraea* Rafn. olduğu görülmektedir. Literatürde taze zerdaçal, brokoli, tomates, Hint yerelması, nane, havuç, soğan, pancar ve enginar gibi bitkisel örneklerin toplam fenolik madde içerikleri bitkinin 100 g yaş ağırlığı başına sırasıyla 176, 88, 68, 92, 400, 350, 349, 323 ve 425 mg olarak bulunmuştur [86,87]. Bu sonuçların çalışmada kullanılan bitkilerin fenolik içerikleri ile kıyaslandığında oldukça düşük olduğu gözükmemektedir.

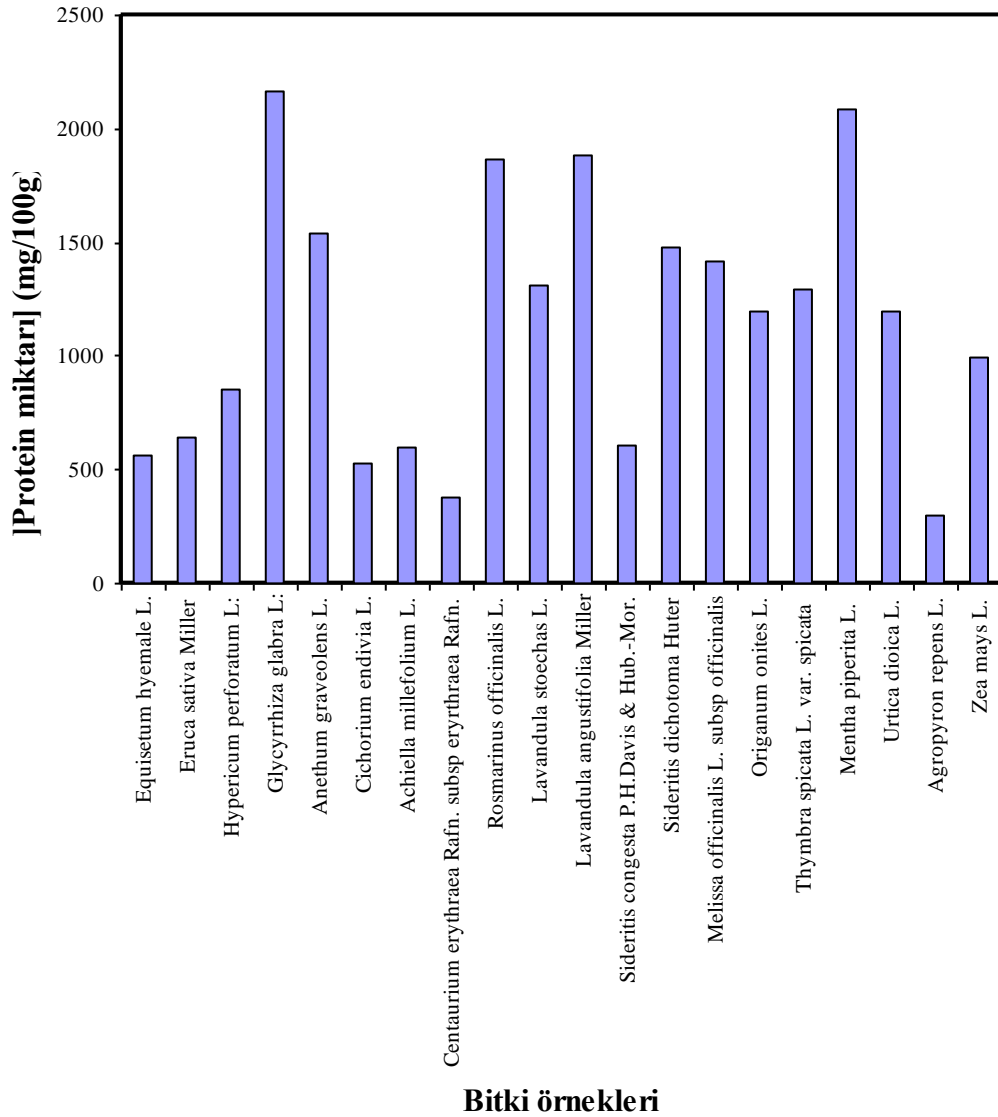
#### 4.3 Bitkilerin Protein İçerikleri

Bitkilerin besin kalitesini belirleyen en önemli kriter, bitkinin besin değeridir. Bitkilerin ham protein içerikleri bir takım çevresel faktörler tarafından etkilenir ve bitkilerin farklı organlarındaki protein içerikleri de genelde farklıdır. Bitkilerin protein içeriklerinin büyük bir kısmı (% 70-90) amino asitlerden oluşurken geriye



Şekil 4.5 Bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri

kalan ve non-protein olarak adlandırılan kısmı ise amonyum ve nitrat tuzlarından oluşmaktadır. Görüldüğü gibi bitkisel besinlerin gıda değerlerinin belirlenmesinde protein içeriği önemli bir parametredir. Çalışmada kullanılan bitki türlerinin protein içerikleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Elde edilen deneysel veriler Çizelge 3.12’de verilerek Şekil 4.6’da grafik edilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi bitki türlerinin protein içerikleri bitkinin 100 g kuru ağırlığı başına yaklaşık 300-2200 mg aralığında değişmektedir. Bu sonuç bitkilerin protein içeriklerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Yine şekil incelendiğinde en yüksek protein içeriğine sahip türlerin *Glycyrrhiza glabra* L. ve *Mentha piperita* L. oldukları söylenebilir.



Şekil 4.6 Bitkilerin protein içerikleri

#### 4.4 Sonuçlar

Deneysel veriler ışığında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmektedir:

1. Bitkilerin antioksidan, fenolik ve protein içeriklerinin bitki türlerine göre farklılıklar gösterdikleri,
2. En fazla  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ferulik ve gallik asit içeriğine sahip türlerin sırasıyla *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha piperita* L., ve *Equisetum hyemale* L.'nin,
3. Genelde en yüksek antioksidan içeriğe sahip türün *Equisetum hyemale* L.'nin,
4. Bitkilerin  $\alpha$ -tokoferol içerikleri ile gallik asit ve  $\beta$ -karoten ile ferulik asit arasında bir ilişkinin olabileceği,
5. En yüksek fenolik ve protein içeriğine sahip bitki türlerinin sırasıyla *Hypericum perforatum* L. ve *Glycyrrhiza glabra* L.'nin oldukları bulundu.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Baytop, T., “Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün)”, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul pp.3-9, 275, 350 (1999).
- [2] Başer, K. H. C., Tıbbi ve Baharatların Dünyada ve Türkiye’deki Ticareti ve talep durumu, Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi, 53, 18-21 (1990).
- [3] AKAY-DİRİ, H. *Salvia candidisima* Vahl. Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu ve Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi) Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, (2006).
- [4] Dahanukar, S.A., Kulkarni, R.A., Rege, N.N., Pharmacology of Medicinal Plant and Natural Products, Indian Journal of Pharmacology, 32, 81-118 (2000).
- [5] Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, L.P., Troganis, A., Boskou, D., Antioxidant Activities and Phenolic Composition Extract from Greek Oregano, Greek Sage and Summer Savory, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, (19), 5294-99 (2002).
- [6] Akdeniz, F., Gökçe, G., Güneş, F., Akgöl, S.,Yucayurt, G., *Rhododendron ponticum* ve *Laurocerasus officinalis* Bitkilerinin Çeşitli Kısımlarından Elde Edilen Süperkritik ve Akışkan Ekstraktlarının Fenolik Bileşikler Açısından Analiz ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini, (Tubitak Proje No: 106T296) (2008).
- [7] Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P. and Boskou, D., Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves, Food research international, Vol. 31, No. 5, pp. 351–354, (1998).
- [8] Dastmalchi, K., Dorman, H.J.D., Oinonen, PP., Darvis, Y., Laakso, I., Hiltunen, R., Chemical composition and in-vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract Science Direct LWT 41 391–400 (2008).
- [9] Doğan, A., Kazankaya, A., Çelik, F., Uyak, C., Kuşburnunun Halk Hekimliğindeki Yeri ve Bünyesindeki Bileşenler Açısından Yararları, II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Konya, (14–16 Eylül 2006)
- [10] Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, Türk nefroloji diyaliz ve transplantasyon; 3–4: 9295 (1997).

- [11] Bayram, I., Özbek, H., Ugras, S., Tuncer, I., Reçber, D., Askorbik Asit ve Alfa-Tokoferol'ün Karbon Tetraklorürle Olusturulmuş Akut Karaciğer Toksikitesi Modelinde Karaciğeri Koruyucu Etkisi, Van Tıp Dergisi: 11 (2):32–38, (2004).
- [12] Sing, R.P., Sharad, S., Kapur, S., Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxidants, Journal, Indian Academy of Clinical Medicine, 5 (3), 218-25, (2004).
- [13] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Pres, New York, pp. 55-99 (1999).
- [14] Viswanath, V., Urooj, A., Malleshi, N.G., Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (*Eleusine coracana*), food Chemistry (2009).
- [15] Tunalıer, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C, Duman, H., Kırimer, N., Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, ISBN 975–94077–2–8 (2002).
- [16] Boyraz, N., Sürel, B., Bitki Hastalıklarına Dayanıklılıkta Fenoliklerin Rollerini, S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 18(34), 56–69, (2004).
- [17] Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgu, A., Türemiş, N., Kargı, S.P., Cabaroğlu, T., Bazı Üzüm Meyvelerinde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri, II. Ulusal Üzüm Meyveler Sempozyumu, Konya, (14–16 Eylül 2006).
- [18] Pokorny, J., Introduction, In: Antioxidants in Food Practical Applications, Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp. 2 (2001).
- [19] Gordon, M.H., The Development of Oxidative Rancidity in Foods, In: Antioxidants in Food, Practical Applications, Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds), Woodhead Publishing Limited Cambridge, pp. 17 (2001).
- [20] Dündar, Y., Aslan, R., Bir Antioksidan olarak vitamin E, Genel tıp dergisi, 9(3),109–116, (1999).
- [21] Yanishlieva-Maslarova, N.V., Inhibiting Oxidation, In: Antioxidants in Food, Practical Applications, Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds), Woodhead Publishing Limited Cambridge, pp. 22-70, (2001).
- [22] Ünalacak, M., Atmaca, H., Gürel, A., Armutçu, F., Demircan, N., Aktunç, N., Hiperglisemik Glikoz Metabolizma Bozukluğu Olan Hastalarda Serum Malondialdehit, alfa-Tokoferol ve beta-Karoten Düzeyleri, Fırat Tıp Dergisi;10(3), 113–116, (2005)

- [23] Liang J., Tian Y.X., Yang F., Zhang J.P., Skibsted L.H., Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge, *Food Chemistry*, 115 1437–1442, (2009)
- [24] Prates, J.A.M., Gonc, M.A., Quaresma, A., Bessa, R.J.B., Fontes, C.M.G.A., Alfaia, C.M.P.M., Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and  $\beta$ -carotene in Barrosa~PDO veal, *Food Chemistry*, 94 469–477, (2006).
- [25] Liu, S.C, Lin, J.T., Yang, D.J., Determination of cis and trans  $\alpha$  and  $\beta$ -carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times, *Food Chemistry*, 116 605–610, (2009).
- [26] Jankovska, P., Copikava, J. and Sinitsya, A., Determination of ferulic acid in Sugar Beet Pulp, *Institute of chemical technology*, Vol. 19, No. 4: 143–147, (2001).
- [27] Lu, G.H., Chan, K., Leung, K., Chan, C.L., Zhao, Z.Z., Jiang, Z.H., Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis*, *Journal of chromatography*, 1068 209–219, (2005).
- [28] [www.caykur.gov.tr/detay.aspx?ID=9862](http://www.caykur.gov.tr/detay.aspx?ID=9862)
- [29] Maranki, A., Maranki, E., “Şifalı Bitkiler”, Mozaik Yayın Evi, İstanbul, (2008)
- [30] Sacan, Ö., Orak, H., Yanardağ, R., Antioxidant activity of water extract of *Eruca sativa* Mill., *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 20, No. 5, 3462–3474, (2008).
- [31] Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G., Smelcerovic, A., Spiteller, M. and Asakawa, Y., Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans *Food Chemistry*, Volume 103, Issue 1, Pages 15-21, (2007).
- [32] Vuuren, S.F.V., Antimicrobial activity of South African medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 119 462–472, (2008).
- [33] Shyu, Y.S., Lin, J.T., Chang, Y.T., Chiang, C.J., Yang, D.J., Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower, *J. foodchem.*, 12.039, (2008).
- [34] Papetti, A., Daglia, M., Aceti, C., Sordelli, B., Spini, V., Carazzone, C., Gazzani, G., Hydroxycinnamic acid derivatives occurring in *Cichorium endivia* vegetables, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48 472–476, (2008).
- [35] Takzare, N., Mortazav, H., Safaie, S., Hossein, S.J., Assessment the effect of *Achillea millefolium* L. extract on spermatogenesis and its reversibility,



- Toxicology Letters, Volume 180, Supplement 1, Pages S203-S204, (2008)
- [36] Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M., and M.L, Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small Centaury (*Centaureum erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*), *Bastos Phytomedicine*, 10: 517–522, (2003).
- [37] Gören, A.C., Topcu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z., and Pezzuto, J.M., The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*, *Z. Naturforsch.*, 57c, 797D800, (2002).
- [38] Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B., Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill., *Journal of Ethnopharmacology*, 89 67-71, (2003).
- [39] Dulger, B., Gonuz, A., Aysel, V., Inhibition of Clotrimazole-Resistant *Candida Albicans* by Some Endemic *Sideritis* Species from Turkey, *Fitoterapia*, 77 404–405, (2006).
- [40] Oflaz, S., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C., *Origanum onites* ve *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* üzerinde farmakognozik araştırmalar, ISBN 975–94077–2–8, (2004).
- [41] Askun, T., Tümen, G., Satıl, F., Ateş, M., In vitro activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria, *Food Chemistry*, 116, 289–294, (2009).
- [42] Yadegarinia, D, Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A. and Rasooli, I., Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils, *Phytochemistry*, Volume 67, Issue 12, Pages 1249-1255, (June 2006).
- [43] Tello, S., Halifeoğlu, İ., Bozkurt, M., Bulmuş, Ö., Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda Isırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi, <http://www.fusabil.org>, 22 (4): 179 – 183, (2008).
- [44] [www.en.wikipedia.org/wiki/Elytrigia\\_repens](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Elytrigia_repens).
- [45] Taşpınar, M., Kurban, S., Mehmetoğlu, İ., Diyete E Vitamini Eklenmesinin Hiperkolesterolemik Kişilerde Serum Lipidleri Üzerine Olan Etkisinin araştırılması, *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6 (1) 20-25, (2008).
- [46] Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir Ş., Elmastaş, M., Küfrevioğlu Ö.İ., Comparison of Antioxidant Activity of Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) Buds and Lavender (*Lavandula stoechas* L.), *Food Chemistry*, Volume 87, Issue 3, 393-400, (2004).

- [47] Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kılıç, H., Özkan, H., Sökmen, M., Özbek, T., Biological Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae), Turk J. Biol., 30 65-73, (2006).
- [48] Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozkan, H., Antimicrobial and Antioxidant Properties of the Essential Oils and Methanol Extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*, Food Chemistry, 103 1449–1456, (2007).
- [49] Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.S., Polissiou, M., Somken, A., Antioxidant activity of the essential oil and various axtracts of *Nepeta flavida* Hub. Mor. from Turkey, Food Chemistry, 103 1358–1364, (2007).
- [50] Sacan, O., Orak, H., Yanardag, R., Antioxidant Activity of Water Extract of *Eruca sativa* Mill Asian, Journal of Chemistry Vol. 20, No. 5 3462–3474, (2008)
- [51] Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M., Screning of 70 Medicial Plant Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenols, Food Chemistry, 94 550-557, (2006).
- [52] Troncoso, N., Sierra, H., Carvajal, L., Delpiano, P., Gunther, G., Fast high Performance Liquid Chromatography and Ultraviolet–Visible Quantification of Principal Phenolic Antioxidants in Fresh Rosemary, Journal of Chromatography A, 1100 20–25, (2005).
- [53] Gadow, A.V., Joubert, E., and Hansmann, C.F., Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -Tocopherol, BHT and BHA, J.Agric. Food Chem., 45, 632-638, (1997).
- [54] Sultana, B., Anwar, F., Flavonols (kaempeferol, quercetin, myricetin) Contents of Selected Fruits, Vegetables and Medicinal Plants, Food Chemistry ,108 879–884, (2008).
- [55] Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K., Determination of Rosmarinic Acid and Caffeic Acid in Aromatic Herbs by HPLC, Food Chemistry 87 307–311, (2004).
- [56] Meral, G.E., Konyalıoğlu, S., Üç Hypericum Bitkisinin Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi, ISBN 975-94077-2-8, (2004)
- [57] Wang, H., Cao, G., L.Prior, R.L., Total Antioxidant Capacity of Fruit, J. Agric. Food. Chemistry, 44, 701-705, (1996).
- [58] Lu, Y., Foo, L.Y., Antioxidant Activities of Polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*), Food Chemistry, 75 197-202, (2001).

- [59] Kanazawa, M., Satomi, Y., Mizutani, Y., Ukimura, O., Kawauchi, A., Sakai, T., Baba, M., Okuyama, T., Nishino, H., Miki, T., Isoliquiritigenin Inhibits the Growth of Prostate Cancer, *European Urology*, 43 580–586, (2003).
- [60] Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3954-3962, (1999).
- [61] Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhe, R., Camp, J.V., Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.), *Food Chemistry*, 108 649–656, (2008).
- [62] Kim, Y.N., Giraud, D.W., Driskell, J.A., Tocopherol and Carotenoid Contents of Selected Korean Fruits and Vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 458–465, (2007).
- [63] Marinova, D., Ribarova, F., HPLC Determination of Carotenoids in Bulgarian Berries, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 370–374, (2007).
- [64] Andre C.M., Oufir, M., Guignard, C., Hoffmann, L., Housman, J.F., Evers, D., Larondelle, Y., Antioxidant Profiling of Native Andean Potato Tubers (*Solanum tuberosum* L.) Reveals Cultivars with High Levels of  $\beta$ -Carotene,  $\alpha$ -Tocopherol, Chlorogenic Acid, and Petanin, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 10839–10849, (2007).
- [65] Singh, J., Upadhyay, A.K., Prasad, K., Bahadur, A., Rai, M., Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in *Brassica* vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 106–112, (2007).
- [66] Wall, M.M., Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 434–445, (2006).
- [67] Kornsteiner, M., Wagner, K.H., Elmadfa, I., Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types, *Food Chemistry*, 98 381–387, (2006).
- [68] Barba, A.I.O., Hurtado, M.C., Mata, M.C.S., Ruiz, V.F., Application of a UV–vis Detection-HPLC Method for a Rapid Determination of Lycopene and  $\beta$ -Carotene in Vegetables, *Food Chemistry*, 95 328–336, (2006).
- [69] Gama, J.J.T., Sylos, C.M., Major carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice: Identification and quantification by HPLC, *Food Research International*, 38 899–903, (2005).
- [70] Zuniga, O.C., Jimenez G.F., Gordillo R.M., Comparative study of

carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L, Food Chemistry, 90 109–114, (2005).

- [71] Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hiras A.R., Simonic, M., Knez, N., Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols in Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities, Food Chemistry, 89 191–198, (2005).
- [72] Vilasova-Martinez M., Calaza-Ramos, C., Lopez-Hernandez, J., Lageyusty, M.A., Losada, P.P., Rodrigez-Bernaldo de Quiros A., Determination of Vitamin E and Carotenoid Pigments by High Performance Liquid Chromatography in Shell of *Chionoecetes opilio*, Analytica Chimica Acta, 229056; No. of Pages 5, (2008).
- [73] Szymanska, R., Kruk, J., Tocopherol content and isomers' composition in selected plant species, Plant Physiology and Biochemistry, 46 29-33, (2008).
- [74] Sanchez –Manchado, D.I., Lopez-Servantes, J., Vazquez, N.J.R., High-performance liquid chromatography method to measure  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*, Journal of Chromatography A, 1105 111–114, (2006).
- [75] Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K., Determination of Hamamelitannin, Catechins and Gallic Acid in Witch Hazel Bark, Twig and Leaf by HPLC, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 33 539-544, (2003).
- [76] Ross, K.A., Beta, T., Arntfield, S.D., A Comparative Study on the Phenolic Acids Identified and Quantified in Dry Beans Using HPLC as Affected by Different Extraction and Hydrolysis Methods, Food Chemistry, 113 336–344, (2009).
- [77] Peng, L., Song, X., Shi, X., Li, J., Ye, C., An improved HPLC Method for Simultaneous Determination of Phenolic Compounds, Purine Alkaloids and Theanine in *Camellia species*, Journal of Food Composition and Analysis, 21 559– 563, (2008).
- [78] Andreasen, M.F., Christensen, P.L., Meyer, S.A., Hansen A., Content of Phenolic Acids and Ferulic Acid Dehydrodimers in 17 Rye (*Secale cereale* L.) Varieties, J. Agric. Food Chem., 48, 2837-2842, (2000).
- [79] Özkan, G., Baydar, N.G., A Direct RP-HPLC Determination of Phenolic Compounds in Turkish Red Wines, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(2),229-234, (2006).
- [80] Tekeli, Y., Sezgin, M., Şanda, M.A., Konya'da Yetişen *Centaurea pterocaula* Truatv.'in Fenolik Yapısı ve Antioksidan Etkisi, SDU Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi), 3(1), 35-41, (2008).

- [81] Bruni, R., Medici, A., Guerrini, A., Scalia, S., Poli, F., Romagnoli, C., Muzolli, M., Sachetti, G., Tocopherol, Fatty Acids and Sterol Distributions in Wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* (Sterculiaceae) Seeds, *Food Chemistry*, 77 337-341, (2002).
- [82] Bradford, M., A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem*, 72, 248-254, (1976).
- [83] Turan, P., Ocimum Basilicum L.'den elde edilen polifenol oksidaz enziminin saflaştırılması, kinetik ve elektroforetik özelliklerinin incelenmesi, Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Ana Bilim Dalı, (yüksek lisans tezi), (2005).
- [84] Singleton, V.L., and Rossi, J.A., "Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American Journal of Enology*, 16, 144-158 (1965).
- [85] Cheynier, V., Fulerand, H., Guyot, S., Oszmianski, J., and Moutounet, M., "Reactions of enzymically generated quinones relation to browning in grape musts and wines", (Enzymatic browning and its prevention, Editors; Lee, C.Y. and Whitaker, J.R), ACS, Washington, DC., (1995).
- [86] Kaur, C., Kapoor, H.C., "Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables", *Int. J. Food Sci. Technol*, 37 (2), 153-161, (2002).
- [87] Doğan, S., Turan, Y., Ertürk, H., and Arslan, O., "Characterization and purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.)", *J. Agric. Food Chem.*, 53, 776-785, (2005).