



BAZI FENOLİK BİLEŞİKLERİN ANTİOKSİDAN

AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

HATİCE YAVUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANA BİLİM DALI
Dr. Öğr. Üyesi İlhami KARATAŞ
Ağustos - 2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI FENOLİK BİLEŞİKLERİN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

HATİCE YAVUZ

TOKAT
Ağustos - 2019

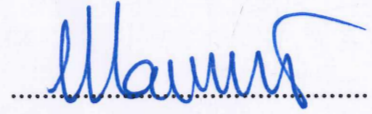
Her hakkı saklıdır

Hatice YAVUZ tarafından hazırlanan “**Bazı Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **6 AĞUSTOS 2019** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / ~~Oy Çokluğu~~ ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **KİMYA ANA BİLİM DALI**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

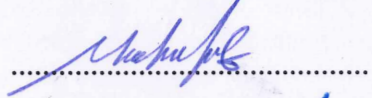
Jüri Üyeleri

İmza

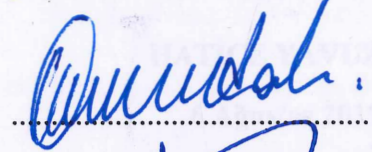
Danışman
Dr. Öğr. Üyesi İlhami KARATAŞ



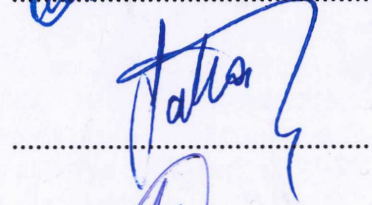
İkinci Danışman
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi



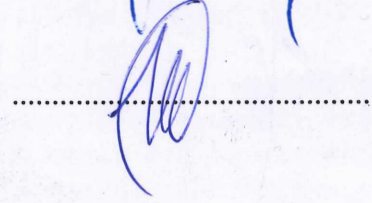
Üye
Prof. Dr. Ömer IŞILDAK
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

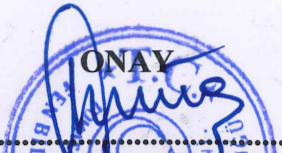


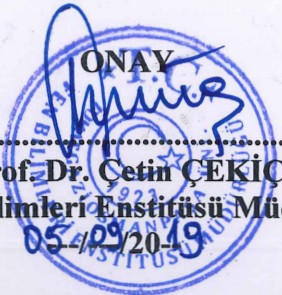
Üye
Dr. Öğr. Üyesi Fatma GEDİKLİ
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKŞİT
Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi



ONAY

Prof. Dr. Çetin ÇEKİÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü v.
05/09/2019



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 içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

HATİCE YAVUZ

6 Ağustos 2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI FENOLİK BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

HATİCE YAVUZ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ İLHAMİ KARATAŞ)
(İKİNCİ DANIŞMAN: PROF. DR. MAHFUZ ELMATAŞ)

Bitkiler sekonder metabolit olarak adlandırılan çok çeşitli organik bileşikler sentezlemektedirler. Fenolik bileşikler bitki sekonder metabolitlerinin önemli bir bölümünü oluşturmakta olup biyolojik fonksiyonları ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle yoğun şekilde saflaştırılmakta ve yapıları aydınlatılmaktadır. Fenolik bileşikler gıda endüstrisinde ve diğer birçok sektörde (tıp, eczacılık, vb.) sentetik antioksidan bileşiklerin yerini alabilecek değerli bileşikleridir. Bu çalışmada 18 fenolik bileşiğin (gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, gentisik asit, kafeik asit, isoorientin, rutin, ferulik asit, resveratrol, klorojenik asit, neoklorojenik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, biokanin A, salisilik asit, naringenin ve *p*-hidroksibenzoik asit) antioksidan kapasitesi üç standart antioksidan bileşikle (BHT, BHA ve troloks) karşılaştırılmıştır. Bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH^{*}), Katyon radikal giderme aktivitesi (ABTS⁺), İndirgeme gücü aktivitesi (FRAP), Cu²⁺ İyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC) ve Metal şelatlama aktivitesi yöntemleri kullanılmıştır. Bileşiklerin DPPH radikal giderme aktivitesinde IC₅₀ değerleri 5.32±0.18 – 728.14±9.49 µg/mL aralığında değişirken ABTS metodunda 0.83±0.011 - 6.60±0.07 µg/mL aralığında değişmiştir. DPPH metoduna göre en yüksek aktiviteye sahip ilk beş bileşik sırasıyla gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, ve gentisik asitten oluşurken ABTS metoduna göre bu sıralama gallik asit, naringenin, resveratrol, protokateşik asit ve isoorientinden oluşmaktadır. Bileşiklerin FRAP aktivitesi 0.14±0.09 - 11.13±0.84 µmol TE/mg arasında değişirken CUPRAC aktivitesi 2.01±0.37-23.66±0.12 µmol TE/mg arasında değişmiştir. CUPRAC ve FRAP metoduna göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ilk beş bileşiğin gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, gentisik asit ve kuersetinden oluştuğu belirlenmiştir. Analizi yapılan fenolik bileşikler içerisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi sırasıyla naringenin, kateşin, klorojenik asit ve protokateşik asitte belirlenmiştir. Tüm bu analizler neticesine göre protokateşik asit tüm antioksidan metotlarına göre en yüksek aktiviteye sahip ilk 4 fenolikbileşik arasında yer almıştır. Gallik asit ise metal şelatlama aktivitesi hariç diğer 4 metoda göre en yüksek aktiviteye sahip bileşik olduğu belirlenmiştir.

2019, 50 SAYFA

ANAHTAR KELİMELER: Fenolik bileşik, Antioksidan aktivitesi, DPPH, ABTS, Metal şelatlama, FRAP, CUPRAC

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SOME PHENOLIC COMPOUNDS

HATİCE YAVUZ

TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

(SUPERVISOR: ASST. PROF. DR. İLHAMİ KARATAŞ)
(CO-SUPERVISOR: PROF. DR. MAHFUZ ELMATAŞ)

Plants synthesize a wide variety of organic compounds called secondary metabolites. Phenolic compounds, which make up a significant portion of these compounds, are intensively purified from plants and their structures are elucidated due to their many biological functions and antioxidant activities. Phenolic compounds are valuable compounds that can replace synthetic antioxidant compounds in the food industry and many other sectors (medicine, pharmacy, etc.). In this study, antioxidant capacity of 18 phenolic compounds (gallic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, protocatechuic acid, salicylic acid, genticic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, chlorogenic acid, neochlorogenic acid, resveratrol, naringenin, catechin, isoorientin, quercetin, rutin, biochanin A) were compared with three standard antioxidant compounds (BHT, BHA and Trolox). Antioxidant activity of these compounds were determined by free radical scavenging activity (DPPH[•]), cation radical scavenging activity (ABTS^{•+}), reducing power activity (FRAP), Cu²⁺ ion reducing capacity (CUPRAC) and metal chelation activity methods. The IC₅₀ values of DPPH radical scavenging activity of the compounds ranged from 5.32 ± 0.18 to 728.14 ± 9.49 µg / mL, while the ABTS method varied from 0.83 ± 0.011 to 6.60 ± 0.07 µg / mL. The first five compounds with the highest activity according to the DPPH method consist of gallic acid, catechin, protocatechuic acid, quercetin, and genticic acid, whereas in ABTS method, gallic acid, naringenin, resveratrol, protocatechuic acid and isoorientin, respectively. FRAP activity of the compounds ranged from 0.14 ± 0.09 to 11.13 ± 0.84 µmol TE / mg, while CUPRAC activity ranged from 2.01 ± 0.37 to 23.66 ± 0.12 µmol TE / mg. According to CUPRAC and FRAP method, the first five compounds with the highest antioxidant activity were found to be gallic acid, protocatechuic acid, caffeic acid, genticic acid and quercetin. Among the phenolic compounds analyzed, the highest metal chelating activity was determined in naringenin, catechin, chlorogenic acid and protocatechuic acid, respectively. As a result of all these analyzes, protocatechuic acid was among the first 4 phenolic compounds having the highest activity according to all antioxidant methods. Gallic acid was found to have the highest activity according to 4 antioxidant methods except metal chelating activity.

2019, 50 PAGES

KEYWORDS: Phenolic compound, Antioxidant activity, DPPH, ABTS, Metal chelating, FRAP, CUPRAC

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarında sabırla bana yol gösteren, her türlü imkanı bana sağlayan, yardımlarını hiç esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi İlhami KARATAŞ'a, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, beni kapısından asla geri çevirmeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ'a, çıktığım bu yolda yardım, destek ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen dekanımız Sayın Prof. Dr. Adem ÖNAL'a, Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ömer İŞILDAK'a, çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Rahime KARATAŞ'a, her başım sıkıştığında aradığım, yol gösterici arkadaşım Sayın Oğuz ÖZBEK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca ömrüm boyunca maddi manevi yardım ve desteklerinin yanı sıra zekasıyla yol göstericim olan canım babam Sayın Dursun Mehmet HEKİMOĞLU'na, hayat arkadaşım, yoldaşım Vedat YAVUZ'a, hayatıma anlam katanlarım, evlatlarım, sabırla annelerini bekleyen Kutay ve Ela'ma, gözüm arkada kalmadan işlerimi emanet ettiğim eczane personelime teşekkürlerimi sunarım.

HATİCE YAVUZ

6 Ağustos 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Sekonder Metabolitler.....	4
2.2. Terpenler.....	6
2.3. Alkaloidler.....	6
2.4. Fenolik Bileşikler.....	7
2.4.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	8
2.4.2. Fenolik bileşiklerin biyolojik özellikleri.....	14
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	15
2.6. Antioksidan Test Yöntemleri	18
2.6.1. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT).....	18
2.6.2. Elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET).....	19
2.7. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	25
3.1.2. Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler.....	25
3.1.3. Kullanılan alet ve cihazlar.....	28
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH*).....	28
3.2.2. İndirgeme gücü aktivitesi (FRAP).....	29
3.2.3. Katyon radikali giderme aktivitesi (ABTS ^{•+}).....	29

3.2.4. Cu ²⁺ iyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC).....	30
3.2.5. Metal şelatlama aktivitesi.....	30
3.2.6. İstatistiki analiz.....	31
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	32
4.1. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi.....	32
4.2. İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP).....	34
4.3. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS).....	36
4.4. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	38
4.5. Cu ²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC).....	40
5. SONUÇ.....	43
6. KAYNAKLAR.....	45
7. ÖZGEÇMİŞ.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolar
nm	Nanometre
µM	Mikromolar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyozolin-6-sülfonik asit)
ABTS ⁺	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyozolin-6-sülfonik asit) radikali
BHT	Bütillenmişhidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
CUPRAC	Cu ²⁺ iyonu indirgeme kapasitesi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	1,1-Difenil 2-pikril hidrazi
DPPH [·]	1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FCR	Folin ciocalteu reaktivitesi
FRAP	Ferrik indirgeyici antioksidan potansiyeli
HAT	Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar
UV	Ultraviyole ışınları
SET	Elektron transferine dayanan reaksiyonlar
TAC	Toplam antioksidan aktivitesi
TEAC	Troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi
TE	Troloks eşdeğer
Troloks	6-Hidroksi-2,5,7,8-tetramethilkroman-2-karboksilik asit

ŞEKİL LİSTESİ

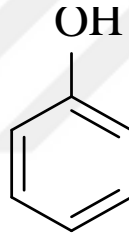
<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Fenol'ün yapısı.....	1
Şekil 2.1.	Yaygın olarak karşılaşılan alkaloid sınıfları, yapısı ve biyosentetik öncülleri.....	7
Şekil 2.2.	Bazı basit fenoller.....	9
Şekil 2.3.	Resveratrolun kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.4	Flavanoidlerin genel yapısı.....	12
Şekil 2.5.	Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)	18
Şekil 4.1.	FRAP indirgeme gücü aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	36
Şekil 4.2.	CUPRAC aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	42

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1.	Bazı değerli sekonder metabolitlerin kullanım alanları, kullanıldığı sektörler ve elde edildiği bitkiler.....	5
Çizelge 2.2.	Terpenlerin alt grupları.....	6
Çizelge 2.3.	Fenolik bileşiklerin karbon sayısına göre sınıflandırılması.....	8
Çizelge 2.4.	Bazı fenolik asit türevleri.....	10
Çizelge 2.5.	Flavonoidlerin kimyasal yapıları.....	13
Çizelge 2.6.	Reaktif oksijen türleri.....	16
Çizelge 2.7.	Reaktif azot türleri.....	16
Çizelge 2.8.	Antioksidanların sınıflandırılması.....	17
Çizelge 2.9.	Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin TAC değerleri mirisetin-3- <i>o</i> -glukozit eşdeğer olarak.....	20
Çizelge 2.10.	Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin ABTS radikal giderme aktiviteleri.....	21
Çizelge 2.11	Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin ABTS ve DPPH radikalleri giderme aktiviteleri.....	21
Çizelge 2.12.	Bazı antioksidan maddeler ve doğal kaynakları.....	22
Çizelge 2.13	Bazı fenolik ve standart antioksidan bileşiklerin ABTS, FRAP ve DPPH radikalleri giderme aktiviteleri.....	23
Çizelge 3.1.	Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler...	26
Çizelge 4.1.	Fenolik ve standart bileşiklerin DPPH radikal giderme aktiviteleri.....	33
Çizelge 4.2.	Fenolik ve standart bileşiklerin FRAP indirgeme gücü aktiviteleri.....	35
Çizelge 4.3.	Fenolik ve standart bileşiklerin ABTS radikal giderme aktiviteleri	37
Çizelge 4.4.	Fenolik ve standart bileşiklerin metal şelatlama aktiviteleri	39
Çizelge 4.5.	Fenolik bileşiklerin Cu ²⁺ iyonu indirgeme aktiviteleri	41

1. GİRİŞ

Bitkiler sekonder metabolit olarak adlandırılan ve bitkileri biyotik veya abiyotik strese karşı savunmanın yanında birçok fizyolojik olayın gerçekleşmesinde rol alan çok çeşitli organik bileşikler üretmektedirler. Bu bileşiklerin bitkilerdeki fonksiyonlarının yanında ilaç, kozmetik, ziraat ve gıda gibi birçok sektörde kullanılabilmelerinden dolayı büyük önem arz etmektedir. Bu bileşiklerin önemli bir bölümünü oluşturan fenolik bileşiklerin biyolojik fonksiyonları ve antioksidan aktivitelerinden dolayı bitkilerden yoğun şekilde saflaştırılmış ve yapıları aydınlatılmıştır. Fenolik bileşikler aromatik halkaya sahip olan ve yapısında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir (Vermerris ve Nicholson, 2006). Fenolik bileşiklerin en basit üyesi olan ve bir tane hidroksil (–OH) grubu içeren fenolün yapısı Şekil 1.1’de verilmiştir (Vermerris ve Nicholson, 2006).



Şekil 1.1. Fenol’ün yapısı (Vermerris ve Nicholson, 2006)

Bu zamana kadar yaklaşık 8000 fenolik bileşik tanımlanmış ve bu bileşiklerin 2000’den fazlası fenolik bileşiklerin bir grubu olan flavonoidlerden oluşmaktadır. Bu bileşikler bitkilerin yaprak, meyve veya çiçek gibi canlı kısımlarında glikozitler halinde, odunsu kısımlarında aglikonlar halinde, çekirdeklerinde ise her iki halde de bulunabilmektedirler (Shahidi ve Naczki, 1995).

Meyve, sebze ve tıbbi bitkilerde bulunan doğal fenolik bileşiklerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu bir çok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Heim ve ark., 2002). Bu nedenle fenolik bileşikler ilgi odağı haline gelmiştir (Balasundaram ve ark., 2006). Fenolik bileşiklerin güçlü antioksidan aktivitelerinin yanında, anti-enflamatuar, anti-trombotik, anti-aterojenik, kardiyoprotektif ve vasodilatör gibi önemli biyolojik aktivitelere de sahip olduğu bilinmektedir (Quiñones ve ark., 2013). Ayrıca fenolik

bileşiklerin gram negatif ve gram pozitif bakterilerin inhibisyonunda önemli etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Davidson ve ark. 2005).

Serbest radikallerin kanser, diyabet, kardiyovasküler, otoimmün, nörodejeneratif, alzheimer, parkinson gibi bir çok hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Gengaihi ve ark., 2014; Giasson ve ark., 2002; Kawasaki ve ark. 2008). Antioksidan maddeler, serbest radikallerin hücrenin lipit, protein, enzim, karbonhidrat ve DNA'sına zarar vermeden önce nötralize ederek olumsuz etkilerini son derece azaltan ajanlar olarak bilinmektedirler (Fang ve ark., 2002). Bu etkilerini gösterirken serbest radikallerin reaksiyonlarını durdurmak, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyonun sebep olduğu zararları engellemek yoluyla göstermektedirler (Kolaç ve ark., 2017).

Günümüzde gıda endüstrisinde ürünleri korumak ve depolanma ömürlerini uzatmak için genellikle BHT, BHA ve Trolox gibi sentetik antioksidanlar tercih edilmektedir. Fakat, sentetik antioksidanların olası toksisite risklerine karşı, son dönemde doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır (Vareltzis ve ark., 1997). Bu bağlamda bitkilerde bulunan birçok madde test edilmiş ve gıdalarda antioksidan olarak kullanılabileceği ifade edilmiş; hatta bazı doğal maddelerin antioksidan aktivitelerinin sentetik antioksidanlardan daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca doğal antioksidan kaynaklarının en önemlilerinin; meyve, sebze, çay, tohum ve baharatlarda yer aldığı da ifade edilmiştir (Hall III, 2001).

Serbest radikallerin oluşmasını engelleyen ya da oluşmuş radikalleri etkisizleştiren biyoaktif maddeler olarak ifade edilen antioksidanlar oksijen ile bozulabilecek ürünlere ilave edilerek bunların bozulmasını geciktirmekte ya da engellenmektedir. Bu amaçla sentetik antioksidanlar gıdaların raf ömrünü uzatmak ve korumak için yoğun şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca tıp, eczacılık ve kozmetik gibi diğer birçok sektörde kullanımı bulunmaktadır. Ancak birçok araştırmacı sentetik antioksidanların insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu ifade etmektedir. Bu nedenlerden dolayı gıda ve diğer birçok sektörde kullanılabilecek doğal antioksidan bileşiklerin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada bitkilerde yaygın olarak bulunan 18 fenolik bileşiğin antioksidan kapasitesini belirleyerek üç standart antioksidan bileşikle kıyaslanması amaçlanmıştır. Bu bağlamda fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri 5 farklı yöntemle

göre analiz edilerek sonuçlar BHT, BHA ve Troloks gibi standart antioksidan bileşiklerle karşılaştırılmıştır. Bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH[•]), Katyon radikal giderme aktivitesi (ABTS^{•+}), İndirgeme gücü aktivitesi (FRAP), Metal şelatlama aktivitesi ve Cu²⁺ İyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemleri kullanılmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Sekonder Metabolitler

Sekonder metabolitler temel büyüme ve gelişim için gereksinim duyulmayan fakat bitkilerin biyotik ve abiyotik strese karşı korunmasında ve çevreye uyumlarında rol oynayan düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir (Nascimento ve Fett-Neto, 2010). Farklı bir tanımlamada ise bazı bitkilerde yüksek miktarlarda biriken bitki kimyasalları olarak isimlendirilmektedir. Bir çok sekonder metabolit bitkiler aleminde belli bir taksonomik sınıfa (tür, cins, aile) spesifik olan ve biyosentezleri genellikle primer metabolitlerden başlayan bileşiklerdir (Ramawat ve Merillon2007). Bu bileşikler bitkileri kuraklık, tuzluluk ve zararlı güneş ışınları gibi abiyotik kaynaklı streslere herbivorlar ve mikroorganizmalar gibi biyotik streslere karşı korumada görev almaktadırlar (Bourgaud ve ark., 2001; Sökmen ve Gürel, 2001; Karataş, 2013).

Sekonder metabolitlerin bahsedilen görevlerinin yanında endüstride de kullanım alanı yaygındır. Bu bileşikler genellikle ilaçlarda hammadde olarak, besinlerin bozulmasını önlemede koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetik ve zirai mücadelede de bir çok amaca yönelik kullanımı bulunmaktadır (Bourgaud ve ark., 2001; Sökmen ve Gürel, 2001). Dünya Sağlık Örgütü tarafından kabul gören 252 ilacın %11'nin bitki kaynaklı olduğu ve gelişmiş ülkelerde reçete edilen ilaçların dörtte birinin bitkisel kökenli olduğu ifade edilmiştir (Namdeo, 2007). Bazı önemli sekonder metabolitlerin kullanım alanları ve kaynak bitkileri Çizelge 2.1'de verilmiştir (Sökmen ve Gürel, 2001; Ramachandra ve ark., 2002; Karataş 2013).

Çizelge 2.1. Bazı değerli sekonder metabolitlerin kullanım alanları, kullanıldığı sektörler ve elde edildiği bitkiler (Sökmen ve Gürel, 2001; Ramachandra ve ark., 2002; Karataş 2013)

Sektör	Sekonder Metabolit	Kullanım Alanı	Elde Edildiği Bitki
İlaç	Ajmasilin	Antihipertansif	<i>Catharanthus roseus</i>
	Atropin	Antikolinerjik	<i>Atropa belladonna</i>
	Efedrin	Bronş açıcı	<i>Ephedra sinica</i>
	Kamptotesin	Antitümoral	<i>Camptotheca acuminata</i>
	Kapsaisin	Tahriş önleyici	<i>Capsicum frutescens</i>
	Kodein	Analjezik	<i>Papaver somniferum</i>
	Kolşisin	Antitümoral	<i>Colchicum autumnale</i>
	Digoksin	Kardiatonik	<i>Digitalis lanata</i>
	Elliptisin	Antitümoral	<i>Ochrosia elliptica</i>
	Emetin	Amipli dizanteri	<i>Cephaelis spp.</i>
	Morfin	Yatıştırıcı	<i>Papaver somniferum</i>
	Taksol	Antikanser	<i>Taxus brevifolia</i>
	Vinkristin	Antilösemik	<i>Catharanthus roseus</i>
	Kinin	Sıtma tedavisi	<i>Cinchona ledgerana</i>
Gıda	Antosiyanin	Renklendirici	<i>Vitis vinifera</i>
	Betalain	Renklendirici	<i>Beta vulgaris</i>
	Likopen	Renklendirici	<i>Lycopersicum esculentum</i>
	Kinin	Acılaştırıcı	<i>Cinchona ledgeriana</i>
	Vanilin	Koku verici	<i>Vanilla planifolia</i>
	Taumatın	Tatlandırıcı	<i>Thaumatococcus danielli</i>
	Krosetin	Renklendirici	<i>Crocus sativa</i>
	Glisirrizin	Tatlandırıcı	<i>Glycyrrhiza glabra</i>
	Humulon	Acı ve koku verici	<i>Humulus lupulus</i>
Parfüm ve Kozmetik	Yasemin yağı	Parfüm	<i>Jasminum spp.</i>
	Gül yağı	Parfüm	<i>Rosa damascena</i>
	Lavanta yağı	Parfüm ve kozmetik	<i>Lavandula officinalis</i>
Ziraat	Piretrin	İnsektisit	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>
	Yasmolin	İnsektisit	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>
	Nikotin	İnsektisit	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>
	Anakardik asit	Molluskusit	<i>Nicotiana tabacum</i>
			<i>Anacardicum occidentale</i>

Sekonder metabolitler farklı parametrelere göre değişik şekillerde sınıflandırılmaktadır. En yaygın sınıflandırmaya göre sekonder metabolitler terpenler, alkaloidler ve fenolik bileşikler olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır.

2.2. Terpenler

Terpenler ya da terpenoitler sekonder metabolitlerin en büyük grubunu oluşturmaktadırlar. Tüm terpenler beş karbonlu bir hidrokrabon olan izopren birimlerinden (2-metil-1,3-bütadien, C₅H₈) oluşan bileşiklerdir. Bu bileşikler bitkilerde gerçekleşen birçok fizyolojik olayda rol almaktadır. Dormanside rol alan absisik asit (ABA) hormonu bir terpen (seskiterpen) grubu bileşiktir. Bununla birlikte terpenler birçok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır. En yaygın kullanılanlar arasında; timol karvakrol, limonen, α -pinen, citral ve geraniol önemli bir yer tutmaktadır. Terpenlerin izopren ünitesi ve karbon sayına göre alt grupları Çizelge 2.2’de verilmiştir (Karahana, 2007; Karataş, 2013; Yaylı, 2013).


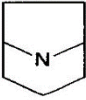

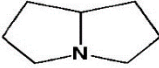
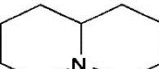
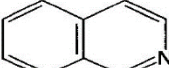
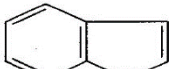
Çizelge 2.2. Terpenlerin alt grupları (Karahana, 2007; Yaylı, 2013)

Sınıfı	İzopren Ünitesi	Karbon Sayısı	Kapalı Formül
Hemiterpenler	1	5	C ₅ H ₈
Monoterpenler	2	10	C ₁₀ H ₁₆
Seskiterpenler	3	15	C ₁₅ H ₂₄
Diterpenler	4	20	C ₂₀ H ₃₂
Sesterpenler	5	25	C ₂₅ H ₄₀
Triterpenler	6	30	C ₃₀ H ₄₈
Tetraterpenler	8	40	C ₄₀ H ₆₄
Politerpenler	n	5n	(C ₅ H ₈) _n

2.3. Alkaloidler

Alkaloidler aminoasitlerden sentezlenen ve hetero halkalı yapılarında en az bir tane azot (N) atomu içeren birçoğu hayvan ve mikroorganizmalara karşı savunmada görev alan sekonder metabolitlerin bir alt grubudur (Ayaz ve Sökmen,2015). Bu bileşiklerin çoğunun toksik özelliğinden dolayı predatörlere karşı savunma oluşturabileceği de bildirilmiştir (Mazid ve ark., 2011). Alkaloidler bitkilerin yaklaşık %20’sinde bulunduğu ve şüana kadar 15 000 den fazla azotlu sekonder metabolitin belirlendiği ifade edilmiştir. Büyük çoğunluğu bazik karakterli olan bu bileşiklerin sentezinde bir kaç amino asit öncülük etmektedir. Bu amino asitler arasında lizin, tirozin ve triptofan önemli bir yer

oluşturmaktadır (Türkan, 2008). Yaygın olarak karşılaşılan alkaloid sınıfları, yapısı ve biyosentetik öncülleri Şekil 2.1’de verilmiştir.

Alkaloid sınıfı	Yapısı	Biyosentetik öncül	Örnekler
Pirolidin		Ornitin (aspartat)	Nikotin
Tropan		Ornitin	Atropin Kokain
Piperidin		Lizin (ya da asetat)	Koniin
Pirolizidin		Ornitin	Retrorsin
Kinolizidin		Lizin	Lupinin
İzokinolin		Tirozin	Kodein Morfin
İndol		Triptofan	Psilosibin Rezerpin

Şekil 2.1. Yaygın olarak karşılaşılan alkaloid sınıfları, yapısı ve biyosentetik öncülleri (Türkan, 2008).

2.4. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler doğrudan bir aromatik halkaya bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerde çok sayıda farklı fenolik bileşiğin sentezlendiği ve bunların bir kısmı sadece organik çözücülerde çözünürken bir kısmı da suda çözünmektedir. Son bir kısmı ise çözünmez büyük polimerlerden oluşmaktadır. Bitkisel fenolik bileşikler farklı biyosentez yollarıyla üretildiklerinden oldukça heterojen bir metabolit grubu oluşturmaktadır. Bunların sentezinde şikimik asit ve malonik asit olmak üzere iki temel metabolik yol bulunmaktadır. Şikimik asit yolu bitkisel fenoliklerin üretiminde daha aktifken malonik asit yolu bakteri ve funguslarda daha aktiftir. Malonik asit yolu yüksek bitkilerde fenoliklerin üretimi açısından çok fazla önem taşımamaktadır (Türkan, 2008). Fenolik bileşikler fenilalanin amino asidinden ve

bazı bitki türlerinde ise fenilalanin ve tirozin amino asidinden sentezlenmektedir (Ayaz ve Sökmen,2015).

2.4.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

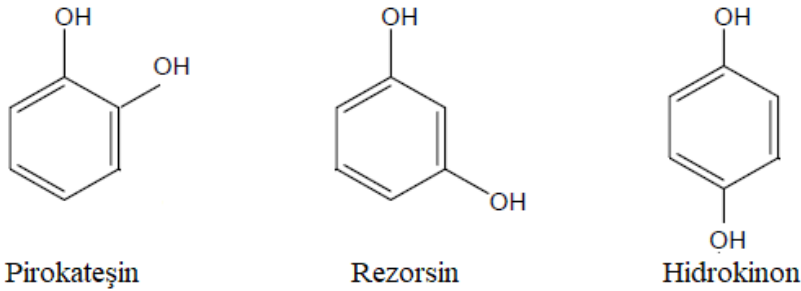
Fenolik bileşikler aromatik halkaya bağlanmış karbon sayısına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Bu bileşikler basit fenoller (C_6), fenolik asitler (C_6-C_1), fenolik alkoller, asetofenonlar ve fenil asetik asitler (C_6-C_2), fenil-propanlar (C_6-C_3), naftakinonlar (C_6-C_4), benzofenonlar ve ksantinler ($C_6-C_1-C_6$), stilben ve antrokinonlar ($C_6-C_2-C_6$), flavonoidler ve izoflavonoidler ($C_6-C_3-C_6$) ve polimer fenolik bileşikler (tanenler, lignin ve melanin) olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır (Vermerris ve Nicholson, 2006; Mammadov, 2014). Fenolik bileşiklerin karbon sayısına göre sınıflandırılması Çizelge 2.3.'de verilmiştir (Saxena ve ark., 2013; Güzel 2016).

Çizelge 2.3. Fenolik bileşiklerin karbon sayısına göre sınıflandırılması (Saxena ve ark., 2013; Güzel 2016).

Karbon sayısı	Temel iskelet	Sınıflandırma	Örnek
6	C_6	Basit fenoller Benzokinonlar	Resorsinol Ubikinon
7	C_6-C_1	Fenolik asitler	Gallik Asit
8	C_6-C_2	Asetofenonlar Fenil asetik asitler	2-hidroksiasetofenon 2-hidroksifenil asetik asit
9	C_6-C_3	Hidroksisinnamik asitler Kumarinler	Kafeik asit Bergenin
12	C_6-C_4	Naftakinonlar	Juglon
13	$C_6-C_1-C_6$	Ksantonlar	Ksanton
14	$C_6-C_2-C_6$	Stilbenzenler Antrokinonlar	Resveratrol Emodin
15	$C_6-C_3-C_6$	Flavonoidler	Naringenin
18	$(C_6-C_3)_2$	Lignanlar	Sesamin
30	$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonoidler	Ginkgetin
n	$(C_6-C_3)_n$	Ligninler	Lignin
n	$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanninler	Korilagin

Basit fenoller

Basit fenoller, en az bir aromatik halkaya sahip, bir veya daha çok sayıda hidroksil grubu bulunan, organik ve kristal yapıda maddelerdir. Renksiz olan basit fenoller hava ile temaslarında kırmızı renk verirler. Pirokateşin, rezorsin ve hidrokinon basit fenol grubunun en iyi bilenen örneklerindedir. Bazı basit fenoller Şekil 2.2’de verilmiştir (Mammadov, 2014).



Şekil 2.2. Bazı basit fenoller (Mammadov, 2014).

Fenolik asitler

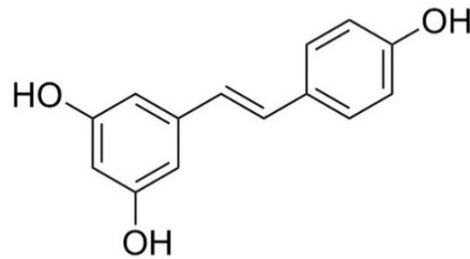
Fenolik asitler temel olarak, hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit türevlerinden oluşmaktadır. Hidroksibenzoik asitler; C_6-C_1 fenilmetan yapısına sahip renksiz bileşiklerdir. Hidroksisinnamik asit türevleri ise, C_6-C_3 fenilpropan yapısında bileşikler olup fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik göstermektedirler (Gülçin, 2012a). Fenolik asitler canlı dokularında genellikle serbest halde bulunmazlar ancak bitkilerin işlenmesinde hidrolize şekilde ortaya çıkmaktadırlar. Fenolik asitler bitkilerde bulunan doğal antioksidan aktivite gösteren bileşikler olup yapılarında bir veya daha fazla hidroksil grubu içermektedirler (Çetinkaya, 2013). Bazı fenolik asit türevleri Çizelge 2.4’ de verilmiştir (Gülçin, 2012a).

Çizelge 2.4. Bazı fenolik asit türevleri (Gülçin, 2012a)

Benzoik asit türevleri				Hidroksisinnamik asit türevleri			
Asit	R ₁	R ₂	R ₃	Asit	R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -kumarik	H	OH	H
Protokateşik asit	H	OH	OH	Kafeik	H	OH	OH
Vanilik	CH ₃ O	OH	H	Ferulik	CH ₃ O	OH	H
Siringik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinaptik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik	OH	OH	OH	Sinnamik asit	H	H	H

Stilbenler

Stilbenler iki karbon atomu köprüsü ile birbirine bağlanmış iki aromatik halkadan oluşmuş fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler genellikle çam, ladin, okaliptüs gibi ağaç türlerinin odunsu kısımlarında bulunmakta olup en önemli türevi resveratrol'dur (Göçmez ve Seferoğlu, 2014; Mammadov, 2014; Gülcü; 2016;). Resveratrolün; karaciğerden lipoprotein üretimi, lipid sekresyonunu baskılayıcı ve kan yağlarını düşürücü, ayrıca anti-aterojenik (damar sertliğini önleyici) etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (Xie ve ark., 2013). Resveratrol'un kimyasal yapısı Şekil 2.3.'de verilmiştir.



Şekil 2.3. Resveratrol'un kimyasal yapısı (Alkan, 2007)

Polimer fenolik bileşenler

En önemli bileşenleri; tanenler, lignin ve melanindir.

Tanenler; Tanenler kestane, meşe, meşe palamudu, sumak gibi bitkilerde yüksek miktarda bulunan ve molekül ağırlıkları 20 000 daltona kadar ulaşabilen polifenolik bileşiklerdir. Bunlar kabuk, kök, yaprak, meyve ve tohum gibi hemen hemen bitkilerin tüm kısımlarında bulunabilmektedir. Tanenler açık sarıdan beyaza, parlaktan mata kadar değişen görsel özellikler sergileyen gevşek yapılı buruk tatta bileşiklerdir. Tanenler; ellagitanenler, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler olmak üzere dört alt gruba ayrılmaktadır (Aydın ve Üstün, 2007; Ergezer ve Çam, 2008). Ayrıca tanenler dericilik, boyacılık, hayvan yemlerinde, ahşap ve döşemelerde kullanılmaktadır (Ünver ve ark., 2014).

Lignin; Bitkilerin hücre çeperinde selülozla birlikte bitkinin odunsu yapısına dayanıklılık sağlamaktadır. Lignin polimer yapısı kompleks yapıda olup molekül ağırlığı 10.000 daltonu bulmaktadır (Kolankaya ve ark., 1988; Mammadov; 2014).

Melanin: Bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan ve renk pigmentasyonundan sorumlu saçlar, beynin bazı bölgeleri, deri ve melanik urlarda bulunan polifenolik koyu renkli bileşiklerdir (d'Ischia ve ark., 2014).

Kinonlar

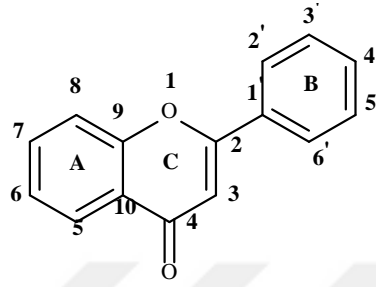
Fenollerin oksidasyonu sonucunda oluşmaktadırlar. Kinonlar; yapısal çeşitliliği büyük olan renk pigmentleridir. En önemli türevleri; benzokinon, naptokinon ve antrakinonlardır (Deveoğlu ve Karadağ, 2011).

Flavanoidler

Bu bileşikler sarı renkli olmaları nedeniyle latince 'sarı' anlamına gelen 'flavus' sözcüğünden türetilerek 'flavonoid' olarak adlandırılmaktadır. Flavanoidler, kimyasal olarak 15 karbonlu 2-fenil benzopiron (difenil propan) yapısına sahip bileşiklerdir (Kahraman ve ark., 2002).

Flavanoidler, tipik olarak üç karbon zinciri ($C_6 - C_3 - C_6$) ile birleştirilen iki aromatik halkası bulunan polifenolik bileşikler olarak tanımlanmıştır. Büyük ölçüde heterosiklik oksidasyon derecesine bağlı olarak flavanoidler farklı alt gruplara ayrılmaktadırlar.

Hidroksil gruplarının sayısı ve konumu flavonoid çeşitlerini belirlemektedir. Bunlardan bazıları; flavonoller, flavanoller, flavanonlar, flavonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler ve glikozitlerinden oluşmaktadır (Vicente ve Boscaiu, 2018). Genel bir flavanoid iskeletinin yapısı Şekil 2.4' de verilmiştir (Prasain ve ark., 2004).

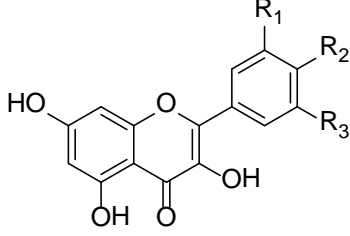
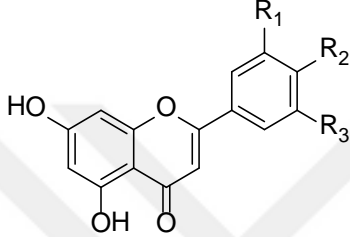
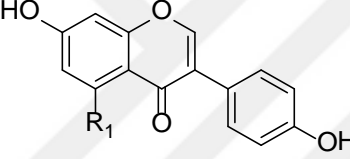
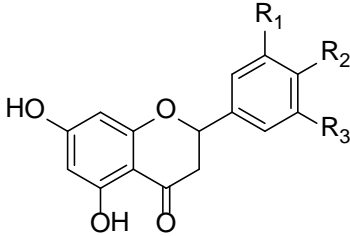
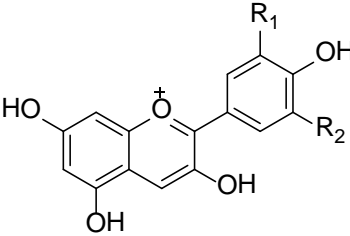


Şekil 2.4. Flavonoidlerin genel yapısı (Prasain ve ark., 2004).

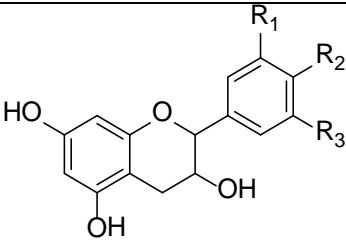
Flavonoidler meyve ve sebzelerde, birçok bitkinin yaprak, dal, gövde ve çiçeklerinde bulunmaktadır. Bu bileşikler buldukları meyve ve sebzelerin parlak renklerini sağlamanın yanı sıra, bitkilerin büyümesini düzenlemeye, zararlılara karşı korumaya, bulaşıcı ajanları inhibe etmelerine ve bitki hücrelerinin iletişimine yardımcı olmaktadır. Flavonoidler ayrıca meyve ve sebzelerin tadını ve kokusunu etkilemektedirler. Flavonoidler bitkilerin böcek, mikrop gibi zararlılara karşı korunmasında yardımcı olan bileşiklerdir (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Yüksek miktarda flavonoidleri içeren bitkilerin tüketimi bağışıklık sistemini destekler ve vücudun iltihaplanmalara karşı direnç göstermesini sağlamaktadır. Ayrıca kanserle, kalp ve sinir sistemi bozuklukları gibi diğer hastalıklarla mücadelede önemli rol oynamaktadırlar (Lobo ve ark., 2010). Flavonoidlerin kimyasal yapıları Çizelge 2.5' de verilmiştir (Manach ve ark., 2004).

Çizelge 2.5. Flavanoidlerin kimyasal yapıları (Manach ve ark., 2004)

Flavanoidler		R ₁	R ₂	R ₃
 <p>Flavonoller</p>	<p>Kaemferol</p> <p>Kuarsetin</p> <p>Mirsetin</p>	H	OH	H
 <p>Flavonlar</p>	<p>Apigenin</p> <p>Luteolin</p>	H	OH	H
 <p>İzoflavonlar</p>	<p>Daidzenin</p> <p>Genistein</p>	H		
 <p>Flavononlar</p>	<p>Naringenin</p> <p>Eriodiktol</p> <p>Hesperetin</p>	H	OH	
 <p>Antosiyanidinler</p>	<p>Pelargonidin</p> <p>Siyanidin</p> <p>Delpinidin</p> <p>Petunidin</p> <p>Malvidin</p>	H	H	

Çizelge 2.5. (Devamı) Flavonoidlerin kimyasal yapıları (Manach ve ark., 2004)

 <p>Flavononol</p>	Kateşin	OH	OH	H
	Gallokateşin	OH	OH	OH

Flavonoidler, oksidasyon sonucu oluşan serbest radikalleri zayıflatma, radikal oluşturabilecek aktif metalleri şelatlama, lipid peroksidasyonunu önleme gibi özelliklere de sahiptirler. Oksidasyon, oksijen kullanılarak yürüyen bir reaksiyondur ve vücudun doğal işlevinin bir parçasıdır. Bununla birlikte, bu reaksiyon ayrıca hücrelere zarar verebilecek serbest radikaller olarak bilinen maddeleri de üretilmektedir. Serbest radikallerin insan vücudundaki yüksek miktarı oksidatif strese ve vücutta hasara yol açmaktadır. Flavonoidlerin bu radikalleri süpürme özellikleri, flavonoidin çekirdeğine bağlanan hidroksil gruplarının sayısı ve konumuyla ilişkili ve aktivitesini de önemli ölçüde etkilemektedir (Heim ve ark., 2002).

2.4.2. Fenolik bileşiklerin biyolojik özellikleri

Fenolik bileşikler bitkinin hemen hemen her bölgesinde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Meyve ve sebzelerde, tahıllarda ve birçok bitkinin köklerinde, kabuğunda, gövdelerinde ve çiçeklerinde buldukları gibi onları böcek, küf, mantar ve mikroorganizmalara karşı korurlar. Fenolik bileşikler; ilaç, kağıt, plastik, boya, farmasötik, patlayıcı madde, pestisit, antioksidanların üretimi ve ilaç gibi allanlarda da kullanılmaktadır (Yıldız ve Baysal, 2003).

Fenolik bileşiklerin en önemli özelliği olan güçlü antioksidan etkiye sahip olmalarıyla, vücuttaki oksidasyon veya lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin oluşturduğu hasarları düzeltebilmektedirler. Radikal kaynaklı strese bağlı kardiyolojik hastalıklar, bazı kanser türleri gibi hastalıkları önlemek ya da hastalıklarla mücadele etmede yardımcı olmaktadır (Ness ve Powles, 1997).

Fenolik bileşikler bitkilerde bir çok kimyasal, fizyolojik ve ekolojik olayda fonksiyon göstermektedir. Bunlar aşağıdaki gibi özetlenebilir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Mammadov, 2014; Seçkin 2014; Ayaz ve Sökmen, 2015);

1. Oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında aktif görev alırlar.
2. Fotosentez ve solunum olaylarında (plastokinon ve ubikinon) görev alırlar.
3. Olumsuz iklim koşullarına karşı bitkilerin dayanıklılığını artırır.
4. Bitkinin hücre duvarına (lignin) dayanıklılık sağlamaktadırlar.
5. Antibakteriyel ve antifungal aktivitelerde görev alırlar.
6. Bitki hücrelerini patojenik mantarlara karşı korumasına yardımcı olurlar.
7. Epidermal hücrelerde UV ışınlarını emerek hücre zarını radyasyona karşı korurlar.
8. Ekolojik fonksiyonları bulunmaktadır (tozlaşma, tohumun dağılımı).

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron bulunan moleküllerdir. Eşleştirilmemiş elektronların varlığı serbest radikallere yüksek reaktivite ve oksitleyici potansiyel kazandırmaktadır. Biyolojik sistemlerdeki en çok rastlanan serbest radikal, eşleşmemiş elektronun bir oksijen atomuna ait olduğu moleküllerdir. Reaktif oksijen türleri olarak bilinirler ve süperoksit anyon radikalini oluşturan mitokondriyal solunum sırasında türetilmişlerdir. Süperoksit, süperoksit dismutaz enzimi tarafından bir reaksiyonda hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürmektedir. Hidrojen peroksit katalaz enzimi ile suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir; bununla birlikte, fazla miktarda üretildiğinde veya enzimatik detoksifikasyon mekanizmaları yetersiz olduğunda, hidrojen peroksit demir ve bakır gibi geçiş metalleri varlığında hidroksil radikale dönüşebilmektedir. Hidroksil radikali, reaktif oksijen türlerinin en zararlısıdır. Reaktif oksijen türlerine ek olarak, hücrede bulunan bir diğer önemli radikal sentezlenen nitrik oksittir. Nitrik oksit temel fizyolojik fonksiyonları yerine getirir, ancak aynı zamanda bir oksidan görevi de görebilmektedir (Phaniendra ve ark., 2015). Reaktif oksijen ve azot türleri Çizelge 2.6 ve Çizelge 2.7’de verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türleri (Karabulut ve Gülay, 2016)

Reaktif Oksijen Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^{\cdot}	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	ROO^{\cdot}	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	RO^{\cdot}	Ozon	O_3
Hidroperoksil	HO_2^{\cdot}	Singlet oksijen	1O_2
Lipid peroksil	LOO^{\cdot}		

Çizelge 2.7. Reaktif azot türleri (Karabulut ve Gülay, 2016)

Reaktif Azot Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Nitrik oksit	NO^{\cdot}	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	NO_2^{\cdot}	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

Serbest radikaller, vücudun onları düzenleme yeteneğini bastırırsa, oksidatif stres olarak bilinen bir durum ortaya çıkmaktadır. Bu durumda serbest radikaller, lipidleri, proteinleri ve DNA'yı kötü yönde etkileyerek insanlarda birçok hastalığı tetiklemektedirler. Lipitler serbest radikallere eğilimlidir ve vücutta olumsuz değişikliklere yol açabilecek lipid peroksidasyonu meydana gelebilmektedir. Bu nedenle, dışardan alınan antioksidanlar bu oksidatif stresi önlemede yardımcı olabilmektedir (Lobo ve ark., 2010).

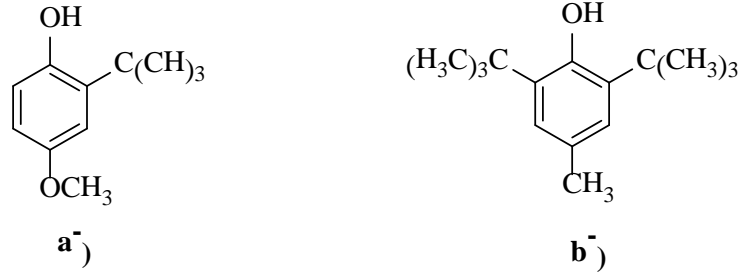
İnsanlarda serbest radikallere bağılı oluşan oksidatif stres; parkinson, romatoid artrit, kroner kalp hastalıkları, diabet, alzheimer ve kanser gibi ciddi sağıık sorunlarına neden olduğu bildirilmektedir. Aynı şekilde serbest radikallerin birikmesi hücre membranında hasar oluşturabileceği için yaşlanmanın sebebi olarak da görölmektedir (Görüş, 2016; Akkuş, 1995; Tietz, 1995).

Serbest radikaller (örneğin, süperoksit, nitrik oksit ve hidroksil radikalleri) ve diğer reaktif türler (örneğin, hidrojen peroksit, peroksinit ve hipoklorik asit) vücutta, aerobik metabolizma sonucunda üretilmektedir. Antioksidanlar (örneğin, glutatyon, arginin, sitrölin, taurin, kreatin, selenyum, çinko, E vitamini, C vitamini, A vitamini ve çay polifenolleri) ve antioksidan enzimler (örneğin, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz) serbest radikalleri temizlemektedirler (Fang ve ark., 2002). Antioksidanların sınıflandırılması Çizelge 2.8’de verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Çizelge 2.8. Antioksidanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay, 2016)

ANTIÖKSİDANLAR			
Doğal Antioksidanlar		Yapay Antioksidanlar	
Enzimatik	Enzimatik Olmayan		
	Endojen	Eksojen	
Süperoksit dismutaz	Glutation	Vitamin E	
Katalaz	Seruloplazmin	Vitamin A	BHT
Glutatyon peroksidaz	Bilirubin	Vitamin C	BHA
Glutatyon S transferaz	Ferritin	Flavoneller	Troloks
Sitokrom oksidaz	Laktoferrin	Polifenoller	
	Ürik asit		
	Haptoglobinler		

Günümüzde antioksidanların gıda sanayinde kullanımı oldukça yaygındır. Antioksidanlar gıdaları bozulmaya karşı koruyarak bozulmalarını engeller ve daha uzun süreli muhafaza edilmesini sağırlar. Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (Şekil 2.5. a) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) (Şekil 2.5. b) bu amaçla kullanılan sentetik antioksidan bileşiklerdir. Fakat günümüzde bu sentetik antioksidanlardan ziyade daha ucuz ve güvenilir antioksidanların eldesi için doğal ürünler üzerine yoğun çalışmalar yürütölmektedir (Fang ve ark., 2002).



Şekil 2.5. a. Bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT), b. Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)

2.6. Antioksidan Test Yöntemleri

Antioksidan aktivite belirleme analizleri reaksiyon mekanizmalarına göre Hidrojen atomu transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve Tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET) olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmaktadır (Huang ve ark., 2005; Prior ve ark., 2005, Gülçin, 2012a).

2.6.1. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT)

HAT mekanizmasına dayanan tayinlerin çoğu yarışmalı reaksiyon kinetiğine dayanmaktadır. Bu metod genellikle sentetik bir radikal üretici, yükseltgenabilir moleküler probdan ve bir antioksidan bileşikten oluşmaktadır. HAT temelli metotlarda peroksil radikali (ROO[•]) üretmek üzere bir radikal başlatıcı kullanılmaktadır. Eklenen antioksidan bileşik radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. Sonuç olarak ROO[•] ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir (Huang ve ark., 2005).

Bu prensibe göre çalışan bazı antioksidan aktivite analiz metotları aşağıda verilmiştir (Gülçin, 2012a).

1. Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC)
2. Toplam radikal tutucu antioksidan parametresi (TRAP)
3. Uyarılmış LDL oksidasyonunun inhibisyonu
4. Toplam oksiradikal temizleme kapasitesi deneyi (TOSCA)
5. Krosin ağartma deneyleri
6. Chemiluminescent deneyi

2.6.2. Elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET)

Elektron transferine dayanan metotlar; bir reaksiyon karışımında antioksidan ve oksidan olmak üzere iki bileşen içermektedir. Oksidan antioksidandan bir elektron alır ve bu oksidanda renk değişimine sebep olur. Renk değişiminin derecesi ise, antioksidan derişimiyle orantılıdır (Gülçin, 2012; Huang ve ark., 2005). Bu prensibe göre çalışan bazı antioksidan aktivite analiz metotları aşağıda verilmiştir (Gülçin, 2012a).

Oksidan + e⁻ (antioksidan) → indirgenmiş oksidan + yükseltgenmiş antioksidan

1. Folin-Ciocalteu reaktif ile toplam fenolik testi
2. Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC)
3. Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP)
4. 2,2-Dipenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) giderme katvitesi
5. 2,2-Azinobis 3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit radikal (ABTS) giderme aktivitesi
6. N, N-dimetil-*p*-fenilendiamin radikal (DMPD) giderme aktivitesi

2.7. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olmaları, temel olarak indirgeyici ajanlar olarak etki etmelerini sağlayan redoks özelliklerinden, hidrojen donörleri olmalarından, singlet oksijen söndürücü özellikleri ve metal şelatlama özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Spiridon ve ark., 2011).

Elmastaş ve ark., (2018) Anadolu bitki çayı olan *Origanum minutiflorum*'un sekonder metabolitlerinin izolasyonu, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bu çalışmada yapıları belirlenen moleküllerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde indirgeme gücü aktivitesi, CUPRAC, DPPH[•] ve ABTS yöntemlerini kullanmışlardır. En yüksek ABTS^{•+} aktivitesini luteolin, eriodictyol ve 3,4-dihidroksi benzoik asitte belirlemişlerdir. DPPH[•] ve indirgeme gücü aktivitesini en yüksek 3,4-dihidroksi benzoik asitte belirlemişlerdir. Ayrıca luteolin, eriodictyol rosmarinik asit ve 3,4-dihidroksi benzoik asidin CUPRAC aktivitesine sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Csepregi ve ark., (2016) doğal fenolik bileşiklerin otuz yedi tanesinin Toplam antioksidan aktivitesini (TAC) Troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC), Folin-ciocalteu reaktivitesi (FCR), Ferrik indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü yöntemlerine göre analiz etmişlerdir. Bu analiz neticesinde flavonoidlerin B halkası üzerindeki hidroksil grupları bu dört TAC yönteminde pozitif bir etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Flavonoidin C halkası üzerinde bir 3-hidroksil grubunun varlığı, TEAC ve FRAP aktivitelerini artırırken DPPH veya FCR aktivitesini etkilemediğini belirtmişlerdir. Ayrıca 3-hidroksil grubu bulunmayan fenolik asitler, bu yapıya sahip bileşiklerden daha düşük FRAP veya DPPH aktivitesine sahip olduğu ifade edilmiştir. TEAC ve FCR aktivitesinin bu durumdan etkilenmediği bildirilmiştir. Bu çalışmadan seçilen bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin TAC değerleri myricetin-3-*o*-glukozit eşdeğer olarak Çizelge 2.9' de verilmiştir.

Çizelge 2.9. Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin TAC değerleri myricetin-3-*o*-glukozit eşdeğer olarak (Csepregi ve ark., 2016).

Fenolik Bileşik	TEAC	FRAP	DPPH	FC
Kateşin	1.888	1.255	1.146	1.040
Naringenin	0.326	0.000	0.000	0.856
Gallik asit	1.903	1.503	1.098	0.535
Vanilik asit	0.511	0.026	0.246	0.391
Kafeik asit	0.628	1.813	0.763	0.596
Siyanidin	1.267	2.136	1.445	1.245
Troloks	0.661	0.903	0.438	0.231
<i>p</i> -kumarik asit	0.335	0.000	0.011	0.380

Yavaşer (2011) BHA, BHT, etoksikuin ve propil gallat, epikatekin, fisetin, flavon, gallik asit, kaempferol, kafeik asit, karnosol, klorojenik asit, kuersetin, luteolin, mirisetin, naringenin, rutin, sinnamik asit, siyanidin klorür ve taksifolin gibi bazı doğal ve sentetik bileşiklerin antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi (FTC), DPPH, CUPRAC, İndirgeme Gücü Tayini ve TEAC yöntemlerini kullanılmıştır. Bu çalışmanın neticesinde luteolin, kuersetin, karnosol, gallik asit ve fisetinin besinlere koruyucu ve katkı maddesi olarak kullanılabilir iyi birer doğal antioksidan olabileceği ifade edilmiştir.

Re ve ark., (1999) ABTS yöntemi kullanılarak bazı fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri test edilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıdaki Çizelge 2.10'da verilmiştir.

Çizelge 2.10. Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin ABTS radikal giderme aktiviteleri (Re ve ark., 1999)

Fenolik Bileşik	ABTS (mM)
Ferrulik asit	1.90 ± 0.02
<i>p</i> -kumarik asit	2.22 ± 0.06
Kafeik asit	1.26 ± 0.01
Kuarsetin	4.72 ± 0.10
Naringenin	1.53 ± 0.05

Villaño ve ark., (2005), bazı standart fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri DPPH ve ABTS metotlarını kullanarak test etmişlerdir. Bu çalışmaya ait antioksidan test değerleri mM olarak Çizelge 2.11'de verilmiştir.

Çizelge 2.11. Bazı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin ABTS ve DPPH radikalleri giderme aktiviteleri (Villaño ve ark., 2005).

Fenolik Bileşik	ABTS (mM)	DPPH (mM)
Gallik asit	1.98 ± 0.01	2.66 ± 0.06
Kateşin	0.57 ± 0.01	2.16 ± 0.16
Protokateşik asit	0.32 ± 0.01	1.29 ± 0.09
Kuarsetin	1.14 ± 0.09	2.55 ± 0.15
Kafeik asit	1.01 ± 0.00	1.11 ± 0.01
Ferulik asit	0.23 ± 0.00	0.60 ± 0.03
Resveratrol	0.40 ± 0.01	0.49 ± 0.03

Günümüze kadar çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere hem doğal hem de sentetik kökenli çok çeşitli antioksidanlar önerilmiştir. Yapılan birçok çalışmada flavonoidler ve bitki kaynaklı fenolik bileşiklerin serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırdığı ve antioksidan özellik gösterdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşiklerin kaynakları ve Troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri (mM) Çizelge 2.12'de verilmiştir (Rice-Evans ve ark., 1997).

Çizelge 2.12. Bazı antioksidan maddeler ve doğal kaynakları (Rice-Evans ve ark. 1997)

Antioksidan Madde	Kaynağı	Antioksidan Aktivitesi (mM)
C vitamini	Meyve ve sebzeler	1.0 ± 0.02
E vitamini	Tahıllar, fındık ve yağlar	1.0 ± 0.03
Oenin	Kara üzüm, kırmızı şarap	1.8 ± 0.02
Siyanidin	Üzüm, ahududu, çilek	4.4 ± 0.12
Delfinidin	Patlıcan kabuğu	4.4 ± 0.11
Kuarsetin	Soğan, elma, çilek, kara üzüm, çay ve brokoli	4.7 ± 0.10
Kemferol	Hindiba, pırasa, brokoli, greyfurt ve çay	1.3 ± 0.08
Rutin	Soğan, elma, çilek, kara üzüm, çay ve brokoli	2.4 ± 0.12
Luteolin	Limon, zeytin, kereviz ve kırmızıbiber	2.1 ± 0.05
Krisin	Meyve kabuğu	1.4 ± 0.07
Apigenin	Kereviz	1.5 ± 0.08
Taksifolin	Turunçgiller	1.9 ± 0.03
Narirutin	Turunçgiller	0.8 ± 0.5
Naringenin	Turunçgiller	1.5 ± 0.05
Hesperidin	Portakal suyu	1.0 ± 0.03
Hesperetin	Portakal suyu	1.4 ± 0.08
Kafeik asit	Beyaz üzüm, zeytin, lahana ve kuşkonmaz	1.3 ± 0.01
Klorojenik asit	Elma, armut, kiraz, domates ve şeftali	1.3 ± 0.02
Ferulik asit	Tahıllar, domates, lahana ve kuşkonmaz	1.9 ± 0.02
<i>p</i> -Kumarik Asit	Üzüm, domates, lahana ve kuşkonmaz	2.2 ± 0.06

Özer ve ark., (2018), *Teucrium polium*L. bitkisinde yapmış oldukları çalışmada demleme ve kaynama ekstraktlarının fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Kaynatmadan elde edilen ekstraktan; fumarik asit, luteolin-7-*o*-glikozit, luteolin-5-*o*-glikozit belirlenirken; demleme örneği için; fumarik asit, luteolin-7-*o*-glikozit, pelargonin ve luteolin-5-*o*-glikozit olarak bileşikler belirlenmiştir. Elde ettikleri fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Koysu ve ark., (2018) *Salvia absconditiflora*'nın sekonder metabolitlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bu bileşiklerin bir kısmının ve standart antioksidan bileşiklerin ABTS, FRAP ve DPPH aktivitesi Çizelge 2.13'de verilmiştir.

Çizelge 2.13. Bazı fenolik ve standart antioksidan bileşiklerin ABTS, FRAP ve DPPH radikalleri giderme aktiviteleri (Koysu ve ark., 2018)

Bileşik	DPPH	FRAP	ABTS
	IC ₅₀ (µg/mL)	mmol TE/g	IC ₅₀ (µg/mL)
Luteolin	16.29 ± 0.78	3.56 ± 0.12	5.61± 0.04
Kafeik asit	10.83 ± 0.25	3.82 ± 0.33	8.07 ± 0.38
Rosmarinik asit	7.52 ± 0.06	4.23 ± 0,06	6.00± 0.26
Apigenin-7- <i>o</i> -β-glukosid	91.90 ± 5.18	1.30 ± 0.01	15.48 ± 0.14
BHT	8.51 ± 1.01	4.33± 0.23	2.32 ± 0.11
BHA	3.30 ± 0.28	7.26 ± 0.26	2.48± 0.25
Troloks	3.54 ± 0.26	3.96 ± 0.26	4.84± 0.08

Elzaawely ve ark., (2017), yapmış oldukları çalışmada pirinç samanının etil asetat ekstraktının toplam fenolik bileşik analizi ve antioksidan özelliklerini test etmişlerdir. Ekstraktın HPLC analizi ile yedi fenolik asit ve iki flavonoid içerdiğini belirlemişler. Elde ettikleri tüm fenolik bileşiklerin radikal süpürme metodu (DPPH) ile antioksidan özelliğini araştırmışlar ve ferulik ve *p*-kumarik asitlerin, pirinç samanındaki başlıca çözünür fenolik asitler olduğunu ve pirinç samanından hazırlanan etil asetat ekstraktının güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Tyagi ve Mala (2017) yapmış oldukları çalışmada, *Eichhornia crassipes* (Su sümbülü) bitki ekstraktının toplam fenolik madde bileşimini ve antioksidan özelliklerini test etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada bir fenolik asit türeviden olan gallik asit ve bir flavanoid olan kuarsetin'in DPPH yöntemi ile antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Sonuç olarak doğal bir kaynaktan elde ettikleri iki fenolik bileşiğin güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Gomes ve ark., (2003), yapmış oldukları bir çalışmada papaya meyvesinin fenolik bileşikleri ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Meyvenin içerdiği fenolik bileşikler; *p*-kumarik asit, protokateşuik asit, ferrulik asit, vanilik asit, naringenin ve kafeik asit olarak belirlemişlerdir. Papaya meyvesinin antioksidan kapasitesini radikal giderme metodu (DPPH) ve demir indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemleri ile

belirlemişler ve papaya meyvesinin yüksek antioksidan özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir.

Veljkovi ve ark., (2013) Sırbistan'da ticari olarak tüketilen bazı çay örneklerinin (siyah ve yeşil çay, bitki ve meyve çayları gibi) fenolik bileşiklerini ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. En bol miktarda bulunan bileşiğin gallik asit olduğunu ve bunu kafeik asit, rutin, kateşin ve epik ateşinin takip ettiğini belirlemişlerdir. Yaptıkları antioksidan testleri sonucunda yeşil çay ve böğürtlen ayının antioksidan gücünün siyah aydan oldukça yüksek olduğunu belirlemişlerdir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

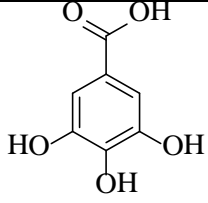
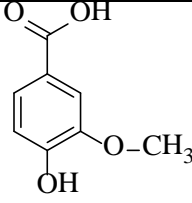
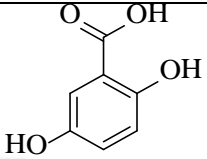
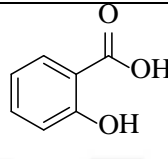
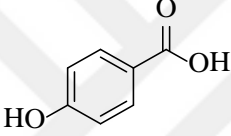
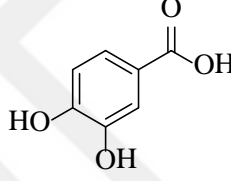
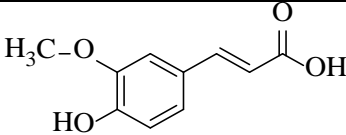
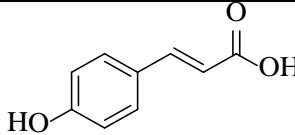
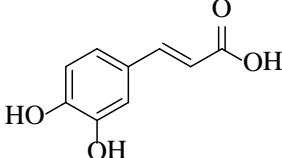
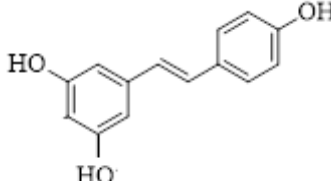
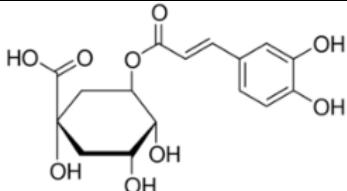
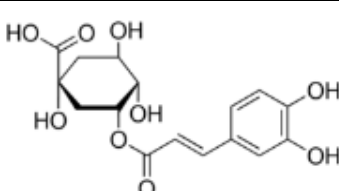
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallardan 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiyozolin-6-sülfonik asit) (ABTS), 1,1-difenyl-2-pikril-hidrazil (DPPH^{*}), trikloroasetik asit (TCA), troloks, metanol, potasyum persülfat (K₂S₂O₈), sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl),ferrozinve neokuprin (2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Folin-Ciocalteus, etanol, alüminyum klorür (AlCl₃), sodyum karbonat (Na₂CO₃), sodyum asetat (CH₃COONa), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), potasyum ferrik siyanür (K₃Fe(CN)₆) ve demir-III-klorür (FeCl₃), NH₄Ac, bakır (II) klorür (CuCl₂), demir (II) klorür (FeCl₂) Merck'ten temin edilmiştir.

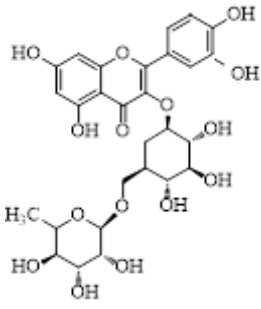
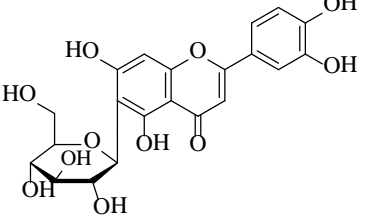
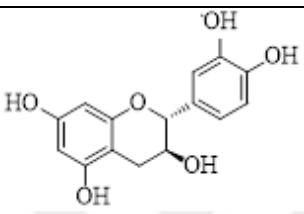
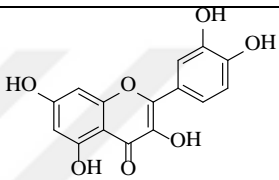
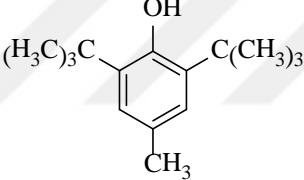
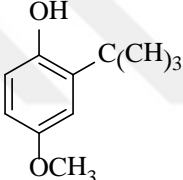
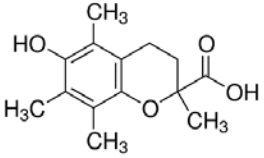
3.1.2. Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler

Analizi yapılan fenolik bileşikler gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, gentisik asit, kafeik asit, isoorientin, rutin, ferulik asit, resveratrol, klorojenik asit, neoklorojenik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, biokanin A, salisilik asit, naringenin ve *p*-hidroksibenzoik asit, EDTA ve troloks Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. BHT ve BHA Merck'ten temin edilmiştir. Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler

 <p>Gallik asit</p>	 <p>Vanilik asit</p>
 <p>Gentisik asit</p>	 <p>Salisilik asit</p>
 <p><i>p</i>-Hidroksibenzoik asit</p>	 <p>Protokateşik asit</p>
 <p>Ferulik asit</p>	 <p><i>p</i>-Kumarik Asit</p>
 <p>Kafeik asit</p>	 <p>Resveratrol</p>
 <p>Klorojenik Asit</p>	 <p>Neoklorojenik asit</p>

Çizelge 3.1. Antioksidan aktivitesi belirlenen fenolik ve standart bileşikler (Devam)

 <p>Rutin</p>	 <p>Isoorientin</p>
 <p>Katesin</p>	 <p>Kuersetin</p>
 <p>BHA</p>	 <p>BHT</p>
 <p>Troloks</p>	

3.1.3. Kullanılan alet ve cihazlar

Hassas terazi	: Precisa XB 220A
Magnetik karıştırıcı	: Heidolph-MR
Otomatik pipet	: Gilson
pH metre	: Hanna HI 9321
UV-VISSpektrofotometre	: Hitachi U-2900
Derin dondurucu	: Hettich/Nuaire
Vorteks	: VELP Scientifica
Saf su cihazı	: GFL 2004
Etüv	: Memmert
Ultrasonik Banyo	: Elmasonic S 100H (60 Hz)

3.2. Yöntem

Bu çalışmada 18 fenolik bileşik ve 3 standart bileşiğin antioksidan aktivitesi aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Bu analizlerin yapılmasında her bileşik için hazırlanan stok çözeltiler kullanılmıştır. Bu amaçla fenolik ve standart antioksidan bileşiklerin 1 mg/mL derişimli stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltilerin hazırlanmasında çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Bileşiklerin tam olarak çözünmesi için Ultrasonik banyoda 4 saat bekletilmiştir. Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.2.1. Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH[•])

Serbest radikal (DPPH[•]) giderme aktivitesi Blois (1958) metoduna göre yapılmıştır. Standart ve fenolik bileşiklerin stok çözeltilerinden (1 mg/mL derişimli) 40 µL, 80 µL ve 120 µL alınarak hacmi etanol ile 3 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerine etanolde hazırlanmış 0.26 mM DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) radikalinden 1 mL eklenerek vortekslenmiştir. Numuneler 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbanları ölçülerek sonuçlar IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. IC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde numune konsantrasyonuna karşılık gelen %

aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır. Numunelerin % serbest radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesinde aşağıdaki verilen formül kullanılmıştır.

$$\text{DPPH giderme aktivitesi (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{numune}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100$$

$\text{Abs}_{\text{kontrol}}$: 3 ml Etanol + 1 ml DPPH çözeltisinden elde edilen absorbans

$\text{Abs}_{\text{numune}}$ = Numelerin absorbansı

3.2.2. İndirgeme gücü aktivitesi (FRAP)

Fenolik ve standart antioksidan bileşiklerin İndirgeme gücü aktivitesi Oyaizu metoduna göre belirlenmiştir (Oyaizu, 1986). Stok çözeltilerden 40 µL ve 80 µL alınarak hacmi fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ile 1.25 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerine %1'lik potasyum ferrik siyanür $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 'den 1.25 mL ilave edilerek 50 °C'de (etüvde) 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra tüplere sırasıyla %10'luk TCA'dan 1.25 mL ve %0.1'lik FeCl_3 'ten 0.25 mL ilave edilmiştir. Deney tüpleri vortekslelendikten sonra spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Kör olarak numune ve FeCl_3 hariç tüm karışım kullanılmıştır. Fenolik ve standart bileşiklerin FRAP aktivitesinin belirlenmesinde 5, 10, 20 ve 40 µg Troloks/mL konsantrasyonlardaki çözeltilerden elde edilen standart grafik kullanılmıştır. Sonuçlar µmol Troloks Eşdeğer/mg bileşik (µmol TE /mg bileşik) olarak verilmiştir.

3.2.3. Katyon radikali giderme aktivitesi (ABTS^{•+})

Bileşiklerin ABTS^{•+} katyon radikali giderme kapasitesi Re ve ark. (1999) belirttiği metoda göre belirlenmiştir. Fosfat tamponu (0.1 M, pH: 7.4) ile hazırlanan 2 mM ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) çözeltisi ile 2.45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (potasumpersülfat) çözeltisi 1:2 oranında (ABTS- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) karıştırılarak karanlık oda koşullarında 6 saat bekletilmiştir. Standart ve fenolik bileşiklerin stok çözeltisinden 20 µL, 40 µL ve 4 kat seyreltilmiş stok çözeltilerden 20 µL alınarak hacimleri fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.4) ile 3 mL'ye tamamlanmıştır. Bu karışıma 1 mL ABTS- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisi ilave edildikten sonra vortekslenmiş ve oda koşullarında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda spektrofotometre 734 nm dalga boyunda absorbansları ölçülerek sonuçları IC_{50} olarak hesaplanmıştır. IC_{50} değerlerinin belirlenmesinde numune

konsantrasyonuna karşılık gelen % aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır.

3.2.4. Cu²⁺ iyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC)

Fenolik ve standart bileşiklerin Cu²⁺ iyonu indirgeme kapasitelerinin belirlenmesinde Apak ve arkadaşlarının (2004) belirttiği yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde deney tüpüne sırasıyla 1 mL 0.01 M CuCl₂, 1 mL 7.5×10⁻³ M neokuprin (etanolde) ve 1 mL 1 M CH₃COONH₄ (amonyum asetat, pH: 6.5) tamponu ilave edildikten sonra vortekslenmiştir. Bu karışımın üzerine stok çözeltilerden 20 µL, 40 µL ve 80 µL ilave edilerek son hacim saf su ile 4 mL'ye tamamlanmıştır. Numuneler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 450 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Kör olarak numune hariç tüm karışım kullanılmıştır. Fenolik ve standart bileşiklerin CUPRAC aktivitesinin belirlenmesinde 5, 10, 20 ve 40 µg Troloks/mL konsantrasyonlardaki çözeltilerden elde edilen standart grafik kullanılmıştır. Sonuçlar µmol Troloks Eşdeğer/mg bileşik (µmol TE /mg bileşik) olarak verilmiştir.

3.2.5. Metal şelatlama aktivitesi

Fenolik ve standart bileşiklerin metal şelatlama aktivitesi Dinis ve ark., (1994) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Analizi yapılacak numunelerin stok çözeltiden 20 µL, 40 µL ve 80 µL alınarak üzerine 50 µL 2 mM FeCl₂ ilave edilmiştir. Bu aşamadan sonra toplam hacim etanol ile 3.8 mL'ye tamamlanmıştır. Reaksiyon 200 µL 5 mM ferrozinin ilavesiyle başlatılmıştır. Deney tüpleri vortekslenildikten sonra 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda 562 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Ayrıca güçlü metal şelatlama aktivitesi göstren EDTA (etilendiamin tetraasetik asit)'nin da analizi yapılmıştır. Numunelerin metal şelatlama aktiviteleri IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. IC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde numune konsantrasyonuna karşılık gelen % aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır.

$$\text{Metal şelatlama aktivitesi (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{numune}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Abs_{kontrol} : Numune hariç çözeltinin absorbansı

Abs_{numune} : Numelerin absorbansı

3.2.6. İstatistiki analiz

Bu çalışmadaki verilerin istatistiki analizinde SPSS (20.) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile belirlenmiştir. Gruplar arasındaki dağılım Duncan oklu aralık testine göre $p < 0.05$ önemlilik değerinde belirlenmiştir (Duncan, 1955).



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada 18 adet fenolik bileşik ve 3 adet standart antioksidan bileşiğin antioksidan kapasiteleri analiz edilmiştir. Analizi yapılan fenolik bileşikler gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, gentisik asit, kafeik asit, isoorientin, rutin, ferulik asit, resveratrol, klorojenik asit, neoklorojenik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, biokanin A, salisilik asit, naringenin ve *p*-hidroksibenzoik asitten oluşmaktadır. Standart olarak da BHT, Troloks ve BHA bileşikleri kullanılmıştır. Ayrıca metal şelatlama yönteminde EDTA (etilendiamin tetraasetik asit)'nın da analizi yapılmıştır. Söz konusu bileşiklerin 1 mg/mL konsantrasyonundaki stok çözeltisi hazırlanarak bu stok çözeltiden analiz metoduna göre farklı hacimlerde alınarak analizleri yapılmıştır. Antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılmasında Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi, Metal Şelatlama Aktivitesi, Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC), Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS) ve İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP) yöntemleri kullanılmıştır.

4.1. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

Standart bileşiklerin ve 18 adet fenolik bileşiğin DPPH giderme aktivitesi Blois (1958) metoduna göre yapılmıştır. Bu metot antioksidanların DPPH[•] radikalinin radikal olmayan DPPH-H molekülüne indirgeme kabiliyetinin belirlenmesine dayanmaktadır. DPPH[•] radikal miktarındaki azalmanın 517 nm'de absorbansı ölçülerek aktivite belirlenmektedir (Gülçin, 2012; Elmastaş ve ark., 2015). Standard ve fenolik bileşiklerin DPPH giderme aktivitesinin belirlenmesinde 10, 20 ve 30 µg/ml olmak üzere üç farklı konsantrasyonda analiz edilmiştir. Sonuçlar serbest radikallerin %50'sini gidermek için gerekli olan numune konsantrasyonunu ifade eden IC₅₀ değeri olarak Çizelge 4.1'de verilmiştir. IC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde numune konsantrasyonuna karşılık gelen % aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır. IC₅₀ değerinin düşmesi o bileşiğin daha yüksek DPPH[•] radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu ifade etmektedir. Farklı bir ifadeyle daha düşük konsantrasyonlarda radikalın %50'sini etkisizleştirebilmektedir.

Çizelge 4.1. Fenolik ve standart bileşiklerin DPPH radikal giderme aktiviteleri

Analizi Yapılan Bileşikler	IC ₅₀ (µg /mL)
Gallik asit	5.32 ± 0.18 g
Kateşin	8.50 ± 0.24 f
Protokateşik asit	8.77 ± 0.23 f
Kuersetin	9.51 ± 0.26 ef
Gentisik asit	9.55 ± 0.87 ef
Kafeik asit	11.75 ± 0.20 e
BHA	12.07 ± 0.99 e
BHT	16.80 ± 1.45 d
Isorientin	17.60 ± 0.56 cd
Troloks	17.89 ± 0.91 cd
Rutin	19.20 ± 2.65 cd
Ferulik asit	19.65 ± 3.18 bc
Resveratrol	21.75 ± 1.98 ab
Klorojenik Asit	22.00 ± 0.56 ab
Neoklorojenik asit	22.58 ± 2.18 a
Vanilik asit	76.52 ± 3.35*
<i>p</i> -Kumarik Asit	215.35 ± 19.70*
Biokanin A	319.84 ± 20.83*
Salisilik asit	480.58 ± 33.52*
Naringenin	529.22 ± 4.40*
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	728.14 ± 9.49*

*Çok düşük aktivite gösterdiği için istatistiksel analize dahil edilmemiştir.

Analizi yapılan fenolik ve standart bileşikler içerisinde en yüksek DPPH radikal giderme aktivitesi gallik asitte belirlenmiştir. Bunu sırasıyla kateşin, protokateşik asit, kuersetin, gentisik asit ve kafeik asit takip etmektedir. Bu bileşiklerinin aktivitesinin standart olarak kullanılan troloks, BHT ve BHA'dan daha yüksek olarak belirlenmiştir. En düşük DPPH radikal giderme aktivitesi vanilik asit, *p*-kumarik asit, biokanin A, salisilik asit, naringenin ve *p*-hidroksibenzoik asitte belirlenmiştir.

Analizi yapılan bileşiklerin IC₅₀ değerleri 5.32 ± 0.18 µg/mL ile 728.14 ± 9.49 µg/mL arasında değişmektedir. En düşük IC₅₀ değerleri gallik asitte, en yüksek IC₅₀ değerleri ise *p*-hidroksibenzoik asitte belirlenmiştir. Gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin ve gentisik asitin IC₅₀ değerleri 10 µg/mL daha düşük olarak belirlenmiştir. Kafeik asit, isoorientin, rutin, ferulik asit, resveratrol, klorojenik asit ve neoklorojenik asitinin IC₅₀ değerleri 11.75 ± 0.20 µg/mL ile 22.58 ± 2.18 µg/mL arasında değişirken analizi yapılan diğer fenolik bileşiklerin IC₅₀ değerleri 75 µg/mL'den yüksek olarak belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan BHA, BHT ve troloks'un IC₅₀ değerleri sırasıyla 12.07 ± 0.99 µg/mL, 16.80 ± 1.45 µg/mL ve 17.89 ± 0.91 µg/mL olarak belirlenmiştir. Yapılan benzer bir araştırmada kateşin, rutin, kuersetin, ferulik asit, kafeik asit ve sinapik asidin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH) kapasitesini belirlemişlerdir. Bu araştırmadan elde sonuçlar yürütülen çalışmadan elde edilen verilerle örtüşmektedir. Söz konusu araştırmada DPPH aktivitesi kuersetin > rutin olarak ifade edilmiştir. Ayrıca her iki çalışmada da kafeik asidin ferulik asitten daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Vaisali ve ark., 2016).

4.2. İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP)

Standart bileşiklerin ve 18 adet fenolik bileşiğin FRAP indirgeme gücü aktivitesi Oyaizu (1986) metoduna göre belirlenmiştir. Kullanılan bu metotta, fenolik asitlerin ferrik iyonlarını (Fe³⁺) ferröz iyonlarına (Fe²⁺) indirgeme kapasitesi ölçülmektedir. Test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidanların indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin 2006b; Gülçin et al. 2006a). Fenolik bileşiklerin indirgeme potansiyelleri 10 ve 20 µg/mL olmak üzere iki farklı konsantrasyonlarda analiz edilerek sonuçlar µmol Troloks Eşdeğer/mg bileşik (µmol TE /mg bileşik) olarak Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

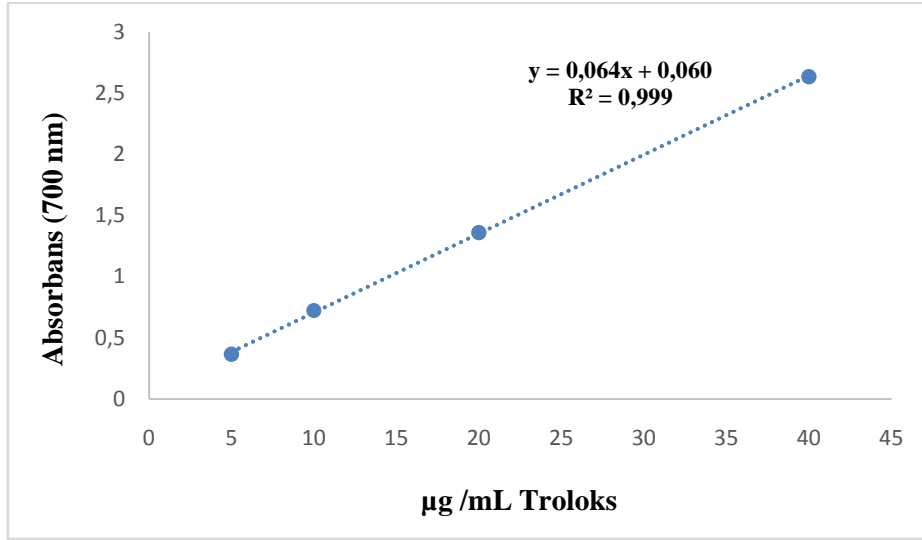
Çizelge 4.2. Fenolik ve standart bileşiklerin FRAP indirgeme gücü aktiviteleri

Analizi Yapılan Bileşikler	µmol TE / mg bileşik
Gallik asit	11.13 ± 0.84 a
Kafeik asit	9.66 ± 0.06 b
Kuersetin	7.85 ± 0.53 c
Protokateşik asit	7.82 ± 0.08 c
Gentisik asit	7.77 ± 0.13 c
BHA	6.98 ± 0.23 d
Kateşin	6.46 ± 0.77 de
Ferulik asit	6.19 ± 0.52 ef
Neoklorojenik asit	6.05 ± 0.29 ef
Klorojenik Asit	5.97 ± 0.32 ef
Resveratrol	5.54 ± 0.15 fg
BHT	5.51 ± 0.54 fg
Isoorientin	5.03 ± 0.70 gh
Rutin	4.60 ± 0.45 h
Vanilik asit	3.38 ± 0.06 ı
<i>p</i> -Kumarik Asit	1.54 ± 0.08 j
Naringenin	0.36 ± 0.01 k
Biokanin A	0.14 ± 0.09 k
Salisilik asit	*
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	*

*Aktivite göstermedi.

Fenolik ve standart bileşiklerin FRAP aktivitesinin belirlenmesinde 5, 10, 20 ve 40 µg/mL Troloks konsantrasyonlarından elden edilen standart grafik (Şekil 4.1.) kullanılmıştır. Bu standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklem kullanılarak bileşiklerin aktiviteleri hesaplanmıştır ($R^2=0.9998$).

$$\text{Absorbans (700 nm)} = 0.0645 \times [\text{Bileşik}] + 0.0606$$



Şekil 4.1.FRAP indirgeme gücü aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik

Analizi yapılan fenolik ve standart bileşiklerin FRAP aktiviteleri 0.14 ± 0.09 - 11.13 ± 0.84 $\mu\text{mol TE/mg}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek FRAP aktivitesi gallik asitte 11.13 ± 0.84 $\mu\text{mol TE / mg}$ olarak belirlenmiştir. Gallik asitti sırasıyla kafeik asit, kuersetin, protokateşik asit, gentisik asit, BHA, kateşin, ferulik asit ve neoklorojenik asit takip etmektedir. Bunların FRAP aktivitesi $6\mu\text{mol TE / mg}$ 'dan daha yüksek olarak belirlenmiştir. Salisilik asit ve *p*-hidroksibenzoik asitin FRAP aktivitesi göstermediği belirlenmiştir.

4.3. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS)

Standart ve fenolik bileşiklerin ABTS^{*+} katyon radikali giderme aktivitesi Re ve ark. (1999) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Bu metotta 734 nm'de absorbans veren koyu yeşil-mavi renkli ABTS^{*+} radikali antioksidan maddelerle reaksiyona girdiğinde radikal olmayan ABTS 'ye dönüşmektedir. Bunun sonucunda radikal indirgenmekte ve renksizleşmektedir. Bu renkte meydana gelen düşüşten bileşiklerin antioksidan kapasiteleri belirlenmektedir. Standart ve fenolik bileşiklerin ABTS^{*+} katyon radikali giderme aktivitesi 1.25, 5 ve 10 $\mu\text{g/mL}$ olmak üzere üç farklı konsantrasyonda analiz edilmiş ve sonuçlar IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) olarak Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fenolik ve standart bileşiklerin ABTS radikal giderme aktiviteleri

Analizi Yapılan Bileşikler	IC ₅₀ (µg /mL)
Gallik asit	0.83 ± 0.01 l
Naringenin	0.92 ± 0.08 kl
Resveratrol	1.02 ± 0.04 k
Protokateşik asit	1.23 ± 0.10 j
Isoorientin	1.25 ± 0.04 j
<i>p</i> -Kumarik Asit	1.26 ± 0.03 j
Kateşin	1.51 ± 0.04 i
Ferulik asit	1.54 ± 0.03 i
BHA	2.25 ± 0.11 h
Kuersetin	2.32 ± 0.07 h
Kafeik asit	2.37 ± 0.05 h
Biokanin A	2.69 ± 0.09 g
Rutin	2.78 ± 0.18 g
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	2.99 ± 0.07 f
Klorojenik Asit	3.47 ± 0.20 e
BHT	3.48 ± 0.03 e
Vanilik asit	3.56 ± 0.04 de
Neoklorojenik asit	3.71 ± 0.03 d
Salisilik asit	3.90 ± 0.23 c
Troloks	5.59 ± 0.13 b
Gentisik asit	6.60 ± 0.07 a

Analizi yapılan fenolik ve standart bileşiklerin içerisinde en yüksek ABTS radikal giderme aktivitesi $0.83 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile gallik asitte belirlenmiştir. Standart antioksidan bir bileşik olan BHA'dan daha düşük IC_{50} değerine sahip bileşikler sırasıyla naringenin, resveratrol, protokateşik asit, isoorientin *p*-kumarik asit, kateşin ve ferulik asitten oluşmaktadır. Bunların IC_{50} değerleri 0.92 ± 0.08 - $1.54 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ arasında değişmektedir. En yüksek IC_{50} değeri ve farklı bir ifadeyle en düşük ABTS katyon radikali giderme aktivitesi gentisik asitte ($6.60 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$) belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan BHA, BHT ve troloks'un IC_{50} değerleri sırasıyla $2.25 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$, $3.48 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ ve $5.59 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar daha önce yapılan araştırma sonuçları ile örtüşmektedir. Öztaşkın ve ark., (2015) BHA, BHT ve troloks'un IC_{50} değerleri sırasıyla $2.72 \mu\text{g/mL}$, $2.88 \mu\text{g/mL}$ ve $2.86 \mu\text{g/mL}$ olduğunu ifade etmişlerdir. Huyut ve ark., (2017) ise BHA, BHT ve troloks'un IC_{50} değerlerin sırasıyla $3.60 \mu\text{g/mL}$, $6.04 \mu\text{g/mL}$ ve $8.47 \mu\text{g/mL}$ olduğunu belirtmişlerdir.

4.4. Metal Şelatlama Aktivitesi

Standart ve 18 adet fenolik bileşiğin Metal Şelatlama Aktivitesi Dinis ve ark., (1994) tarafından belirlenen metoda göre yapılmıştır. Metot güçlü bir demir şelatlayıcı olan ferrozinin reaktif ile analizi yapılan bileşiğin Fe^{2+} iyonlarını bağlamak üzere yarışması esasına dayanmaktadır. Analizi yapılan bileşik yüksek şelatlama gücüne sahipse kırmızı renkli Fe^{2+} -ferrozinin kompleksinin oluşumunu engellemektedir. Absorbansın azalması ferrozinin Fe^{2+} iyonlarını bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını göstermektedir (Gülçin, 2012a). Ayrıca bu metotda güçlü bir metal şelatlama aktivitesi gösteren EDTA'nın da analizi yapılmıştır. Analizler 3 tekrarlı olarak 5, 10 ve 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda yapılmış ve sonuçları IC_{50} değeri olarak Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Fenolik ve standart bileşiklerin metal şelatlama aktiviteleri

Analizi Yapılan Bileşikler	IC ₅₀ (µg /mL)
EDTA	1.98 ±0.03 l
Naringenin	5.57 ±0.05 jk
Kateşin	7.56 ± 0.12 ij
Klorojenik asit	8.42 ± 0.02 ij
Protokateşik asit	8.85 ± 0.09 ij
Isoorientin	10.37 ± 0.08 hij
Kuersetin	11.71 ± 0.05 hı
Resveratrol	11.96 ± 0.62 hı
Neoklorojenik asit	12.33 ± 0.69 hı
Kafeik asit	15.18 ± 0.08 h
Gentisik asit	20.24 ± 2.45 g
Ferulik asit	20.43 ± 0.02 g
BHA	24.01 ± 1.32 fg
<i>p</i> -Kumarik Asit	28.60±0.87 ef
Salisilik asit	30.08 ± 3.14 e
Gallik asit	31.39 ± 0.07 e
Rutin	36.36 ± 2.61 d
Troloks	39.97 ± 4.69 d
Vanilik asit	56.44 ± 2.96 c
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	86.95 ± 5.72 b
Biokanin A	105.49 ± 9.93 a

Analizi yapılan bileşiklerin içerisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi 1.98 ±0.03 µg/mL IC₅₀ değeri ile EDTA belirlenmiştir.

Fenolik bileşikler içerisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi sırasıyla naringenin, kateşin, klorojenik asit ve protokateşik asitte belirlenmiştir. Bunların IC₅₀ değeri 10 µg/mL'den düşüktür. Yapılan benzer bir araştırmada kateşin, rutin, kuersetin, ferulik asit, kafeik asit ve sinapik asidin metal şelatlama kapasitesi belirlenmiştir. Bu araştırmanın sonucunda elde edilen veriler yürütülen bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla örtüştüğü ve en yüksek aktivitenin kateşinde belirlendiği ifade edilmiştir (Vaisali ve ark., 2016). Flavonoidlerin metal şelatlama özelliği flavaonid molekülüne geçiş metal iyonları iki bağlanma noktasına bağlanmasıyla meydana gelmektedir. Bu noktalar flavonoidlerin B halkasındaki 3',4'-dihidroksi pozisyonlarındaki *o*-difenolik gruplar ile flavonoidlerin C halkasındaki ketol (4-keto, 3- hidroksi veya 4-keto ve 5-hidroksi) yapılarıdır (Rice-Evans ve ark., 1997).

4.5. Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC)

Standart ve fenolik bileşiklerin Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi Apak ve arkadaşlarının (2004) metoduna göre belirlenmiştir. Bu metot antioksidan bileşiklerin Cu²⁺ iyonlarının Cu⁺ya indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Neokuprin'in Cu(II) ile oluşturduğu sarı renkteki Cu(II)-neokuproin kompleksinin 450 nm'de maksimum absorbanı vermektedir. Bu bakır(I)-neokuproin şelatından oluşan sarı rengin şiddetine göre indirgeme kapasitesi belirlenmiştir. Yüksek absorbanı değeri yüksek antioksidan kapasitesinin göstergesidir. CUPRAC yönteminin tek zayıflığı, ferulik ve p-kumarik asitlerin izole edilmiş hidrokarbon çift bağlarının (Ar-CH=CHCOOH) Cu (II)-neokuproin reaktif tarafından saldırıya uğramasıdır.

Standard ve fenolik bileşiklerin Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi 5, 10 ve 20 µg/mL olmak üzere üç farklı konsantrasyonda analiz edilmiş ve sonuçlar µmol Troloks Eşdeğer/mg bileşik (µmol TE /mg bileşik) olarak Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

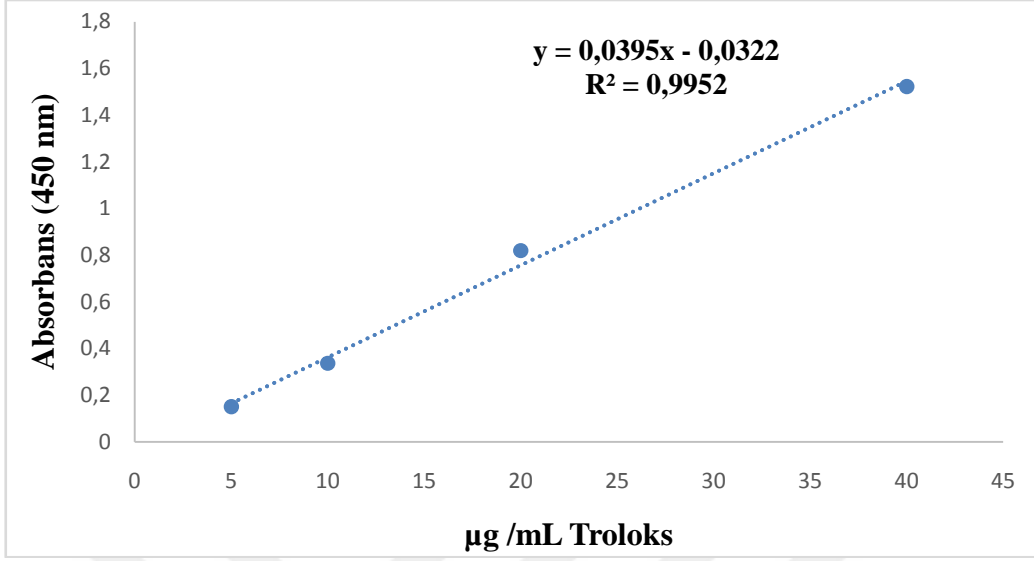
Çizelge 4.5. Fenolik bileşiklerin Cu²⁺ iyonu indirgeme aktiviteleri

Analizi Yapılan Bileşikler	µmol TE / mg bileşik
Gallik asit	23.66 ±0.12 a
Protokateşik asit	20.78 ±0.79 b
Kafeik asit	18.85 ±2.32 c
Gentisik asit	14.97 ±0.05 d
Kuersetin	14.48 ±0.28 d
Neoklorojenik asit	10.89 ±0.01 e
Isoorientin	10.03 ±0.67 ef
Kateşin	9.77 ±0.34 ef
Vanilik asit	9.21 ± 1.08 f
Klorojenik Asit	7.73 ± 0.44 g
Resveratrol	6.88 ±0.43 gh
Rutin	6.03 ±0.97 h ₁
Ferulik asit	5.53 ± 0.57 ı
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	2.01 ± 0.37 j
Naringenin	*
Salisilik asit	*
<i>p</i> -Kumarik Asit	*
Biokanin A	*

*Aktivite göstermedi.

Fenolik ve standart bileşiklerin CUPRAC aktivitesinin belirlenmesinde 5, 10, 20 ve 40 µg Troloks/mL konsantrasyonlarından elden edilen standart grafik (Şekil 4.2.) kullanılmıştır. Bu standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklem kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır (R²=0.9952).

$$\text{Absorbans (450 nm)} = 0.0395 \times [\text{Bileşik}] - 0.0322$$



Şekil 4.2.CUPRAC aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik

Analizi yapılan fenolik bileşikler içerisindeen yüksek Cu^{2+} İyonu İndirgeme Kapasitesi $23.66 \pm 0.12 \mu\text{mol TE} / \text{mg}$ olarak gallik asitte belirlenmiştir. Gallik asiti sırasıyla protokateşik asit ($20.78 \pm 0.79 \mu\text{mol TE} / \text{mg}$), kafeik asit ($18.85 \pm 2.32 \mu\text{mol TE} / \text{mg}$), gentsik asit ($14.97 \pm 0.05 \mu\text{mol TE} / \text{mg}$) ve kuersetin ($14.48 \pm 0.28 \mu\text{mol TE} / \text{mg}$) takip etmektedir. Naringenin, salisilik asit, *p*-kumarik asit ve biokanin A'nın CUPRAC aktivitesi göstermediği belirlenmiştir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, gentisik asit, kafeik asit, isoorientin, rutin, ferulik asit, resveratrol, klorojenik asit, neoklorojenik asit, vanilik asit, *p*-Kumarik asit, biokanin A, salisilik asit, naringenin ve *p*-hidroksibenzoik asidin antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH), İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP), Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS), Metal Şelatlama Aktivitesi ve Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC) yöntemlerine göre yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar yaygın kullanılan standart antioksidan (BHT, BHA ve Troloks) bileşiklerle karşılaştırılmıştır.

Yapılan analizler neticesinde Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC) ve İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP) aktivitesinden benzer sonuçlar elde edilmiştir. Her iki metot içinde en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ilk beş bileşiğin aynı olduğu ancak bunların sıralamalarında farklılıkların olduğu belirlenmiştir. CUPRAC metoduna göre bu beş bileşiğin yüksek aktiviteden düşük aktiviteye doğru sıralaması gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, gentisik asit ve kuersetinden oluşmaktadır. FRAP metoduna göre bu sıralama gallik asit, kafeik asit, kuersetin, protokateşik asit ve gentisik asitten oluşmaktadır. Benzer şekilde en düşük aktiviteye sahip veya aktivite göstermeyen bileşikler her iki metot içinde ortaktır. Bu bileşikler *p*-Hidroksibenzoik, asit, naringenin, salisilik asit, *p*-kumarik asit ve biokanin A'dan oluşmaktadır. Analizi yapılan fenolik ve standart bileşiklerin CUPRAC aktivitesi 2.01±0.37- 23.66 ±0.12 µmol TE/mg arasında değişirken FRAP aktivitesi 0.14 ± 0.09 - 11.13 ± 0.84 µmol TE/mg arasında değişmiştir.

Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH) ve Katyon Radikali Giderme Aktivitesinin (ABTS) sonuçları radikallerin %50'sini gidermek için gerekli olan numune konsantrasyonunu (IC₅₀) olarak verilmiştir. Bu değerler DPPH yönteminde 5.32 ± 0.18 – 728.14 ± 9.49 µg/mL arasında değişirken ABTS yönteminde 0.83 ±0.01 – 6.60 ± 0.07 µg/mL arasında değişmektedir. DPPH metoduna göre en yüksek aktiviteye sahip beş bileşik sırasıyla gallik asit, kateşin, protokateşik asit, kuersetin, ve gentisik asitten

oluşurken ABTS metodunda gallik asit, naringenin, resveratrol, protokateşik asit ve isoorientinden oluşmaktadır.

Analizi yapılan fenolik bileşiklerin Metal Şelatlama Aktivitesi EDTA'dan anlamlı şekilde düşüktür. Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri 5.57 ± 0.05 - 105.49 ± 9.93 µg /mL arasında değişirken EDTA'nın IC₅₀ değerleri 1.98 ± 0.03 µg /mL olarak belirlenmiştir. En yüksek aktiviteye sahip 4 fenolik bileşiğin IC₅₀ değerleri 10 µg /mL'den düşüktür. Bunlar naringenin (5.57±0.05 µg /mL), kateşin (7.56±0.12 µg /mL), klorojenik asit (8.42±0.02 µg /mL) ve protokateşik asitten (8.85±0.09 µg /mL) oluşmaktadır. En düşük aktivite vanilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit ve Biokanin A'da ve belirlenmiş ve bunları IC₅₀ değerleri 50 µg /mL den yüksektir.

Tüm bu analizler neticesine göre gallik asidin metal şelatlama aktivitesi hariç diğer 4 metoda göre en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Protokateşik asit tüm antioksidan metotlarına göre en yüksek aktiviteye sahip ilk 4 fenolik bileşik arasında yer almıştır. Gentsik asit ve kuersetin FRAP, CUPRAC ve DPPH metotlarına göre en yüksek aktiviteye sahip ilk 5 bileşik arasında yer almıştır. Naringenin metal şelatlama metoduna göre en yüksek aktiviteye sahip fenolik bileşik olarak belirlenirken ABTS metoduna göre en yüksek aktiveye sahip 2. bileşik olarak belirlenmiştir.

Günümüzde antioksidanların insan sağlığı üzerine yararları etkileri nedeniyle tüketicilerin ilgisini çekmektedir. Bu bağlamda doğal antioksidanlar bakımından zengin bitkiler ve/veya ekstreleri besin kaynağı, gıda takviyesi, bitkisel çay ve koruyucu olarak kullanımı gittikçe yaygınlaşmıştır. Bu çalışma yüksek antioksidan aktivite gösteren bitkilerin bu özelliklerinin hangi bileşiklerden ileri geldiğinin belirlenmesi hususunda önemli katkı sağlayacaktır. Ayrıca şelatlama kapasitesi yüksek bileşiklerin belirlenmesi ağır metal zehirlenmelerinin önlenmesi ve giderilmesi açısından da büyük önem arz etmektedir. Bunlara ilaveten gıda ve birçok sektörde sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidan kaynaklarının belirlenmesine de önemli katkı sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları., Konya.
- Alkan,R., 2007.Natural Plant Antibiotics: Resveratrol,Gıda 32 (5) : 259-262.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. J. Agr. Food Chem., 52, 7970-7981.
- Ayaz, F. A. ve Sökmen, A., 2015. Bitki Biyokimyası, 4. Baskıdan Çeviri, Hans-Walter Heldt ve Birgit Piechulla, Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Lts Şti.
- Aydın, S. A. ve Üstün, F., 2007. Tanenler 1. Kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 33 (1), 21-31.
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri- industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99(1), 191–203.
- Bilaloğlu, G.V. ve Harmandar, M., 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti. p.336-343, İstanbul.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 26 1199-1200.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. ve Gontier, E., 2001. Pro-duction of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science, 5, 839-851.
- Csepregi, K., Susanne Neugart, S., Schreiner, M. ve Hideg, E., 2016. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. Molecules, 21, 208; DOI:10.3390/molecules21020208.
- Çetinkaya, S., 2013. Bazı bitkisel fenolik asitlerin in vitro antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü.
- d'Ischia M., Napolitano A., Ball V., Chen C. T. ve Buehler M. J., 2014 Polydopamine and eumelanin: From structure-property relationships to a unified tailoring strategy. Acc. Chem. Res., 47, 3541–3550.
- Davidson P. M., Sofos J. N. ve Brenem A. L., 2005. Antimicrobials in Foods, third ed. Marcel Dekker Inc., New York. 291–306.
- Dawn, B. M., Allan, D. M. ve Colleen, M. S., 1996. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach.Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Deveoğlu, O. ve Karadağ, R., 2011. Doğal boyarmaddeler. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 23(1), 23-32.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. ve Almeida, L.M., 1994. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate, and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, 315, 161-169.
- Duncan B.D 1955. Multiple range and multiple Ftests. Biometrics. P.1-42.
- Elmastas, M., Celik,S. M., Genc,N., Aksit, H., Erenler R. ve Gulcin, İ., 2018. Antioxidant activity of an anatolian herbal tea *Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. International Journal of Food Properties, 21:1, 374-384, DOI: 10.1080/10942912.2017.1416399

- Elmastaş, M., Telci, İ., Akşit, H. ve Erenler, R., 2015. Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices. *Turkish Journal of Biochemistry* 40(6): 456–462.
- Elzaawely, A.A., H.F. Maswada, M.E.A., El-Sayed, and M.E. ve Ahmed, 2017. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice straw extract. *Int. Lett. Nat. Sci.*, 64: 1-9.
- Ergezer, H. ve Çam, M, 2008. Tanenler: Sınıflandırma, Yapıları ve Sağlık Üzerine Etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Fang, Y., Yang, S. ve Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 18, 872-879.
- Gengaihi, S. E., Aboul Ella, F. M., Emad, M. H., Shalaby, E. ve Doha, H., 2014. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Different Grape Wastes. *J. Food Process. Technol.*, 5(2), 1-5.
- Giasson, B. I., Ischiropoulos, H., Lee V.M.Y. ve Trojanowski, J. Q., 2002. The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Free Radic. Biol. Med.*, 32, 1264–1275.
- Gomes, C. A., Cruz, T. G., Andrade, J. L., Milhazes, N., Borges, F. ve Marques, M. P. M., 2003. Anticancer Activity of Phenolic Acids of Natural or Synthetic Origin: A Structure Activity Study *J. Med. Chem.* 46, 5395-5401.
- Göçmez, A. ve Seferoğlu, H. G., 2014. Asmalarda Resveratrol İçeriğini Etkileyen Faktörler ve İnsan Sağlığına Faydaları. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 31- 38.
- Görüş, E., 2016. Üzüm çekirdeği yağı ve deksametazon'un akustik travma uygulanan ratların kokleası üzerine etkilerinin elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı.
- Gülcü, M., 2016. Üzüm ve Üzüm Ürünlerinde Biyoaktif Bir Bileşen; Resveratrol. *Bilinçli Sağlıklı Yaşam Dergisi*, Sayı:12.
- Gülçin, İ., 2006a. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217, 213-220.
- Gülçin, İ., 2006b. Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine. *Life Sciences*, 78, 803–811.
- Gülçin, İ., 2012a. Antioxidant Activity of Food Constituents: an Overview. *Arch Toxicol*, 86:345–391.
- Gülçin, İ. ve Beydemir, Ş., 2012b. Phenolic compounds as antioxidants: carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 13(3):408-30.
- Güzel, A. 2016. *Stureja hortensis* L. Bitkisinin antioksidan kapasitesi ve fenolik bileşik kompozisyonu üzerine lokasyon ve hasat zamanının etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Gaziosmampaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Hall III C., 2001. Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. *Antioxidants in Food, Practical Applications*, pp. 169-219, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. T. ve Bobilya, D. J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.

- Huang, D. J., Ou, B. X. ve Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agr. Food. Chem.*, 53, 1841- 1856.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş. ve Gülçin, İ. 2017. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Hindawi Biochemistry Research International* Volume 2017, Article ID 7616791, 10 pages <https://DOI.org/10.1155/2017/7616791>.
- Kahraman, A., Serteser, M. ve Koken, T., 2002. Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi* (2002), 3, 01-08.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., 2016. Serbest Radikaller Free Radicals. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.*, 4(1), 50-59.
- Karahan, A., 2007. Sideritis Gülendami H. Duman ve F. A. Karavelioğlu bitkisinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının tayini. Balıkesir Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Karataş, 2013. Siyah havuç (*Daucus carota*) kallus ve hücre süspansiyon kültüründe antosiyanin üretimine UV-C stresinin ve riboflavinin etkilerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Kawasaki, B. T., Hurt, E.M., Mistree, T. ve Farrar, W. L, 2008. Targeting cancer stem cells with phytochemicals. *Mol. Interv.*, 8, 174–184.
- Kolaç, T., Gürbüz, P. ve Yetiş, G., 2017. Phenolic Content And Antioxidant Characteristics Of Natural Products. *İ.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5, 26-42.
- Kolankaya, N., Ansoy, M., Sağlam, N. ve Cansunar, E., 1988. Removal of color from bleach plant effluent by *Pleurotus sajor-caju*. *T.U. Müh. ve Çev., Dergisi* 13, 3, 415-428.
- Koysu, P., Genc N., Elmastas, M., Aksit H. ve Erenler, R., 2018. Isolation, identification of secondary metabolites from *Salvia absconditiflora* and evaluation of their antioxidative properties, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2018.1488700
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 4(8), 118-126.
- Mammadov, R., 2014. Tohumlu bitkilerde sekonder metabolitler, Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Lts Şti.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. ve Jimenez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability", *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727- 747.
- Mazid, M., Khan, T.A. ve Mohammad, F., 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology & Medicine*, 3, 232-249.
- Namdeo, A.G., 2007. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites. *Pharmacognosy Reviews*, (1) 1.
- Nascimento, N. C. ve Fett-Neto, A. G., 2010. Plant Secondary Metabolism Engineering, Methods and Applications, Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: An Overview. Edited: Fett-Neto, A. G., *Methods in Molecular Biology* 643, 1-13.
- Ness, A. R. ve Powles, J. W., 1997. Dietary habits and mortality in vegetarians and health conscious people - Several uncertainties still exist. *British Medical Journal*, 314, 148.

- Nizamlioglu, N.M. ve Nas, S., 2010. Meyve ve Sebzelere Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, 5(1), 20-35.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr. 1986, 44 307.
- Özer, Z., Kılıç, T., Çarıkçı, S. ve Yılmaz, H., 2018. *Teucrium polium* L. demleme ve kaynatma örneklerinin fenolik bileşik ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(1); 212-218.
- Öztaşkın, N., Yasin Çetinkaya, Y., Parham Taslimi, P., Göksu, S. ve Gülçin, İ. 2015. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties of novel bromophenol derivatives. Bioorganic Chemistry 60 49–57.
- Phaniendra, A, Jestadi, D. B. ve Periyasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 30(1), 11-26.
- Prasain, J. K., Wang, C. C. ve Barnes, S., 2004. Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. Free Radic. Biol. Med., 37(9), 1324-1350.
- Prior, R. L., Wu, X. ve Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agr. Food. Chem., 53, 4290-302.
- Quinones, M., Miguel, M. ve Aleixandre, A., 2013. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. Pharmacological Research, 68(1), 125–131.
- Ramachandra, Rao, S., Usha, T. ve Ravishankar, GA., 2002. Biotransformation of digitoxin to digoxin in cell cultures of *Capsicum frutescens* in the presence of b-cyclodextrin. Biocatal Biotransform.
- Ramawat, K. G. ve Merillon, L.M., 2007. Biotechnology: Secondary Metabolites, Secondary plant products in nature. Edited: Ramawat, K. G., Merillon, L.M., (2) 21.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay". Free Radic Biol Med, 26(9- 10), 1231-1237.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N.J. ve Paganaga, G., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant. Sci. 2, 152–159.
- Seçkin T., 2014 İşlevsel Bitki Kimyası Nobel yayınları Sayfa 1-117
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D. ve Gupta, A., 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(6), 168-182.
- Shahidi, F. ve Naczki, M., 1995. Food phenolics sources chemistry effects applications. Technomic Publication, 235-277, USA.
- Sökmen, A. ve Gürel, E., 2001. Sekonder metabolit üretimi, Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Editörler: Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. Konya, s.211- 261.
- Spiridon, I., Ruxanda Bodirlau, R. ve Carmen-Alice Teaca, C-A., 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. Cent. Eur. J. Biol. 6(3), 388-396 DOI: 10.2478/s11535-011-0028-6
- Tietz, NW., 1995. Clinical Guide to Laboratory Tests. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- Türkan, İ., 2008. Bitki Fizyolojisi; 3. Baskıdan Çeviri; Lincoln Taiz ve Eduardo Zeiger, Palme Yayıncılık.

- Tyagi, T. ve Mala, A., 2017. Phytochemical and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic of *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms.
- Ünver, E., Okur, A.A., Tahtabiçen, E., Kara, B. ve Şamlı, E., 2014. Tanenler ve hayvan besleme üzerine etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(6): 263-267.
- Vaisali, C. ve Prasanna, D. Belur, I., 2016. Regupathi Comparison of antioxidant properties of phenolic compounds and their effectiveness in imparting oxidative stability to sardine oil during storage. *LWT - Food Science and Technology* 69 (2016) 153e160.<http://dx.DOI.org/10.1016/j.lwt.2016.01.041>.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E. ve Vasiliadou, S., 1997. Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Z Lebensm Unters Forscf A*. 205(2):93-96.
- Veljković, JN., Pavlović, AN., Mitic, S. ve Brčanović's, JM., 2013. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches, 52(1):12-24.
- Vermerris, W. ve Nicholson, R., 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. s. 1-32.
- Vicente, O. ve Boscaiu, M., 2018. Flavonoids: Antioxidant Compounds for Plant Defence... and for a Healthy Human Diet. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 14-21.
- Villaño, D., M. Soledad Fern'andez-Pach'on, Ana M. Troncoso, M. Carmen Garc'ia-Parrilla 2005. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Analytica Chimica Acta* 538 391–398. DOI:10.1016/j.aca.2005.02.016.
- Xie, H., Han, H. P., Chen, Z. ve He, J. P. A., 2013. Study on the Effect of Resveratrol on Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Mice. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 11(1), 209-212.
- Yavaşer, R., 2011. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Yaylı, N., 2013. Uçucu Yağlar ve Tıbbi Kullanımları. 1.İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi, Standardizasyonu Kongresi, 29-31 Mart, 2013, Antalya.
- Yıldız, H. ve Baysal, T., 2003. Bitkisel Fenoliklerin Kullanım Olanakları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 29-35.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Hatice

Soyadı: Yavuz

Doğum yeri: Tokat

Medeni Hali: Evli ve iki çocuk annesi

Yabancı Dili: İngilizce

Telefon: 0505 586 28 23

e-mail: hatice.yavuz0016@gop.edu.tr

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Ana Bilim Dalı	2019
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık bölümü	2004
Lise	Gaziosmanpaşa Lisesi (Süper)	1999