

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET .....	III
SUMMARY.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	IV
TABLolar LİSTESİ .....	VI
KISALTMALAR.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Serbest Radikallerin Oluşum Yolları.....	1
1.1.1. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması .....	1
1.1.2. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi.....	1
1.1.3. Normal Bir Moleküle Elektron Transferi .....	2
1.2. Antioksidanlar .....	2
1.2.1. Antioksidanların Oksidatif Reaksiyonları Önleme Şekilleri .....	3
1.2.1.1. Rot Oluşmasını Engelleyen Sistemler .....	3
1.2.1.2. Rot'ları Yakalayıp Nötralize Eden Antioksidanlar .....	3
1.2.1.3. Oluşan Radikalleri Detoksifiye Eden Sistemleri.....	3
1.3. Etki Mekanizmalarına Göre Antioksidanların Sınıflandırılmaları .....	4
1.3.1. Birincil Antioksidanlar .....	4
1.3.2. İkincil Antioksidanlar .....	5
1.3.2.1. Etki Mekanizmalarına Göre İkincil Antioksidanların Sınıflandırılması .....	6
1.3.2.1.1. Kelat Yapıcılar.....	6
1.3.2.1.2. Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları.....	6
1.3.2.1.3. Singlet Oksijen Gidericiler .....	6
1.4. Doğal Antioksidan Bileşikler.....	7
1.4.1. C Vitamini.....	7
1.4.2. Fenolik Bileşikler .....	8
1.4.3. Karotenoidler .....	9
1.4.4. Tokoferoller.....	9
1.4.5. Glutatyon .....	10
1.5. Aromatik Bitkiler.....	11

1.5.1.	Kekik ( <i>Thymus kotschyanus</i> ).....	11
1.5.2.	Kekiğin Faydaları .....	12
1.6.	Kenger ( <i>Gundelia tournefortii</i> ).....	12
1.6.1.	Kengerin Faydaları.....	13
1.7.	Yaban Nanesi ( <i>Mentha longifolia</i> ) .....	14
1.7.1.	Yaban Nanesinin Faydaları .....	14
2.	MATERYAL VE METOT .....	15
2.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	15
2.2.	Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	15
2.3.	Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	16
2.3.1.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	16
2.3.2.	Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.	16
2.3.3.	Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler .....	16
2.3.4.	ABTS <sup>+</sup> Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler.....	16
2.3.5.	Total Flavonoid Miktarının Tayininde Kullanılan Çözeltiler .....	17
2.4.	İn Vitro Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	17
2.4.1.	Total Antioksidan Aktivite Tayini .....	17
2.4.2.	Serbest Radikal (DPPH <sup>•</sup> ) Giderme Aktivitesi .....	17
2.4.3.	Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi.....	18
2.4.4.	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini .....	18
2.4.5.	ABTS <sup>+</sup> Yok Edici Testi .....	18
2.4.6.	Total Flavonoid Miktarının Belirlenmesi.....	19
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	20
4.	SONUÇ .....	27
	KAYNAKLAR.....	28
	ÖZGEÇMİŞ .....	34

## ÖZET

Bu çalışmada Tunceli ili ve ilçeleri dahil olmak üzere 5 ayrı yerden (Merkez, Pertek, Mazgirt, Hozat, Ovacık) ilkbahar ve yaz mevsimlerinde kekik (*Thymus kotschyanus*), kenger (*Gundelia tournefortii*) ve yaban nanesi (*Mentha longifolia*) bitkileri toplanarak kurutulmuştur. Bu kurutulmuş bitkilerin yaprak kısımlarının etanol ekstraktları hazırlanmış ve in-vitro şartlarda antioksidan etkileri araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitelerini belirlemek için ABTS<sup>•+</sup> yok edici testi, serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi, süperoksit radikal giderme aktivitesi, toplam fenolik, flavonoid ve total antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi, ABTS<sup>•+</sup> yok edici testi ve toplam fenolik bileşik miktarı bakımından en yüksek aktiviteyi kekik bitkisi gösterirken, süperoksit radikalleri giderme ve toplam flavonoid içeriği bakımından en yüksek aktiviteyi yaban nanesi göstermiştir.

Yapılan çalışma sonucunda bu bitki ekstraktlarının antioksidan aktivite bakımından iyi bir potansiyel kaynak olduğu söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Thymus kotschyanus*, *Gundelia tournefortii*, *Mentha longifolia*, Antioksidan Aktivite

## SUMMARY

**Determining the antioxidant capacities of plants such as thyme (*Thymus kotschyanus boiss& hohen var. Glabrescens boiss.*), wild mint (*Mentha Longifolia (L.) Hudson subsp. Typhoides (Briq) harley var. Thyroides*), Cardoon (*Gundlia tournefortii L. Var. Armata Freyn&sint*) growing in Tunceli region**

In this study, thyme (*Thymus kotschyanus*), cardoon (*Gundelia tournefortii*) and wild mint (*Mentha longifolia*) have been gathered and dried from five different places including Tunceli province and its districts (city center, Pertek, Mazgirt, Hozat, Ovacık). The ethanol extracts of leaf parts of these dried plants have been prepared and antioxidant effects have been researched in in-vitro conditions. To determine antioxidant activities of extracts, ABTS annihilation test, free radical removal activity (DPPH<sup>·</sup>), superoxide radical removal activity, total phenol, flavonoid and total antioxidant activities have been studied.

As a result of the analysis that have been studied, while free radical removal activity (DPPH<sup>·</sup>) and ABTS<sup>•+</sup> annihilation test shows thyme plant having the highest activity from the point of view of total phenol compound quantity, wild mint has shown the highest activity from the point of view of superoxide radical removal and total phenol contents.

Consequently, it can be said that these plant extracts are a good potential source from the point of view of antioxidant activity according to the study.

**Key Words:** *Thymus kotschyanus*, *Gundelia tournefortii*, *Mentha longifolia*, Antioxidant Activity

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.3.1 Birincil Antioksidanlar .....	5
Şekil 1.3.2 İkincil Antioksidanlar .....	6
Şekil 1.4 L-askorbik asit .....	7
Şekil 1.5.1 Kekik Bitkisi .....	11
Şekil 1.5.2 Tunceli Yöresinde Bulunan Çeşitli Kekik Türü .....	11
Şekil 1.5.3 Kekğin Etken Maddeleri.....	12
Şekil 1.5.4 Kenger.....	13
Şekil 1.5.5 Köklü Kenger.....	13
Şekil 1.5.6 Yaban Nanesi.....	14

## TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 3.1</b> Tunceli Yöresindeki Kekik Bitkisinin Antioksidan Seviyeleri.....	<b>24</b>
<b>Tablo 3.2</b> Tunceli Yöresindeki Kenger Bitkisinin Antioksidan Seviyeleri .....	<b>24</b>
<b>Tablo 3.3</b> Tunceli Yöresinde Bulunan Yaban Nanesinin Antioksidan Seviyeleri.....	<b>25</b>
<b>Tablo 3.4</b> Tunceli Yöresindeki Kekik Kenger ve Yaban Nanesin Antioksidan Aktiviteleri.....	<b>25</b>
<b>Tablo 3.6</b> Tunceli Yöresindeki Kekik, Kenger, Yaban Nanesinin Korelasyon Değerleri.....	<b>26</b>

## KISALTMALAR

<b>DPPH</b>	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
<b>ABTS</b>	:2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
<b>SOR</b>	:Süperoksit radikali
<b>SR</b>	: Serbest radikal
<b>ROS</b>	: Reactive Oxygen Species
<b>RNS</b>	: Reactive Nitrogen Species
<b>BHT</b>	: Bütıl Hidroksitoluen
<b>BHA</b>	: Bütıl Hidroksianisol
<b>TBHQ</b>	: Tersiyer Bütıl Hidroksikinon
<b>PG</b>	: Propil Gallat
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>GSH-PX</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DPPH</b>	: Serbest Radikal Giderme Aktivite
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Sodyum Karbonat
<b>NADH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NBT</b>	: Nitroblue Tetrazolium
<b>PMS</b>	: Fenazin Metal Sülfat
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	: Potasyum Peroksidisülfat
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	: Sodyum Dihidrojenfosfat

# 1. GİRİŞ

Atom veya moleküllerdeki elektronlar çekirdeğin etrafında orbital olarak tanımlanan bölgelerde hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir atom veya molekül dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron bulunduruyorsa “serbest radikal (SR)” olarak tanımlanır. Bu tip moleküller, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). En basit serbest radikal bir elektron ve bir protonu olan hidrojen atomudur. Serbest radikallerde eşleşmemiş elektron, atom veya molekülün üst kısmına konulan bir nokta ile belirtilir. Çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle çevrede ve hücresele koşullarda devamlı bir radikal yapımı vardır.

## 1.1. Serbest Radikallerin Oluşum Yolları

### 1.1.1. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar veya yüksek sıcaklık (500–600°C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftirler.



### 1.1.2. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi

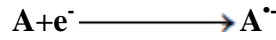
Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller (E vitamini) gibi hücresele antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur.





### 1.1.3. Normal Bir Moleküle Elektron Transferi

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin ( $O_2^{\cdot-}$ ) oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştiğinden canlılar için önemlidir (Akkuş, 1995; Onat vd., 2002; Türkoğlu ve Çelik, 2010)



Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen ( $1O^2$ ), süperoksit anyonu ( $\cdot O_2^-$ ), hidroksi ( $\cdot OH$ ), peroksi ( $ROO\cdot$ ) ve alkoksi ( $RO\cdot$ ) radikalleridir (Kaur ve Kapoor, 2001; Koca ve Karadeniz, 2003). Bu radikaller organizmada lipidler, nükleik asitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi biyolojik moleküllerle kolayca reaksiyona girebilirler. Bu yüzden yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, katarakt, diyabet, böbrek ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıktan sorumlu tutulurlar (Halliwell ve Gutteridge, 1990; İşbilir, 2008). Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en önemli radikaller, serbest oksijen radikalleri (SOR) olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır.  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mo^{5+}$  gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995; İşbilir, 2008).

### 1.2. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir (Diplock, 1998; Koca ve Karadeniz, 2003). Serbest radikallerin neden olduğu

oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Elliot, 1999; Koca ve Karadeniz, 2003).

Antioksidanlar, otookside olabilir materyallerin oksidasyon başlangıcını geciktiren veya oksidasyon hızını azaltan maddelerdir. Gerek doğal ve gerekse sentetik yüzlerce bileşiğin antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Nawar, 1985; Turhan ve Üstün, 2006). Günümüzde endüstriyel proseslerde gıda maddelerinin depolanma stabiliteelerini artırmak için çoğunlukla bütil hidroksianisol (BHA), bütil hidroksitoluen (BHT) ve Propil gallat (PG) gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak, antioksidan olarak kullanılan kimyasalların muhtemel toksisiteleri nedeniyle, son yıllarda ilgi doğal antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Vareltzis vd., 1997; Turhan ve Üstün, 2006). Çünkü doğal antioksidanlar, insanların yüzlerce yıldır tükettikleri veya gıdalara karıştırdıkları katkılardır. Bu nedenle tüketiciler tarafından güvenilir olarak görülmektedirler (Bera vd., 2006, Turhan ve Üstün, 2006).

### **1.2.1. Antioksidanların Oksidatif Reaksiyonları Önleme Şekilleri**

#### **1.2.1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşmasını Engelleyen Sistemler**

Demir ve bakır iyonlarını bağlayan metal şelatörleri, mitokondride doğal olarak oluşan ROT’ları indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi.

#### **1.2.1.2. Reaktif Oksijen Türlerini Yakalayıp Nötralle Eden Antioksidanlar**

Flavonoidler,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, metiyonin, ürik asit,  $\beta$ -karoten, indirgenmiş glutatyon, mukus gibi. Bu tür antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını inhibe eder veya zincir reaksiyonunun ilerlemesine engel olarak radikalik reaksiyonu sona erdirirler

#### **1.2.1.3. Oluşan Radikalleri Detoksifiye Eden Sistemleri**

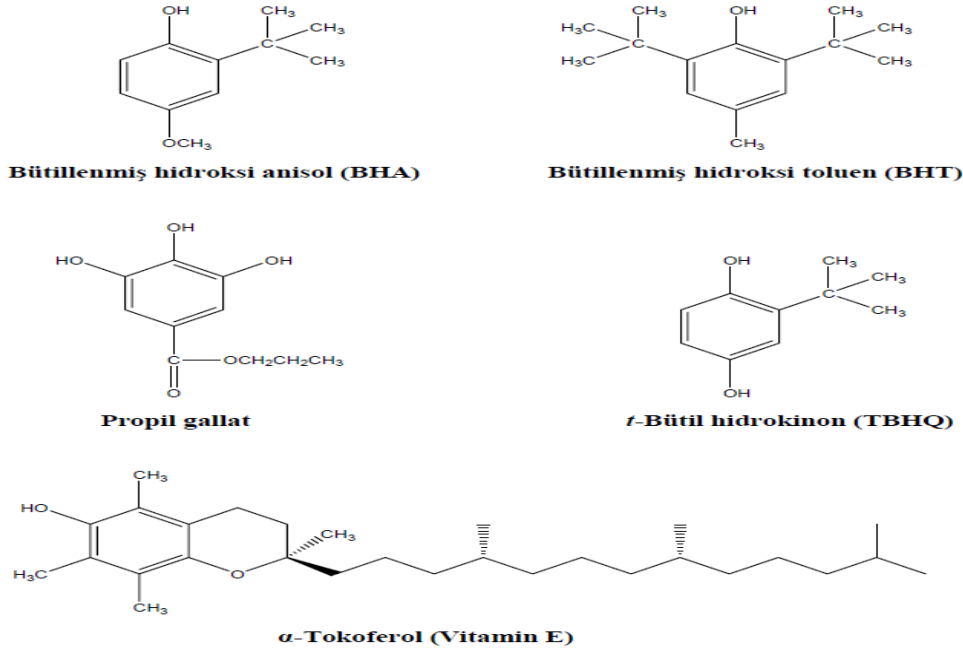
ROT’ları daha az toksik ürünlere dönüştüren enzim sistemleridir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (URL-1, 2014).

### **1.3. Etki Mekanizmalarına Göre Antioksidanların Sınıflandırılmaları**

#### **1.3.1. Birincil Antioksidanlar**

Mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock, 1998; Koca ve Karadeniz, 2003).

Birincil antioksidanlar, çeşitli halka süstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların süstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğın antioksidan aktivitesini artırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu artırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütıl grupların süstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi artırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlarındaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının süstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini artırır ve antioksidan radikalının reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltır. Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve t-bütıl hidrokinon (TBHQ) verilebilir (Şekil 1.3.1). Tokoferoller ve karotenoidler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır (Reische vd., 2002; Türkoğlu ve Çelik, 2010).



Şekil 1.3.1. Birincil Antioksidanlar

### 1.3.2. İkincil Antioksidanlar

Oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou vd., 2002). İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar (Şekil 1.3.2) prooksidan metallere kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar sıklıkla birincil antioksidanların antioksidan aktivitesini artırırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve  $\beta$ -karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilirler (Reische vd., 2002; Türkoğlu ve Çelik, 2010).

### 1.3.2.1. Etki Mekanizmalarına Göre İkincil antioksidanların sınıflandırılması

#### 1.3.2.1.1. Kelat Yapıcılar

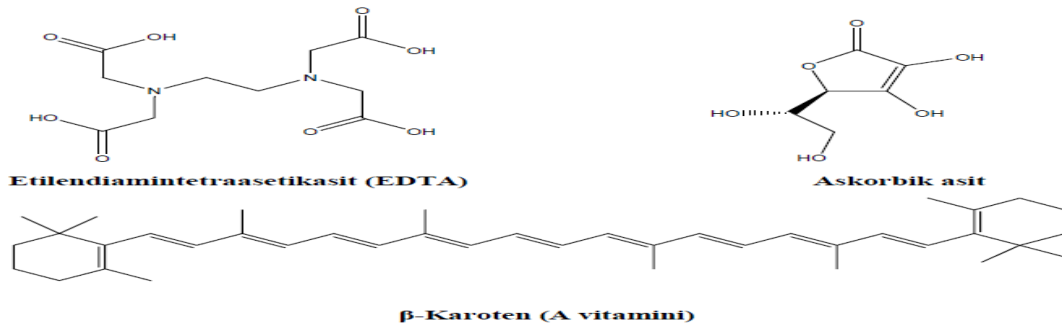
Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit.

#### 1.3.2.1.2. Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları

Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfidler.

#### 1.3.2.1.3. Singlet Oksijen Gidericiler

Karotenoitler ( $\beta$ -Karoten, likopen ve lutein)

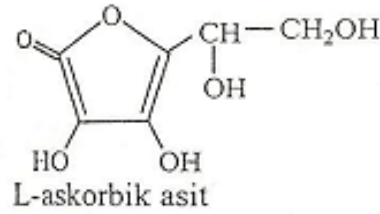


Şekil 1.3.2. İkincil Antioksidanlar

Antioksidan madde bakımından zengin olan sebze ve meyvelerin tüketilmesi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu doku hasarına bağlı hastalıklardan insanları korumaktadır (Rang vd., 2006). Diğer taraftan işlenmiş gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütillhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidan maddelerdir. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli kanser hastalıklarına neden oldukları tespit edilmiştir (Öztürk vd., 2007; Tepe vd., 2007). Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidanların bulunması için yapılan çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

#### 1.4. Doğal Antioksidan Bileşikler

Doğal antioksidan kaynakları; baharatlar, şifalı bitkiler, çaylar, yağlar, tohumlar, tahıllar, kakao kabuğu, hububatlar, meyveler, sebzeler, enzimler, proteinler olarak sayılabilmektedir (Gökalp, 2006). Askorbik asit (Şekil 1.4) ve tokoferoller ticari amaçla kullanılan en önemli doğal antioksidanlardır. Karotenoitler, fenolik bileşikler, flavonoidler, amino asitler ve enzimatik antioksidanlar (glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) diğer doğal antioksidan kaynaklarıdır (Reische, 2002). Araştırmacılar flavonoidler, kateşinler, fenoller (karnosol, rosmanol, rosamaridifenol) ve fenolik asit (karnosik asit, rosmarinik asit) gibi çeşitli antioksidanları kapsayan bitki özleri kadar iyi olan, C vitamini tokoferoller ve karotenoitlere de yoğunlaşmaktadırlar (Gökalp, 2006).



Şekil 1.4. L- askorbik asit

##### 1.4.1. C Vitamini

İnsanlar L-glukanolakton oksidaz enziminin eksikliği nedeniyle D-glikozdan L-askorbik asidi sentezleyemezler ve bu nedenle gıdaları ile almak zorundadırlar (Baskın, 1997; Çaylak, 2011). Suda çözünebilen - zincir kıran bir antioksidan olması nedeniyle özellikle detoksifikasyon metabolizması esnasında meydana gelen serbest radikalleri ve ROS'ları etkisiz hale getirir (Carr, 2000).

Antioksidan özellikleri çok yönlü olup, lipid oksidasyonunu farklı mekanizmalarla önlemektedir. Bu mekanizmalar serbest radikal ve oksijen yok edici olarak indirgen etkileriyle bazı okside olabilir bileşikleri korumak, daha az reaktif olan semidehidroaskorbat ve dehidroaskorbik asit radikaline dönüşmek suretiyle oksijen ve karbon merkezli radikalleri indirgemek ve bazı antioksidanları rejenere etmek üzere 3 grupta toplanabilir (Turhan ve Üstün, 2006).

L-Askorbik asidin kuvvetli indirgen özelliği süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca ve etkin bir şekilde reaksiyona girerek iyi bir antioksidant olarak görev yapma

kapasitesini sağlar. L-Askorbik asit fotooksidasyona karşı retina ve lens dokularını korur ve katarakt oluşumunu geciktirebilir (Hudson, 1990). L-Askorbik Asit, C vitaminin meyvelerde bulunan en baskın formudur. Özellikle biber, maydanoz, turuncgiller ve ıspanakta bol miktarda bulunmaktadır. Hayvansal ve bitkisel dokularda yüksek konsantrasyonda mevcuttur. Çoğu yüksek hayvanlar ve bitkiler askorbik asidi glukoz ve diğer basit öncül maddelerden sentezlerler.

#### **1.4.2. Fenolik Bileşikler**

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenolik bileşiklerdir. Günümüzde bitkilerden izole edilen 4000'den fazla flavonoid bilinmektedir. Halka yapılarına göre flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, kateşinler ve izoflavonoidler olarak sınıflandırılır (Bilaloğlu ve Harmandar, 2000; İşbilir, 2008).

Bu bileşikler arasında yer alan flavanoidler, tanninler, hidroksisinat esterleri ve lignin bitkilerin yapısında bol miktarda yer alır. Polifenollerin tokoferoller ve askorbata göre in vitro olarak daha iyi antioksidan olduğu gösterilmiştir. Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler. Membranların akıcılığını azaltarak ve lipitlerin yer alış sırasını düzenleyerek de serbest radikallerin hücreye difüzyonunu engelleyerek peroksidasyon reaksiyonlarını keserler. Bitki hücrelerindeki  $H_2O_2$ 'nin temizlenmesi reaksiyonlarına da katılmaktadırlar (Paganda, 1999; Çaylak, 2011). Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin  $O_2^{\bullet-}$ , lipid alkoksil ( $RO^{\bullet}$ ), lipid peroksil ( $ROO^{\bullet}$ ) ve  $NO^{\bullet}$  radikallerini temizleme, Fe ve Cu şelatlama,  $\alpha$ -tokoferol rejenerasyonu gibi fonksiyonlara katıldığı da bildirilmiştir (Miller ve Ruiz-Larrea, 2002; Ross ve Kasum, 2002; Rice-Evans, 1999; İşbilir, 2008).

Flavonoid ve fenolik antioksidanlar anomerik hidroksil grubundan lipid radikallerine bir hidrojen atomu vererek lipid oksidasyonunu engeller. Bileşiğin yapısı ile antioksidan kapasitesi ilişkilidir, fenolik bileşiklerde  $-OH$  grubu sayısı, flavonoidlerde B halkasının 5-OH, 3-OH ve 4-OH grupları olması antioksidan aktivite üzerinde etkilidir (Cotelle vd., 1996; Çimen, 1999; İşbilir, 2008).

### 1.4.3. Karotenoidler

Karotenoidler, birçok meyve ve sebzede bulunan sarı, turuncu ve kırmızı renk veren pigmentlerdir. Çoklu doymamış yapıları bu pigmentlere kolay okside olabilen ve stabil olmayan bir yapı kazandırmaktadır. Karotenoidler, hidrokarbonlar ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  karoten ve likopen) ve ksantofiller (lutein ve kapsantin) olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Konjuge çift bağlarından dolayı hem serbest radikal topalayıcı ve hem de singlet oksijen bastırıcılar olarak fonksiyon gösterirler. Karotenoidlerdeki çift bağ sayısı arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır (Koca, 2005; Turhan ve Üstün, 2006).

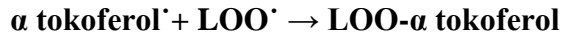
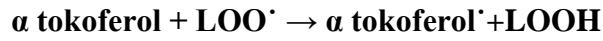
Karotenoidler özellikle singlet oksijeni ( $1O^2$ ) ve peroksil radikallerini gideren etkili antioksidanlardır. Fotooksidatif proseslere karşı bitkileri korur. En bilineni A vitamini öncüsü olan  $\beta$ - karotendir. Karotenoidler arasında en etkin  $^1O_2$  tutucu;  $\beta$ -karotenin açık zincirli analogu olan likopendir (Stahl ve Sies, 1999; İşbilir, 2008). Lipofilik özelliklerinden dolayı, oksidatif hasara karşı hücrel mebranları ve lipoproteinleri korumada önemli rol oynarlar.  $\beta$ -karoten reaktif azot türlerini gidermede C ve E vitaminleri ile sinerjik etki gösterir (Stahl ve Sies, 2003; Stahl ve Sies, 1999; İşbilir, 2008). LDL'yi oksidatif hasara karşı koruyarak ateroskleroz ve diğer koroner hastalıkların gelişmesini de engeller (Seven ve Candan, 1996; İşbilir, 2008).

### 1.4.4. Tokoferoller

***$\alpha$ -tokoferol:*** Doğada yaygın olarak bulunan E vitamini ailesinin ana bileşenidir. Antioksidan aktivitesi yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkadan kaynaklanır (Akkuş, 1995; İşbilir, 2008). Hücrelerde bulunan yağda çözünen ana antioksidandır. Vitamin E, insan vücudu için esansiyel olan bir antioksidan bileşiktir ve bu nedenle dışarıdan alınması gerekmektedir. Tokoferoller, yağlarda, fındıkta, çimlenen tohum ve tahıllarda bulunur. Barsaktan emilimi yağ emilimi ile birlikte ve yaklaşık olarak %40'ı emilmektedir. Emildikten sonra şilomikronlar ile lenfte taşınarak kan dolaşımına ulaştırılır. Yağ dokuda depolanır. Özellikle mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membranlarındaki fosfolipitler alfatokoferole afinite gösterdiği için buralarda yoğunlaşmaktadır. Vitamin E, bir vitaminden daha çok bir antioksidan olarak tarif edilmiştir. Çünkü diğer vitaminler enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak rol alırken vitamin E'nin böyle bir özelliği yoktur (Baskın, 1997; Çaylak, 2011).



Ana fonksiyonu membran fosfolipitlerinin peroksidasyonunun ve hücre membranlarının hasar görmesinin önlenmesidir. Lipofilik özelliği nedeniyle hücre membranlarının bilayer yapısı içine girebilmektedir (Gey, 1991; McNeil, 2004; Çaylak, 2011). Tokoferol-OH, bir H atomu ile serbest radikale bir elektron transfer ederek, hücre membranı proteinleri ile reaksiyona girmesini ya da lipit peroksidasyonunu başlatmasını engeller. Tokoferol-OH serbest radikal ile etkileştiğinde tokoferol-O·radikali meydana gelir. Eğer askorbik asit ortamda yeterli miktarda var ise tokoferol-O ile askorbat reaksiyona girerek tokoferol-OH ve zayıf bir radikal olan semidehidroaskorbat meydana gelir (Baskın, 1997; Carr, 2000; Çaylak, 2011). Böylece kuvvetli bir radikal etkisiz hale getirilirken, zayıf bir radikal (dehidroaskorbat) oluşur ve tokoferol-OH tekrar kazanılır.



$\alpha$ -tokoferolün ferrik iyonunu ferröz iyonuna (güçlü bir pro-oksidan) indirgeyebildiği de gösterilmiştir. Ortamda daha fazla  $\alpha$ -tokoferol olması ile bu oluşan ferröz demir etkisizleştirilebilir (Baskın, 1997; Proteggente, 2000; Çaylak, 2011).

#### 1.4.5. Glutasyon

Bitkilerin sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol ve mitokondrileri başta olmak üzere tüm hücrelerinde yoğun olarak bulunur. Yapısında sülfür bulundurması nedeniyle GSH konjugasyonu ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağlar (Lamb, 1997; Çaylak, 2011). Antioksidan etkisini ise yapısında merkezi olarak bulunan sistein rezidüsü ile yerine getirir. Sitotoksik  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi direk olarak, hidroksil, süperoksit radikalleri ile singlet oksijeni ise enzimatik olmayan biçimde etkisizleştirir (Avsian-Kretchmer, 1999; Çaylak, 2011). Askorbat glutasyon döngüsü ile suda çözünen güçlü bir antioksidan olan askorbatın rejenerasyonunu sağlar (Lamb, 1997; Çaylak, 2011)

## 1.5. Aromatik Bitkiler

### 1.5.1. Kekik (*Thymus kotschyanus*)

Ballıbabagiller (Lamiaceae) familyasından *Thymus* cinsini oluşturan Kekik bitkisi (Şekil 1.5.1 ve 1.5.2), çimenlik tarla, orman kıyılarında ve çayırlardaki karınca yuvalarının üstünde yer almaktan hoşlanır. Güneş ve sıcak istediği için, toprak sıcaklığının fazla olduğu kayalık ve dağlık bölgelerde çoğalır.



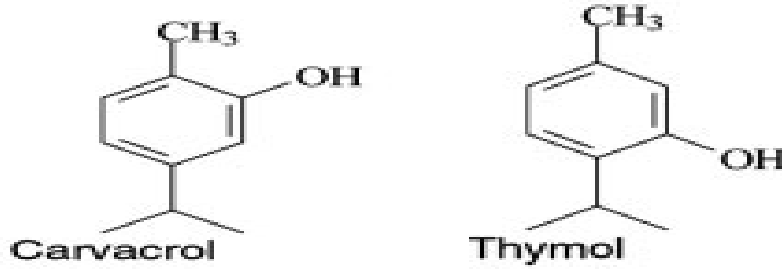
Şekil 1.5.1. Kekik Bitkisi



Şekil 1.5.2. Tunceli Yöresinde Bulunan Çeşitli Kekik Türü

Ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve ticareti yapılan kekik türlerinin ortak özelliği uçucu yağ içermeleri ve bu uçucu yağların ana bileşenlerinin timol ve karvakrol olmasıdır (Şekil 1.5.3). Bu maddeler, kekiğe kendine özgü kokusunu veren ve antioksidan

özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler uçucu yağların % 78-82'sini oluşturmaktadır (Basu, vd. 2001; Kalt, vd. 1999; Çoban ve Patır, 2010).



Şekil 1.5.3. Kekğin Etken Maddeleri

### 1.5.1.1. Kekğin Faydaları

- Akne tedavisinde temizleyici ve iyileştirici etkileri görülür.
- Gırtlak ve bademcik iltihaplarında iyileştirici özelliği vardır.
- Dezenfekte edici ve balgam sökücü olarak kullanılır.
- Öksürük ve üst solunum yolları iltihabında çay ve gargara olarak kullanılır.
- Akciğer ve bronşlar mide ve bağırsaklar kekğin başlıca kullanım alanlarıdır.
- Boğmaca, öksürük, astım, sinir sistemi zafiyeti, romatizma ve birçok hastalıklara karşı çay içiminin yanı sıra kekik banyolarıda çok yararlıdır.
- Mikrop kırıcı bir bitkidir.
- Doku ve damar büzücü etkileriyle çocuklarda diyare ve yatak ıslatma durumlarının iyileştirilmesinde kullanılır.
- Kekik çayı içimi ve kekikle karıştırılmış bal yenmesiyle organizma güçlendirilir.
- Sabahları kahve ve çay yerine içilen bir bardak kekik çayı zeka keskinliği midede rahatlık sabah öksürüğüne iyi gelir (URL-2, 2014).

### 1.5.2. Kenger (*Gundelia tournefortii*)

Kenger (*Gundelia tournefortii*) (Şekil 1.5.4 ve Şekil 1.5.5) Papatyagiller (Asteraceae) familyasından 40-50 cm yüksekliğinde, tüylü çok yıllık, sütlü, dikenli bir otsu bitki türü. Gövdeleri basit veya az dallı, kısa ve kalındır. Yapraklar derimsi, damarlı beyazımsı tüylü, gövdedekiler sapsızdır. Çiçek durumu küreye benzer bir baş şeklindedir. Çiçekler morumsu-kırmızı renklidir. Baş kısmı olgunlukta sarımsı-yeşil renk alır ve dikenler hariç 1 cm kadar uzunlukta olup serttir.

Türkiye'de yetiştiği yerler: Orta Doğu, Güneydoğu Anadolu, Akdeniz Bölgesi ve Ege Bölgesinde sıklıkla görülür. Halk tarafından kenger genellikle taze dallarının kabukları soyularak tüketilir. Gövdenin kesilmesi ile çıkan süttten kenger sakızı hazırlanır.



Şekil 1.5.4 Kenger



Şekil 1.5.5 Köklü Kenger

#### 1.5.2.1. Kengerin Faydaları

- Sinirleri güçlendirir. Kramp çözücüdür
- Hazımsızlığı giderir. Migrene karşı faydalıdır.
- İyi bir kan temizleyicidir.
- Terletir vücuda rahatlık verir.
- Damar tıkanıklığına yardımcı olur.
- Dişleri temizler ve diş etlerini kuvvetlendirir (URL-3, 2014).

### 1.5.3. Yaban Nanesi (*Mentha longifolia*)

Yaban nanesi (*Mentha longifolia*) (Şekil 1.5.6) ülkemizde daha çok Kuzey Doğu Anadolu'da yaygın bir türdür. Yapraklar hemen hemen sapsız ve seyrek, beyazımtırak, sık tüylü, çiçekler erguvan veya beyaz renkli 40-120 cm yükseklikte bir bitkidir. Kurutulmuş toprak ustı kısımlarda %0,2-0,5 arasında uçucu yağ asitlerinde bulunmaktadır. %15 ve %29 oranında mentol taşlar. Nane halk arasında bronşit, ülserative kolit anoreksia, karaciğer rahatsızlıkları, antiemetik pek çok alanda kullanılmıştır (Glulluce vd., 2007).



Şekil 1.5.6 Yaban Nanesi

#### 1.5.3.1. Yaban Nanesinin Faydaları

- Adale ve kas ağrılarına iyi gelir.
- Kaşıntıyı önleyici özelliğinden dolayı böcek sokmalarında kullanılır.
- Kas gevşetici ve nefes alıcı özelliği vardır.
- Sinirleri yatıştırır.
- Mantar üremesini önler.
- Üst solunum yolları enfeksiyonlarında kullanılır.
- Diş ve diş eti rahatsızlıklarıyla ağız kokusunu gidermede kullanılır.
- Gaz söktürücü özelliği var.
- Soğuk algınlığı grip ve nezlede kullanılır.
- Mide bulantısını önleyerek hazmı kolaylaştırır (URL-4, 2014).



## 2. MATERİYAL ve METOT

Bu çalışmada kullanılan kekik (*Thymus kotschyanus*), kenger (*Gundelia tournefortii*) ve yaban nanesi (*Mentha longifolia*) bitkileri, Tunceli merkez ve ilçeler olmak üzere toplam beş farklı yöreden toplandı ve bu bitkilerin yaprak kısımları kurutularak blender (öğütücü) içerisinde öğütüldü. Öğütülen bitkilerden 5'er gr lık örnekler tartılıp 50 ml lik etanol ekstraktları hazırlandı ve 1 saat bekletildi. Bir saat bekletilen ekstreler 1500 devir/dakika çalışan santrifüje konularak 15 dk santrifüje edilerek filtre kâğıdıyla süzüldü. Süzülen ekstrakt tüplere konularak buzdolabında 1gün beklettikten sonra ekstrelerin antioksidan aktiviteleri 6 farklı metotla belirlendi. Antioksidan aktivite belirleme testleri UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak yapıldı.

### 2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Folin-Ciocalteu Reaktifi 2,5 amb,  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 kg,  
Fenazin metasülfat (PMS) 1 gr amb,  
Total antioksidan kiti reel assay,  
2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzo thiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 1,  
HPLC saflıkta etanol 2.5lt amb,  
NADH 25 mg amb,  
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 1 kg amb,  
NAOH 1 kg amb,  
Alüminyum Klorür (AlCl<sub>3</sub>) 1 kg amb,  
NaNO<sub>3</sub> 1 kg amb, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 250 gr,  
Nitroblue tetrazolium (NBT) 500mg amb.  
Gallik Asit

### 2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

UV-Vis Spektrofotometre	: Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer
Hassas Terazî	: Denver
Soğutmalı Santrifüj	: Hettich 320R
Derin Dondurucu	:Uğur

## **2.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması**

### **2.3.1. Serbest Radikal (DPPH') Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

1.  $10^{-3}$  mM'lık DPPH' Çözeltisi: 39 mg kuru DPPH' alüminyum folyo sarılı erlenmeyerde 100 mL destile etanolde tamamen çözününceye kadar karıştırılarak çözüldü.

### **2.3.2. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

1. 60  $\mu$ M'lık PMS Çözeltisi: Önce 18 mg PMS alındı ve hacim 1 litreye fosfat tamponuyla (pH 7,4, 0,1 M) tamamlandı. Daha sonra bu çözeltiden 10 mL alındı ve 100 mL'ye aynı tamponla seyreltilti.

2. 468  $\mu$ M'lık NADH Çözeltisi: 34 mg NADH alındı ve toplam hacim 100 mL'ye kadar fosfat tamponuyla (0,1 M, pH 7,4) tamamlandı.

3. 150  $\mu$ M'lık NBT Çözeltisi: 6,1 mg NBT alındı ve toplam hacim 50 mL'ye kadar fosfat tamponuyla (0,1 M, pH 7,4) tamamlandı.

### **2.3.3. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

1. %2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Çözeltisi: 2 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100 mL'lik balon jodede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.

2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

### **2.3.4. ABTS<sup>++</sup> Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler**

1. 0,01 M'lık Fosfat Tamponu Çözeltisi: 0,39 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  alındı ve toplam hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2. 2,45 mM'lık  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  Çözeltisi: 0,033 g  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

3. 7 mM'lık ABTS Çözeltisi: 0,068 g ABTS alındı ve toplam hacim fosfat tamponuyla 25 mL'ye tamamlandı.

### **2.3.5. Total Flavonoid Miktarının Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

1. Gallik asit çözeltisi: 0,0125 gr gallik asit 25 mL %80 etil alkolde çözülerek 500 mg/L konsantrasyonda stok çözelti elde edildi. Bu stok çözeltiden 100 mg/L'lik standart solüsyon hazırlandı.

2. %80 etil alkol

3. %5'lik NaNO<sub>3</sub>

4. %10'luk AlCl<sub>3</sub>

5. 1M NaOH

### **2.4. İn Vitro Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler**

#### **2.4.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini**

Total antioksidan aktivite tayininde Rel Assay Diagnostik TAS kiti (Lot.RL024) kullanıldı. Hazırlanan bitki ekstraktından 1 g tartılarak 10 ml çözgen (etanol) eklendi. Etüvde çözgen kurutulduktan sonra 20 ml distile su eklenerek 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınarak total antioksidan aktiviteye kit prospektüsünde tarif edildiği şekilde bakılarak hesaplaması yapıldı.

#### **2.4.2. Serbest Radikal (DPPH<sup>•</sup>) Giderme Aktivitesi**

Serbest radikal giderme, Blois metoduna (1958) göre küçük bir modifikasyonla yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH<sup>•</sup> kullanıldı ve 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak total antioksidan aktivite ve indirgeme kuvvetlerinde kullanılan 1mg/mL yoğunluğundaki stok çözelti kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 100 µg/µL çözelti aktarıldı ve toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde saf etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH<sup>•</sup> çözeltisinden 1 mL ilave edildi. 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH<sup>•</sup> çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans, geriye kalan DPPH<sup>•</sup> çözeltisi miktarını serbest radikal giderme aktivitesini verir (Soares vd., 1997). Değerler % inhibisyon olarak verilmiştir.



### 2.4.3. Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi

Ekstrelerin süperoksit radikallerinin oluşmasındaki etkisi nitroblue tetrazolium (NBT)'nin indirgeme ürünlerinin spektrofotometrik olarak ölçümü Nishimiki metoduna (1972) göre belirlendi. Bunun için çalışmada kullanılan ekstraktların 100 µg'ını içeren 1 mL saf suya önce 1 mL 60 µM'lık fenazin meta sülfat (PMS) çözeltisi ilave edildi. Daha sonra sırasıyla 1 mL 468 µM'lık NADPH ve 1 mL 150 µM'lık NBT çözeltisi ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Reaksiyon karışımında ekstre numunesinin eksik olduğu köre karşı 560 nm de absorbansı okundu. Azalan absorbans, artan süperoksit radikalleri giderme aktivitesini gösterir. Değerler % inhibisyon olarak verilmiştir.

### 2.4.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve arkadaşlarının metoduna göre belirlendi (Singleton vd., 1999). Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Önce standart grafik çizmek amacıyla 25 mg gallik asit ayrı ayrı 25 mL saf suda çözülerek stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 1000 µL alınıp 100 mL'lik erlenlere konuldu. Toplam hacim saf suyla 46 mL'ye tamamlandı. Erlenlere sırasıyla 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dk sonra da % 2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Böylece toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalandı. Daha sonra numunelerin absorbansı 760 nm de saf suya karşı okundu. Bu işlemler 3'er defa yapıldı. Kontrol için numune yerine saf su kullanılarak hazırlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit standart grafik denklemi yardımıyla belirlendi ve sonuçlar gallik asit ekivalent şeklinde ifade edildi.

$$\text{absorbans}=0,0016x \text{ gallik asit}+0,0805$$

### 2.4.5. ABTS<sup>+</sup> Yok Edici Testi

ABTS<sup>+</sup> (2,2'-azino-bis(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)diamonyum tuzu) yok edici testi Yu vd., (2002) metodunun modifiye edilmesiyle gerçekleştirildi. ABTS<sup>+</sup> metodu, 2,2'-azino-bis (etilbenziazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu gibi bir azino-bileşiğin ortamdan yok edilmesi, yani bir başka deyişle inhibisyonuna dayanan bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir (Yu vd., 2002).

$K_2S_2O_8$  2,45 mM ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu  $ABTS^{++}$  radikal çözeltilisinin 734 nm'de absorbansı alınarak  $1,660 \pm 0,02$  absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi. Bu absorbans kontrol absorbansı olarak kullanıldı. Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 mL bırakıldı. Bu tüplerin üzerine 100  $\mu$ L bitki ekstraterinden eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm'de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7,4)'den oluşan köre karşı kaydedildi. Azalan absorbans ortamdaki yok edilen  $ABTS^{++}$  radikallerinin miktarını verir. Değerler % inhibisyon olarak verilmiştir.

#### 2.4.6. Total Flavonoid Miktarının Belirlenmesi

Alüminyum Klorür kolorimetrik metodu kullanılarak yapıldı. Bu metoda referans flavonoid olarak katekol kullanıldı. Gallik asit çözeltilerinin hazırlanışı: 0,0125 gr gallik asit 25 mL %80 etil alkolde çözülerek 500 mg/L konsantrasyonda stok çözelti elde edildi. Bu stok çözeltiden 100 mg/L'lik standart solüsyon hazırlandı. Bitki ekstraterinin hazırlanışı: Etanol ekstraterinin her birinden 0,005 gr tartılarak 2 mL %80 etil alkolde çözüldü. İki bin beş yüz mg/L'lik konsantrasyonda olan stok çözeltiden 1250 mg/L ve 500 mg/L konsantrasyon değerinde seyreltmeler hazırlandı. Beş yüz  $\mu$ L ekstre yada gallik asit çözeltisi, 2 mL distile su ve 150  $\mu$ L %5'lik  $NaNO_3$  ile iyice karıştırıldı. Beş dakika bekledikten sonra karışım içerisine 150  $\mu$ L %10'luk  $AlCl_3$  eklendi. Altıncı dakikada 1 mL 1M NaOH eklendikten sonra 2,2 mL su ile çözelti 5 ml'ye tamamlandı ve 510 nm'de UV-Vis spektrofotometre ile ölçüm alındı. Kör çözelti içerisine ekstrakt ya da referans çözelti yerine aynı miktarda distile su konuldu. Sonuçlar eşdeğer gallik asit miktarı olarak verildi (Chang, 2002).

$$\text{absorbans} = 0,0072 \times \text{gallik asit} + 0,0455$$

Araştırmada yapılan karşılaştırmalarda varyans analiz (ANOVA) uygulanmış ve bulunan farklılıkların hangi gruplar arasında kaynaklandığı belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden faydalanılmıştır. İlgili analiz yapılmasında SPSS 18.0 paket programı kullanılmıştır.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Doğadaki tüm hayvanlar, bitkiler ve insanlar bir dengenin ürünüdürler. Tüm bitkiler insanların hizmetindedir ve insanların varoluşundan itibaren bitkilerle olan ilişkisi başlamıştır (Gezgin, 2006; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır (Koçyiğit, 2005; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Bitkiler, topraktan aldıkları su, mineral ve bazı öğeleri kendi metabolizmalarında insan vücudunun özümleyebileceği bileşenlere dönüştürürler. Bunlar bitki metabolizmasında oluşan ağırlıklı olarak kullanılan etken maddelerdir [Örneğin eterik yağlar (uçucu yağlar, esanslar), alkaloidler, tanenler ve acı maddeler]. Vücudun savunma gücünü artırır, organların işlevlerini destekler ve/veya iyileşmeyi hızlandırır. Böylece organizmadaki belirli dokuların ve organların işlevlerine olumlu etki yaparlar (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011)

Metabolizmanın işleyişi sırasında doğal bir proses olan oksidasyon sonucunda, organizmada çeşitli hasarlar yaratan ve kanser, kalp vb. hayati öneme sahip bazı kronik hastalıkların başlatıcısı olan serbest radikallerin oluşumu, bunlarla mücadele eden antioksidan bileşiklere olan ilgiyi artırmış, bu konudaki çalışmalar daha çok gıdaların ve farmasötik preparatların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesine yönelmiştir.

Organizmada serbest radikallerin oluşumu Oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkar. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu katabolik reaksiyonların yanı sıra yağlı diyetler, sağlıksız beslenme, sigara, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır. Serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya neden olurlar. Bu bakımdan antioksidanlar, hücre koruyucu tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Yapılan araştırmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymuştur (Gökpınar vd., 2006).

Son yıllarda tüketici beklentileri yapay katkı maddeleri kullanılmayan doğal ve organik ürünlere odaklanmaktadır. Bununla birlikte sentetik antioksidanların sağlığa zararlı etkilerinden dolayı araştırmacıların çalışmaları bitkilerde oluşan doğal antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Skrede vd., 2004). Metabolizmayı düzenleyici bitki çaylarının

tedavi edici özelliklerinin anlaşılması ve bunların modern tıpta da kullanılmaya başlaması birçok insanın, tıbbi ve aromatik bitkilerle tedaviye olumlu bakmalarını sağlamıştır (Özçelik ve Balabanlı, 2005)

Amerikan Diyetetik Kurumu 1995 yılından önceki çalışmalarında antioksidan içeren meyve, sebze ve çeşitli tahılların tüketilmesiyle birçok hastalığa karşı koruma sağlandığına dikkat çekmektedir (Pszczola, 2001; Baladura ve Şimşek, 2011). Nandede bulunan luteolin ve limonen önemli fitokimyasal (bitkilerde bulunan, bitkiyi hastalıklardan ve zararlılardan koruyan madde) maddelerdir. Limonen meme tümörünün gelişimini engelleyen güçlü bir antikanserojen maddedir. Rosmanirik asit ise nane antioksidan özelliği kazandıran maddedir (Fiorentino vd., 2008; Baladura ve Şimşek, 2011). Fletcher vd., (2005)'nin yaptığı çalışmada rosmanirik asidin güçlü antianjiyogenez (tümörün beslenmesini keserek büyümesini durdurmak) etkiye sahip olduğu ve kanser tümörlerini yok edebildiği bildirilmiştir. Biberiyenin tüm bitkiler arasında en yüksek antioksidan seviyesine sahip olduğu bildirilmektedir (Anon, 2005; Baladura ve Şimşek, 2011).

DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) bir serbest radikaldir ve bir elektron veya bir hidrojen radikali ile etkileşerek stabil bir diamanyetik bir molekül olma eğilimindedir (Soares vd., 1997; Gülçin vd., 2002; Türkoğlu ve Çelik, 2010). DPPH<sup>•</sup> radikalleri miktarındaki meydana gelen azalma, 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu yüzden DPPH<sup>•</sup> radikali, antioksidan aktivite tayininde sıklıkla kullanılır. Yapmış olduğumuz çalışmada da görüldüğü üzere kekik, kenger, nane bitkilerinde serbest radikal (DPPH<sup>•</sup>) giderme aktivitesi bakımından bölgeler arasında farklılık gözlenmiş ve Hozat bölgesinde yetişen bitkilerde aktivitenin daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3.1, 3.2 ve 3.3). Böyle bir farklılığın kaynağında başta toprağın yapısı olmak üzere pek çok etkenin rolü olduğu söylenebileceği gibi, her üç bitkide de Hozat bölgesinin yüksek çıkması toprağın verimliliği açısından anlamlı olabilir.

Süperoksit radikal giderme ativitesi, PMS/NADH-NBT sisteminde, PMS/NADH çifti tarafından meydana getirilen süperoksit anyonlarının NBT'yi indirgeme reaksiyonlarına dayanmaktadır. İndirgenmiş NBT ürünü ise 560 nm'de maksimum aktivite göstermektedir. Reaksiyon karışımında 560 nm'deki absorbans azalması, süperoksit anyonlarının giderildiğini ve dolayısıyla antioksidant aktiviteyi göstermektedir. Çalışmamızda da görüldüğü üzere kekik, kenger ve nane bitkilerinde süperoksit radikal giderme aktivitesi bakımından bölgeler arasında farklılık olduğu gözlenmiş, kekikte ve yaban nanesinde en yüksek aktiviteyi Mazgirt, kenger de ise Mazgirt ve Hozat bölgeleri göstermiştir.

ABTS<sup>+</sup> Yok edici testi, 2,2'-azino-bis (etilbenziazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu gibi bir azino-bileşimin ortamdan yok edilmesi, yani bir başka deyişle inhibisyonuna dayanan bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir (Yu vd., 2002). Çalışmamızda ABTS<sup>+</sup> Yok edici testi bakımından kekik, kenger ve yaban nanesi bitkilerinde en yüksek aktiviteyi Hozat bölgesi göstermiştir.

Toplam flavonoid ve fenolik miktar tayini açısından bitkilerin bölgelere göre gösterdikleri farklılıklar incelendiğinde; Toplam flavonoid açısından kekik ve yaban nanesinde en yüksek aktiviteyi Mazgirt bölgesi gösterirken, kenger de ise Hozat bölgesi göstermiştir. Toplam fenolik madde açısından ise kekikte ve yaban nanesinde Hozat bölgesi, kenger de ise Mazgirt bölgesi farklılık göstermiştir.

Total antioksidan madde açısından kekik ve kenger bitkilerinde bölgelere göre bir farklılık gözlenmemiş, yaban nanesinde ise Tunceli merkezin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bölgesel farklılık gözetmeksizin üç bitkinin karşılaştırılmasının yapıldığı zaman ABTS ve fenolik madde bakımından kekik, Süperoksit radikal giderme aktivitesi ve toplam flavonoid içeriği bakımından yaban nanesi, DPPH ve total antioksidan içerik bakımından ise yaban nanesi ve kekik bitkilerinin yüksek aktivite gösterdikleri görülmüştür (Tablo 3.4). Altıok vd. (2006)'leri tarafından sumak, nane, kırmızı biber, karabiber ve kekiğin toplam fenolik madde içeriğinin gallik asit eşdeğer cinsinden incelendiği çalışmada en yüksek aktiviteye önce sumak sonra nane'nin sahip olduğu ve kekiğin nane'ye oranla çok daha düşük bir fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Fenolik madde içeriğinin gallik asit eşdeğer cinsinden incelendiği çalışmamızda ise kekiğin yaban nanesi ve kengere göre yüksek oranda fenolik madde içermesi yukarıdaki çalışma ile uyum göstermemektedir. Aynı şekilde Altıok vd. (2006)'nin yaptıkları çalışmada total antioksidan kapasite açısından sumak ve nane yüksek aktivite, kekik ise çok düşük bir aktivite göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise, nane ve kekiğin aynı oranda antioksidan aktivite göstermesi yukarıdaki çalışma ile uyum göstermemektedir. Sonuçlardaki bu farklılığın sebebi bitkilerin yetiştirildikleri bölgelerin farklılığından, dolayısıyla toprağın mineral madde içeriğinin yani yapısının farklılığından kaynaklanabileceği fikrini akla getirmektedir.

Antioksidan özellik gösteren birçok bitki ve baharat *labiatae* familyasına aittir. *Labiateae* familyasına ait cinsler özellikle terpenik bileşikler (mono-,di-,triterpenler) flavonoid, fenolik asitleri içermesi nedeniyle önemli fizyolojik aktivitelere (antioksidan ve

antimikrobiyel) sahiptirler. Bitkinin yaprak, çiçek ve odunsu kısımlarında bulunan flavonoidler ve fenolik bileşikler, lipidlerin, karbonhidratların ve proteinlerin serbest radikallerce okside olmalarını engellemek amacıyla aromatik halkalarındaki hidroksil grubunda bulunan hidrojeni verebilmektedirler (Singhal, 2001; Perez, 2006; Çoban ve Patır, 2010).

Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapısındaki sekonder komponentlerin miktarıyla yakından ilişkilidir. Bu komponentlerin miktarı bireysel (morfojenetik, ontogenetik, diurnal ve ekolojik faktörler), genetik ve genom farklılıklarından dolayı bitkiden bitkiye değişmektedir (Ceylan, 1995; Önenç ve Açıköz, 2005).

Türkiye’de yetişen ve yetiştirilen 31 çeşit aromatik bitkinin antioksidan etkisini ayçiçeği yağında inceleyen Akgül ve Ayar (1993), en güçlü antioksidan etkiye biberiyenin sahip olduğunu ve bunu sırasıyla adaçayı, sumak, kekik, mercanköşk ve zahterenin takip ettiğini belirlemişlerdir (Önenç ve Açıköz, 2005).

Biberiyenin antioksidan etkisinin; öncelikli olarak türe, varyetesine, hasat zamanına, işlemin tipine ve en önemli faktörlerden olan gelişme ortamının çevresel ve ekolojik karakteristiklerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Kırıcı ve İnan, 2002; Çoban ve Patır, 2010). Yapmış olduğumuz çalışmada da, aynı bitki türünün farklı bölgelere göre birbirlerinden farklı sonuçlar vermesi, yukarıda bahsedilen faktörlerden biri veya birkaçının etkili olabileceği fikrini doğrulamaktadır.

**Tablo 3.1** Tunceli Yöresindeki Kekik Bitkisinin Antioksidan Seviyeleri

	<b>DPPH</b> (%)	<b>ABTS</b> (%)	<b>SOR</b> <b>Giderme</b> (%)	<b>Toplam</b> <b>Flavonoid</b> (mg GAE/kg)	<b>Toplam</b> <b>Fenolik</b> (mg GAE/kg)	<b>Total</b> <b>Antioksidan</b> (mmolTrolox Equiv./L.)
<b>Pertek</b>	71,14±1,96 <sup>b</sup>	84,67±1,99 <sup>b</sup>	0,60±0,01 <sup>d</sup>	135,87±4,62 <sup>b</sup>	421,87±7,21 <sup>b</sup>	3,63±0,47 <sup>a</sup>
<b>Mazgirt</b>	84,32±0,76 <sup>d</sup>	94,91±1,07 <sup>c</sup>	0,96±0,00 <sup>a</sup>	326,62±6,48 <sup>c</sup>	490,62±43,30 <sup>c</sup>	4,07±0,61 <sup>a</sup>
<b>Merkez</b>	61,26±0,40 <sup>a</sup>	79,83±1,56 <sup>a</sup>	0,40±0,01 <sup>c</sup>	88,19±10,42 <sup>a</sup>	343,75±9,02 <sup>a</sup>	3,78±0,26 <sup>a</sup>
<b>Hozat</b>	92,58±0,13 <sup>c</sup>	99,31±0,44 <sup>d</sup>	0,77±0,02 <sup>b</sup>	291,89±9,66 <sup>d</sup>	1075,0±23,45 <sup>d</sup>	4,22±0,08 <sup>a</sup>
<b>Ovacık</b>	76,06±2,64 <sup>c</sup>	91,68±1,38 <sup>c</sup>	0,67±0,01 <sup>c</sup>	193,75±4,87 <sup>c</sup>	306,25±1,80 <sup>a</sup>	3,33±0,35 <sup>a</sup>

\*: Farklı harflerle gösterilen satırlar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

**Tablo 3.2** Tunceli Yöresindeki Kenger Bitkisinin Antioksidan Seviyeleri

	<b>DPPH</b> (%)	<b>ABTS</b> (%)	<b>SOR</b> <b>Giderme</b> (%)	<b>Toplam</b> <b>Flavonoid</b> (mg GAE/kg)	<b>Toplam</b> <b>Fenolik</b> (mg GAE/kg)	<b>Total</b> <b>Antioksidan</b> (mmolTrolox Equiv./L.)
<b>Pertek</b>	6,63±0,05 <sup>c</sup>	22,28±0,35 <sup>a</sup>	0,23±0,01 <sup>a</sup>	54,86±20,97 <sup>b</sup>	55,93±0,00 <sup>c</sup>	3,19±0,07 <sup>a</sup>
<b>Mazgirt</b>	9,79±0,45 <sup>b</sup>	21,74±0,33 <sup>a</sup>	0,31±0,01 <sup>ab</sup>	87,26±5,91 <sup>ab</sup>	153,12±18,04 <sup>a</sup>	3,01±0,02 <sup>a</sup>
<b>Merkez</b>	6,39±0,50 <sup>c</sup>	27,69±5,52 <sup>a</sup>	0,28±0,00 <sup>bc</sup>	6,5±6,12 <sup>b</sup>	21,56±1,80 <sup>a</sup>	3,09±0,13 <sup>a</sup>
<b>Hozat</b>	14,10±0,43 <sup>a</sup>	30,06±0,81 <sup>a</sup>	0,32±0,00 <sup>a</sup>	111,34±9,56 <sup>a</sup>	99,68±7,21 <sup>b</sup>	3,20±0,13 <sup>a</sup>
<b>Ovacık</b>	6,57±0,05 <sup>c</sup>	25,50±1,13 <sup>a</sup>	0,28±0,01 <sup>c</sup>	71,99±11,23 <sup>ab</sup>	55,93±3,60 <sup>c</sup>	2,89±0,04 <sup>a</sup>

\*: Farklı harflerle gösterilen satırlar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

**Tablo 3.3** Tunceli Yöresinde Bulunan Yaban Nanesinin Antioksidan Seviyeleri

	<b>DPPH (%)</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>SOR Giderme (%)</b>	<b>Toplam Flavonoid (mg GAE/kg)</b>	<b>Toplam Fenolik (mg GAE/kg)</b>	<b>Total Antioksidan (mmolTrolox Equiv./L.)</b>
<b>Pertek</b>	71,14±1,96 <sup>d</sup>	84,67±1,99 <sup>c</sup>	0,60±0,01 <sup>d</sup>	135,87±4,62 <sup>bc</sup>	421±7,21 <sup>b</sup>	3,88±0,24 <sup>ab</sup>
<b>Mazgirt</b>	84,32±0,76 <sup>b</sup>	94,91±1,07 <sup>b</sup>	0,96±0,00 <sup>a</sup>	326,62±6,48 <sup>a</sup>	490±43,30 <sup>b</sup>	3,92±0,01 <sup>ab</sup>
<b>Merkez</b>	61,26±0,40 <sup>e</sup>	79,83±1,56 <sup>d</sup>	0,40±0,01 <sup>e</sup>	88,19±10,42 <sup>c</sup>	343±9,02 <sup>c</sup>	4,09±0,11 <sup>a</sup>
<b>Hozat</b>	92,58±0,13 <sup>a</sup>	99,31±0,44 <sup>a</sup>	0,77±0,02 <sup>b</sup>	291,9±0,66 <sup>a</sup>	1075±23,45 <sup>a</sup>	3,52±0,12 <sup>b</sup>
<b>Ovacık</b>	76,06±2,64 <sup>c</sup>	91,68±1,38 <sup>b</sup>	0,67±0,01 <sup>c</sup>	160±36,33 <sup>b</sup>	306,25±1,80 <sup>c</sup>	3,59±0,01 <sup>b</sup>

\*: Farklı harflerle gösterilen satırlar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

**Tablo 3.4** Tunceli Yöresindeki Kekik Kenger ve Yaban Nanesin Antioksidan Seviyeleri

	<b>DPPH (%)</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>SOR Giderme (%)</b>	<b>Toplam Flavonoid (mg GAE/kg)</b>	<b>Toplam Fenolik (mg GAE/kg)</b>	<b>Total Antioksidan (mmolTrolox Equiv./L.)</b>
<b>Yaban Nanesi</b>	73,43±4,29 <sup>a</sup>	78,83±3,20 <sup>c</sup>	1,07±0,11 <sup>a</sup>	520,69±37,16 <sup>a</sup>	299,37±54,89 <sup>b</sup>	3,81±0,07 <sup>a</sup>
<b>Kekik</b>	77,07±2,93 <sup>a</sup>	90,08±1,94 <sup>a</sup>	0,68±0,05 <sup>b</sup>	200,60±25,58 <sup>b</sup>	527,50±75,60 <sup>a</sup>	3,80±0,13 <sup>a</sup>
<b>Kenger</b>	8,69±0,80 <sup>b</sup>	25,45±1,28 <sup>b</sup>	0,05±0,01 <sup>c</sup>	78,19±6,95 <sup>c</sup>	177,25±64,02 <sup>b</sup>	3,06±0,04 <sup>b</sup>

\*: Farklı harflerle gösterilen satırlar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).



Biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon incelendiği zaman (Tablo 3.5);

DPPH ile ABTS arasında yüksek; SOR, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivite arasında orta düzeyde pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. ABTS ile SOR, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivite arasında orta, fenolik madde içeriği arasında ise zayıf düzeyde pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. SOR ile flavonoid içeriği arasında orta; antioksidan aktivite arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Flavonoid içeriği ve fenolik madde içerikleri ile antioksidan aktiviteler arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon olduğu görülmüştür.

**Tablo 3.5** Tunceli Yöresinde Toplanan Aromatik Bitkilerin (Kekik, Kenger, Yaban Nanesi) Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon

	<b>DPPH (%)</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>SOR Giderme (%)</b>	<b>Toplam Flavonoid (mg GAE/kg)</b>	<b>Toplam Fenolik (mg GAE/kg)</b>	<b>Total Antioksidan (mmolTrolox Equiv./L.)</b>
<b>DPPH (mg/ml)</b>	1	,896**	,543**	,689**	,293	,628**
<b>ABTS (mg/ml)</b>	,896**	1	,535**	,510**	,405**	,644**
<b>SOR Giderme (mg/ml)</b>	,543**	,535**	1	508**	,015	,496**
<b>Toplam Flavonoid (mg/ml)</b>	,689**	,510**	,508**	1	,084	,349*
<b>Toplam Fenolik (µgQEs/g)</b>	,293	,405**	,015	,084	1	,412**
<b>Total Antioksidan (mmolTrolox Equiv./L.)</b>	,628**	,644**	,496**	,349*	,412**	1

\*\* P<0.01, \* P<0.05

#### 4. SONUÇ

Serbest radikaller doku hasarı, kalp-damar hastalıkları, kanser gibi pek çok hastalığın ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır. Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda okside edilebilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan veya engelleyen yani oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir.

Günümüzde gıdada doğal katkı maddelerinin kullanılmasının yaygınlaşması ile birlikte dünya üzerinde bitkilerde bulunan antioksidanlara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde farmasotik ürünlerin pahalı oluşundan dolayı bazı sağlık sorunlarının çözümünde bitkisel ürünlerle tedavi alternatif olarak kullanılmaktadır. Yurdumuzda ve yöremizde de aktivitesi bilinmeyen pek çok bitki kullanılmaktadır.

Türkiye'de ve ilimizde de yaygın olarak tüketilen kenger, yabani nane ve kekik türlerinde antioksidan etkilerinin fazla olduğu, insan sağlığına faydalı başka etkilerinin de olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda daha detaylı ve çok yönlü araştırmalar yapılması bilimsel açıdan fayda sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akgül, A. and Ayar, A.**, 1993. Yerli baharatların antioksidan etkileri. *Türk J. Agric.For.*, **17**, 1061-1068.
- Akkuş, İ.**, 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Altıok, D., Alyiok, E. ve Bayraktar, O.**, 2006. Fonksiyonel gıda üretiminde kullanılan bazı baharatların antioksidan kapasiteleri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*. 24-26 Mayıs, Bolu.
- Anon, 2005.** Cooking with herbs for health, <http://health.nzoom.com/health-detail/02811194282-399-40400.html>, 25 Temmuz 2005.
- Avsian-Kretchmer, O., Eshdat, Y., Gueta-Dahan, Y. and Ben-Hayyim, G.**, 1999. Regulation of stressinduced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. *Planta*, **209**, 469-477.
- Baladura, E. ve Şimşek, B.**, 2013. Doğal antioksidanlar ve süt ve süt ürünlerinde kullanımı. *U.Ü Ziraat Fak. Derg.*, **27(2)**, 155-162.
- Baskın, S.I. and Salem, H.**, 1997. Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis, pp 79-120.
- Basu, H.N., Del Vecchio, A.J., Flider, F. and Orthoefer, F.T.**. 2001. Nutritional and potential disease prevention properties of carotenoids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78(7)**, 665-675.
- Bera, D., Lahiri, D. and Nag, A.**, 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food Eng.*, **74**, 542-545.
- Bilaloğlu, G.V. ve Harmandar, M.**, 1999. Flavonoidler. Aktif Yayınevi, İstanbul, 334-354.
- Blois, M. S.**, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **26**, 1199-1200.
- Carr, A.C., Zhu, B.Z. and Frei, B.** 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha- tocopherol (vitamin E). *Circ. Res.*, **87**, 349-354.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J.**, 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.*, **10(3)**, 178-182.

- Ceylan, A.**, 1995. Tıbbi bitkiler I. E. Ü. Zir. Fak. Yayın no:312.
- Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J.P., Pommery, J., Wallet, J.C. and Gaydou, E.M.**, 1996. Antioksidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radic. Biol. Med.*, **20(1)**, 35-43.
- Çaylak, E.**, 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araşt. Derg.*, **9(1)**, 73-83
- Çimen, M.B.Y.**, 1999. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klin. Tıp Bilim. Derg.*, **19**, 296-304.
- Çoban, Ö. ve Patır, B.**, 2010. Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Elect. J. Food Techn.*, **5(2)**, 7-19.
- Diplock, A.** 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: *Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series*, **59**, p., Belgium.
- Elliot, J.G.**, 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* **53(2)**, 46-48.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.**, 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, *Kastamonu Üniv. Orman Fak. Derg.*, **11(1)**, 52-67.
- Fiorentino, A., Ricci, A., Dabrosca, B., Pacifico, S., Golino, A., Piccolella, S. and Monaco, P.**, 2008. Potential food additives from *Carex distachya* roots. *J. Agric. and Food Chem.*, **56**, 8218-8225
- Fletcher, R.S., Slimmon, T., McAuley, C.Y. and Kott, L.S.**, 2005. Heat stress reduces the accumulation of rosmarinic acid and the total antioxidant capacity in spearmint. *J. Sci. Food Agric.*, **85**, 2429-2436.
- Gey, K.F., Puska, P., Jordan, P. and Moser, U.K.**, 1991. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 326-334.
- Gezgin, D.**, 2006. Bitki Mitosları. Sel Yayıncılık.
- Gökalp, N.**, 2006. Doğal antioksidanlar. Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y.**, 2006. Algal antioksidanlar. *E.Ü Su Ürün. Derg.*, **23**, 85-89.

- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adigüzel, A. ve Ozkan, H.,** 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extarct from *Mentha longifolia* L. ssp. Longifolia. *Food Chem.*, **103**, 1449-1456.
- Gülcin, İ., Oktay, M., Küfreviöglu O.I. and Aslan, A.** 2002. Determination of antioxidant activity of Lichen *Ceîraria islandica* (L). *Ach. J. Ethnopharm.*, **79** (3), 325-329.
- Hallıwell, B., Gutteridge, J.M.C.,** 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *In: Methods in Enzymology*, **186**, 1-85.
- Hudson, B.J.F.,** 1990. Food antioxidants, Elseiver Applied Science, London and New York.
- İşbilir, S.,** 2008. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivtelerinin incelenmesi. *Doktora Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A. and Prior, R.L.,** 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **47(11)**, 4638-4644
- Kaur, C. and Kapoor, H.C.,** 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **37**,153-161.
- Kırıcı, S. ve İnan, M.,** 2002. Effect of different harvesting time on the essential oil content of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Çukurova conditions. In proceedings of the workshop on agricultural and quality aspects of medicinal and aromatic plants (Ed. M. ÖZGÜVEN) May 29- June 01-2001 Adana.
- Koca, N. ve Karadeniz, F.** 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Müh. Derg.*, **6**, 32- 37.
- Koca, N. ve Karadeniz, F.,** 2005. Gıdalardaki dogal antioksidan bileşikler. *Gıda*, **30(4)**, 229-236.
- Koçyiğit, M.,** 2005. Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Lamb, C. and Dixon, R.A.,** 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **48**, 251-275.

- McNeil, J.J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M.I., McCarty, C.A. and Taylor, H.R.**, 2004. Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Ophthalmology*, **111**, 75-84.
- Miller, E.R., Pastor-Barriuso, R. and Dalal, D.**, 2005. Meta-analysis: highdosage Vitamin E supplementation may increase all- cause mortality. *Annu. Inter. Med.*, **142**, 37-46.
- Nawar, W.W.**, 1985. Lipids. *Food Chemistry*, OR Fennema (ed), pp. 139-244, *Marcel Dekker Inc.*, New York.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y.** (Ed.) 2002. *İnsan Biyokimyası*, *Palme Yayıncılık*, Ankara.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K.** 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.*, **50(11)**, 3122-3128.
- Önenç, S. ve Açıkgöz, Z.**, 2005. Aromatik Bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, **46(1)**, 50-55.
- Özçelik, H. ve Balabanlı, C.**, 2005. Burdur ilinin tıbbi ve aromatik bitkileri. *1. Burdur Sempozyumu*, 16 – 19 Kasım 2005, Burdur, **Cilt 1**: 1127-1137.
- Öztürk, M., Öztürk, F., Duru, M.E. ve Topçu. G.**, 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.*, **103**, 623-630.
- Paganga, G., Miller, N. and Rice-Evans, C.A.**, 1999 The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radic. Res.*, **30**, 153-162.
- Perez- Mateos, M., Lanier, T.C. and Boyd, L.C.**, 2006, Effects of rosemary and green tea extracts on frozen surimi gels fortified with omega-3 fatty acids. *J. S. Food Agric.*, **86**, 558–567.
- Proteggente, A.R., Rehman, A., Halliwell, B. and Rice-Evans, C.A.**, 2000. Potential problems of ascorbate and iron supplementation: prooxidant effect in vivo? *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, **277**, 535-540.

- Pszczola, D.E.**, 2001. Antioxidants: From preserving food quality to quality of life. *Food Tech.*, **55(6)**, 51-59.
- Rang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M. and Lai, P.Y.**, 2006. Distribution of 127 Edible plant species for antioxidant activities by two assays. *J. Sci. Food Agric.*, **86**, 2395-2403.
- Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R., Akoh, C.C. and Min, D.B.**, 2002. *Food lipids. Chem. Nutr. Biotech.*, New York: Marcel Dekker Inc; p. 489-516.
- Rice-evans, C.**, 1999. Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. Chapter 16, p. 239-253, *In: Antioxidant food supplements in human health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.
- Ross, J.A. and Kasum, C.M.**, 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.*, **22**, 19-34.
- Seven, A. and Candan, G.**, 1996. "Antioksidan savunma sistemleri." *Cerrahpaşa Tıp Derg.*, **27(1)**, 41-50.
- Singhal, R. S., Kulkarni P. R. and Rege, D. V.**, 2001, University of mumbai handbook of herbs and spices, Volume 1, (K. V. Peter (ed.)), p: 22-34. Woodhead Publishing Limited. England
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M.**, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.*, **299**, 152-178.
- Skrede, G., Bryhn Larsen, V., Aaby, K., Skivik Jorgensen, A. and Birkeland, S.E.**, 2004. Antioxidative properties of commercial fruit preparations and stability of bilberry and black currant extracts in milk products. *J. Food Sci.*, **69**, 351-356.
- Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. and Ameida, L.M.**, 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radic. Res.*, **26**, 469-478.
- Stahl, W. and Sies, H.**, 1999. "Carotenoids: Occurance, biochemical activities, and bioavailability." Chapter 13, p.183-202 *In: Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.
- Stahl, W. and Sies, H.**, 2003. "Antioxidant activity of carotenoids." *Mol. Aspects Med.*, **24**, 345-351.
- Tepe, B., Eminagaoglu, O., Akpulat, H.A. and Aydin, E.**, 2007. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata*

(L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chem.*, **100**, 985-989.

**Turhan, S. ve Üstün, Ş.**, 2006. Doğal antioksidanlar ve gıdalarda kullanımı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Ondokuz Mayıs Üniv., Bolu, 24-26 Mayıs, s. 273-276.

**Türkoğlu, S., Çelik, S.**, 2010. *Pistacia terebinthus*, *Salvia multicaulis*, *Morus alba*'nın kapasitelerinin belirlenmesi ve oksidatif stres oluşturulmuş ratlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

**URL-1.** <http://www.mustafaaltinisik.org>, 16 Ekim 2014.

**URL-2.** <http://www.sifalibitkiler.us/archives/566>, Kekik, 16 Ekim 2014.

**URL-3.** <http://www.sifalibitkileriniz.com>, Şifalı Bitkiler, 16 Ekim 2014.

**URL-4.** <http://mumcicegim.blogcu.com/yaban-nanesi>, Yaban Nanesi, 16 Ekim 2014.

**Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E. and Vasiliadou, S.**, 1997. Effectiveness of natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Z. Lebensm Unters Forsch A*, **205**, 93-96.

**Yu, L.L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M.**, 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1619-1624.



## **ÖZGEÇMİŞ**

1984 yılında Ardahan’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Hatay’ın İskenderun İlçesinde tamamladım. 2008 yılında Adana Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi’nin Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2009 da Ankara Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesinden Pedagogik Formasyon Eğitimi aldım. 2010 yılında Tunceli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladım ve halen devam etmekteyim.