



CHİA (*Salvia hispanica l.*) TOHUMUNUN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTESİ, FENOLİK
KOMPOZİSYONU VE YAĞ ASİTLERİ PROFİLİNİN İNCELENMESİ

VİLDAN AKDOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Ömer İŞILDAK

2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CHİA (*Salvia hispanica l.*) TOHUMUNUN ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ, FENOLİK
KOMPOZİSYONU VE YAĞ ASİTLERİ PROFİLİNİN İNCELENMESİ

VİLDAN AKDOĞAN

TOKAT
2019

Her hakkı saklıdır

Vildan AKDOĞAN tarafından hazırlanan “Chia (*Salvia hispanica l.*) Tohumunun Antioksidan Aktivitesi, Fenolik Kompozisyonu ve Yağ Asitleri Profilinin İncelenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 6 AĞUSTOS 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANABİLİM DALINDA YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

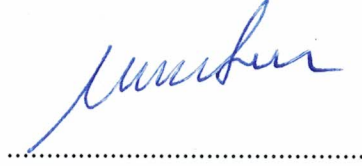
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Ömer İŞILDAK
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Üye
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Sağlık Bilimler Üniversitesi




Üye
Dr. Öğr. Üyesi Fatma GEDİKLİ
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Prof. Dr. Cetin ÇEKİÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyaz ederim.


Vildan AKDOĞAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CHİA TOHUMUNUN (*Salvia hispanica l.*) TOHUMUNUN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTESİ, FENOLİK KOMPOZİSYONU VE YAĞ ASİTLERİ PROFİLİNİN İNCELENMESİ

VİLDAN AKDOĞAN

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ÖMER İŞILDAK

Bu çalışmada *Salvia hispanica l.* bitkisinden elde edilen tohumlar metanol/kloroform çözücü sisteminde ekstrakte edildi. Tohumlar antioksidan aktivite, fenolik madde miktarı ve yağ asidi profili tayini analizleri için hazırlandı. Tohumun antioksidan aktivitesi; İndirgeme Gücü Aktivitesi, Serbest Radikal Giderme Aktivitesi, Katyon Radikali Giderme Aktivitesi, Bakır İndirgeme Gücü Aktivitesi ve Metal Şelatlama Aktivitesi gibi spektrofotometrik yöntemler kullanılarak değerlendirildi. Yağ asidi bileşenlerinin tayininde ise GC-MS cihazı kullanıldı. Bitkinin tohum ekstraktı yapılan bu spektrofotometrik analizler sonucu düşük antioksidan aktivite gösterdi. Çoklu doymamış yağ asitleri olan Linoleik asit ve α -linolenik asit bakımından zengin olduğu belirlendi.

2019, 30 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Chia tohumu, antioksidan, fenolik, yağ asidi

ABSTRACT

MASTER THESIS

ANTIOXIDANT ACTIVITY, PHENOLIC COMPOSITION OF CHIA (*Salvia hispanica l.*) SEED AND INVESTIGATION OF OIL ACIDS PROFILE VİLDAN AKDOĞAN

**TOKAT GAZİOSMANPAŞA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: PROF. DR. ÖMER İŞILDAK

In this study, seeds obtained from *Salvia hispanica l.* were extracted in methanol / chloroform solvent system. Seeds were prepared for analysis of antioxidant activity, phenolic content and fatty acid profile. Antioxidant activity of seed; Reductive Power Activity, Free Radical Removal Activity, Cation Radical Removal Activity, Copper Reduction Force Activity and Metal Chelating Activity were evaluated using spectrophotometric methods. GC-MS was used for the determination of fatty acid components. The seed extract of the plant showed low antioxidant activity as a result of these spectrophotometric analyzes. It was found to be rich in polyunsaturated fatty acids which are linoleic acid and α -linolenic acid.

2019, 30 pages

KEYWORDS: Chia seeds, antioxidant, phenolic, fatty acids

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerini aktaran, her konuda yardımlarını esirgemeyen, her zaman güvenen ve destekleyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Ömer IŞILDAK'a

Verdiği büyük destek ve çalışmalarına katkılarından dolayı Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ'a

Antioksidan aktivite çalışmalarında ve laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen Öğr. Gör. Nusret Genç'e

Bana her zaman inanan ve destek olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Vildan AKDOĞAN

2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Bitkinin Tanımı ve Familyası.....	3
2.1.1. <i>Labiatae (Lamiaceae)</i>	3
2.1.2. <i>Salvia</i> Cinsi	3
2.1.3. <i>Salvia hispanica</i>	4
2.2. Antioksidanlar	6
2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	7
2.2.2. Temel Antioksidan Kaynakları	11
2.2.3. Antioksidanların Etki Şekilleri	11
2.2.4. Antioksidan Analiz Yöntemleri	12
2.3. Yağ Asitleri	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15

3.1. Bitkisel Materyal.....	15
3.2. Kullanılan Çözücü ve Reaktifler	15
3.3. Kullanılan Cihazlar	15
3.4. Tohumun Özütlenmesi (Ekstraksiyon) İşlemi.....	15
3.5. Antioksidan Aktivite Testleri	15
3.5.1. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi	16
3.5.2. İndirgenme Gücü Aktivitesi	16
3.5.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	16
3.5.4. Bakır İngirgeme Gücü Aktivitesi (CUPRAC).....	17
3.5.5. Metal Şelatlama Aktivitesi	17
3.5.6. Toplam Fenolik Madde Tayini	17
3.5.7. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	17
3.6. Yağ Asitleri Analizi	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	18
4.1. Antioksidan Aktivite Testleri	18
4.1.1. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi	18
4.1.2. İndirgeme Gücü Aktivitesi	19
4.1.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	20
4.1.4. Bakır İndirgeme Gücü Aktivitesi	21
4.1.5. Metal Şelatlama Aktivitesi	22
4.1.6. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	23
4.1.7. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	23

4. 2. Yağ Asitleri Analizleri	24
5. SONUÇ	26
6. KAYNAKLAR.....	27
7. ÖZGEÇMİŞ	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2. 1. <i>Salvia hispanica L.</i> Bitkisi	4
Şekil 2. 2. <i>Salvia hispanica l.</i> Bitkisinin Tohumları (Chia Tohumu)	5
Şekil 2. 3. Antioksidanların serbest radikallere bağlanması	7
Şekil 2. 4. C vitamini ve E vitamininin yapısı	9
Şekil 2. 5. BHA'nın yapısal gösterimi	10
Şekil 2. 6. BHT'nin yapısal gösterimi	10
Şekil 2. 7. Antioksidanların Zincir Kırıcı Etki Mekanizması	12
Şekil 2. 8. Gıdalar İçin Önemli Olan ÇDYA'den bazılarının yapısal gösterimleri	14
Şekil 4. 1. Chia Tohumunun Katyon Radikali Giderme Aktivitesi	18
Şekil 4. 2. Chia Tohumunun İndirgeme Gücü Aktivitesi.....	19
Şekil 4. 3. Chia Tohumuna Ait Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	20
Şekil 4. 4. Chia Tohumunun Bakır İndirgeme Gücü Aktivitesi (CUPRAC)	21
Şekil 4. 5. Chia Tohumunun Metal Şelatlama Aktivitesi	22

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	8
Çizelge 4. 1. Chia Tohumunun Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	23
Çizelge 4. 2. Chia Tohumunun Toplam Flavonoid Madde Miktarı	24
Çizelge 4. 3. Chia Tohumunun Yağ Asiti Kompozisyonu	25



SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklamalar
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CAT	Katalaz
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GPx	Selenyum Bağımlı Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
SOD	Süper Oksit Dismutaz

1. GİRİŞ

Obezitenin artması sonucu, ülkemiz ve dünya gündeminde yaygınlaşmaya başlayan sağlıklı beslenme ve diyet programlarıyla birlikte hayatımıza giren Chia tohumu, tarihte besleyici gıda ürünü olarak ve ilaç yapımlarında kullanılmıştır. Günümüzde ise beslenme uygulamaları yanı sıra ilaç ve kozmetik sanayiinde kullanılan, yeniden keşfedilmiş asırlık bir maddedir.

İspanyolca yağ anlamına gelen chian kelimesinden türemiş olan chia *Lamiaceae* ailesine mensup tek yıllık bir bitkidir. Birçok türü bulunmakla birlikte en yaygın kullanılan türü *Salvia hispanica*'dır (Marcinek ve Krejpcio, 2017; Yurt ve Gezer, 2018). Kökeninin güney Meksika ve kuzey Guetamala'ya dayandığı bilinmekle birlikte milattan önce 3500'lü yıllarda Aztekler tarafından enerji vermesi amacıyla tüketilmesinden dolayı koşu besini olarak tanımlanmıştır.

Besin ögesi içeriği incelendiğinde chia tohumu; özellikle öne çıkan yağ asidi örüntüsü, esansiyel aminoasitleri uygun miktarda içermesi, diyet posasının büyük bir kısmının çözünebilir olması ve gluten içermemesinden dolayı sağlığı korumak ve geliştirmek için fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilmektedir (Yurt ve Gezer, 2018).

Chia tohumu ile ilgili sınırlı sayıda bulunan çalışmalarda tohumun fiziksel özellikleri ve fiziksel özellikleri üzerine etkili olan yetiştirme koşulları, chia tohumunun fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri, chia kullanımının fırıncılık ürünleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Antioksidanlar, vücutta hasara neden olan serbest radikallerin oluşumunu engelleyici veya var olan serbest radikalleri giderici özelliğe sahip maddelerdir (Baykal ve ark., 2002). Gıda tüketimiyle birlikte antioksidanların vücuda alınması kanser gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve yaşlanmayı geciktirmede önemli rol oynadığının anlaşılması, antioksidan kapasite üzerine çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidan maddeler neredeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır.

Salvia cinsinin türlerinin incelenmesiyle ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen *Salvia hispanica L.* türü üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmakta ve bu çalışmalar ürünün fiziksel özellikleri ve yetiştirme koşulları üzerinde ağırlık kazanmıştır.

Türkiye’de, son yıllarda sağlıklı beslenme ve diyet ile birlikte insan beslenmesinde sık rastlanan chia tohumunun antioksidan kapasitesi ve fenolik kompozisyonu üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bu çalışmada Chia (*Salvia hispanica L.*) tohumunun antioksidan kapasitesi ve fenolik kompozisyonu incelendi.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Bitkinin Tanımı ve Familyası

2.1.1. *Labiatae* (*Lamiaceae*)

Lamiaceae familyası adaçayı, nane, kekik, lavanta, reyhan, paçuli, biberiye gibi ekonomik öneme sahip, tanınmış tıbbi ve aromatik bitki türlerini ve süs bitkilerini kapsayan ve 250 cins, 6500 türden oluşan oldukça geniş bir familyadır. Zengin bir bitki örtüsüne sahip Türkiye florasında familyaya mensup 46 cins ve %44,2 si endemik olan 571 tür bulunmaktadır (Başer, 2006)

Familya dünyada geniş adaptasyon sınırlarına sahip olup özellikle ılıman ve tropikal bölgelere iyi uyum sağladığı bilinmektedir. Türkiye’de Ege ve Akdeniz bölgeleri familyaya mensup endemik türler açısından önemli ve zengin bir yapıya sahiptir (Bağdat ve ark., 2004)

2.1.2. *Salvia* Cinsi

Salvia cinsine ait bitkilerinin iki dudaklı taç yaprakları türüne bağlı olarak beyazdan, kırmızı, mavi ve menekşe rengine kadar değişmektedir. Bitkiler yine cinsine bağlı olarak tek, iki ve çok yıllık olup yarı çalimsı, saçak köklüdürler. Cinsine ait tür sayısı dünya çapında 900’lere kadar ulaşmış olmasına karşın; ülkemizde *Salvia* cinsinin 97 türü bulunmaktadır (Şenkal ve ark., 2017).

Cinsine ait türlerin özellikle çiçekleri ve yaprakları ve bu kısımlardan elde edilen ekstraktları ve uçucu yağları ekonomik olarak değerlendirilmektedir. *Salvia*’dan elde edilen çay; cilt hastalıkları ve diğer birçok hastalığın tedavisinde, yağ; ağız yaraları ve diş iltihaplanmalarında kullanılan ilaçlarda değerlendirilmektedir. *Salvia* üzerine yapılan çalışmalar ilaç tedavisinde kullanım alanının geniş olduğunu belirlemiştir (Baydar, 2013).

Salvia türleri eski Yunan ve Romalılarından beri baharat ve drog olarak kullanılmaktadır. Bugün tıpta geniş kullanım alanına sahip olmasının yanı sıra meşrubat, gıda, içki ve kozmetik sanayinde oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir (Koç, 2000).

Türkiye’de genel olarak adaçayı olarak adlandırılan *Salvia* cinsine ait türler güzel görünüşleri nedeniyle park ve bahçelerde dekoratif süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Bhattacharya, 1978; Nakipoğlu, 1993).

2.1.3. *Salvia hispanica*

Ortak adı Chia olan *Salvia hispanica*; ballıbabagiller familyasına ait tek yıllık otsu bir bitkidir (bkz. Şekil 2.1). Bitki Mezoamerika’nın erken tarihinde Aztek kabileleri tarafından sadece gıda ürünü olarak değil aynı zamanda ilaç ve boya yapımında da kullanılmıştır. Günümüzde bu kullanımların yanı sıra diyet listelerinde ve kozmetik ürünleri içerisinde yerini almış bir bitkidir (Ayerza, 1995).



Şekil 2. 1. *Salvia Hispanica L.* Bitkisi

Bitki çok hassastır ve şekilleri oval olan 2,0 mm x 1,5 mm boyutlarında küçük beyaz ve siyah tohumlar üretir (bkz. Şekil 2.2). Yetiştirilen chia popülasyonlarında beyaz tohumlar özel yetiştirilen ve kodlanan bitkilerden elde edilir ve toplam chia tohumunun düşük bir yüzdesini oluşturur. Genel olarak tohumlar arasında boyut farklılıklarının yanı sıra protein içerikleri ve yağ asidi bileşiminde de bazı farklılıklar vardır. Örneğin siyah tohumlar beyaz olanlardan daha küçük boyuttadırlar (Ixtaina ve ark.; 2008).



Şekil 2. 2. *Salvia hispanica l.* Bitkisinin Tohumları (Chia Tohumu)

Tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilebilen bitki ve tohumun besin ögesi içeriği incelendiğinde; %26-41 karbonhidrat, %18-30 yüksek diyet lifi, %15-25 protein ve %30-33 yağ içerdiği tespit edilmiştir. B grubu vitaminler, kalsiyum, demir, magnezyum, manganez, fosfor ve çinko açısından zengindir (Karabulut, 2019).

Bilinen bir diğer özelliği ise gluten içermemesidir. Ayrıca tohumları yüksek oranda alfa-linolenik asit (ALA) içermektedir yani omega-3 bakımından oldukça zengin bir üründür (Bağcı ve Koçaka, 2007).

Ağır metal analizi yapıldığında ise chia tohumunun gıda güvenliği için maksimum metal seviyesini aşmadığı ve mitotoksin içermediği belirlenmiştir (EFSA, 2009).

Salvia hispanica bitkisinin tohumlarının enerji ve besin ögesi içeriğinde değişikliğe neden olabilecek, bitkinin yetiştirilme alanı ve yılı, iklim değişiklikleri, toprak koşulları, topraktaki besin maddelerinin kullanılabilirliği, sıcaklık ve yükseklik gibi birçok faktör bulunmaktadır (Yurt ve Gezer, 2018).

Örneğin protein içeriği sıcaklık azaldıkça artmaya eğilimli iken, doymuş yağ asidi içeriği ile yükseklik arasında da ters ilişki bulunmaktadır. α -linolenik asit içeriğinin bitkinin gelişiminde erken aşamadan olgunlaşma aşamasında kadar %23 azalması da bitkinin gelişim sürecinin enerji ve besin ögesi içeriğini etkileyen bir faktör olduğunun örneğidir (Ali ve ark.; 2012).

Zengin besin ögesi içeriği ile ilişkili sağlık etkileri nedeniyle popüler bir fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, metabolik sendrom ve kanser gibi hastalıkların risklerini azaltmaktadır. Gıda sanayinde de su tutma kapasitesinin yüksek olması sebebiyle özellikle fırıncılık ürünlerinde kıvam arttırıcı olarak kullanılmakta, salata soslarına ve sporcu besinlerine lezzet ve enerji verici olarak katılabilmektedir (Özgören ve ark., 2018).

Birleşik Devletler Besin ve Beslenme Rehberi (United States Dietary Guideline)'ne 2000 yılında yayınladığı bildiride Chia tohumunun yetişkinler için günlük tüketim dozunun 48 gramı aşmaması gerektiği belirtilmiştir. Günlük dozun aşımıyla birlikte fazla tüketilen Chia tohumu mide-bağırsak sisteminde gaz ve şişkinlik gibi problemlere neden olabilmekte ayrıca hipertansiyonu olan ve kan basıncını düşürücü ilaç kullanan bireylerin Chia tohumu tüketiminde dikkatli olmaları gerekmektedir (USDA, 2017).

2.2. Antioksidanlar

Vücudumuzda ve dokularda meydana gelen bazı kimyasal tepkimeler serbest radikalleri meydana getirirler. Kirli havalarda, sigara dumanında, ısınmada, pestisitlerde, bozulmuş ve çürümüş gıdalarda ve normal olarak vücut metabolizmasında mevcut olan bu bileşikler oldukça yüksek aktiviteye sahiptir. Vücuttaki hücrelere saldırarak onları tahrip etmektedirler (Özenç, 2011).

Serbest radikaller küçük moleküller olup, atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal türlerdir (Yavaşer, 2011; Özenç, 2011).

Bu radikaller çeşitli dış etkenler ile meydana gelebildiği gibi hücrede normal metabolik olaylar sırasında da oluşabilir ve vücuttaki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek "oksidatif stres" oluşumuna neden olurlar. Oksidatif stres beden ve zihnin yaşlanmasından çeşitli hastalıklara kadar bir çok olaydan sorumlu tutulmaktadır (Şenses ve ark.; 1999).

İnsan vücudu serbest radikallerin neden olduğu hasarı minimize etmek için dışarıdan gıda takviyesi ile ya da metabolik bazı olaylar ile çeşitli önlemler almaktadır. Bu zararlı

etkilerin önlemedeki en önemli ve etkili maddelerden birisi de antioksidanlardır (Koca ve Karadeniz, 2003).

Antioksidanların birçok tanımı yapılmakla birlikte en geniş tanımı insan vücudunda ve gıdalarda serbest radikal oluşumunu engelleyen veya oluşan serbest radikallerin etkisini engelleyen maddelerdir (Baykal ve ark.; 2002). Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek yani onlarla bağ kurarak (bkz. Şekil 2.3) hücrelere etki etmesini ve zarar vermesini önlerler (Baykal ve ark.,2002).



Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidanlar neredeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır (Baykal ve ark.,2002).

2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal antioksidanlar gıdalarda doğal olarak bulunan ve onların bozulma reaksiyonlarını (ekşime, renk değiştirme vs.) engelleyen maddelerdir. Birçok gıda ürünüde bulunan bu antioksidanlar komposite gıdalarda stabilizatör olarak kullanılabilirdiği gibi ekstrakte edilerek başka ürünlere de katılabilirler. Doğal antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve enzimatik olmayan (non-enzimatik) veya hücre içi ve hücre dışı olarak ikiye ayrılır (Yavaşer, 2011).

Enzimlerin çoğu direkt veya dolaylı olarak antioksidan etki göstermesine rağmen bunların içinde en önemlileri; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon

peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-s-transferaz (GST)'dir (Karademir, 2005).

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise; bitki veya hayvan dokularında bulunan ya da bitkisel veya hayvansal kaynaklı ürünlerin ısıtma vb. işlem görmesi sonucu oluşan maddelerdir. Askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), karotenoidler, polifenoller, fenolik asitler, flavonoidler en önemlileridir (Karademir, 2005).

Çizelge 2. 1. Antioksidanların sınıflandırılması

Enzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Katalaz
Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx)	Glutatyon redüktaz (GR)
Glutatyon-S-transferaz (GST)	
Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Vitamin C	Vitamin E
Flavonoidler	Vitamin A
Melatonin	Ürik Asit
Albümin	Haptoglobulin
Sistein	Seruloplazmin
Transferrin ve Laktoferrin	Ferritin
Oksipurinol	Ubikinon
Bilirubin	Mannitol
Lipoik asit	Hemopeksin

SOD; süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir (Karademir, 2005).

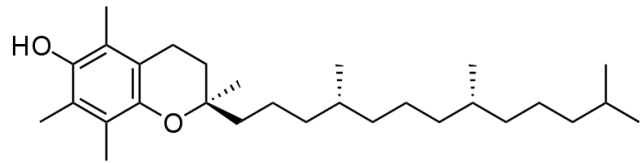
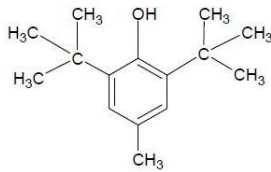
GPx; düşük konsantrasyonlarda meydana gelen hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan enzimdir. Selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız olarak iki tipi vardır (Karademir, 2005).

GST; başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere, lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizmasını oluşturan enzimdir (Karademir, 2005).

CAT; hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalayan enzimdir. %20 oranında sitoplazmada, %80 oranında peroksizomda bulunur (Karademir, 2005).

Askorbik asit (C vitamini); E vitaminini rejenere eder, böylece düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'i oksidasyondan korur (bkz. Şekil 2.4). Suda çözünür. İnsanda L-gulonolakton oksidaz enzimi bulunmadığından dışarıdan alınması gerekmektedir (Karademir, 2005).

Tokoferoller (E vitamini); zincir kırıcı antioksidanlardır. Plazma lipoproteinlerini ve LDL'yi oksidasyondan korur (bkz. Şekil 2.4). Doğada α , β , γ , δ olmak üzere dört farklı formda bulunabilirler. Antioksidan etki sıralamaları $\delta > \gamma > \beta > \alpha$ şeklindedir (Karademir, 2005).



Şekil 2. 4. C vitamini ve E vitamininin yapısı

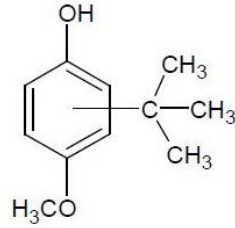
Karotenoidler; bitkisel ve hayvansal dokularda bulunan sarı-kırmızı-turuncu renk veren pigmentlerdir. Sekiz tane izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşan 40 C'lu polienlerdir. Çoklu doymamış yapıda olmaları kolay okside olmalarını ve stabil olmayan bir yapıda bulunmalarını sağlamaktadır (Karademir, 2005).

Polifenoller; fenolik asitler, fenolik polimerler ve flavonoidleri içerirler. Bir polifenolün antioksidan sayılabilmesi için; okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulduklarında ootoksidasyonu veya oksidasyonu erteleyebilmeli

veya engelleyebilmeli ve süpürme sonunda oluşan radikal oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır (Karademir, 2005).

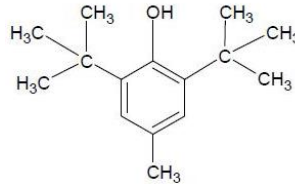
Sentetik antioksidanlar ise sonradan üretilerek gıdalara eklenir. En yaygın kullanılanları; propil gallat (PG), bütül hidroksianisol (BHA), bütül hidroksitoluen (BHT), tersiyer bütül hidrokinin (TBHQ) ve nordihidroguairatik asit (NDGA)'dır (Özenç, 2011).

BHA; beyaz, mumsu, katı bir yapıya sahip olmakla beraber bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılmaktadır (bkz. Şekil 2.5). Ticari olarak 3-terziyerbütül-4-hidroksianisolün ve 2-terziyerbütül-4-hidroksianisolün %85'e %15 oranında karışmasıyla oluşup yağda çözünüp suda çözünmeyen bir maddedir. Kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun kontrolünde rol oynamaktadır (Özenç, 2011).



Şekil 2. 5. BHA'nın yapısal gösterimi

BHT; beyaz renkli kristal yapıdadır. Isıya oldukça dayanıklı olmasından dolayı ısı işlem uygulamalarında daha fazla ortamda kalır ve gıdalara dayanıklılık kazandırır (bkz. Şekil 2.6) (Özenç, 2011).



Şekil 2. 6. BHT'nin yapısal gösterimi

PG; sitrik asit, demir ve bakır iyonlarının katalizlediği prooksidatif reaksiyonları önleyebilmektedir. Daima sitrik asitle birlikte kullanılan beyaz renkli kristallerdir (Özenç, 2011).

TBHQ; beyaz ve açık kahverengi arası renklerde olan kristal yapılı, bitkisel yağlar için çok daha etkili olan antioksidan maddelerdir. PG ile kullanımı etki azalması durumundan dolayı önerilmemektedir (Özenç, 2011).

NDGA; doğal olarak bulunabildiği gibi sentetik olarak da elde edilebilen gri beyaz kristal yapıda olan bu maddenin ülkemizde gıdalarda kullanımı yasaklanmıştır. Yağdaki çözünürlüğü oldukça azdır (Özenç, 2011).

Gıdalarda kullanılan antioksidanların; insan sağlığı için zararsız olmak, maliyeti arttırmamak, gıdaların doğal yapılarını (koku, görüntü, tat) bozmamak, koruyacağı madde içerisinde çözünmek veya homojen olarak karışmak ve normal üretim sırasında etkisini kaybetmemek özelliklerini taşıması gerekmektedir (Sezgin, 2004).

2.2.2. Temel Antioksidan Kaynakları

Temel antioksidan kaynakları dörde ayrılmış olup bunlar; enzimler, büyük moleküller, küçük moleküller ve bazı hormonlar şeklinde özetlenebilir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

- Enzimler; süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz,
- Büyük moleküller; albümin, ferritin ve diğer proteinler,
- Küçük moleküller; askorbik asit, ürik asit, tokoferol, karotenoidler, polifenoller (epigallokateşin, epigallokateşingallat, epikateşin, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, kumarik asit, ferulik asit vb.),
- Bazı hormonlar; östrojen, melatonin vb. şeklinde örneklendirilebilir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

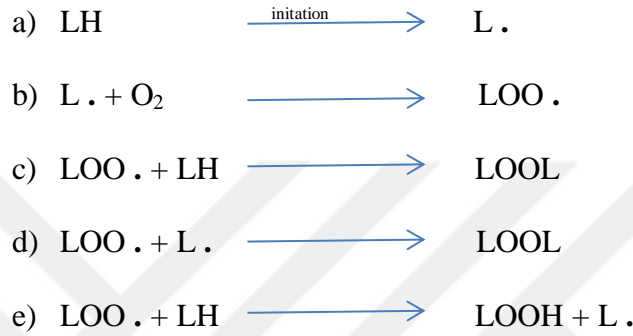
2.2.3. Antioksidanların Etki Şekilleri

Etki şekilleri incelendiğinde antioksidanlar toplayıcı etki, bastırıcı etki, zincir kırıcı etki ve onarıcı etki olmak üzere dört çeşit etkiye sahiptirler (Özcan ve ark., 2015).

Toplayıcı etki tanımlandığında; serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme etkisidir. Antioksidan enzimler, trakebronsiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etkilidirler (Özcan ve ark., 2015).

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girerek onlara hidrojen aktaran böylece aktivitelerini azaltan veya inaktif hale dönüştürme etkisine bastırıcı etki denmektedir. Vitaminler ve flavonoidler bastırıcı etki gösteren antioksidanlardır (Özcan ve ark., 2015).

Zincir kırıcı etki; serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını önleme etkisidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu etkiye sahiptirler (Özcan ve ark., 2015).



Şekil 2. 7. Antioksidanların Zincir Kırıcı Etki Mekanizması

Serbest radikaller tarafından oluşan hasarın onarılması, onarıcı etkidir. Antioksidan sistem, hücre zarına, nükleik asitlere ve hücre bileşenlerine saldırmadan onları kendine çeker ve bağlar (Özcan ve ark., 2015).

2.2.4. Antioksidan Analiz Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili çalışmalar antioksidan aktivite (AOA) ve antioksidan kapasite (AOK) araştırmalarına dayanmaktadır. AOA, reaksiyon kinetiği oranı ile ilişkilendirilirken AOK reaksiyon termodinamiği ile ilişkilendirilerek ölçülebilir. Bu yöntemler değişik kaynaklarda çeşitli şekillerde sınıflandırılmış olmakla birlikte en zengin kabul gören sınıflandırma hidrojen atomu transfer (HAT) ve elektron transfer (ET) temeline dayanan yöntemlerdir. ET temelli yöntemler antioksidan etkiyi renk değişimiyle ölçerken, HAT temelli yöntem antioksidan ve substratın rekabetiyle ortaya çıkan yarışmacı reaksiyonlardır. HAT temelli reaksiyonlar çözücü ve pH etkisinden kısmen bağımsız olarak kısa sürede gerçekleşirken, daha yavaş sürede gerçekleşen ET temelli yöntemlerde bu bağımsızlık söz konusu değildir (Okan ve ark.; 2013).

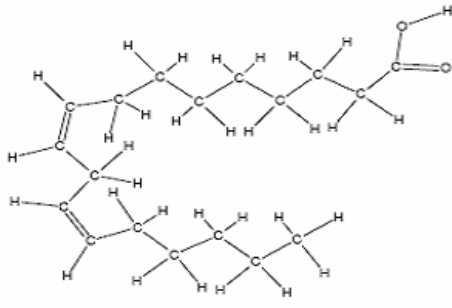
2.3. Yağ Asitleri

Temel gıda bileşenlerinden en önemlileri arasında yer alan yağlar, insan beslenmesinde büyük bir yere sahip olmasının yanı sıra yüksek enerji kaynağı olup, yağda çözünen vitaminleri içermeleri ve proteinlerle birleşerek lipoproteinleri oluşturmaları sayesinde sağlık sektöründe de önemli bir yere sahiptir. Kökeni her ne olursa olsun bütün yağlar, yağ asitleri ve gliserolün bileşiminden oluşmaktadır. Yağ asitleri ise doymuş ve doymamış olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar (Çakmancı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).

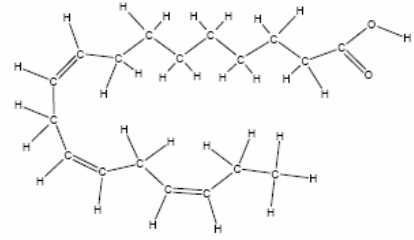
Zincirinde çift bağ bulunmayan yağ asitleri doymuş yağ asidi olarak adlandırılırlar. Karbon bağlarının her birisi H ile doyurulmuş olmasından dolayı oldukça kararlı ürünlerdir. Karbon sayısı 10 a kadar olan doymuş yağ asitleri oda şartlarında sıvı ve uçucudur. Doymuş yağ asitleri vücutta yağ birikimine sebep olmakta ve kilo alımında etken rol oynamaktadır. Fazla tüketiminin kalp damar hastalıklarının artmasına, kandaki kötü huylu kolesterolün (LDL) yükselmesine ve diyabet eğilimini arttırdığı saptanmıştır. Palmitik asit, stearik asit ve miristik asitler doymuş yağ asitlerine örnek olarak gösterilebilir (Öztürk, 2017).

Zincir üzerinde bir veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitleri ise doymamış yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Bir tane çift bağ içeren doymamış yağ asitleri tekli doymamış yağ asidi olarak adlandırılıp insan ve hayvan vücudunda sentezlenebilmekteyken, birden fazla çift bağa sahip doymamış yağ asitleri çoklu doymamış yağ asidi olarak adlandırılır ve esansiyeldirler. Tekli doymamış yağ asitleri iyi huylu kolesterolü (HDL) arttırıcı etki göstermektedirler. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin vücutta kimyasal ve fizyolojik değişikliklere neden olabilmeleri sağlık ve beslenme üzerinde etkili olduklarını belirtmektedir (Çakmancı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).

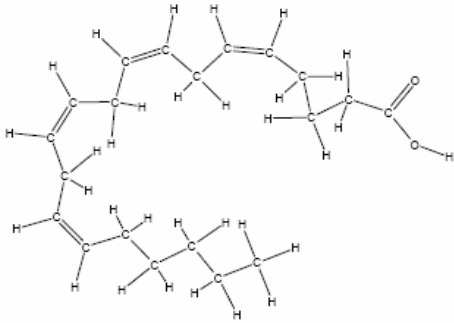
Linolenik asit (n 6 omega), α -linolenik asit (n 3 omega), araşidonik asit, EPA ve DHA uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerine örnek olarak verilmektedir (bkz. Şekil 2.8) (Çakmancı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).



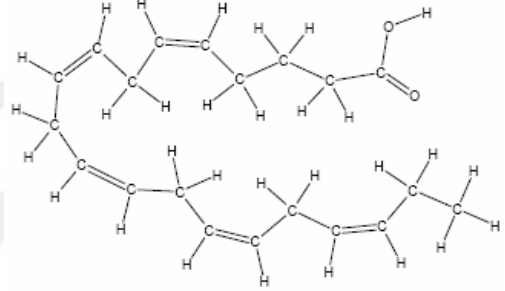
LA, linoleik asit, 18:2 ω 6 (18:2 n-6)



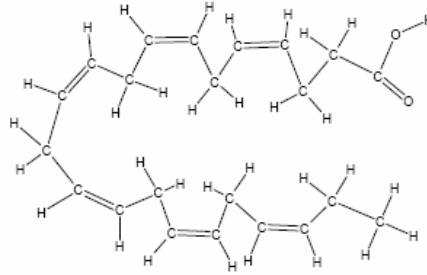
ALA, alfa-linolenik asit, 18:3 ω 3 (18:3 n-3)



AA, araşidonic asit, 20:4 ω 6 (20:4 n-6)



EPA, eikosapentaenoik asit, 20:5 ω 3 (20:5 n-3)



DHA, dokosaheksaenoik asit, 22:6 ω 3 (22:6 n-3)

Şekil 2. 8. Gıdalar için önemli olan Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinden bazılarının yapısal gösterimleri. Çoklu doymamış yağ asitleri n-3, n-6 ve n-9 olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Beslenmede önemli olan çoklu doymamış yağ asitleri ise genellikle omega-3 (ω -3) ve omega-6 (ω -6) yağ asitleridir (Çakmaccı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).

Omega-3 yağ asitlerinin insan hücrelerinde yeterli oranda bulunmaması sağlık üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir. İdeal beslenmede gıdalarda bulunan n-6/n-3 oranının 5:1 ile 10:1 arasında bulunması gerekmektedir (Holub, 2002).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Salvia hispanica l. bitkisine ait ithal olarak getirtilen Chia tohumları, Tokat ta bulunan aktardan alındı.

3.2. Kullanılan Çözücü ve Reaktifler

Metanol, kloroform, hegzan, etanol, TCA, FeCl₃, DPPH, K₃Fe(CN)₆, saf su, ABTS çözeltisi, TBA, diklorometan, KOH

3.3. Kullanılan Cihazlar

Su banyosu, Vorteks, GC-MS, UV

3.4. Tohumun Özütlenmesi (Ekstraksiyon) İşlemi

Chia tohumlarının dış kabukları havanda ezilerek kırıldı. Boyutu daha da küçültülen tohumlardan antioksidan aktivite analizi için alınan miktar metanol/kloroform (8/2) çözeltisinde ekstrakte edilirken, yağ asidi profili incelenmesinde alınan tohum miktarı yaklaşık iki katına çıkarıldı ve yine hegzan/kloroform (8/2) çözeltisinde ekstrakte edildi. Reaksiyon veriminin artırılması amacıyla su banyosunda yarım saat bekletildikten sonra parafilm ve folyo ile ağızları kapatılarak buzdolabında birkaç gün bekletildi. Daha sonra 3 mL alınıp süzüldü. 50°C etüvde birkaç gün bekletildikten sonra kalan ekstrakta 1/1 (mg/mL) metanol eklenerek seyreltildi. Vortekslenerek homojen hale getirildikten sonra 5 dk su banyosunda bekletildikten sonra ağızları tekrar kapatılarak kullanılabilecek kadar buzdolabında bekletildi.

3.5. Antioksidan Aktivite Testleri

Bitkisel kaynaklı ürünlerin antioksidan aktivitelerinin tek bir testle kesin olarak belirlenmesi zordur. Bu yüzden antioksidan aktivite değerlendirmek, en azından tahmin etmek için çeşitli testler önerilmiştir. En az iki tanesinin uygulanması antioksidan etkinin belirlenmesi için yararlı olacaktır.

Chia tohumunun antioksidan aktivitesi, katyon radikali giderme aktivitesi, indirgenme gücü aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi, bakır indirgeme gücü aktivitesi ve metal şelatlama aktivitesi testleri ile belirlendi.

3.5.1. Katyon Radikalı Giderme Aktivitesi

Bu metot antioksidan maddelerin aktivitelerinin, Trolox standardı ve ABTS radikali kullanılarak belirlenmesini sağlamaktadır. Metotta ürünlerin hidrojen verme eğilimlerinin ve serbest radikal zincirini kırma etkilerinin incelenmesi ile antioksidan aktivitelerinin saptanması amaçlanmaktadır.

ABTS, okside olur ve ABTS.⁺ radikali oluşur ve ürünlerin bu katyon radikalini yakalama eğilimleri ile antioksidan aktiviteleri belirlenmiş olur.

3.5.2. İndirgenme Gücü Aktivitesi

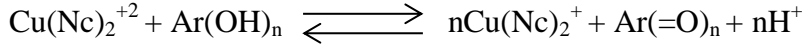
Asidik ortamda uygulanan bu metot, antioksidan fenolik bileşiklerinin Fe(III) iyonunu Fe(II)'ye indirgemesi temeline dayanmaktadır. Oluşan kompleks antioksidan kapasiteye bağlı olarak mavi ile yeşil renk arasında değişmekte olup, 700 nm'de en yüksek absorbanı Prusya mavisi renk ile göstermektedir.

Antioksidan kapasite 700 nm'de okunan absorban değeri ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Yani yüksek absorban yüksek antioksidan kapasite olarak değerlendirilmektedir (Zengin ve ark., 2010).

3.5.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Serbest radikaller grubundan olan, yüksek kararlılık seviyesine sahip DPPH, antioksidanlardan elektron ve hidrojen radikallerini alarak, ürünlerin kararlı moleküllere dönüşümünü sağlamaktadır. Antioksidanların serbest radikal giderme aktiviteleri, absorban ölçümlerindeki düşüşle kendini göstermektedir (Eruçar, 2006).

3.5.4. Bakır İngirgeme Gücü Aktivitesi (CUPRAC)



Reaksiyonda özetlendiği gibi metot, Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi esasına dayanmaktadır.

3.5.5. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama etkisine sahip olan antioksidanlar serbest demir iyonlarını bağlayarak etkisini engellemekle birlikte, oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikallerin inhibisyonunu sağlarlar. Fe⁺² iyonu ile ferrozinin oluşturduğu kompleksin 562 nm'de absorbansı ölçülerek antioksidan kapasitenin belirlenmesi sağlanmaktadır (Öztaş, 2006).

3.5.6. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayininde Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmaktadır. Fenol oksidasyonu sonucunda içeriğinde bulunan oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir. Bu değişim içerdiği polifenolik madde miktarı doğru orantılı olup 760 nm'de ölçülen absorbans ile takip edilir (Aydın, 2011).

3.5.7 Toplam Flavonoid Miktarının Belirlenmesi

Bu metot kolorometrik bir yöntem olup, bitkilerin sekonder metabolitlerinden biyolojik etkilerinden dolayı en önemli bileşiklerinden olan flavonoidlerin miktarının 427nm'de absorbans değerinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (Özyurt, 2005).

3.6. Yağ Asitleri Analizi

Yağ asidi metil ester kompozisyonunun belirlenmesi diyet içeriklerinin belirlenmesi ve gıda endüstrisinde yapılan Ar-Ge çalışmalarına yön vermesi açısından oldukça önemlidir. Yağ asidi profilinin belirlenmesi metodunun esası; üründe bulunan yağların metil esteri formuna dönüştürülmesi ve bunun GC'de gaz formuna geçmesi, taşıyıcı bir gaz yardımıyla kolonda molekül ağırlıklarına göre sırasıyla ayrılması ve dedektör yardımıyla içerisinde bulunan yağ asitlerinin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır.

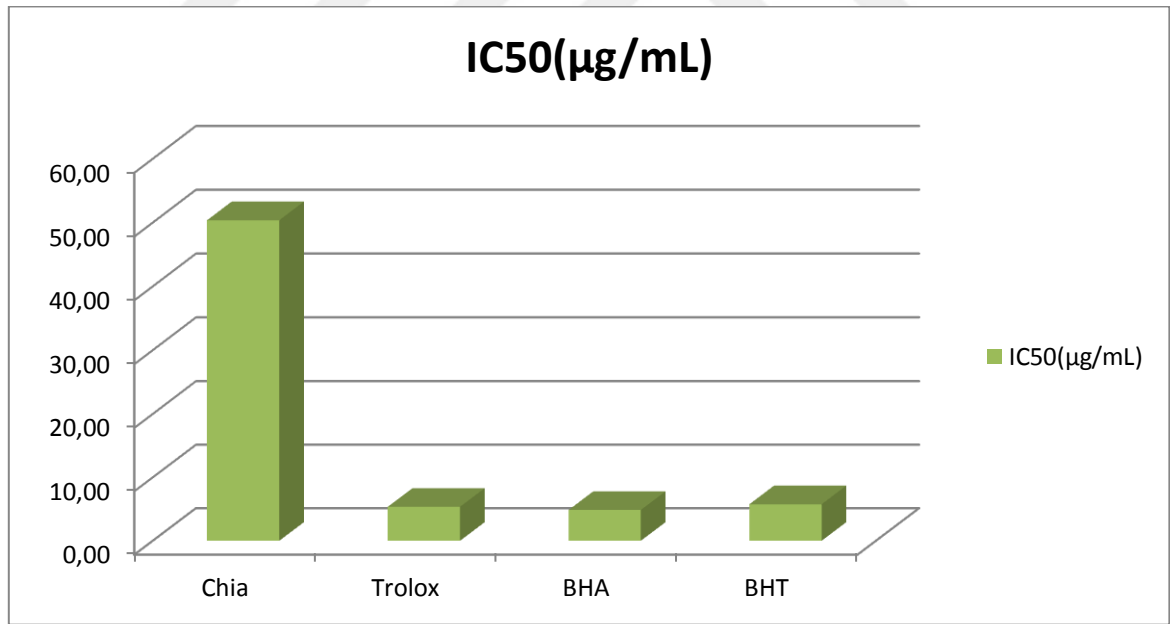
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antioksidan Aktivite Testleri

4.1.1. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

Chia tohumundan ekstrakte edilen moleküllerin ABTS radikal katyonu kullanılarak antioksidan kapasite tayini, Re ve arkadaşlarının 1999'da uyguladığı metotla şu şekilde yapıldı; suda hazırlanan 7 mM ABTS çözeltisi ve 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisi karışımı (1/1, v/v) 6 saat oda sıcaklığında karanlık bir ortamda saklanarak ABTS radikal katyonu (ABTS⁺) çözeltisi hazırlandı. Farklı konsantrasyonlardaki numunelerin üzeri fosfat tamponu (0,1 M, pH 6,6) ile 3 mL'ye tamamlandı. Daha sonra üzerine 1 mL ABTS çözeltisi eklenerek 734 nm'de absorbanslar ölçüldü.

Örneklerin serbest katyon radikali giderme aktivitesi sonuçları IC₅₀ değeri olarak hesaplandı.



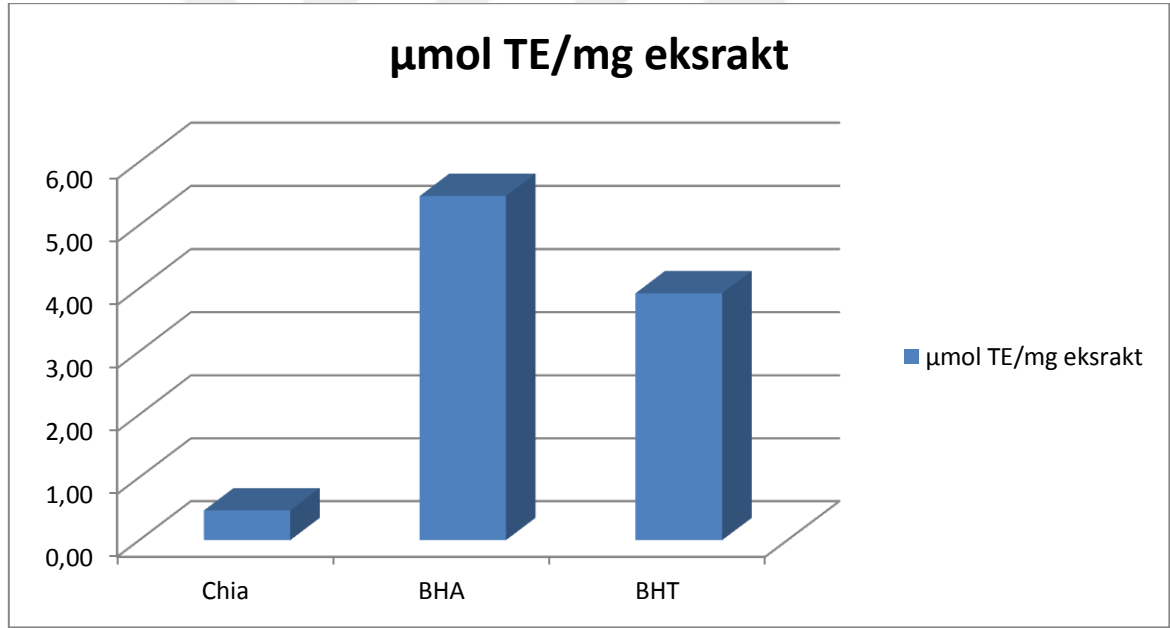
Şekil 4. 1. Chia Tohumunun Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

Hidrojen veren ve serbest radikal zincirini kıran etkiye sahip antioksidan maddelerin aktivitelerinin belirlenmesine dayanan metot ile yapılan deneyler sonucunda ve Şekil 4.1. de görüldüğü üzere Chia tohumunun, ABTS katyon radikali giderme aktivitesi standartlara göre oldukça düşük seviyededir.

Sonuçlardan da görüldüğü üzere Chia tohumunun serbest oksijen moleküllerini bağlayarak zincir kırıcı etki gösterme kapasitesi standartlara kıyasla düşük seviyededir.

4.1.2. İndirgeme Gücü Aktivitesi

Tohumdan elde edilen moleküllerin indirgenme gücü aktivite testi 1986'da Oyaizu'nun uyguladığı metotta değişiklik yapılarak şu şekilde uygulandı; 0,25 mL tohum ekstraktına 1,25 mL'ye kadar fosfat tamponu (2,5 mL, 0,2 M, pH 6,6) eklendi ve üzerine %1'lik potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$] çözeltisinden 1,25 mL ilave edildi. Bu karışım 50°C de 20 dk inkübe edildi. Daha sonra bu karışıma 1,25 mL %10'luk TCA ve 0,25 mL %0,1'lik $FeCl_3$ ilave edilerek vorteksledi. Elde edilen karışımın 700 nm'de absorbansları kaydedildi. Sonuçlar pozitif sonuçlar ile karşılaştırılarak indirgenme gücü aktivitesi değerlendirildi.



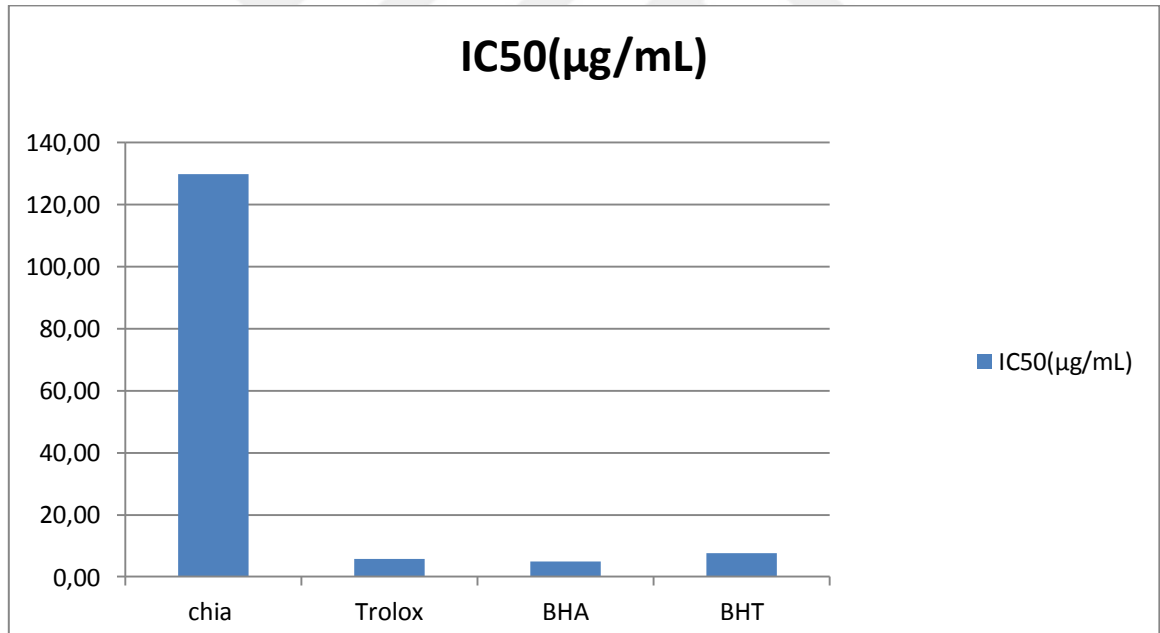
Şekil 4. 2. Chia Tohumunun İndirgeme Gücü Aktivitesi

Şekil 4. 2 incelendiğinde Chia tohumunun indirgeme gücü aktivitesinin, antioksidan aktivitesi yüksek olan sentetik antioksidanlar BHA ve BHT'ye kıyasla oldukça düşük olduğu gözlemlenmektedir.

Fe(III) iyonunun indirgeme kapasitesinin elektron verme eğilimin göstergesi olarak değerlendirildiği göz önüne alındığında Chia tohumunun düşük seviyede elektron verme yeteneğine sahip olduğu görülmektedir.

4.1.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi testi 2005 yılında Liyana-Pathirana ve Shahidi'nin uyguladığı metot baz alınarak şu şekilde uygulandı; DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) 0,265 mM'lik etanol çözeltisinin 1 mL'si üzerine değişik konsantrasyonlarda (40-80-160 µg/mL) numune çözeltisi ilave edildi. Üzeri etanol ile 4 mL'ye tamamlandı. Elde edilen karışım şiddetli bir şekilde vortekslenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. Spektrofotometrik ölçüm (JascoV-530, Japan Servo Co. Ltd.,Japan) oda şartlarında 517 nm'de yapıldı. Numunelerin % serbest radikal giderme aktivitesi IC₅₀ değeri olarak hesaplandı.



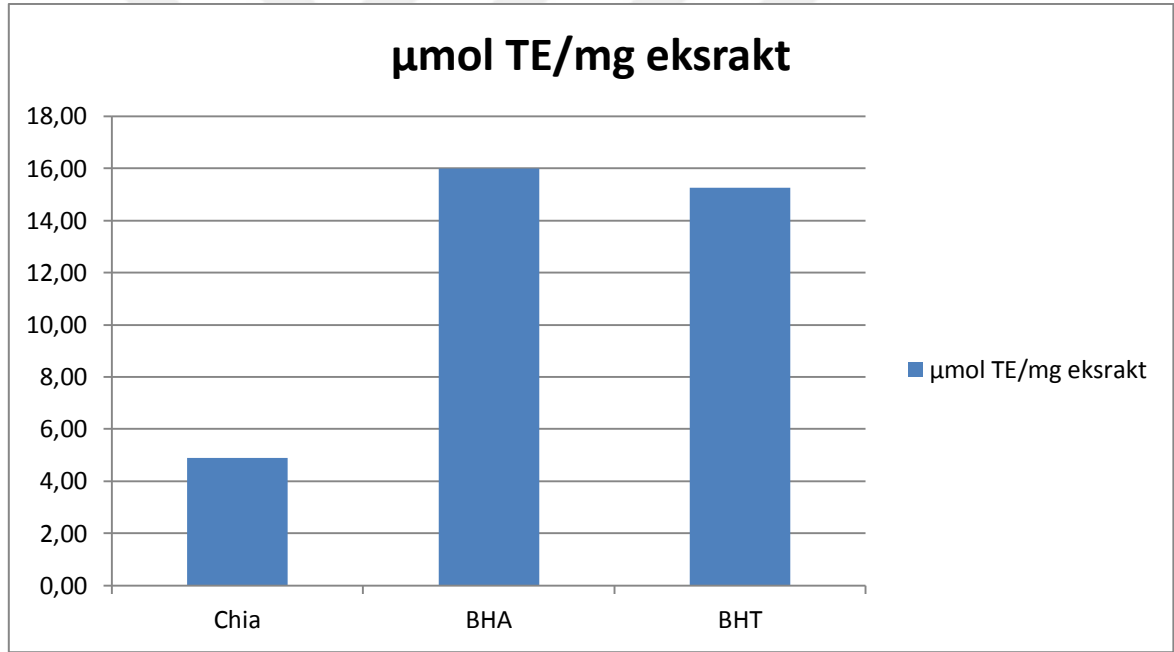
Şekil 4. 3. Chia Tohumuna Ait Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Bu yöntem ekstraktın elektron verme eğilimi göstererek DPPH serbest radikalini yakalama aktivitesini değerlendirmek için kullanılır.

Şekil 4. 3 incelendiğinde Chia tohumunun, % aktivite olarak da kullanılan sentetik antioksidanlar Trolox, BHA ve BHT'den düşük serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

4.1.4. Bakır İndirgeme Gücü Aktivitesi

CUPRAC analizi için; 0,1 mL chia tohum ekstraktından alınarak metanol ile 1 mL'ye tamamlandı. Üzerine 1 mL 0,01 M'lık CuCl_2 , 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M'lık neokuprin ve 1 mL amonyum asetat çözeltileri eklendi ve vorteksledi. Yarım saat oda sıcaklığında beklendikten sonra spektrofotometrede 450 nm'de absorbansı ölçüldü. Örneğin bakır indirgeme gücü aktivitesi değeri troloks eşdeğeri olarak hesaplanarak, sonuçlar pozitif eşdeğerler ile karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 4. 4. Chia Tohumunun Bakır İndirgeme Gücü Aktivitesi (CUPRAC)

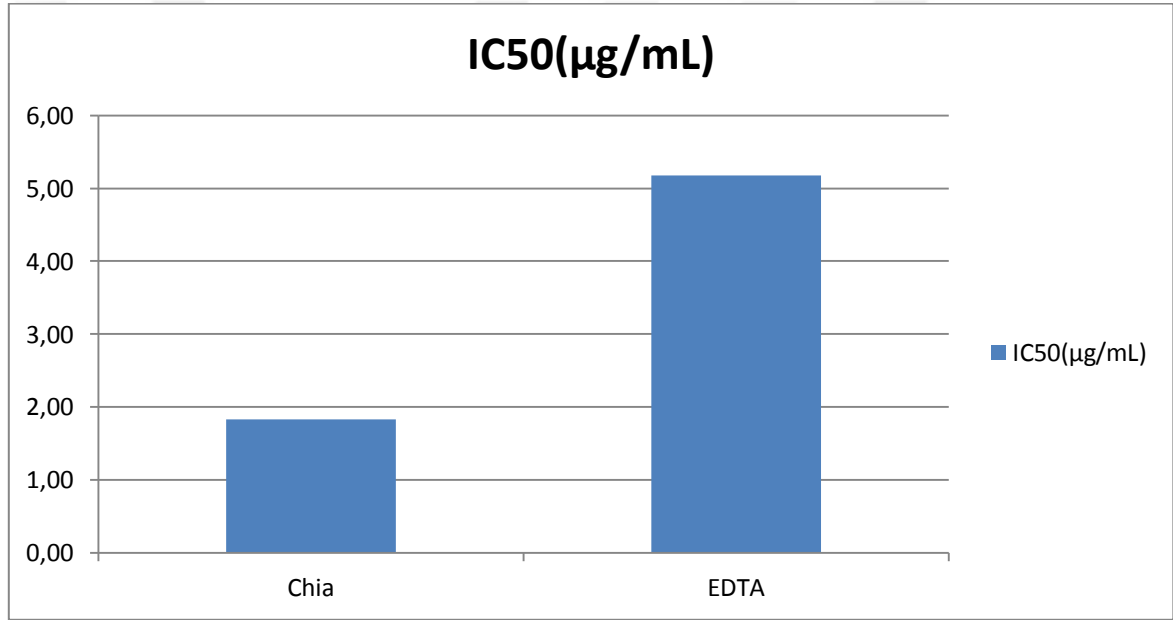
Metodun esasını fenolik bileşiklerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neokuproin kompleksine indirgemesi ve kompleksin 450 nm'de maksimum absorbans göstermesine dayanır.

Şekil 4. 4 de görüldüğü üzere Chia tohumunun bakır indirgeme gücü aktivitesi standartlarla kıyaslandığında düşük seviyede bakır(I)-neokuproine indirgenme seviyesine sahiptir.

4.1.5 Metal Şelatlama Aktivitesi

Chia tohumunun metal şelatlama aktivitesi testi Dinis ve ark. tarafından 1994'te geliştirilen yöntem baz alınarak şu şekilde çalışıldı; 0,4 mL ekstrakt üzerine 2mM'lık FeCl_2 çözeltisinden 0,05 mL ve 5 mM'lık ferrozin çözeltisinden 0,2 mL eklenerek etanol ve metanol ile 4 mL ye tamamlandı. Vortekslenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Ardından 562 nm de absorpsanları okundu.

Örneğin metal şelatlama aktivitesi sonuçları IC_{50} değeri olarak hesaplanarak, iyi bir metal şelatlayıcısı olan EDTA çözeltisi ile karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 4. 5 Chia Tohumunun Metal Şelatlama Aktivitesi

Ekstraktın çözeltide bulunan Fe^{+2} iyonunu bağlayabilmek için ferrozin ile yarışması yöntemine bağlı olarak değerlendirildiğinde, Şekil 4. 5'de de görüldüğü üzere Chia tohumunun metal şelatlama aktivitesi, iyi bir metal şelatlayıcısı olan EDTA çözeltisinin şelatlama aktivitesinden yüksektir.

Chia tohumunun daha yüksek şelatlama aktivitesine sahip olması ferrozinden önce metal iyonlarını bağladığını göstermektedir.

4.1.6 Toplam Fenolik Madde Tayini

Fenolik madde tayini, fenolik bileşiklerin bazik ortamda, oksitleyici bileşik olan Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyerek oksitlenmiş formlarına dönüşmeleri temeline dayanmaktadır.

Standart olarak iyi bir fenolik bileşik olan gallik asit kullanıldı. Chia tohumunun toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstrakt) olarak hesaplandı ve sonucu Çizelge 4. 1’de gösterildi.

Chia tohumunda toplam fenolik madde tayini analizi; 100 µL ekstrakt çözeltisi üzerine 4,5 mL destile su ilave edildi. Üzerine 100 µL folin-ciocalteau reaktifi ilave edildi. 3 dk beklendikten sonra %2’lik Na₂CO₃ çözeltisinden 300 µL eklenerek vortekslendi. Karışım 2 saat oda şartlarında inkübe edildikten sonra 760 nm’de absorbansı okundu. Örneğin toplam fenolik madde miktarı mg olarak hesaplandı.

Çizelge 4. 1 Chia Tohumunun Toplam Fenolik Madde Miktarı

	mg GAE / g ekstrakt
Chia Tohumu	10,66 ± 0,35

4.1.7 Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Chia tohumunun toplam flavonoid miktarı şu şekilde belirlendi; 100 µL ekstrakt üzerine 1,5 mL etanol ilave edildi. Üzerine 0,1 mL %10’luk AlCl₃ ve 0,1 mL 1M’lık NaCH₃COO ilave edildikten sonra toplam hacim 5 mL’ye saf su ile tamamlandı. 30 dk oda şartlarında inkübe edildikten sonra 427 nm’de absorbansı okundu. Sonuçlar Quercetin’e eşdeğer olarak değerlendirildi.

Standart olarak flavonoid miktarı yüksek olan Quercetin kullanıldı ve Chia tohumunun toplam flavonoid madde miktarı quercetin eşdeğeri (mg QE/g ekstrakt) olarak hesaplandı ve sonucu Çizelge 4. 2’de gösterildi.

Çizelge 4. 2 Chia Tohumunun Toplam Flavonoid Madde Miktarı

	mg QE / g ekstrakt
Chia Tohumu	21,71 ± 0,56

4. 2 Yağ Asitleri Analizleri

Buzdolabından çıkartılan ekstraktın oda sıcaklığına gelmesi beklendi. 2 mL numune üzerine 2 mL hezgan ve 2 mL KOH (2 M, metanolde) çözeltileri eklendi. Elde edilen karışım 1 dk vortekslenildikten sonra oda sıcaklığında 15 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra üst fazdan yaklaşık 2 mL kadar numune GC kaplarına alındı. Kromatografide yağ asitlerinin profili belirlendi.

Çizelge 4. 3’de de görüldüğü üzere Chia tohumunun Palmitik, Stearik ve Oleik asidi yüksek miktarda içermesinin yanı sıra tohum, çoklu doymamış yağ asitlerinden olan Linoleik asit ve α -linolenik asit bakımından da oldukça zengindir.

Omega-3 yağ asitlerinin insan hücrelerinde yeterli oranda bulunmaması sağlık üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmekte olduğu göz önüne alındığında Chia tohumu beslenme ve sağlık üzerinde etkili olabilecek bir üründür.

Çizelge 4. 3 Chia Tohumunun Yağ Asiti Kompozisyonu

	Chia Tohumu
C11:0(Undecanoicacid Methyl Ester)	0,00
C13:0 (Tridecanoic Acid)	0,00
C14:0 (Myristic Acid)	0,05
C14:1 (Myristoleic Acid)	0,01
C15:0 (Pentadecanoic Acid)	0,02
C16:0 (Palmitic Acid)	7,05
C16:1 (Palmitoleic Acid)	0,07
C17:0 (Heptadecanoic Acid)	0,04
C17:1 (cis-10-Heptadecenoic Acid)	0,01
C18:0 (Stearic Acid)	3,47
C18:1n9c (Oleic Acid)	5,69
C18:2n6t (Linolelaidic Acid)	0,01
C18:2n6c (Linoleic Acid)	17,61
C20:0 (Arachidic Acid)	0,31
C18:3n3(Alfa Linolenic Acid)	65,19
C21:0(Heneicosanoic Acid)	0,00
C20:2 (cis 11,14 Eicosadienoic Acid)	0,07
C20:3n6 (Homo- γ -Linolenic)	0,05
C22:0 (Behenic Acid)	0,14
C22:1n9(Erucic Acid)	0,04
C23:0(Tricosanoic Acid)	0,02
C20:5n3 (EPA)	0,00
C24:0(Lignoceric Acid)	0,05
C24:1(Nervonic Acid)	0,10

5. SONUÇ

Bu çalışmada *Salvia hispanica* bitkisinin tohumları (Chia Tohumu) metanol/kloroform da ekstrakte edilerek antioksidan aktivite çalışmaları için hazırlandı. ABTS katyon radikali giderme aktivitesi, İndirgeme gücü aktivitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, CUPRAC bakır indirgeme gücü aktivitesi, Metal şelatlama aktivitesi testleri ve toplam fenolik ve flovonoid madde miktarları analizleri yapıldı.

Bu analizler sonucu Chia tohumunun metal şelatlama aktivitesi yüksek iken, yapılan diğer testler sonucu düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi.

Chia tohumunun metanol ekstraktından yağ asidi profili belirlendi. Gıdalar ve beslenme için önemli olan çoklu doymamış yağ asitleri olan ω -3(omega-3) ve ω -6(omega-6) bakımından oldukça zengin bir tohum olduğu gözlemlendi.

6. KAYNAKLAR

- Ali, M. N., Yeap, S.K., Ho, W.Y., Beh, B.K., Tan, S.W., Tan, S.G., 2012. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *J Biomed Biotechnol.* 2012: 1-9.
- Aydın, H., 2011. Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- Ayerza, R., 1995. Oil Content and Fatty-Acid Composition of Chia (*Salvia hispanica* L) from 5 Northwestern Locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc*, 72(9): 1079-1081.
- Bağcı, E., Koçaka, A., 2007. Study on the analysis and evaluation of essential oils of two *Salvia* L. (*S. ceratophylla* L., *S. aethiopsis* L.) species. *Science and Eng. J of Firat Univ.* 19, 4: 435-442.
- Bağdat, R., Gümüştü, A., Coşge, B., 2004. Lamiaceae Familyasına Ait Önemli Bazı Türlerin Kullanım Alanları. *Ziraat Mühendisliği Dergisi.* Temmuz-Aralık, Sayı:34, S:(10-15), 56.
- Başer, K. H. C., Kirimer, N., 2006. Essential Oils Of Lamiaceae Plants Of Turkey. I. International Symposium on the Labiatae: Advances in Production Biotechnology and Utilisation. Sanremo, İtalya.
- Baydar, H. 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No:51, 183s., Isparta.
- Baykal, Y., Gök, F., Erikçi, S., 2002. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom Aylık Tıp Dergisi*, 14 (1):94-100.
- Bhattacharya, S., 1978. Study Of Some Indian Members Of The Genus *Salvia* With Referen-ces To The Cytological Behaviour, *Cytologia* 43: 317-324.
- Çakmakçı, S., Tahmas-Kahyaoğlu, D. 2012, Yağ Asitlerinin Sağlık ve Beslenme Üzerine Etkilerine Genel Bir Bakış, *Akademik Gıda* 10(1) (2012) 103-113.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M., 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- EFSA (2009). Opinion on the safety of 'Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds' as a food ingredient. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products. *Nutrition and Allergies.* 996: 1-26.

- Eruçar, S., 2006, Bazı Bitkisel Çayları Fenolik Madde Profili ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Holub, B.J. , 2002. Clinical nutrition: 4. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care. Can Med. Assoc. J. (JMAC) 166 (5): 608-615.
- Ixtaina, V.Y., Nolasco, S.M., Tomas, M.C. (2008). Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Industrial crops and products*, 28(3), 286-293.
- Karabulut, H., 2019. Chia Tohumu ve Beslenme. <https://makale.doktorsitesi.com/chia-tohumu-ve-beslenme>, (09.03.2019).
- Karademir, S.E., 2005. Bazı Polifenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(5): 226-234.
- Koca, N., Karadeniz, F., 2003. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. Gıda Mühendisliği Dergisi, 3(12), 32-38.
- Koç, H., 2000. Tıbbi Adaçayında Azotlu Gübrelemenin Verim ve Kalite Üzerine Etkisi. GÖÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(1), 89-93.
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., 2005. Antioxidant activity of soft commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. J. Agric. Food Chem. 2005;53:2433–2440.
- Marcinek, K., Krejpcio, Z. 2017. Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications-a review. Rocz Panstw Zakl Hi, 68(2): 123-129.
- Nakipoğlu, M. 1993. Türkiye'nin *Salvia* L. Türleri Üzerinde Karyolojik Araştırmalar. I. Türk Botanik Dergisi, 17(1): 21-258, Ankara.
- Okan, T., Varlıbaş, H., Öz. M., Deniz, İ., 2013 Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi, 13 (1): 48-59.
- Oyaizu M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Özenç, B., 2011 *Fumaria Officinalis*'un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniv./Kimya Anabilim Dalı, Konya.

- Özgören, E., Kaplan, H.B., Tüfekçi, S., 2018. Chia Tohumu Kullanılarak Zenginleştirilen Galetaların Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri. *Food and Health*, 4(2), 140-146.
- Öztan, K., 2006. Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ/Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Öztürk, R., 2017. Bildircin Rasyonunda Farklı Yağ Kaynaklarının Kullanılmasının Et Kalitesi ve Bileşenleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisan Tezi, Süleyman Demirel Üni/Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Özyurt, D., 2005. Toplam flavonoid miktarının geliştirilen spektrofotometrik yöntem ile tayini. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ/Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., 1999. Antioxidants activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Sezgin, N., 2004. Adaçayı (*Salvia spp.*) Bitkisinde Antioksidan Maddelerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Şenkal, B. C., İpek, A., Cesur, C., Doğan, H., Yaman, C., Uskutoğlu, T., İpek, G., 2017. Yozgat Florasına Kayıtlı Adaçayı Taksonlarının Bitkisel Özellikleri ve Tıbbi Önemi.
- Şenses, V., Özyazgan, S., Akkan, G., 1999. Serbest Oksijen Radikalleri-1: Vücuttaki Antioksidan Sistemler. *Türk aile hek. der.* 3(1-2):5:11.
- United States Department of Agriculture Research Servise. 2017. USDA Food Composition Database.
- Yavaşer, R., 2011. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üni/Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Yurt, M., Gezer, C., 2018. Chia tohumunun (*Salvia hispanica*) fonksiyonel özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *GIDA* 43 (3): 446-460.
- Zengin, G., Çakmak, Y.S., Güler, G.O., Aktumsek, A., 2010. In vitro antioxidant capacities and fatty acid compositions of three *Centaurea* species collected from Central Anatolia region of Turkey. *Food Chem Toxicol* 48: 2638-41.
- Zhinsen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Vildan AKDOĞAN

Doğum Tarihi ve Yeri : 18.10.1991 / Erzurum

Yabancı Dil : İngilizce

Telefon : 05066798563

e-mail : vildankdgn@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GOPÜ Fen Bilimleri Enst. Kimya ABD	2019
Lisans	GOPÜ Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümü	2014
Lisans	GOPÜ Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fak. Gıda Müh.	2014