



GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİRESUN ÇEVRESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN  
*AEGOPODIUM PODAGRARIA* (MENDEK) BİTKİSİNİN  
BAZI AĞIR METAL VE İZ ELEMENTLERİNİN VE  
TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ

SEVİLAY KABLAN

ARALIK 2016

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürünün Onayı

Doç. Dr. Cihangir AKDEMİR

...../...../.....

\_\_\_\_\_

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Yrd.Doç.Dr. Murat USTA

\_\_\_\_\_

Anabilim Dalı Başkanı V.

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Ayşegül ÇEBİ

\_\_\_\_\_

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Ayşegül ÇEBİ

Doç.Dr.Birşen BİLGİCİ

Yrd.Doç.Dr.Murat USTA

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ÖZET

Giresun Çevresinde Yayılış Gösteren *Aegopodium podagraria* (Mendek)

Bitkisinin Bazı Ağır Metal ve İz Elementlerinin ve

Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

KABLAN, Sevilay

Giresun Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşegül ÇEBİ

ARALIK 2016, 93 Sayfa

Bu çalışmada Giresun ilinde yayılış gösteren *Aegopodium podagraria* (Mendek) bitkisinin ağır metal ve iz elementleri ile total antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. 2016 yılı Mart ile Mayıs ayları arasında farklı rakımlardaki 5 istasyondan bitki örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler kurutularak etanol ve metanol ile ekstraksiyon yapılmıştır. ICP-MS yöntemi ile ağır metal ve iz elementlerinin miktarları belirlenmiştir. Total antioksidan kapasitesi ferrik tiyosiyonat yöntemine göre ölçülmüştür. Bitki ekstraktlarındaki total antioksidan kapasitesi standart olarak bilinen antioksidanlar olan BHT ve troloks ile karşılaştırılmıştır. Ölçümler 12 saatte bir üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

ICP-MS yöntemine göre Cr en yüksek değeri 6,024ppm ile 3. İstasyonda,, Mn en yüksek değeri 83,498ppm ile 5. istasyonda, Fe en yüksek değeri 153,785ppm ile 5.istasyonda, Ni en yüksek değeri 50,149ppm ile 5. istasyonda, Cu en yüksek değeri 24,727ppm ile 3. istasyonda, Zn en yüksek değeri 105,418ppm ile 3. istasyonda, As en yüksek değeri 2,208ppm ile 1. istasyonda, Pb en yüksek değeri 2,568ppm ile 1. istasyonda tespit edilmiştir.

Ferrik tiyosiyonat yöntemine göre hazırlanan ekstraksiyon işleminde çözelti olarak metanol ve etanol kullanılmıştır. Metanol ekstraktında 1. istasyon, 2. istasyon,

4. istasyon ve 5. istasyon 84. saatte yüksek inhibisyon göstermiş olup, 3. istasyon ise 96. saatte yüksek inhibisyon göstermiştir. Etanol ekstraktında ise tüm istasyonlar 12. saatte yüksek inhibisyon göstermiştir.

Giresun çevresinde yetişen ve halk arasında tüketilen *Aegopodium podagraria* bitkisi yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Çevre kirliliğinden uzak bölgelerden toplandığında toksik ağır metal seviyesi düşük olduğundan güvenle tüketilebilecek bir besin olduğu söylenebilir.



**Anahtar Kelimeler:** Total Antioksidan, Ağır Metal, İz Element, Mendek, *Aegopodium podagraria*.

## ABSTRACT

Determination of Some Heavy Metals and Trace Elements  
and Total Antioxidant Capacity of *Aegopodium podagraria* (Mendek)

Plant Spreading around Giresun

KABLAN, Sevilay

Giresun University

Institute of Health Sciences

Department of Medical Biochemistry, Master Thesis

Supervisor: Assoc.Prof.Ayşegül ÇEBİ

December 2016, 93 pages

In this study, heavy metals and trace elements and total antioxidant capacity of *Aegopodium podagraria* (Mendek) plant from Giresun province have been determined. Five different stationary plant samples from different altitudes were collected between March-May 2016. Collected plant samples were dried and then extracted by ethanol and methanol. Heavy metals and trace elements were determined by ICP-MS. The total antioxidant capacity of plant extracts was determined according to the ferric thiocyanate method comparing with BHT and trolox known as standard antioxidant. Measurements were made in triplicate for 12 hours.

According to ICP-MS method, the highest value of Cr is 6,024ppm at 3. station, the highest value of Mn is 83,498ppm at the 5th station, the highest value of Fe is 153.785 ppm at the 5th station, the highest value of Ni is 50,149 ppm at the 5th station, the highest value of Cu is 24,727 ppm at the 3rd station, the highest value of Zn is 105,418ppm at the 3rd station, the highest value of As is 2,208ppm in the 1st station, the highest value of Pb is 2,568ppm in the station 1st

Methanol and ethanol were used as solvent for extraction procedure according to ferric thiocyanate method. Collected samples from stations of 1th, 2th,

4th and 5th had high inhibition level at 84th hour, whereas the samples from 3rd station had high inhibition level at 96th hour for methanol extracts. However, all stations showed high inhibition for ethanol extracts.

*Aegopodium podagraria* which grows round of Giresun and is consumed widely has high antioxidant activity. When it is collected some regions far from environmental pollution, it can be confidentially consumed due to the decrease toxic heavy metal levels.



**Key Words:** Antioxidant, Total Antioxidant, Heavy Metals, Trace Elements,  
Mendek, *Aegopodium podagraria*

## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sűresince deęerli bilgi ve deneyimleriyle ile bana rehber olan deęerli hocam sayın Doç. Dr. AyŐegűl ÇEBİ'ye teŐekkűr ederim.

Lisans ve yűksek lisans eęitimim sűresince yardımlarını esirgemeyen, hiçbir zaman desteęini eksik etmeyen niŐanlım Uzm. Biyolog İsmail YILDIZ'a çok teŐekkűr ederim.

Laboratuvar çalıŐmalarımda bilgilerinden yararlandıęım, lisans ve yűkseklisans űęrenimim boyunca her zaman destek olan ArŐ.Gör.Dr. Tamer AKKAN'a çok teŐekkűr ederim.

Őęrenim hayatım boyunca benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bu gűnlere gelmemde bűyűk pay sahibi olan annem Nilgűn KABLAN ve babam Őevket KABLAN'a çok teŐekkűr ederim.

SAĖ-BAP-C-200515-02 Proje numaralı bu çalıŐmaya destek veren Giresun Ŭniversitesi Bilimsel AraŐtırma Projeleri Koordinatűrlűęű'ne teŐekkűr ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLOLAR DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER DİZİNİ.....	XII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIV
1.GİRİŞ.....	1
2.AĞIR METALLER VE İZ ELEMENTLER.....	5
2.1.Ağır Metallerin İnsan Sağlığına Etkileri.....	5
2.1.1.Bakır (Cu).....	8
2.1.2.Mangan (Mn).....	9
2.1.3.Demir (Fe).....	10
2.1.4.Çinko (Zn).....	10
2.1.5.Nikel (Ni).....	11
2.1.6.Kadmiyum (Cd).....	12
2.1.7.Kurşun (Pb).....	13
2.1.8.Krom(Cr).....	13
2.2.Bitkilerde Ağır Metallerin Birikimi.....	13
2.3.Bitkilerin Ağır Metallere Olan Tepkileri.....	14
2.4.Ağır Metallerin Çevreye Yayılımı.....	14
2.5.Bitkilerde Metal Alınımı.....	15
2.6.Bitkilerde Metal Taşınımı.....	15
2.7.Aşırı Metal Alınımının Bitkilerde Yol Açtığı Zararlar.....	16
2.8.Metallerin Serbest Radikal Oluşumu Üzerindeki Etkileri.....	16
2.9.Bitkilerin Metal Zararından Korunma Mekanizmaları.....	17
2.9.1.Metal Alınımından Sakınma.....	17
2.9.2.Antioksidant Savunma Sistemi.....	18
2.10.Oksidatif Stres.....	19
2.11.Serbest Radikaller.....	20
2.12.Serbest Radikallerin Kaynakları.....	22
2.12.1.Endojen Kaynaklar.....	22



2.12.2.Eksojen kaynaklar .....	23
2.13.Serbest Radikallerin Etkileri .....	23
2.13.1.Serbest radikallerin lipidlere etkileri.....	24
2.13.2.Serbest radikallerin proteinlere etkileri.....	25
2.13.3.Serbest radikallerin nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri.....	25
2.13.4.Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi .....	26
2.14. Antioksidanlar .....	27
2.15. Antioksidanların sınıflandırılması.....	28
2.15.1. Enzimler.....	29
2.15.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	29
2.15.1.2.Katalaz.....	29
2.15.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	30
2.15.1.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-Red).....	30
2.15.1.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST).....	30
2.15.2. Yağda ve suda çözünen radikal tutucular .....	31
2.15.2.1. $\alpha$ -tokoferol.....	32
2.15.2.2. Karotenoidler.....	33
2.15.2.3. Flavonoidler.....	34
2.15.2.4. Glutasyon (G-SH).....	34
2.15.2.5. Ürik Asit.....	35
2.15.2.6. Bilirubin.....	35
2.15.2.7. Melatonin.....	36
2.15.2.8. $\alpha$ -Lipoik Asit.....	36
2.15.3. Metal iyonlarını bağlayan proteinler.....	37
2.16. Eksojen antioksidanlar.....	37
2.17.Canlılarda Antioksidan Savunma Sistemleri.....	37
2.18.Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi.....	38
2.19. Gıdalar ve Antioksidanlar .....	39
2.19.1. Gıdalarda doğal olarak bulunan antioksidan maddeler.....	39
2.19.2. Gıdalara ilave edilen sentetik antioksidanlar .....	40
2.20.Antioksidanların Metabolizma ve Hastalıklar Üzerindeki Etkileri.....	43
2.20.1.Kanser .....	43
2.20.2.Kardiyovasküler Hastalıklar .....	44
2.20.3.Yaşlanma .....	44

2.20.4.Bağışıklık Sistemi .....	44
2.20.5.Işığa Karşı Koruma .....	45
2.20.6.Katarakt.....	45
2.20.7.Toksikantlar .....	45
2.20.8.Metabolizma Bozuklukları .....	45
2.20.9.Hiperoksijenasyon .....	45
2.21. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları .....	46
3. MATERYAL VE METOD .....	49
3.1.Materyal.....	49
3.2.Kullanılan Kimyasal Çözeltiler .....	49
3.3.Metod.....	50
3.3.1.ICP-MS Yöntemi ile Ağır Metal ve İz Elementlerin Ölçümü .....	50
3.3.2. Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi; .....	50
3.3.2.1. Ekstraktların Hazırlanışı.....	50
3.3.2.2. Ferrik Tiyosiyonat Metodu ile Total Antioksidan Kapasitesi Tayini.51	
4.BULGULAR .....	52
4.1.Krom (Cr) .....	53
4.2.Mangan (Mn).....	54
4.3.Demir (Fe) .....	55
4.4.Nikel (Ni) .....	56
4.5.Bakır(Cu).....	57
4.6.Çinko (Zn) .....	58
4.7.Arsenik (As) .....	59
4.8.Kurşun (Pb) .....	60
4.9.Aegopodium podagraria'nın Metanol Ekstraktlarının Total Antioksidan Kapasitesi Bulguları .....	61
4.10.Aegopodium podagraria'nın Etanol Ekstraktlarının Total Antioksidan Kapasitesi Bulguları .....	63
5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....	65
6.KAYNAKLAR .....	69

## TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Ağır Metallere Ait Bazı Değerler .....	5
Tablo 2.2. Ağır Metallerin Farklı Sektörlerdeki Yayılımları.....	7
Tablo 2.3. Bazı serbest radikal türleri .....	22
Tablo 2.4. Organizmada bulunan temel antioksidan savunma sistemleri.....	29
Tablo 2.5. Gıdaları korumada kullanılan bazı sentetik antioksidanlar.....	42
Tablo 2.6. In vitro koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları .....	48
Tablo 4.1. ICP-MS Ölçüm Sonuçları (ppm) .....	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Aegopodium Podograria bitkisi .....	4
Şekil 2.1. Serbest Radikal ve Reaktiflerin Oluşumu.....	23
Şekil 2.2. Serbest radikallerin hücresel hedefleri.....	24
Şekil 2.3. Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları.....	25
Şekil 2.4. Pürin ve pirimidin bazları üzerine •OH radikalının etkisiyle oluşan ürünler .....	26
Şekil 2.5. Oksidatif strese karşı enzimatik savunma mekanizmaları.....	31
Şekil 2.6. Askorbik Asit ve Dehidro Askorbik Asit .....	31
Şekil 2.7. α-tokoferol .....	32
Şekil 2.8. β-karoten .....	33
Şekil 2.9. Likopen .....	33
Şekil 2.10. Temel flavonoid yapısı .....	34
Şekil 2.11. Glutatyon .....	35
Şekil 2.12. Ürik Asit .....	35
Şekil 2.13. Billirubin.....	36
Şekil 2.14. Melatonin .....	36
Şekil 2.15. Lipoik Asit .....	36
Şekil 2.16. Gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan bazı sentetik antioksidanların formülleri.....	41
Şekil 4.1. Krom Ölçüm Sonuç Grafiği.....	53
Şekil 4.2. Mangan Ölçüm Sonuç Grafiği.....	54
Şekil 4.3. Demir Ölçüm Sonuç Grafiği.....	55
Şekil 4.4. Nikel Ölçüm Sonuç Grafiği .....	56
Şekil 4.5. Bakır Ölçüm Sonuç Grafiği .....	57

Şekil 4.6. Çinko Ölçüm Sonuç Grafiği .....	58
Şekil 4.7. Arsenik Ölçüm Sonuç Grafiği .....	59
Şekil 4.8. Kurşun Ölçüm Sonuç Grafiği .....	60
Şekil 4.9. Linoleik asit peroksidasyonunda farklı istasyonlarda mendek bitkisine metanol ekstratlarının etkisi .....	61
Şekil 4.10. Linoleik asit emisyonunda mendek bitkisinin metanol ekstraktı ile BHT ve troloks % inhibisyonu grafiği.....	62
Şekil 4.11. Linoleik asit peroksidasyonunda farklı istasyonlarda mendek bitkisine etanol ekstratlarının etkisi .....	63
Şekil 4.12. Linoleik asit emisyonunda mendek bitkisinin etanol ekstraktı ile BHT ve ... troloks % inhibisyonu grafiği .....	64

## SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
µm	Mikromilimetre
Al	Aliminyum
As	Arsenik
B	Bor
C	Karbon
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Cl	Klor
cm	Santimetre
cm <sup>3</sup>	Santimetreküp
Co	Kobalt
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Dikromat
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
gr/cm <sup>3</sup>	Gram/Santimetreküp
H <sup>+</sup>	Hidrojen
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
Hg	Cıva
K	Potasyum

kg	Kilogram
L	Litre
m <sup>2</sup>	Metrekare
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
Mn	Mangan
Mo	Molibden
N	Azot
N <sub>2</sub>	Azot Gazı
Na	Sodyum
Ni	Nikel
nm	Nanometre
O	Oksijen
OH	Hidroksil
P	Fosfor
Pb	Kurşun
Ph	Power of Hydrogen
ppm	Part Per Million
S	Kükürt
Si	Silisyum
V	Vanadyum
vb	ve benzeri
Zn	Çinko

## KISALTMALAR DİZİNİ

AAPH	(2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorit)
ABAP	(2,2'-azobis(2-amidinopropan) hidroklorit)
AOT	Aktif Oksijen Türleri
APX	Askorbat Peroksidaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BHA	Bütillendirilmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillendirilmiş Hidroksitoluen
CAC	Codex Alimentarius Commission
CAT	Katalaz Enzimi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDDS	Etilendiamin Disuksinik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ET	Elektron Transferi
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FAO	Food and Agriculture Organisation
FCR	Folin–Ciocalteu reagent
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
FTC	Ferric Thiocyanate
GPX	Guaikol Peroksidaz
HAT	Hidrojen Atomu Transferi
HEM	Hemoglobin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer



LDL	Low Density Lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Hidrojen
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PG	Propil Gallat
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBHQ	Tert-bütil hidroksikinon
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TRAP	Total Radical-trapping Antioxidant Parameter
UV	Ultraviyole
WHO	World Health Organization

## 1.GİRİŞ

İnsanlar, doğaya ve doğada meydana gelen olayları yaşamları süresince merak etmiştir. Toprakta uygun şartlarda çimlenen tohumun bitki organlarını oluşturması, ilk insanların dahi dikkatini çeken önemli konulardan biri haline gelmiştir. Çünkü insanoğlunun yaşamını sürdürebilmesi ve enerji gereksinimini karşılayabilmesi için her zaman bitki yaşamına ihtiyaç duymuştur. Bitkiler ihtiyacı olan gerekli besin elementlerini kökleri yardımıyla topraktan karşılamaktadır. Bu maddeler bitkide buldukları şekilde toprakta da yer aldığı ve bitkilerin bu maddeleri topraktan aldığı düşünülmektedir. Bitki beslenmesinde her besin elementi farklı roller üstlenmiştir, bunların da orantılı bir şekilde bitkiye nüfus etmesi gerekir. Ziraai yönden çok büyük bir değere sahip olan bitkiler, besin elementlerini dışarıdan alırlarken bazı olumsuzluklarla karşılaşmaktadır. Bu olumsuzluklar bitkinin gelişimini ve ömrünün belirlenmesinde önem teşkil etmektedir (1).

Bitkilerin yaşamalarını sürdürebilmeleri için gerekli olan elementlere, “Bitki besin elementleri” adı verilmektedir. Bitki dokularının ölçümlerinde doğada bulunan elementlerin çoğunu bulmak mümkündür. Bitkiler besin iyonlarını alırken her ne kadar seçici olsa da pasif yollarda bitki bünyesine ağır metallerde nüfus etmektedir. Bunun neticesinde bitkilerin yapısında toksik maddelerin birikmesine ve bitkilerle beslenen canlılarda zehir etkisine neden olmaktadır. Çünkü bitkiler yetiştikleri yerlerde bulunan elementlere gereğinden fazla maruz kaldıklarında, kendilerine gerekli olsada olmasada bünyelerine almak zorunda kalırlar. Ancak bu elementlerden 16 tanesi (C, H, O, N, P, K, S, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B, Cl, ve Mo) bütün bitkilerin yapısında bulundurması gereken başlıca besin maddeleridir. Diğer 6 elementin (Co, Al, Na, Si, Ni ve V) ise yalnızca bazı bitkiler veya prosesler için gerekli olduğu söylenebilir (2).

Metaller evrende kendiliğinden meydana gelirler ve bazıları ekosistemin reel parçalarıdır. Zn ve Cu gibi metaller yaşam için gereklidir. Zn, metabolizma olaylarını kontrol eden enzim sistemi için gereklidir. Fakat Pb ve Hg gibi metallerin yararlı bir biyokimyasal fonksiyon üstlendiği bilinmemektedir (3).

Ülkemizde hızla büyüyen nüfus, gelişen sanayileşme ve gün geçtikçe çoğalan trafik yoğunluğundan dolayı oluşan kirlilik düzeyinin artması da diğer birçok

kirletici unsurla birlikte ağır metallerin de çevredeki miktarlarını artmasına sebep olmaktadır. Bilhassa aktif hareket etme kabiliyeti olmayan bitkiler çevredeki kirliliğin artmasından dolayı ağır metallere aşırı maruz kalmakta ve ürün kaybı başta olmak üzere birçok olumsuzlukla karşılaşmaktadır (4).

Doğada karşı karşıya kalınan en önemli sorunlardan biri olan çevre kirliliğinin başlıca nedenleri endüstrileşme ve kentleşme olarak bilinmektedir (5). Son zamanlarda madenlerin, büyük sanayi kuruluşlarının yaydığı gaz ve kimyasal tozların, metal ve kimya fabrikalarının sıklıkla kullandıkları metal içeren malzemelerin toprak ve bitkileri kirlettiği belirtilmektedir (6). Özellikle bu tip ağır metal kirliliğine maruz kalmış olan topraklar, üzerinde yaşayan bitkiler için ciddi bir tehlike arz etmektedir (7).

Bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının gelişimi, ağır metallere maruz kalmış olan topraklardan zorunlu olarak aldıkları elementler sebebiyle olumsuz olarak etkilenmektedir (8). Ağır metaller bu toksik etkileri nedeniyle bitkilerde protein sentezi, fotosentez, su alımı, çimlenme, stoma hareketleri gibi birçok fizyolojik işlevlerin bozulmasına neden olmaktadır (9). Her metalin toksisitesi aynı olmadığı gibi, organizmadan organizmaya da farklılık göstermektedir. Bitkilerdeki olumlu veya olumsuz (toksik) etkiler sadece elementin tipi ve konsantrasyonuna bağlı kalmadığı gibi değişik türlerin genetik esaslı fizyolojik davranışlarına da bağlıdır (10). Bitkilerin çevresel stres faktörlerine karşı olan toleransları bitkinin türüne, stres faktörüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organının yapısına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (8). Bu sebeple bitkilerin bu stres koşullarına verdikleri tepkilerin ve geliştirdikleri adaptasyon mekanizmalarının bilinmesi önemlidir. Bitkilerin ağır metal toksisite tolerans sınırlarının bilinebilmesi için metal tür ve miktarı, yarayışlılığı, zararın büyüklüğü ve türü, ayrıca zarar oluşum süreci göz ardı edilmemelidir. Bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından bu özelliklerin bilinmesi son derece önemlidir (11).

Gerek besinleri gerekse besinleri tüketen insanları serbest radikallerin oksidatif zararlarına karşı koruyan kimyasallara antioksidan denir. Bitkisel gıdalar antioksidan bileşenlerinin en önemli kaynağıdır. Bu nedenle besinsel olarak alınan antioksidanlar genel olarak fitokimyasal antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Gıdalarda doğal olarak bulunan antioksidan bileşenler antioksidan etkilerini; serbest

radikal bağlayıcı, metal selatlayıcı, indirgen ajan veya singlet oksijen tutucu mekanizmaları yoluyla göstermektedir (12).

Canlıların yaşamı için vazgeçilmez olan oksijen, vücutta cereyan eden normal metabolik aktivite ve bazı çevresel sebeplerin etkisiyle ROS'a dönüşerek insan sağlığını olumsuz olarak etkilemektedir(13,14). Canlılar kendilerini serbest radikallerin zararlarına karşı sahip oldukları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleriyle korumaktadır (15,16).

Canlılarda oksidan/antioksidan dengesinin antioksidan aleyhine bozulması oksidatif stres gelişimine neden olmaktadır (17). Son yıllarda yapılan çalışmalar oksidatif stresin yaşlanma başta olmak üzere bazı kanser türleri, Parkinson, katarakt, kardiyolojik rahatsızlıklar, Alzheimer ve diyabet gibi kronik (dejeneratif) hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (18,19).

Organizma serbest radikallere ve bunlardan kaynaklanan olumsuzluklara karşı bir savunma mekanizmasına sahiptir. (20).

İnsanlar için dünya üzerindeki tüm coğrafi bölgelerde bulunan farklı yenilebilir yabancı bitkiler, tarih boyunca önemli bir rol oynamıştır. Savaş ve kıtlık dönemlerinde olduğu gibi bu bitkilerin günümüzde bile insan yaşamında hayatsal önemi bulunmaktadır. Besleyici değerlerine ek olarak, bu bitkiler bazı hastalıklar için tıbbi ilaç olarak kullanılmıştır (7).

Türkiye, çevresinde yer alan birçok ülkeden ılıman kuşak içerisinde yer alması ve sahip olduğu bitki çeşitliliği gibi farklı olan özellikleri ile dikkat çeker. Çünkü Türkiye, bitki türlerinin ana kaynağına coğrafi konumu nedeniyle büyük bir ölçüde sahiptir. Doğadan toplanan bir dizi yabancı bitki, gıda, bitkisel çay gibi amaçlar için kullanılmıştır. Doğu Karadeniz aldığı yüksek miktardaki yağışlar nedeniyle farklı bitki türleri bakımından Türkiye'de bir numaradır. Bu bölgede, doğadan toplanan bitkilerin sayısı ve miktarı oldukça yüksektir. Yabancı yenilebilir bitki türleri yerel açık pazarlarda özellikle ilkbaharın ilk aylarında görülür (21).

*Aegopodium podagraria* 100 cm'e kadar büyüyebilir. Üst yaprakları 3'lü halde geniş ve dişlidir. Bu bitkiler 15-20 dereceli ışınlara maruz kaldıkları için üzerinde birçok böcek türü yaşayabilir (22). Bu bitkide küçük beyaz çiçekler bulunur (23,24).



**Şekil 1.1.** Aegopodium Podagraria bitkisi

Genel olarak nemli topraklarda yetişir. *Apiaceae* (Maydonozgiller) ile yaprakları, çiçekleri ve yetiştirme yerleri ile benzerlik göstermektedir. Tohum dağılımı genellikle karanlık ve gölgeli alan ile sınırlıdır. Fakat *Aegopodium podagraria* yer altında ve geniş alanlarda kolayca yetişebilir ve yayılabilir. Bir kez yerleştirilmiş olan bitki az ışıklı ortamlarda son derece hızlı yayılım göstermekte ve toprak üstünde çeşitli ağaç ekinlerinin büyümesini engellemektedir (25). Uygun koşullarda hızla büyüebilmesi sonucu süs bitkisi, tıbbi ve bitkisel bitki kullanılması için ekilen bu bitki yanlış alanlarda yayılmıştır (26).

Antik Ortaçağ'da yaprakları sebze ve ıspanak olarak tüketilmiştir. Genç yapraklar saksı bitkisi olarak tercih edilmektedir. Bitkinin çiçekli hali en iyi Şubat ayında görülür, Haziran ve Mayıs aylarında ise yaprakları sertleşir. Bitki toplandığında keskin bir koku yayılır (27).

Aynı zamanda kökler ve yapraklar birlikte sıcak su ile muamele edilerek tıbbi bitki olarak gut ve artrit hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Yapraklar yutulduğunda hafif yatıştırıcı ve diüretik etkiye neden olur (28).

## 2.AĞIR METALLER VE İZ ELEMENTLER

Ağır metal terimi, literatüre çevre kirliliği sebebiyle girmiştir. Toksikite ve kirlenme kelimelerine karşı eş anlam içerir. Bu grubun içine 70 kadar element girmekle birlikte ekolojik bakımdan önemli 20 element dikkati çekmektedir (Fe, Mn, Zn, Cu, V, Mo, Co, Ni, Cr, Pb, Be, Cd, Tl, Sb, Se, Sn, Ag, As, Hg, Al ) Bunların bir kısmı( Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, Ni), bitki ve hayvanlar için mikrobeyin maddesi olduğundan, müsaade edilen sınırı aşmadığı müddetçe toksik olarak kabul edilmemektedir(29).

**Tablo 2.1.** Ağır Metallere Ait Bazı Değerler

Element	g/cm <sup>3</sup> özgül ağırlık	Bitki ve hayvan için gereklilik	Kirletici olup olmadığı
Ag Gümüş	10.5	—	K
Cd Kadmiyum	8.5	—	K
Cr Krom	7.2	G	K
Co Kobalt	8.9	G	K
Cu Bakır	8.9	G	K
Fe Demir	7.9	G	K
Hg Civa	13.6	—	K
Mn Mangan	7.4	G	—
Pb Kurşun	11.3	—	K
Mo Molibden	10.2	G	K
Ni Nikel	8.9	G	K
Pt Platin	21.5	—	—
Tl Talyum	11.9	—	K
Sn Kalay	7.3	—	K
U Uranyum	19.1	G	K
V Vanadyum	6.1	G	K
W Tungstem	19.3	G	K
Zn Çinko	7.1	G	K
Zr Zirkon	6.5	—	—

### 2.1.Ağır Metallerin İnsan Sağlığına Etkileri

Kimyacı ve Doktor Paracelsus doğadaki tüm maddelerin aynı zamanda toksik özelliklere sahip olduğunu ve bu sebeple zehir etkisi içerdiğini belirtmiştir. Paracelsus insan vücudunda bulunan maddelerin tedavi edici veya toksik etki edici özelliği arasındaki farkı, o maddenin miktarının belirlediğini ifade etmiştir (30). Aynı durum metaller içinde geçerlidir. Bazı metaller yaşamın sürdürülebilmesi için gerekli

iken bazıları da miktarlarından dolayı toksik etki teşkil etmektedir. Yaşam için vazgeçilmez olan metallerin kabul edilebilir sınırları aştığı zaman toksik etki gösterdiği de bilinmektedir. Örneğin Cu kemik, deri, saç gibi bazı organların temel yapısında bulunmaktadır. Bakır eksikliği çocukluk çağından itibaren önemli sağlık problemlerine yol açmaktadır. Fakat Pb'nin düşük oranda bile alınması insanlar için toksik etkiye neden olmaktadır (31).

Metallerin yeryüzünde kullanılmaya başlanması ile birlikte metallerle ilgili sağlık problemleri de gözlenmeye başlanmıştır. Pb'nun insan sağlığına nasıl etki ettiği günümüzde daha iyi belirlenmiş olsa da insanlığa karşı olan olumsuz etkisi çok eski çağlardan beri biliniyordu. Japonya'nın Minamata körfezinde gözlenen metil cıva salgını, metallerin insan sağlığına nasıl olumsuz etki ettiğini gösteren en belirgin örneklerinden birisidir. 1950'li yıllarda Minamata Körfezinde bulunan fabrikalar, fabrika atıklarını direk denize boşaltmaktaydı. Bu fabrikalardan bazıları katalizatör olarak organik olmayan cıva kullanmaktaydı ve bunun bir kısmı denize dökülmeden önce metilleniyordu. Mikroorganizmalar organik olmayan cıvayı metil cıvaya dönüştürmekte, daha sonra da planktonlar tarafından yakalanmaktadır. Bu planktonlarla beslenen balıklar bünyelerine metil cıvayı almakta ve insanlara da bu balıklar sebebiyle metil cıva geçmekteydi. 1953 yılında bu balıklardan dolayı zehirlenmeler görülmüş ve 46 ölüm gerçekleşmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinde özellikle sanayileşmenin yayılması sebebiyle minamata hastalığının daha çok yayıldığı görülmüştür. Ağır metallerin neden olduğu rahatsızlıklar ileri düzeyde tedavi gerektiren kronik hastalıklar veya kanserlerdir. Bu sebeplerden dolayı oluşan hastalıkların tedavileri ya çok kısıtlıdır ya da genel olarak ölümlü sonuçlanır. Ağır metallerden korunmak, ağır metallerin neden olduğu hastalığın tedavisi için uygulanan yöntemlerden daha çok etkili olduğu düşünülmektedir. Canlıların yaşamları için tehlikeli olan ağır metaller ile temaslarının önlenmesi birincil korunmada asıl amacı oluşturmaktadır. Dünyamızda çevre kirliliğinden dolayı ağır metallerin yoğun bulunduğu kısım yer kabuğudur. Bu sebeple toksik maddelerden korunmanın en birinci yolu onlarla temasın önlenmesidir.(30, 32, 33, 34).

Metal, ısı ve elektiriği ileten genellikle gümüş renginde olan maddelere verilen addır. Metal grubunda ilk başta alkali metaller olmak üzere ağır metallere kadar çok farklı kimyasal özellikler barındıran metaller bulunmaktadır. Doğada

doğal olarak fazla miktarda bulunan ve kolay ulaşılabilen metallerin yanısıra ulaşması zor ve özel işlemler gerektiren metaller de vardır(36). Endütrileşmenin artmasıyla beraber metallerden dolayı oluşan hastalıklar meslek hastalığı olarak adlandırılırken hava, su ve toprak kirliliğinin artmasıyla beraber çevresel salgınların da artması hayatımızı olumsuz olarak etkilemeye devam etmiştir. As, Cr, Pb, Cu, Cd bunlara en önemli örneklerdir. İnsan elinin çevreye hızlı yayılması sebebiyle ağır metaller ekolojik sistemde daha çabuk yayılım göstermiştir. Endüstriyel üretimler arasında ileri gelen termik santraller, cam, çimento, demir-çelik, çöp ve atık çamur yakma tesisleri gibi alanlardır.

**Tablo 2.2.** Ağır Metallerin Farklı Sektörlerdeki Yayılımları

Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir-Çelik San	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

Sanayi kuruluşlarının artması ağır metallerin doğaya daha çabuk yayılmasına neden olmuştur. Tablo 2.2.'de farklı sektörlere ait sanayilerden hangi ağır metallerin doğaya dağıldığını gözlemleyebiliriz. Ağır metallerin bir kısmının atık sulardaki arıtma çamurunda bulunması ve çözünmüş kısımlarının da içme suları, yüzey suları, denizler ve bazı besin kaynaklarına geçmesi sebebiyle çevreye yayılmasına neden olmaktadır. Bu ve buna benzer sebeplerden dolayı çevreye yayılan metaller bitkiler ve hayvanlar üzerinden insanlara ulaşmaktadır. Ağır metallerin en dikkat çekici özelliklerinden biri de vücuttan atılmamaları ve çeşitli dokularda (kemik, yağ dokusu gibi) birikmeleridir. Metaller insan vücuduna solunum, ağız ve deri yolu ile nüfus edebilirler. İnsan vücudundaki toksik etkilerini fizyolojik bozukluklara neden olmak için bir veya birden fazla reaktif gruplarla birleşerek meydana çıkarılırlar (36, 37, 38, 30, 31, 39).

Genel olarak meydana getirdikleri etkileri sistemler açısından incelendiğinde ise; kanserojen ve mutajen olarak yapı taşlarına etki edenler, allerjen olarak etki



edenler, kimyasal reaksiyonlara etki edenler, fizyolojik ve taşınım sistemlerine etki edenler ile spesifik etki edenler olarak söylenebilir(36).

Ağır metaller biyolojik yapılara katılma önemine göre yaşamsal değeri olan ve yaşamsal değeri olmayan olarak ikiye ayrılır. Yaşamsal değeri olan metaller belli bir sınırdan organizma yapısına katılabilirler ve bu metaller biyolojik reaksiyonlara katıldıklarından için düzenli olarak besin yoluyla alınması gerektir. Örnek olarak Cu hayvanlarda ve insanlarda kırmızı kan hücrelerinin ve birçok oksidasyon ve redüksiyon sürecinin en önemli parçasıdır. Aynı zamanda yaşamsal değeri olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonlarda bile vücuda alındığında ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedirler. Örnek olarak, kükürtlü enzimlere bağlanan cıvayı verebiliriz (31,39). Bir ağır metalin yaşamsal değerinin olup olmadığı, dikkate alınan canlıya göre değişmektedir. Örneğin; Ni bitkiler için toksik etmen sayılırken, hayvanlarda iz elementi olarak bulunması gerekir. Ağır metallerin etkisi, bulunduğu konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermektedir (36). Yeryüzünde dağılım özellikleri nedeniyle metaller insan sağlığına etkilerinden dolayı jeoloji ve tıp biliminin buluşma noktası olmuştur. İnsan sağlığına karşı etkileri doktorlar tarafından dikkate alınırken, yaşanan bölgenin jeolojik yapısının, içme suyu ve toprak kalitesini etkileme yönünden de jeoloji mühendisleri tarafından dikkate alınmıştır. Günümüzde doğal kaynaklı kirlilikler hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Ülkemizde de özellikle yaygın olarak bulunan sıg ve başkalaşım geçirmiş kayaların bulunduğu yerlerden gelen sularda bazı toksik metallerin seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir(40,41,42).

### **2.1.1.Bakır (Cu)**

Cu, bitki bünyesinde karbonhidrat, lipit metabolizması ve enzim aktivasyonunda bulunmasından dolayı önemli bir element olarak görülmektedir(43). Bakır kirliliği; insanlardan kaynaklanan hava kirliliği, kanalizasyon atıklarının tarlalarda, bahçelerde gübre olarak kullanılması, zirai ilaçların yaygınlık göstermesi kömür ve maden yataklarından kaynaklanmaktadır. Cu'ın toprakta 100 mg/kg, bitki kuru maddesinde ise 15-30 mg/kg'dan fazla bulunması toksik etki göstermesine neden olur. Cu toksisitesi genel olarak bitki köklerinde meydana gelir ve bitkinin fizyolojik olaylarından olan solunum, hücre membran stabilitesi, fotosentez gibi yapılarının bozulmasına sebebiyet verir(44).

Cu'nun bitki içindeki görevlerine bakıldığında en çok fizyolojik yönden etki gösterdiği görülmektedir. Fotosentez, solunum, karbonhidrat ve hücre duvarı metabolizması, azot kullanımı ve depolanması gibi fizyolojik olaylarda görev aldığı gibi aynı zamanda da bitkinin ksilem damarlarının geçirgenliğini düzenlemekte ve DNA ile RNA'nın üretimini kontrol etmektedir. Bitkideki Cu eksikliği sebebiyle bitki üremesi durur. Hatta bitkilerin hastalıklara karşı direnç göstermesi için gerekli olan mekanizmada rol almaktadır.

Cu miktarının fazla olması bitkilerde toksik etkilere neden olur. Cu fazlalığı nedeniyle bitki renginde koyulaşma, kök yapısında bozulma, doku hasarı gibi fizyolojik değişiklikler gözlemlenmektedir. Bir başka etki ise, DNA'nın hasar görmesi sonucu fotosentez işleminin bozulması, membran geçirimsizliğinde bozulma sonucunda kök hücrelerinde iyon kaybıdır(45).

Cu, çeşitli alanlarda kullanılan bir metal olduğu için bu elementin oluşturduğu kirlilik çok kaynaklıdır. Bu nedenle çevreye yayılımı daha kolay ve kirletme etkisi daha çoktur(46).

Cu toksisitesinin salatalıktadaki fotosentez oranı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 0 ve 10 µg/g Cu bitkiye uygulanmış, bitki yapraklarının Cu stresine karşı oluşturdukları tepkiler büyüme dönemlerine göre farklılık göstermiştir. Fotosentezin olgun yapraklarda genç yapraklara göre daha fazla azaldığı tespit edilmiş, bunun nedeni olarakta olgun yaprakların stomal hareketleri sebebiyle CO<sub>2</sub> asimilasyonunun daha çok azalması olarak belirtilmiştir (47). Bakırın hücre duvarına bağlanması sonucu hücre duvarı esnekliğini bozar ve turgor basıncı azalmaktadır. Böylece köklerden yapraklara doğru Ca taşınımında azalmasına sebep olur(48). Artan bakır dozlarının ürün miktarı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada çeltik bitkisi yetiştirilmiştir. Çalışmada toprakta bulunan Cu miktarı 100mg/kg olduğunda verim %10; 300-500 mg/kg olduğunda verim %50 ve 1000 mg/kg olduğunda ise %90 oranında azaldığı belirtilmiştir(49).

### **2.1.2.Mangan (Mn)**

Bitkilerde bulunan Mn miktarı diğer elementlere nazaran daha çok farklılık gösterir. Bitki yetişme ortamındaki Mn miktarını doğrudan alabildiği gibi bu durum topraktaki organik maddelerin, toprağın asitlik özelliğinin, minerallerinin havalandırılmasının durumuna göre değişiklik gösterir. Bitki yapısında kabul

edilebilir Mn miktarı 20-10000ppm arasında değişiklik gösterir. Mn enzim sisteminin oksidasyon-redüksiyon sistemini aktive ve kontrol edip, Fe ile birlikte klorofil sentezinde görev alır. (50,51).

Toksik ölçülerdeki manganezden en çok zarar gören yapılar büyümekte olan beyin ve diğer sinir sistemi dokularıdır. Mn'ın insan yaşamına nasıl etki ettiğini araştıran ve 2000 yılında California'da bir üniversite konferansında bunu açıklayan David Goodman, bebeklerin tükettiği soyalı mamalarda bulunan Mn düzeyinin bebeklerde dikkat toplama güçlükleri, öğrenememe ve şiddet eylemlerine yol açabileceğini söylemiş ve haklı uyarmıştır. Gerçekten de odaklanma sıkıntısı yaşayan ve mahkum çocuklar üzerinde yapılan saç minerali çalışmasında yüksek dozda Mn ile karşılaşmıştır (52).

### **2.1.3.Demir (Fe)**

Bitki bünyesinde ve topraktaki yapısında en çok bulunan element Fe'dir. Bitki kökleri vasıtasıyla bünyesine iyonik formda yani  $Fe^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  şeklinde alabildiği gibi karmaşık organik tuzlar formunda da yani şelat/kompleks olarak ta alabilmektedir. Bitkilerdeki metabolik olaylarda aktif bulunan  $Fe^{+2}$  dir. Genellikle bitkilerde Fe 20ppm ile 1500ppm arasında bulunur. Klorofil üretiminde hızlandırıcı işlevindedir. Hareketsiz bir element olan Fe sitokrom, oksidaz ve peroksidaz gibi solunum enzimlerinde yer alır(50,51).

### **2.1.4.Çinko (Zn)**

Zn, bitkilerde çok çeşitli ve önemli metabolik faaliyetlerde yer alır. Katıldığı yapılardan dolayı (solunum ve biyolojik membran kararlılığı, enzim aktivasyonu, fotosentez, protein ve karbonhidrat sentezi) ürün kalitesini ve miktarını doğrudan etkilemektedir(52). Endüstride yaygın bir şekilde kullanılan element olmakla birlikte kozmetik, lastik, boya, mürekkep, kopya kağıtları, naylonlar, maden sanayi, muşamba gibi pek çok sanayide de kullanılır.

Zn, sanayi bölgelerinin yaygın olduğu yerlerden bırakılan atık sularla, asit yağmurlarıyla ve kanalizasyon sularıyla toprağa karışır(53). Bitkilerde kabuledilebilir Zn miktarı 5-100ppm arasındadır fakat 400ppm ve üstü toksik etki göstermektedir(54).

Bitkilerde, çinko eksikliğinden ele almak yerine Zn-Fe oranından söz etmek daha doğru olur. Bu iki elementten birinin konsantrasyonunun artması diğerinin azalmasına sebep olur. Bunun nedeni olarak iki elementin bitki bünyesinde deponlamasının konusundaki rekabete dayandığı düşünülmektedir. Buna benzer bir rekabet Zn-Cu arasında da görülür(45).

Zn fazlalığı bitkilerde toksik etkiye neden olur. Bu sebeple fizyolojik olarak; genç yaprakların kıvrılması ve kloroz görülmesi, bitki köklerinin ve sürgünlerinin büyümesinin engellenmesi, kök yapısının küçülmesi gibi olumsuzluklar görülür. Ayrıca klorofil sentezinde azalma ve hücre organellerinin parçalanması da meydana gelir (52).

Yapılan bir çalışmada artan Zn'nun farklı konsantrasyonlarda (1.5mM, 2.0mM ve 2.5 mM) fasulye bitkisinin büyümesi üzerindeki etkisi incelenmiş, kök gövde ve yaprakları kontrol bitkisine göre karşılaştırılmış ve kök (%29, %34, %14), gövde (%26, %30, %33) ve yaprakta (%17, %20, %24) büyümesi yönünden gerilemeler gözlenmiştir.(53).

Yüksek miktarda ki Zn'nun klorofil sentezini etkilemesine neden olarak; bitkide yeteri miktarda Fe bulunduğu halde bitkinin bundan faydalanmasını engellemesi ve klorofil merkezinde yer alan magnezyumun Zn yerine geçmesi gösterilmektedir (55).

### **2.1.5.Nikel (Ni)**

Yaşantımızda kesinlikle gerekli olan elementlerden olan Ni, topraklarda çok az konsantrasyonda bulunur. (43).

Ni çelik, alaşım üretimi, petrol ve elektronik endüstrisinde yaygın olarak kullanılır. Bitkilerde 50mg/kg dan fazla bulunması toksik etki gösterir(54).

Nikel, karmaşık organik tuzlardan olan kilyet bileşiklerini kolaylıkla oluşturdukları için, bitki enzimlerinde ve fizyolojik olarak aktif olan bölgelerindeki ağır metallerle yer değiştirir. Ni üreaz ve birçok hidrogenaz enzimlerinin metal yapı maddesi sayılmaktadır. Bu sebeple Ni miktarı az olan bitkiler üre olarak uygulanan azotlu gübrelere faydalanamadıkları gibi bu tip gübrelere bulunan üre bitkide toksik etkiye neden olmaktadır(43).

### 2.1.6.Kadmiyum (Cd)

Cd'un topraklara karışması fosforlu gübreler, sanayi ve kanalizasyon atıklarının yer katmanına bulaşması, (55). Topraklarda 3mg/kg, bitkilerde ise (kuru formda) 1mg/kg'dan fazlası toksik etki göstermektedir(54). Yapılan bir çalışmada Cd'un toprağa ve bitkiye havadan toz zerresi olarak çökmesi sonucu ulaştığını tespit edilmiş, trafik yoğunluğunun bulunduğu yol kenarlarındaki topraklarda havadan toz zerresinin çökmesi sonucu yılda m<sup>2</sup>'ye 0,2-1.0 mg Cd ulaştığını belirtmişlerdir(55).

Cd saf olarak bulunmadığından doğada da nadiren bulunur(56,57). Bitki yaşamında da daha çok toksik özelliğiyle bilinmektedir(58,59).

Cd, Zn'nun üretiminde de kullanılan bir metaldir. Bu nedenle Zn üretiminde kullanılmaya kadar çevreye çok fazla yayılımı söz konusu değildir. Fakat çevre kirliliğinin artmasıyla Cd hayatımızda ağır metal olarak yerini almıştır. Cd kaynakları, endüstriyel üretim sırasında bacalardan çıkan gazlardan, kömür yakılmasından dolayı oluşan isli dumanlardan, tohum ve endüstriyel üretim esnasında kullanılan gübrelerden oluşmaktadır(60).

Bitkilerde Cd stresi artımı sonucu azot metabolizması enzimlerinin aktivitelerinin azaldığı ve bu sebeple de bitkilerdeki nitrat asimilasyonunun azaldığı belirtilmiştir(61). Yapılan bir çalışmada domates ve fasulye bitkilerine 0-50mM uygulanan CdCl<sub>2</sub> konsantrasyonunun bitki köklerindeki azot metabolizması enzimi olan nitrat redüktazın aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir(62). Yapılan bir başka çalışmada ise kontrol bitkileriyle karşılaştırılan ve 50mM Cd uygulanan domates bitkilerinin yaprak ve köklerinde yer alan nitrat içeriği kontrol bitkilerine nazaran %24-%62 daha az olduğu tespit edilmiştir(63). Bir başka çalışmada ise kontrol bitkisiyle karşılaştırılan ve 0.04mM Cd uygulanan buğday bitkisinin yaprak ve köklerinde nitrat oranı %24 ve %62 oranında düşük olduğu tespit edilmiştir(64). Cd bitkilerin köklerinin gelişimini engellediği için su ve iyon alımını da olumsuz etkilemektedir. Bezelye bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada Cd konsantrasyonunun artması sonucu bitki kök ve sürgünlerinde tutulan Fe ve Mn konsantrasyonunda azalma olduğu belirlenmiştir (65).

### **2.1.7.Kurşun (Pb)**

Pb elementi endüstriyel olarak otomobil endüstrisi, Pb içeren zirai ilaçlar ve tarımsal faaliyetlerde çok sık kullanılması dolayısıyla çevrede çok sık rastlanılmaktadır. Bu element bitkiler için gerekli değildir. Toprakta genellikle 15-40ppm dozunda bulunur ve bu değer normal değer olarak kabul edilir. Fakat 300ppm'i aştığı zaman insan sağlığı açısından tehlike oluşturur(66).

Pb elementi hücre duvarının kararlılığını ve hücre turgorunu olumsuz etkilemesi, yaprakların küçülmesi ve köklerin gelişimini olumsuz etkileyerek bitkinin besin alımını etkilemektedir(67).

Pb, toprağa ve atmosfere farklı yollarla geçiş yapmaktadır. Bu yollar arasında, fabrika bacaları ve trafik kirliliğinden oluşan araç egzoz dumanları, boya sanayisi, petroler, akü ve elektrik sanayi atıkları ve zirai ilaçlar söylenebilir(68,69,70).

Yapılan çalışmalar sonucu çevre kirliliğine neden olan Pb'nin trafik kirliliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir. (71,72).

### **2.1.8.Krom(Cr)**

Cr elementi doğal olarak toprakta bulunur. Bitkilerde (kuru maddede) 100mg/kg üzeri toksik etki göstermektedir. Cam, boya, cila seramik, metalurji ve deri endüstrisinde sıklıkla kullanılır(54). Bitkide Cr değeri toksit değere ulaştığında amilaz aktivitesini ve embriyoya şeker taşınmasını azaltması sonucu proteaz aktivitesi artar ve tohum çimlenmesi engellenir(73).

Cr'un toksik etkisi sonucu bitkinin kök yapısının gelişimini engeller ve bu sebeple bitki yeterli besin alamayarak bitki büyüme ve gelişimi olumsuz etkilenir. Dolayısıyla bu durum tarımsal açıdan verim kaybına ve kalite azalmasına neden olur(74).

Yapılan çalışmalarda Cr'un insanlar üzerinde kanser hastalığına neden olduğu belirtilmiş ve bu kanserojen etki ise özellikle bronş sistemine etkili olduğu tespit edilmiştir(75).

## **2.2.Bitkilerde Ağır Metallerin Birikimi**

Bazı ağır metallerin eser miktarları bile yüksek toksik etki göstermektedir. Özellikle endüstriyel gelişimin artmasından sonra biyosfer kirliliğinin artışı

olmuştur(76). Her bitki kendi ihtiyacı kadar topraktan ağır metalleri alırlar. Her bitki bu ağır metal miktarını farklı miktarda alır. Bu elementler Cd,Fe,Mn,Pb ve Cr içermektedir(77). Bitkilerdeki kabul edilebilir ve tolerans gösterilebilir ağır metal miktarları bitki türlerine göre farklılık gösterir(80).

### **2.3.Bitkilerin Ağır Metallere Olan Tepkileri**

Bitkiler metallerin yoğun olduğu topraklarda büyüebilmeleri için üç temel yol geliştirmişlerdir(81).

**Metal dışlayıcılar;** Yüksek konsantrasyona maruz kalan, hava veya toprak yolu ile bünyesine girmeye çalışan metallerin büyük bir kısmını kontrol altına alan bitkiler.

**Metal indikatörler;** Toprakta bol miktarda bulunan metalleri bünyelerinde de çokça biriktirip fiziksel olarak farklılık gösteren bitkiler.

**Toplayıcılar;** Buldukları topraklarda hazır halde olan metalleri kendi bünyelerinde depolandıran bitkiler.

### **2.4.Ağır Metallerin Çevreye Yayılımı**

Ağır metallerin çevreye yayılımı bazen yağışlardan dolayı doğrudan toprağa gelip oradan bitkilere, bazı durumlar sebebiyle de taban sularına karışır. Bazen ise yüzeysel akış sayesinde çevreye yayılır(29). Ağır metallerin çevre kirliliği oluşturması doğal nedenlerden daha çok insan etmeni olduğu görülmektedir. En önemli yayılımlar; endüstriyel faaliyetler, cam üretim yerleri, termik santraller, gübre sanayi, teknik santraller, trafik kirliliği, demir çelik fabrikaları, çöp ve atık çamur yakma tesisleri ve benzeri yerlerin atıkların sulara karışması, kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yollarıyla bitki, hayvan ve insanlar üzerinde olumsuzluklara neden olurlar. Bu kirlenmeler bazı kazalar sonucunda da yayılış gösterir. Örneğin 1979'da Lengrich'te meydana gelen çimento tesisindeki talyum kaçağını söyleyebiliriz. Sonuçta ağır metal yayılımını farklı sektörlerden biyosfere aşırı bir şekilde yayılmaktadır (57). Ağır metaller, yüksek konsantrasyon durumunda kendi okside olma özelliğine göre yüksek tepki gösterip çoğu organizmaya zarar verme niteliğindedirler(82).

## 2.5.Bitkilerde Metal Alınımı

Yapılan çalışmalar sonucu, bitkiler havada bulunan metalleri stomalar sayesinde alabildikleri ve iyon halde bulunan metallerin yaprakların kutikula tabakasından geçebildiği tespit edilmiştir.(83,83,85) Fakat bitkiler genellikle metalleri kökleri sayesinde topraktan alırlar. Yapılarına sadece iyon halindeki metalleri topraktan alabilirler. Ancak pH, organik madde miktarı, mikroorganizmalar, sıcaklık gibi koşulların değişmesi sonucu topraktaki metal derişimide değişerek metal alınımı da etkileyecektir. Mesela pH'ın düşerse ortamdaki H<sup>+</sup> iyonlarının artar, artan H<sup>+</sup> katyonları, metal katyonlar ile rekabete girerek kolloidlere tutunmasını engeller ve böylece metallerin toprak çözeltisi içindeki derişiminin artmasına neden olur (85,86). Bitkilerin metal alınımı, türüne göre de farklılık göstermektedir. Kök yapısının farklılıkları ve yayılım şekilleri gibi bitki özellikleri metal alınımını etkilemektedir. Ayrıca bitkiler rizosfer pH'ını değiştirerek (87,88), ya da rizosfere musilaj, malat ve sitrat gibi maddeler salgılayarak (89,90,91) bünyelerine kabul ettikleri metal miktarını değiştirebilmektedirler. Bazı durumlarda bir metal diğer bir metalin alınımı arttırabilmekte ya da azaltabilmektedir(91,92). Kuvvetli metal bağlayıcı sentetik kimyasallar da metallerin çözünme durumunu arttırır ve metallerin bitkiler tarafından alınımını kolaylaştırırlar(93).

## 2.6.Bitkilerde Metal Taşınımı

Bitkilerin metal alınımı genel olarak ksilem sayesinde gövde ve yapraklara taşınmada bu durum bitki türlerinin farklılıklarına göre değişim göstermektedir. Örneğin Ni, bazı bitkilerde Ni-peptit olarak taşınırken bazılarında isehistidin aminoasidi ile kompleks oluşturarak taşındığı belirlenmiştir(94,95). Cd bitkide iyon formda taşınırken, organik asitlerinde taşımada görev aldığı bildirilmiştir(96,86). Yapılan bir çalışmada floem aracılığıyla bir taşınım olup olmadığını tespit etmek istemişler ve Cd ile muamele edilen bitkinin yaprak kısımlarında kısmi bir taşınım söz konusu olmuştur(97). Fakat genel olarak yapılan çalışmalarda Cd, Zn, Cu ile muamele edilen bitkilerin yapraktan köklere uzanan bir taşınımın olmadığını belirtmiştir. Bunun nedeni olarak, floemin metalleri bağlayabilecek özellikte iyon ve moleküllere sahip canlı hücreler içermesi bu metallerin taşınmasını zorlaştırdığı söylenmektedir(86)



## 2.7.Aşırı Metal Alımının Bitkilerde Yol Açtığı Zararlar

Aşırı metale maruz kalan bitkiler yapılarında birçok farklılıklar göstermektedirler. Bu farklılıklar morfolojik değişiklikler olarak gözle görünür halde olabildiği gibi bazı karmaşık analizler sonucu da tespit edilebilirler(98).

Metal zararlarının ilk görüldüğü yer bitki kökleridir. Aşırı metale maruz kalan bitki kökleri normal bitki kökleri ile karşılaştırıldığında oldukça kısa, ince yapıda, saçak kökleri indirgenmiş ve yan köklerinde ise ya azalma ya da gereksiz artma şeklinde farklılıklar görülmektedir. Bu metal alımı devam ettiği sürece gövde uzamasıda olumsuz yönden etkilenmektedir. Ayrıca kök ve gövdenin yaş ve kuru ağırlığında azalma meydana gelerek bitkinin büyümesi yavaşlamaktadır. (92,99,100,101,102,103,104,105,106,107). Ayrıca metal çeşidine ve yoğunluğuna bağlı olarak yapraklarda küçülme, renk değiştirme, şekillerinde değişiklik, yüzeylerinde lekeler oluşması gibi septomlar görülmektedir(100).

Lanaras ve arkadaşları (1993) yaptıkları bir çalışmada; *Triticum aestivum* bitkisini yüksek dozda Cu ile muamele ederek inceleme yapmışlar ve yaprakta küçülme, yaprakların taze ve kuru ağırlığında azalma ve aynı zamanda protein ve klorofil miktarında da azalma tespit etmişlerdir. Lombardi ve Sebastiani (2005) yaptıkları bir çalışmada ise farklı konsantrasyonda muamele ettikleri Cu elementinin yapraklarda lekelenmelere neden olduğunu belirtmişlerdir.(101)

## 2.8.Metallerin Serbest Radikal Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Metaller hücre içinde serbest radikal oluşumunu başlatırlar ve dolaylı yoldan nükleik asitlerin zarar görmesine, fotosentez inhibisyonuna, klorofil parçalanmasına, lipit peroksidasyonuna sebep olurlar. Metaller farklı yollardan serbest radikal oluşumunda etkindirler.

**Metal iyonundan doğrudan elektron transferi ile serbest radikal oluşturma:** Cu, Fe, Mn gibi metaller tek elektron tepkimelerinde bulunarak alıcı moleküllere elektron aktarıp o moleküllerin serbest radikale dönüşmesine neden olurlar (134,135).

**Metal iyonlarının metabolik tepkimeler ile etkileşime girerek serbest radikal oluşturma:** Yüksek dozda metal alımına maruz kalan bitkiler stres ortamında olurlar ve bu ortamda elektron iletimi aksar. Elektron, ortamdaki oksijen tarafından

alınarak süperoksit radikalının oluşumuna neden olur. Bu sebeple bitkinin yüksek metale maruz kalması sonucu bitki bünyesindeki elektronu iletmez ve bu elektronların moleküllere ulaşmasına engel teşkil eder. Bu durumda ortamda elektron sızması olur ve bu sızan elektronlar oksijen tarafından yakalanarak Mehler tepkimesini meydana getirir. Mehler tepkimesi sonucu oluşan süperoksit radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sayesinde hidrojenperoksite ( $H_2O_2$ ), oradan da askorbat peroksidaz (APX) enzimi sayesinde  $H_2O$ ' ya çevrilerek zararsız hale getirilir. Tüm bu tepkimeler olurken ortamda hem süperoksit radikali hem de hidrojen peroksit radikalleri bulunur. Bu radikaller birbirleriyle tepkimeye girerek çok daha tehlikeli bir radikal olan hidroksil radikalini ( $OH$ ) meydana getirir. Buna Fenton tepkimesi denir. Normal şartlarda bu reaksiyon çok yavaş işlendiğinden hücrede fazla bir hasara neden olmaz. Ancak Cu, Fe gibi metallerin yüksek derişimlerinde bu reaksiyonun hızlandığı belirlenmiştir(137).

## **2.9.Bitkilerin Metal Zararından Korunma Mekanizmaları**

Bitkiler metal zararlarından korunmak için; maruz kaldıkları metalin türüne ve konsantrasyonuna göre birçok mekanizma geliştirmişlerdir:

### **2.9.1.Metal Alınımından Sakınma**

Bazı bitkiler kök çevresinde bulunan hava, su ve besin maddelerini taşıyan toprak alanının (rizosferin) pH'ını artırarak, metal alınımını azaltmaya çalışır. pH artınca metallerin hareketliliği azalır (87). Böylece bazı organik asitlerin rizosfere verilmesi ve burada metallere bağlanarak metal alınımının azalmasına neden olur(137).

Çeşitli karbonhidratları içeren ve köklerin apikal zonlarından salgılanan musilaj da metallerle yüksek oranda bağlanma kapasitesine sahiptir(138). Kök dışında metal bağlanmasının metal alınımını azalttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi, bu tür metal bağlanmalarının tam tersi etki göstererek metallerin alınımının artmasına neden olduğunu gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Bir diğer metal zararını engelleme mekanizması olarak, alınmış metal iyonlarının serbest formda ya da kompleks halde tekrar rizosfere geri verilmesi diyebiliriz (87).

## 2.9.2. Antioksidant Savunma Sistemi

Metaller doğrudan etkileri yanında, serbest radikal oluşumunu da tetikleyerek dolaylı yoldan birçok zarara neden olurlar. Bu zararlar sonucu oksidatif stres meydana gelmiş olur. Biyolojik sistemlerde fenil-, lipoksi-, hidroksil-, tiyol-, ve nitroksit radikalleri gibi karbon, sülfür, nitrojen, oksijen merkezli serbest radikaller oluşabilmektedir. Bunlar için de özellikle aktif oksijen türleri (AOT) dediğimiz hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $OH\cdot$ ) ve süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) radikalleri metal stresine maruz kalan bitkilerde bitkiye zarar verecek düzeylere çıkabilmektedirler(139). Bitkiler serbest radikallerden meydana gelebilecek olan zararlardan korunmak için kompleks bir antioksidant savunma sistemini oluşturmuştur(140). Antioksidant için, kendisi bir yıkıcı radikale dönüşmeden, aktif oksijen türlerini baskılayan bir molekül diyebiliriz. Antioksidant savunma sistemi, enzimleri ve bazı indirgen molekülleri içeren bir sistemdir. Süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, katalaz vd. gibi enzimler metaller üzerinde doğrudan etkili değildirler, yalnızca meydana gelen serbest radikalleri çeşitli dönüşümler yaparak etkisiz hale getirirler. Örneğin aktif hale gelebilmek için metale gereksinim duyan SOD enzimi (Cu/Zn-SOD, FeSOD ve Mn-SOD,)  $O_2^{\cdot-}$  radikalini,  $H_2O_2$  ve  $H_2O$  ya parçalamakta, Oluşan  $H_2O_2$  bir aktif oksijen türü olup askorbat peroksidaz (APX) ve katalaz (CAT) enzimleri tarafından zararsız hale getirilmektedir(140).

Enzimler sadece serbest radikalleri etkisiz hale getirirler. Halbuki antioksidant savunma sisteminin diğer bir parçası olan indirgen moleküller (ligninler, glutatyon, fenolik bileşikler, flavonoidler, vitamin E, taninler askorbat, vb.) hem serbest radikalleri etkisiz hale getirirler hem de bazıları metallere bağlanıp metal etkisini azaltarak metal zararının azalmasında etkilidirler(135). Yapılan bir çalışmada Lombardi ve Sebastiani (2005) Cu metalin farklı derişimlerinin *Prunus cerasifera* bitkisi üzerindeki etkilerini laboratuvar ortamında incelemişler ve belirli konsantrasyonlarda Cu ile muamele edilen bitkide, CAT ve SOD enzimlerinin aktivitelerini arttırdığını tespit etmişlerdir. Bu sayede yüksek derişimdeki Cu'ın sebep olduğu serbest radikal artışı bu enzimlerin aktivitelerindeki artış ile dengelenmekte ve serbest radikallerin zararı böylece engellenmektedir. Birçok çalışma, antioksidant enzim aktivitelerindeki artışın, bitkinin metal zararından

korunma yollarından biri olduğunu belirtmektedir. Yapılan bir çalışmada Shah ve arkadaşları (2001), *Oryza sativa* L. bitkisinin iki farklı kültürünün belirli konsantrasyonlardaki Cd'a maruz bırakıldıklarında, O<sub>2</sub><sup>-</sup> oluşumunun arttığı, buna bağlı olarak SOD enziminin aktivitesinde kontrole göre artış olduğu belirtmişlerdir. Bitkilerdeki aşırı metal alımının antioksidant enzimlerinin aktiviteleri üzerinde etkisi olduğu kesindir. Fakat bu etkinin, enzim aktivitelerinde artış ya da azalış şeklinde olacağına dair bir genelleme yapılamamaktadır. Bu genellemenin yapılamayacağını en iyi Demirevska ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada daha iyi anlaşılmıştır. Çünkü bu çalışmada Cu ve Mn'in değişik konsantrasyonlarındaki uygulamalarının *Hordeum vulgare* L. bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmış ve SOD, çözülebilir APX, membran bağımlı APX, CAT, ve guaikol peroksidaz (GPX) enzimlerinin aktivitelerine bakılmıştır. Bunun sonucunda farklı konsantrasyonda Cu muamelesi toplam SOD ve membran bağımlı APX enzim aktivitelerini belirgin şekilde artırırken, CAT ve çözülebilir APX enzim aktivitelerini düşürmüştür. Daha yüksek konsantrasyonda Cu muamelesi ise, SOD aktivitesini azaltırken, CAT ve GPX enzimlerinin aktivitesini artırmış ancak APX enzimlerinin aktivitelerinde bir değişikliğe neden olmamıştır. Düşük konsantrasyonda Mn muamelesi SOD, CAT ve APX enzim aktivitelerinde bir değişikliğe neden olmamış fakat Mn'in daha yüksek konsantrasyonunda, APX ve SOD enzimlerinin aktiviteleri azalırken, GPX ve CAT enzim aktivitelerinde artış gözlenmiştir. Antioksidant enzimler, aşırı metal alımını durumunda, metal zararının üstesinden gelmesi için yeterli olmayabilir. Çünkü metaller, hem gen düzeyinde hem de yapısal ve işlevsel düzeyde zarar verip antioksidant enzimlerin de aktivitelerini azaltabilirler. Diğer taraftan öldürücü olmayan fakat zarar verebilen düzeylerdeki metal girişinin, bitkinin türüne ve gelişim evresine, metalin derişimine, metale maruz kalma süresine ve metalin çeşidine bağlı olarak, her metale has belirli bir konsantrasyon aralığında, antioksidant savunma sistemini harekete geçirdiği ve bu sistem içerisindeki enzimlerin aktivitelerinde artışa neden olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (141,142,143,144,145,146,147,148,149,150,151)

## **2.10.Oksidatif Stres**

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bu serbest radikallerin ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde, bu olaya oksidatif denge denir.

Serbest radikallerden etkilenmemek için oksidatif dengenin sağlanması gerekir. Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda ara ürünler olarak sürekli serbest radikaller oluşur. Bu serbest radikaller, ara ürünleri, enzimlerin aktif noktalarından sızdırarak, moleküler oksijenle kazara etkileşerek serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadırlar. Hücrede oluşan ROT, antioksidanlar sayesinde ortadan kaldırılırlar. Bazen hücresel savunma mekanizması aracılığıyla ortadan kaldırıldıktan daha çok ROT oluşabilir. Organizmada hücresel savunma mekanizması sayesinde ortadan kaldırılacak ROT lardan daha çok ROT ların meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliği belirtmekte ve doku hasarına yol açmaktadır (152).

### **2.11.Serbest Radikaller**

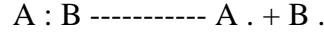
Kuantum kimyasına göre, iki elektron bir bağın yapısına girebilir. Ancak, iki elektronun zıt yönde olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi aşağıya doğru dönen bir elektron olmalıdır. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birarada kalır ya da ayrılırlar. Kimyasal bileşikler iki veya daha fazla elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelir. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Kararlı bileşiklerin elektronları çiftleşmiş haldedir. Eğer elektron çiftleşmemiş halde ise molekül daha kararsız duruma bürünür. Bir ya da daha çok sayıda çiftleşmemiş elektrona sahip element veya bileşiklere serbest radikaller denir. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Bu işlem serbest radikalleri hem tehlikeli hem kullanışlı kılar. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok metabolik işlevde temel oluşturur. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranışa bürünürse hücre yapısında hasar meydana getirir(152).

Anaerobik ortamlara uyum sağlamış organizmalar haricinde tüm canlılar yaşamlarını sürdürebilmek için oksijene ihtiyaç duyar (153).

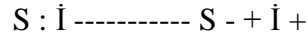
Serbest radikaller eşleşmemiş elektrona sahip reaktif atom, atom grubu moleküllerdir. Başlıcaları hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ve hidroksil ( $OH\cdot$ ) radikalidir. Bu maddeler DNA, proteinler ve hücre zarlarındaki lipidler ile etkileşerek canlı dokulara zarar verirler (154).

Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir (155).

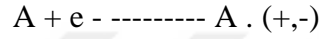
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşan serbest radikaller; Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturulan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücreleri olan makrofaj, nötrofil gibi savunma sistemi için gereklidir fakat fazla miktarda üretilmesi dokularda hasara ve hücre ölümlerine neden olur(156).

Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı esnasında meydana gelir. Eşlenmemiş elektron içeren yapılar hücrelerin zarar gördüğünü belirten reaksiyonlar dizisini başlatır.(156)

Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının hücre zarlarındaki lipid tabakalarını hasara uğratıp iyonların sızmasına sebep oldukları, ayrıca lipid peroksidasyonuna, sodyum kanallarının blokajına polisakkaritlerin depolimerizasyonuna, membran proteinlerinin çapraz bağlanmasına, bazı aminoasitlerin oksidasyonuna, ve hücre ölümüne neden oldukları bilinir (157,158).

Serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya neden olurlar. (156)

**Tablo 2.3.** Bazı serbest radikal türleri

Adı	Formülü	Tanımı
Hidrojen atomu	H•	En basit serbest radikal
Süperoksit	O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	Oksijen merkezli radikal, seçimli reaktif
Hidroksil	•OH	En fazla reaktif oksijen radikali. İnsan vücudundaki tüm moleküllere saldırır.
Triklorometil	CCl <sub>3</sub> •	C merkezli radikal, CCl <sub>4</sub> metabolizması sonucu üretilir ve genellikle O <sub>2</sub> ile hızla reaksiyona girer.
Tiyil	RS•	Kükürt üzerinde eşleşmemiş elektron bulunduran türlerin genel adı
Peroksil, Alkoksil	RO <sub>2</sub> •, RO•	Organik peroksitlerin yıkımı sırasında oluşan oksijen merkezli radikaller.
Nitrik oksit	NO•	L-arginin amino asidinden in vivo koşullarda üretilir.
Azotdioksit	NO <sub>2</sub> •	NO•'nun O <sub>2</sub> ile reaksiyonunda oluşur. Kirli hava, sigara dumanında vb. bulunur.
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi en düşük, moleküler hasar yeteneği düşük.
Singlet oksijen	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oksijenin güçlü oksidatif formu

## 2.12.Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikal kaynaklarını endojen ve eksojen olarak iki grupta toplayabiliriz (160).

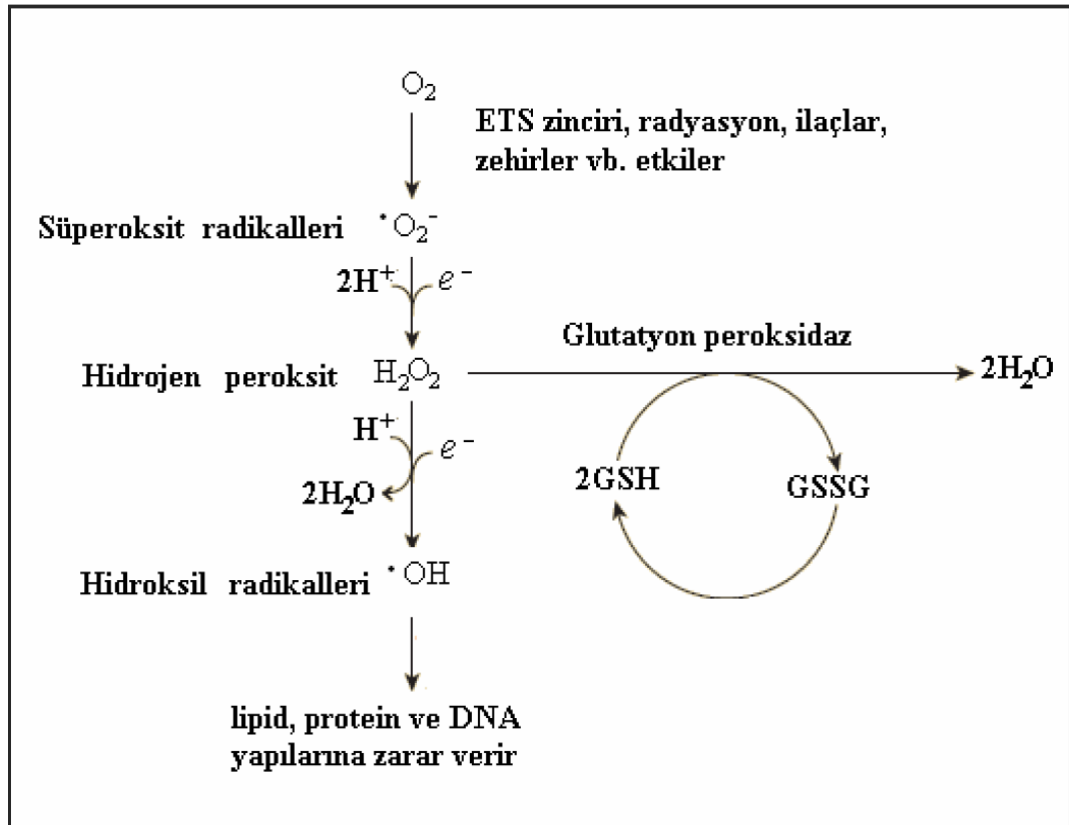
### 2.12.1.Endojen Kaynaklar

- ✓ Enzimler ve proteinler: Triptofan dioksijenaz, ksantin oksidaz, hemoglobin.
- ✓ Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Hidrokinonlar, Tioller, katekolaminler, tetrahidropterinler, flavinler, antibiyotikler.
- ✓ Mitokondrial elektron transportu.
- ✓ Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450).
- ✓ Peroksizomlar: Oksidazlar, flavoproteinler.
- ✓ Plazma membranı: Lipoksijenaz, lipid peroksidasyonu, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz,.
- ✓ Oksidatif stres yapıcı durumlar: travma, iskemi, intoksikasyon.
- ✓ Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil)

### 2.12.2.Eksojen kaynaklar

- ✓ Antineoplastik ajanlar: Radyasyon, doksorubisin, nitrofurantoin, bleomisin, ve adriamisin. .
- ✓ Alışkanlık yapan maddeler: Alkoller ve uyuşturucular.
- ✓ Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, solventler, hiperoksi, pestisitler, anestezikler,).
- ✓ Stres: Stres katekolamin düzeyini artırır. Katekolaminlerin oksidasyonu da serbest radikal kaynağıdır.
- ✓ Diyet faktörleri.

Metabolizmada oluşan ve dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin oluşum yolları aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (166).



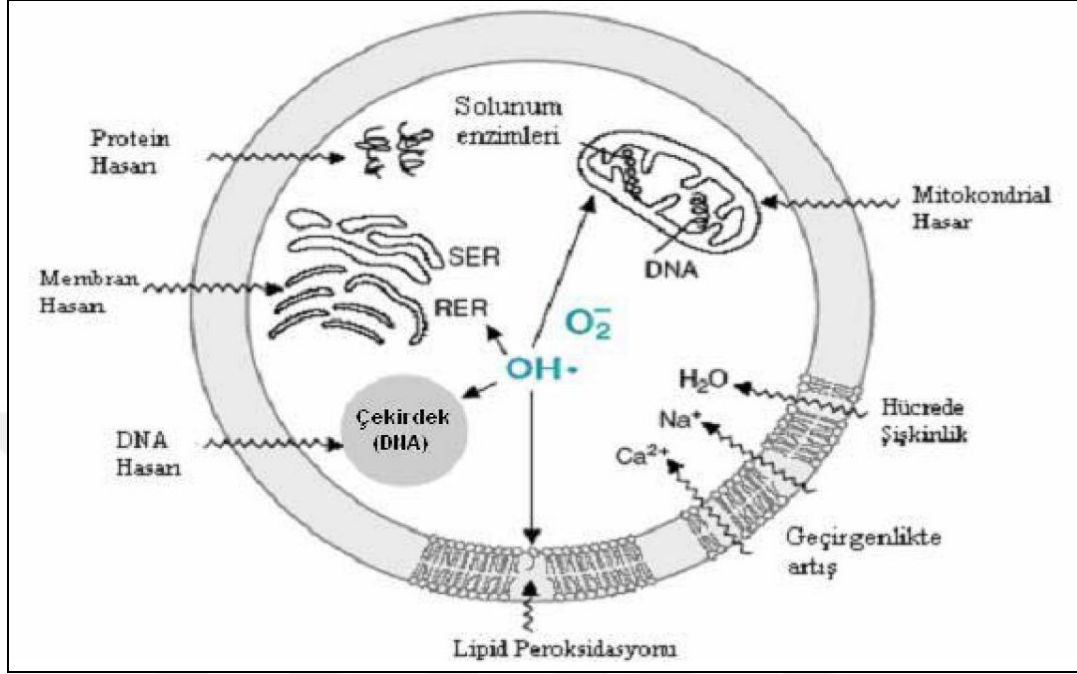
Şekil 2.1. Serbest Radikal ve Reaktiflerin Oluşumu

### 2.13.Serbest Radikallerin Etkileri

Tüm hücre bileşenleriyle kolaylıkla etkileşime girebilen serbest radikaller, güçlü birer reaktif özellik gösterirler. Hücredeki savunma mekanizmaları ile oluşan



hasarlar ortadan kaldırılmazlarsa, biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek zincirleme bir reaksiyon başlatırlar.



Şekil 2.2. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (167)

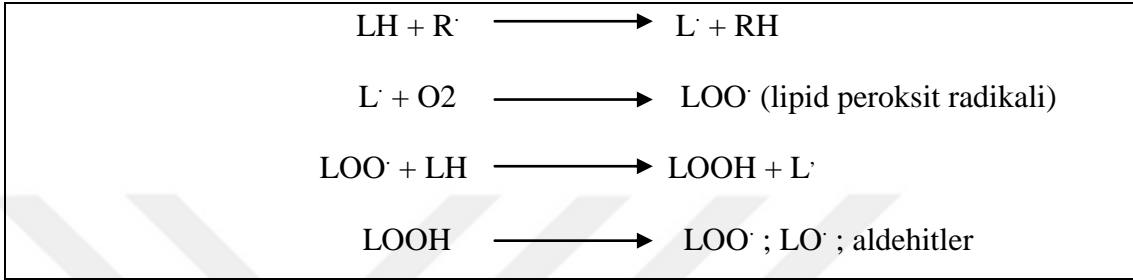
### 2.13.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri

Lipidler serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı en savunmasız, en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarında ve gıdalarda bulunan kolesterol ile yağ asitleri serbest radikallerle kolay reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar.

Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin özellikle  $\bullet\text{OH}$ 'in, membran yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) konjuge çift bağlardan bir H atomu çıkarmasıyla başlar. Böylece yağ asidi zinciri bir lipid radikali ( $\text{L}\bullet$ ) niteliği kazanır. Molekül içi bir düzenlenme ile daha kararlı olan konjuge dienler oluşur. Aerobik şartlarda, konjuge dienin moleküler oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksil radikalleri ( $\text{LOO}\bullet$ ) oluşur.  $\text{LOO}\bullet$  oluşumu önemlidir, çünkü membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek, yeni lipid radikallerinin ( $\text{L}\bullet$ ) oluşumuna yol açar. Kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlere ( $\text{LOOH}$ ) dönüşür. Ayrıca membran proteinlerine de saldırabilir. Böylece

reaksiyon otokatalitik olarak devam eder. Bu lipid peroksidasyonunun ilerleme aşamasıdır (161).

Lipid peroksidlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine yıkılması ile lipid peroksidasyonu sona erer. Sonuçta, çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler meydana gelir. Lipid peroksidasyonu membran yapısına doğrudan, meydana getirdiği reaktif aldehitlerle ise diğer hücre bileşenlerine dolaylı olarak hasar veren geri dönüşümü olmayan bir olaydır (167).



**Şekil 2.3.** Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları

Serbest radikallerin tümüyle uyarılabilen intrasellüler membranlardaki ve hücre membranındaki lipid peroksidasyonu, redoks katalizörü olan geçiş metallerinin varlığında artar.

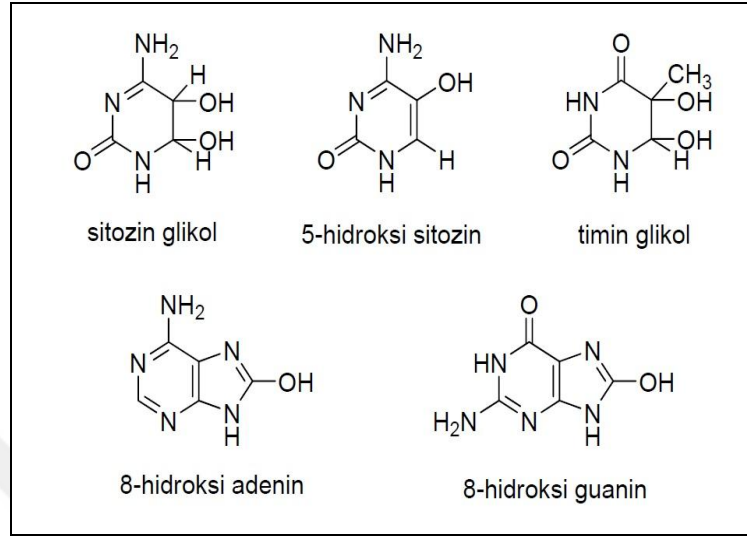
### **2.13.2.Serbest radikallerin proteinlere etkileri**

Çoklu doymamış yağ asitlerine nazaran serbest radikallere karşı daha dayanıklı olan proteinler, kendi bünyesindeki aminoasit içeriğine göre radikallerin hasarlarından farklı etkilenme gösterir. Tirozin, triptofan, histidin, fenilalanin gibi doymamış bağ içeren ve sistein, metiyonin gibi kükürt içeren aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden çok kolay etkilenir (168). Bunun neticesinde sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar albümin ve immunoglobulin G (IgG) gibi proteinlerin tersiyer yapısının bozulmasına sebep olur. Hemoglobinin ferro demiri ( $Fe^{+2}$ ) nin süperoksit ve diğer oksitleyici ajanlarla oksitlenmesi sonucunda oksijen taşımayan methemoglobin meydana gelir (169).

### **2.13.3.Serbest radikallerin nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri**

DNA serbest radikallerin etkilerine karşı hassas bir yapıdır. Özellikle iyonize edici radyasyonla meydana gelen radikaller, DNA'da hücre mutasyonuna ve ölümüne neden olabilirler. Membranlardan kolayca geçebilen  $H_2O_2$  hücre

çekirdeğine kadar ulaşarak burada oluşan hidroksil radikali, tüm DNA bazlarıyla kolayca reaksiyona girerek baz modifikasyonlarına sebep olurlar (170). Eğer DNA hasarı tamir edilemezse hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir.



**Şekil 2.4.** Pürin ve pirimidin bazları üzerine •OH radikalinin etkisiyle oluşan ürünler

#### 2.13.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi

Serbest radikaller başta monosakkarit otooksidasyonu olmak üzere polisakkarit depolimerizasyo gibi karbonhidratlar üzerinde etkiler gösterir. Diyabet ve sigara içimi ile ilgili patolojik olaylarda rol oynayan süperoksitler ve okzaldehitler, monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu meydana gelirler. Okzaldehitler ayrıca yaşlanma ve kanser vakalarında da etkin rol oynarlar. Bunu DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterebilmeleri ile sağlarlar.

Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asit sinoviyal sıvıda bol miktarda bulunmaktadır. Romatoit artrit gibi enflamatuvar eklem hastalıklarında hiyalüronik asidin oluşan serbest radikal tarafından parçalandığı gösterilmiştir (171, 172).

Organizmada normal metabolizma sırasında ve patolojik proseslerde serbest radikaller üretilir. Bu serbest radikaller hücrel savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırıldığı için, ROT üretimi antioksidan savunma sistemleri tarafından dengelenmektedir. Ancak bazen serbest radikallere metabolize olan toksinler, aşırı oksijen konsantrasyonuna maruz kalma, fagositik aktivasyondaki düzensizlikler, malnütrisyon sonucu diyetle antioksidan etkili bileşiklerin yetersiz alımı gibi

sebeplerle hücrede daha fazla reaktif oksijen türleri oluşabilir. Hücresel savunma mekanizmaları vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla ROT oluştuğunda “oksidatif stres” durumu ortaya çıkar. Oksidatif stres “oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar yönüne kayması ve hücre hasarına yol açması” olarak tanımlanır (170). Oksidatif stresin, ROT’ların neden olduğu hücre hasarları sonucu birçok hastalığa katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Yapılan birçok çalışmada ülseratif kolit (173), iskemi/reperfüzyon hasarı (174, 175), ateroskleroz (161), yaşlanma (176), diabetes mellitus (160), Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı (177, 178), sigara kullanımı (179, 180) ve hava kirliliğinin (181) neden olduğu rahatsızlıklar ve KOAH (182) gibi akciğer hastalıklar, çeşitli kanser türleri, felç, hipertansiyon, romatoid artrit ve multiple sklerosis gibi otoimmün hastalıklar, alerji, astım, septik şok, inflamasyon, akut pankreatit, yaşlanmaya bağlı maküler hastalıklar ve katarakt (183, 170, 161) gibi klinik vakalara serbest oksijen radikallerinin katıldığı belirtilmiştir. Ancak serbest radikallerin hastalıklar üzerindeki önemi ve rolü incelenirken, serbest radikal oluşumunun hastalığın nedeni mi, yoksa sonucu mu olduğunun ayırımına varılmasının önemi vurgulanmaktadır.

#### **2.14. Antioksidanlar**

Oluşan ROT ve bunlara bağlı meydana gelen hasarları önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları bulunur. Bu mekanizmalara “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” adı verilir. Endergonik ve ekzergonik kaynaklı olan antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize etme işlevi gören, karşılıklı etkileşim halinde olan çok çeşitli bileşiklerdir. Bu bileşikler gıda kaynaklı antioksidanlar (karotenoidler, lipoik asit, C vitamini, E vitamini gibi), antioksidan enzimler (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi), metal bağlayıcı proteinler (ferritin, albümin, seruloplasmin, laktoferrin, gibi) ve bitkilerde yaygın şekilde bulunan çeşitli antioksidan fitonutrientlerdir.

Antioksidanın uluslararası literatürde onaylanmış her hangi bir tanım ile sınırlandırılmamıştır. Gıdalardaki antioksidanlar “yağlar gibi kolaylıkla okside olabilen materyallerin oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen küçük miktardaki maddeler” olarak tanımlanmıştır. Lipidlerin yanı sıra DNA, karbonhidrat ve protein gibi okside olabilen diğer tüm bileşikleri de kapsayan bir başka tanım “okside olabilen substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunan

ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler” şeklindedir (184). Antioksidanların oksidatif reaksiyonlara etkisi farklı şekillerde olabilir (185, 186):

a) ROT oluşmasına engel olan sistemler: Mitokondriyal sitokrom oksidaz, metal şelatörleri gibi.

b) ROT’ları nötralize 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 imkan vermeyerek radikalik reaksiyonun sona ermesini sağlarlar.

c) Oluşan radikalleri detoksifiye eden sistemler: ROT’ları daha az toksik ürünlere çeviren enzim sistemleridir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz.

### **2.15. Antioksidanların sınıflandırılması**

Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olduğu gibi (160) enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar (186) şeklinde de sınıflandırılabilir. Enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler ile suda ve yağda çözünen radikal tutucular, vücudumuzda bulunan antioksidan savunma sistemindeki başlıca elemanlardır (187, 170).

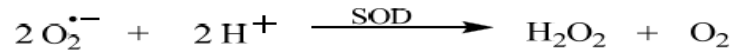
**Tablo 2.4.** Bazı serbest radikal türleri

Enzimler	Radikal	Tutucular	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
	Yağda çözünenler	Suda çözünenler	
Süperoksit dismutaz	E vitamini	C vitamini	Ferritin (Fe)
Katalaz	$\beta$ - karoten	Glutasyon	Transferrin (Fe)
Glutasyon peroksidaz	Bilirubin	Ürikasit	Laktoferrin (Fe)
Glutasyon redüktaz	Ubikinon	Sistein	Albümin (Cu)
Glutatson S transferaz	Flavonoidler	Mannitol	Seruloplazmin (Cu)
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	Melatonin		Miyogloblin (Fe)
	Lipoik asit		

### 2.15.1. Enzimler

#### 2.15.1.1.Süperoksit dismutaz (SOD)

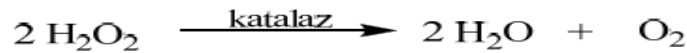
Başlıca görevi süperoksit serbest radikale karşı oksijeni metabolize eden hücreleri koruyan, süperoksitin daha az toksik etki gösteren  $H_2O_2$  'e dönüşümünü sağlayan, oluşan tehlikelere karşı ilk savunmaya geçen enzimdir.



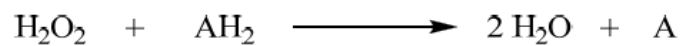
#### 2.15.1.2.Katalaz

Tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, özellikle peroksizomlarda lokalize dört alt birimden oluşan bir hemprotendir.  $H_2O_2$ 'nin yıkılmasını sağlar.

İndirgeyici aktivite işlevini  $H_2O_2$  oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda gösterir.



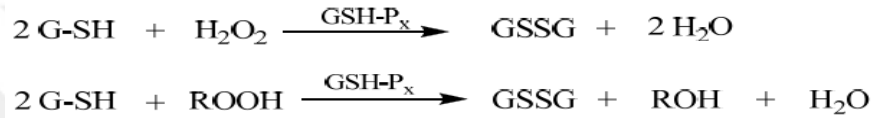
Peroksitatif aktivite işlevini ise  $H_2O_2$  oluşum hızının düşük olduğu durumlarda gösterir (169, 167).



### 2.15.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Normal şartlarda glutasyon peroksidaz ile katalaz hücrenin farklı konumlarında yerleşmiş olmalarından dolayı, karaciğerde endojen oluşan  $H_2O_2$  seviyesini düzenleme görevinde birlikte rol alırlar.

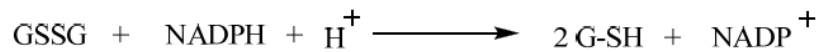
GSH-Px esas olarak hücrede bulunan  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonundan sorumludur. Lipid peroksidasyonunun başlamasının ve gelişmesinin önüne geçen, sitozolde bulunan bir enzimdir. Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki çeşiti bulunur. Selenyuma bağımlı olan; hem lipid hidroperoksitlerini hem  $H_2O_2$ 'i, selenyumdan bağımsız olan; sadece lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir.



Hücrelerde ayrıca sitozolik olan fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) enzimi de vardır. Görevi membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirgemektir.

### 2.15.1.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-Red)

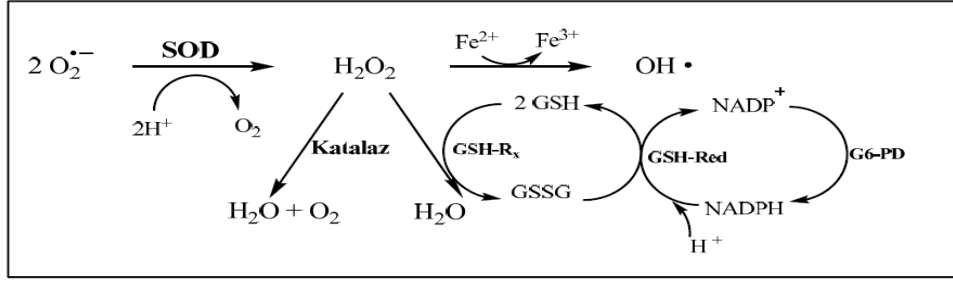
GSH-Red dimerik yapıda sitozol ve mitokodride bulunan, prostetik grubu flavin adenin dinükleotid (FAD) olan bir enzimdir (170). NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunda katalizör işlevi görür.



### 2.15.1.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

GST katalitik ve katalitik olmayan, her biri iki alt birimden oluşan bir enzim ailesidir. Çok sayıda işleve sahiptirler.

Antioksidan savunma mekanizması açısından önemleri ksenobiyotiklerin (yabancı maddeler) biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunda önemli rol almaları ve başta linoleat hidroperoksitleri ve araşidonik asit olmak üzere lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız olarak GSH-Px aktivitesi göstermeleridir (160).

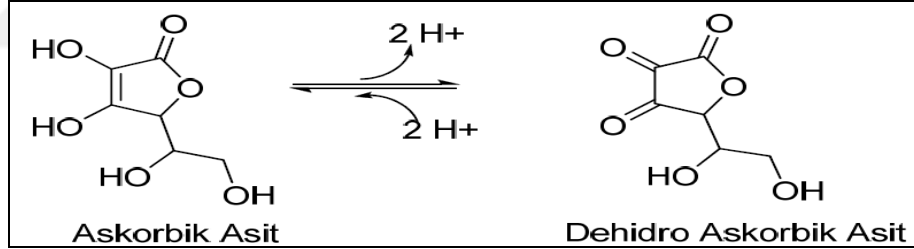


**Şekil 2.5.** Oksidatif strese karşı enzimatik savunma mekanizmaları

### 2.15.2. Yağda ve suda çözünen radikal tutucular

Organizmadaki enzimatik savunma sistemlerine ek olarak, endojen olarak oluşan veya gıdalarla alınan antioksidan özelliği olan moleküller de vardır. Bu antioksidanlar ROT'ları doğrudan nötralize edebilirler.

**C Vitamini (Askorbik asit):** C vitamini suda çözünen bir vitamindir. Organizmada birçok bileşik için indirgeyici olarak görev alır. Güçlü indirgeyici aktivitesi sayesinde aynı zamanda da güçlü bir antioksidandır.



**Şekil 2.6.** Askorbik Asit ve Dehidro Askorbik Asit

Askorbat etkili olarak  $\text{H}_2\text{O}_2$ , hipoklorit, hidroksil, süperoksit, singlet oksijeni ve peroksil radikallerini tutar. Sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipidlerine difüze olmadan tutar ve bu şekilde lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Membranlarda oluşan  $\alpha$ -tokoferol radikali ile reaksiyona girerek  $\alpha$ -tokoferolün rejenerasyonunu sağlar (160, 170). C vitamininin fagositoz olayı için önemli işleve sahip olduğu gösterilmiştir. Aktive nötrofillerin sebep olduğu peroksidasyona karşı plazma lipidlerini korur ve güçlü bir hipoklorat gidericisidir (186). Sigara dumanında bulunan reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlar, sigara içenlerde ve pasif içicilerde plazma C vitamini düzeyleri sigara içmeyenlere göre düşük bulunmuştur.

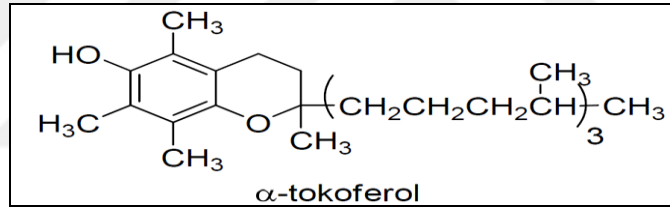


Yapılan çeşitli çalışmalarda bazı gıdalarda ve sigara dumanında bulunan nitrozaminleri inaktive ederek, antitümörjenik rolü olduğu gösterilmiştir (188, 183).

Askorbik asidin yüksek konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesinin yanında, düşük konsantrasyonlarda prooksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Geçiş metalleri varlığında demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonu ile  $\bullet\text{OH}$  radikali oluşumuna katkı sağlar. Sağlıklı organizmada geçiş metal iyonları proteinlere bağlı bulduklarından, bu durum in vivo koşullarda çok sınırlıdır ve askorbik asidin antioksidan özelliği prooksidan özelliğinden daha baskındır (170).

### 2.15.2.1. $\alpha$ -tokoferol

Doğada yaygın olarak bulunan E vitaminlerinin ana bileşenidir. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka sayesinde antioksidan aktivitesinde rol alır (160). Lipofilik özelliğinden dolayı lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranlarının ve plazma lipoproteinlerinin en önemli zincir kırıcı antioksidanıdır. Peroksil radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu inhibe eder.



**Şekil 2.7.**  $\alpha$ -tokoferol

$\alpha$ -tokoferol radikali ( $\alpha\text{T}\bullet$ ) nispeten stabil ve reaktivitesi az olan bir radikaldir. Glukuronik asit ile konjugasyona uğrayıp safra ile atılabilir. Okside olduktan sonra veya atılmadan önce glutatyon ve askorbik asit tarafından tekrar indirgenebilir. Böylece rejenere edilmiş olur.

In vivo ve in vitro çalışmaları  $\alpha$ -tokoferol ile glutatyon peroksidazın serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etkisi olduklarını göstermiştir. GSH-Px oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken,  $\alpha$ -tokoferol peroksitlerin oluşumunu engeller (186, 160).

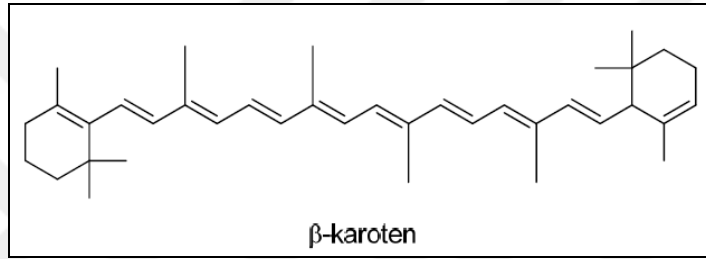
Son yıllarda aterosklerozun gelişiminde lipid peroksidasyonunun özellikle de LDL peroksidasyonunun etkili ve kritik bir rol oynadığı bildirilmektedir.  $\alpha$ -tokoferol tarafından lipid peroksidasyonu yayılma basamağında engellenir.  $\alpha$ -tokoferol

alımıyla koroner kalp hastalıkları riskinin azaldığı deneysel olarak gösterilmiştir (183).

$\alpha$ -tokoferol nitritlerin nitrozaminlere dönüşümünü engelleyerek, antikarsinojen etki gösterir, iskemi/reperfüzyon ile ilişkili peroksidatif hasarı önlemede etkilidir, immüneyi artırır, eritrosit membranının stabilitesi için esansiyeldir.  $\alpha$ -tokoferol selenyumun organizmadan kaybının önüne geçerek ve onu aktif halde tutarak selenyum metabolizmasında da görev alır (186, 183).

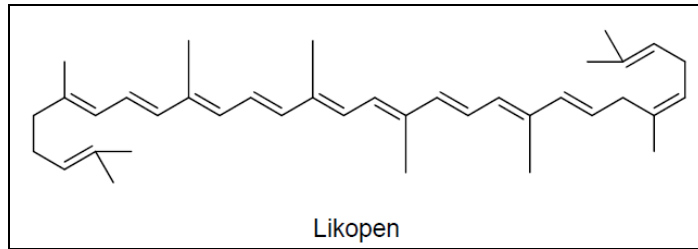
### 2.15.2.2.Karotenoidler

Bitkilerde yaygın şekilde bulunan doğal renk pigmentleridir. Bitkileri fotooksidatif proseslere karşı korur. En bilineni A vitamini öncüsü olan  $\beta$ -karotendir.



Şekil 2.8.  $\beta$ -karoten

Karotenoidler özellikle singlet oksijeni ( $1O_2$ ) ve peroksil radikallerini gideren etkili antioksidanlardır. Karotenoidler arasında en etkin  $1O_2$  tutucu;  $\beta$ -karotenin açık zincirli analogu olan likopendir (189). LDL'yi oksidatif hasara karşı koruyarak ateroskleroz ve diğer koroner hastalıkların gelişmesini de engeller (186).



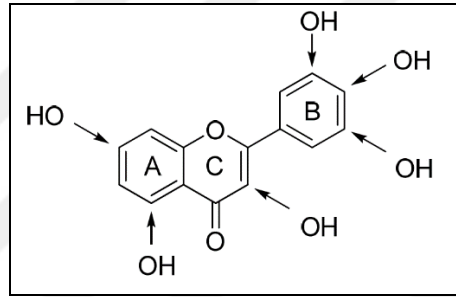
Şekil 2.9. Likopen

Fotooksidatif proses göz ve deri gibi ışığa maruz kalan dokularda bazı hastalıklara neden olan bir olaydır ve ROT oluşumuna yol açar. Körlüğe neden olan yaşa bağımlı maküler hasarda, singlet oksijenden koruyucu pigmentler özellikle lutein ve zeaksantindir. Güneş yanıklarında görülen eriteme karşı koruyucu ve fotooksidatif hasarı önleyici pigment  $\beta$ -karotendir. 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 (190,189).

### 2.15.2.3.Flavonoidler

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenolik bileşiklerdir. Günümüzde bitkilerden izole edilen 4000'den fazla flavonoid bilinmektedir. Halka yapılarına göre flavonlar, flavonoller, antosiyaninler, flavanonlar, kateşinler ve izoflavonoidler olarak sınıflandırılır. Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin  $O^2\bullet-$ , lipid alkoksil ( $RO\bullet$ ), lipid peroksil ( $ROO\bullet$ ) ve  $NO\bullet$  radikallerini temizleme,  $\alpha$ -tokoferol rejenerasyonu, Fe ve Cu şelatlama gibi faaliyetlere katıldığı da bildirilmiştir (191, 192, 185).



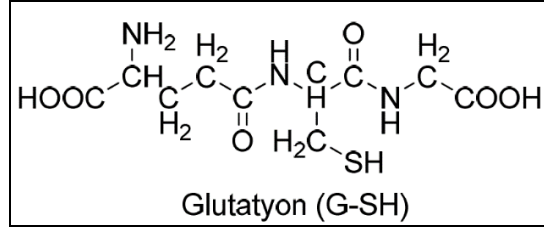
Şekil 2.10. Temel flavonoid yapısı

Flavonoid ve fenolik antioksidanlar lipid oksidasyonunu anomerik hidroksil grubundan lipid radikallerine bir hidrojen atomu vererek engeller. Bileşiğin yapısı ile antioksidan kapasitesi ilişkilidir. Flavonoidlerde B halkasının 5-OH, 3-OH ve 4-OH grupları olması, fenolik bileşiklerde  $-OH$  grubu sayısı antioksidan aktivite üzerinde etkilidir (193, 194).

### 2.15.2.4.Glutatyon (G-SH)

Organizmanın tüm hücrelerinde bulunan glutamikasitsistein–glisinden oluşan bir tripeptittir. Aminoasitlerin hücre içine taşınması görevi haricinde, çeşitli metabolik faaliyetleri vardır (167). Suda çözünen önemli bir antioksidandır. Askorbat,  $H_2O_2$ , disülfidler, ve serbest radikalleri indirgeyerek hücreleri oksidatif hasarlara karşı korur. Özellikle lens proteinlerini oksidatif hasardan, lökositleri fagositozda üretilen oksidan maddelerden, eritrosit membranını  $H_2O_2$ 'den korur. Glutatyon eritrositlerde hemoglobinin ve diğer proteinlerin tiyol gruplarını ( $-SH$ )

indirgenmiş halde tutarak onları oksidasyon tehlikesine karşı korur. Böylece fonksiyonel protein ve enzimlerin inaktivasyonunu, hemoglobinin de methemoglobine dönüşümünü engeller.

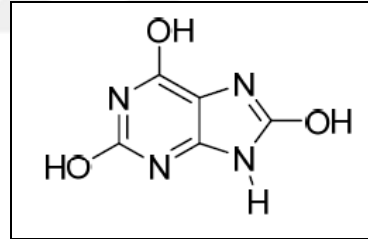


**Şekil 2.11.** Glutatyon

#### 2.15.2.5. Ürik asit

Suda çözünen bir madde olan ürat, purin metabolizmasının son ürünüdür. Normal plazma konsantrasyonlarında bulunan ürat (160450 µM/L) süperoksit, peroksit radikalleri, hidroksil, ve singlet oksijeni giderir. Fakat lipid radikalleri üzerinde etkisizdir (160).

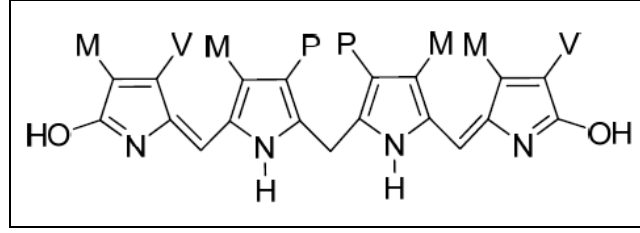
Ürik asidin plazmada askorbik asidi stabilize etme fonksiyonu direk antioksidan aktivitesinden daha önemli bulunmaktadır (195).



**Şekil 2.12.** Ürik Asit

#### 2.15.2.6. Bilirubin

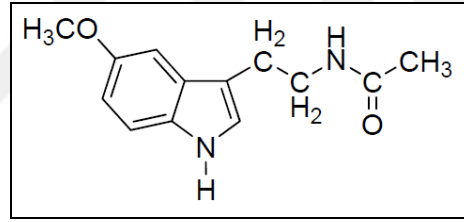
HEM metabolizmasının memelilerdeki son ürünlerinden biri olan bilirubin askorbat ve ürat ile birlikte plazmadaki üç temel antioksidandan biridir (196, 186). Suda çözünen peroksitlere karşı koruma sağlamada askorbat kadar etkilidir. In vitro koşullarda düşük konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (197).



Şekil 2.13. Billirubin

### 2.15.2.7.Melatonin

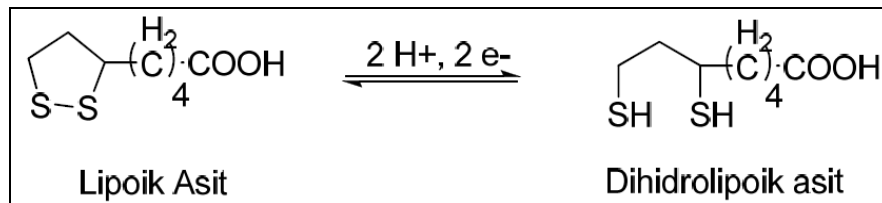
Melatonin immünite, uyku, üreme ve sirkadien ritmin (uzun gün-kısa gün, aydınlık-karanlık, yaz-kış döngüsünün) düzenlenmesi gibi birçok biyolojik faaliyette rol oynayan bir hormondur (198). Literatürde ilk kez antioksidan etkili olarak 1991’de yer almış ve daha sonra in vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenmiştir. •OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1O<sub>2</sub>, HOCl, NO•, ONOO- gibi serbest radikalleri detoksifiye ettiği bilinmektedir. Hem suda hem lipid fazda çözünebildiğinden, geniş bir alanda antioksidan aktivite gösteren güçlü bir antioksidandır (199).



Şekil 2.14. Melatonin

### 2.15.2.8.a -Lipoik Asit

Kükürt ihtiva eden, endojen bir antioksidandır. •OH radikali ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’i nötralize eder. Hem lipid hem sulu fazda serbest radikalleri giderir. Prooksidan metalleri şelatlayarak da antioksidan etki gösterebilir (187, 200, 201).



Şekil 2.15. Lipoik Asit

### **2.15.3. Metal iyonlarını bağlayan proteinler**

Oksidan hasarını dolaylı yoldan hızlandırmaları açısından geçiş metalleri önem arz ederler. Bakır ve demir iyonları in vivo şartlarda bazı az reaktif bileşiklerin çok kısa sürede daha reaktif şekillerine dönüşmelerini sağlayabilirler. Bu yüzden organizmada taşıyıcı protein ve depo proteinlerine bağlı halde tutulurlar (170, 167).

Vücuttaki demirin 2/3'ü hemoglobinde, az bir kısmı miyoglobinde, çeşitli enzimlerde, demir taşıyıcı protein transferrinde ve kalan kısmı da ferritindedir. Ferritin dokulardaki demiri bağlayıp depolar. Laktoferrin ve transferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar. Albümin miyeloperoksidaz kataliziyle oluşan HOCl'nin giderilmesinde etkilidir, ayrıca bakırı da bağlar (153). Seruloplazmin plazmadaki bakırı bağlayan bir proteindir ve ekstrasellüler antioksidan savunmaya katkı sağlar. Seruloplazmin enzimatik tarz bir mekanizma ile  $Fe^{2+}$ 'yi  $Fe^{3+}$ 'ya yükseltir ve Fenton reaksiyonunu, dolayısıyla  $\bullet OH$  oluşumunu inhibe eder (202).

### **2.16. Eksojen antioksidanlar**

Eksojen antioksidanlar ilaçlar, vitaminler ve gıda antioksidanları olarak sınıflandırılabilir.  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini),  $\beta$ -karoten, folik asit vitamin olan eksojen antioksidanlardır.

NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, , lokal anestetikler, non-steroid antiinflamatuar ilaçlar), ksantin oksidaz inhibitörleri (folikasit, allopürinol, oksipürinol), rekombinant SOD, nonenzimatik radikal toplayıcılar (mannitol, albumin), sitokinler (TNF, IL-1), Trolox C (E vitamini analogu), endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin, seruloplazmin), demir şelatörleri ise ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlardır (167).

### **2.17. Canlılarda Antioksidan Savunma Sistemleri**

Canlılar, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu zararları önüne geçmek için değişik savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu mekanizmalara antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar adı verilmektedir (203,204,205,206). Reaktif oksijen türleri ile antioksidanlar dengede ise sorun yok demektir (207).

Antioksidanlar etkilerini aşağıda özetlendiği gibi başlıca iki şekilde ortaya koyarlar:

1. Serbest radikal oluşumunu önleyerek (208);

- ✓ Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki
- ✓ Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki
- ✓ Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikalleri zararsız hale getirerek (203,206,208);

- ✓ Toplayıcı (scavenging) etki; reaktif oksijen türlerini hedef alarak onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme
- ✓ Bastırıcı (quencher) etki; reaktif oksijen türleri ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak faaliyet kaybına sebep olma.
- ✓ Onarıcı (repair) etki; zarar görmüş biyomolekülü onarma.
- ✓ Zincir kırıcı (chain breaking) etki; reaktif oksijen türlerini ve zincirleme reaksiyonlarını başlatan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak işlevlerini önleyici etki

İnsanlar veya gıdalardaki antioksidan savunma sistemleri genellikle dört ana grup altında incelenir. Bunlar; vücutta veya gıdalarda doğal antioksidan olarak görev yapan enzimler (antioksidan enzimler), gıdalarda bulunan ve gıdaları tüketerek sağlanan antioksidanlar (doğal / diyet antioksidanları), tedavi amacıyla dışarıdan tablet vb. formlarda alınan antioksidanlar (antioksidan ilaçlar) ve gıdalara koruyucu olarak dışarıdan katılan antioksidanlardır (katkı maddesi koruyucu antioksidanlar) (206).

### **2.18.Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi**

Diyet vücudun antioksidan dengesini büyük ölçüde etkilemektedir. Besin yetersizlikleri sebebiyle vücudun savunma mekanizmaları zarar gördüğü için patolojik koşullara zemin hazırlamaktadır. Savunma sistemlerindeki bir yetersizlik ve reaktif oksijen türlerindeki artış vücuttaki antioksidan dengesinin bozularak “oksidatif stres” koşullarının oluşmasına sebep olmaktadır. C vitamini, E vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminler ile esansiyel iz minerallerce zengin besinler yeterince alındığı sürece antioksidan savunma sisteminin etkinliği tehlikeye düşmez

(209). Bu vitaminler birlikte koordineli bir şekilde görev alarak hastalık ve hasarlara neden olan zararlı reaktif oksijen türlerinin etkisini ortadan kaldırmaktadırlar.

E vitamini (tokoferoller), çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı koruyan, tüm hücre membranlarında bulunan, yağda çözünebilen başlıca antioksidanlardandır (210). E vitamininin yüksek dozlarda diyetle eklenmesinin LDL seviyesini önemli ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı oldukça koruyucu rol oynadığı bilinmektedir (211). Askorbik asit de vücutta ekstraselüler sıvılarda bulunan, vücudun sentezleyemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gereken ve suda çözünebilen önemli bir antioksidandır (210). Karotenoidler ise; antioksidan faaliyetlerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak hidrojen peroksitlerin oluşum hızını yavaşlatmak suretiyle gösterirler (212).

Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal kelatör olmaları nedeniyle önemli antioksidanlar arasında sayılmaktadır (213). Selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi mineraller de koruyucu enzimlerin yapıları ve katalitik aktiviteleri için gereklidir. (210).

## **2.19. Gıdalar ve Antioksidanlar**

Organizmamızda doğal olarak bulunmalarının yanında antioksidan bileşiklerle günlük hayatımızda da sürekli etkileşim halindeyiz. Beslenmemizin büyük kısmını oluşturan meyve ve sebzeler ile doğal antioksidan etkili bileşikleri aldığımız gibi, işlenmiş gıdalar ve market ürünlerinin tüketimiyle de bu gıdalara katkı maddesi olarak eklenen sentetik antioksidanları almaktayız.

### **2.19.1. Gıdalarda doğal olarak bulunan antioksidan maddeler**

Diyetle alınan taze meyve ve sebzelerin çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir. Bu koruyucu etkinin besinlerde bulunan askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol, glutatyon,  $\beta$ -karotenoidler, fitosteroller, , kumarinler, flavonoidler, fenolik asitler, izotiyosiyanatlar, selenyum gibi antioksidan özellikli bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bileşikler nitrozamin oluşumunu inhibe etmek, detoksifikasyon enzimlerini indüklemek, karsinojenleri bağlamak gibi çeşitli mekanizmalarla antioksidan faaliyetler gösterirler (214,215,216). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarla meyve ve sebzelerin içerdiği fitonutrientlerin diyabet,



obesite, katarakt ve kardiovasküler hastalıkların ve özellikle bazı kanser türlerinin oluşma riskini azalttığı gösterilmiştir (217,218,219).

Sebze ve meyve tüketimi ile kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili pek çok araştırma yapılmaktadır. Bu bilimsel çalışmalardan 206 adet insan epidemiyolojik çalışması ve 22 adet hayvan denemesine ait bilimsel makale derlendiğinde; mide, yemek borusu, gırtlak, yutak, akciğer, pankreas, kolon ve endometrium kanserinde meyve ve sebze tüketiminin koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Kansere karşı koruyucu etkisi olan sebze ve meyve çeşitleri genellikle çiğ sebzeler, allium sebzeleri (soğan, pırasa, sarımsak,), havuç, yeşil sebzeler, turpgiller (lahana, Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar gibi) ve domatestir (215).

Benzer bir çalışma 1983-1999 yılları arasında İtalya'nın kuzey bölgesinde yapılmış olup sebze tüketiminin çeşitli kanser türlerinde güçlü koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir. Ayrıca; Akdeniz diyetinde çok tüketilen ve likopen içeriği yüksek olan domatesin,  $\beta$ -karoten, E vitamini gibi antioksidanların kanserle ilişkisi incelenmiştir (216).

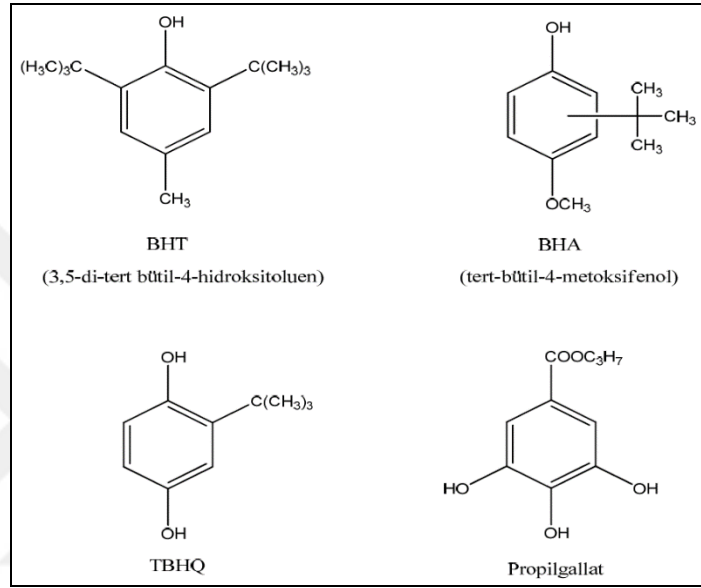
Günlük gıda alımlarında en az birkaçını tükettiğimiz elma, üzüm, üzümü meyveler, nar, kekik, biberiye, domates, brokoli, soğan, sarımsak, havuç, karnabahar, ıspanak, kereviz, lahana, çay, yeşil çay, adaçayı, şarap, siyah üzüm suyu (220) gibi çeşitli meyve, sebze ve içecekler üzerine yapılan araştırmalarda, özellikle flavonoid ağırlıklı olmak üzere, yüksek antioksidan faaliyetler gösterdikleri bildirilmektedir. Bu nedenle vücudun endojen savunma sistemine diyetle alınan antioksidan bileşikler ile takviye yapılması bildirilmektedir.

### **2.19.2. Gıdalara ilave edilen sentetik antioksidanlar**

Gıdaların korunması ve depo edilmesi esnasında karşılaşılan en büyük problemlerden birisi lipid oksidasyonu olup; yağlarda acılaşmaya (ransidleşme), yağ içeren diğer gıdalarda ise renk, aroma, tat, tekstür ve kıvamda bozulmalara ve gıda kalitenin azalmasına sebep olmaktadır. Antioksidan kullanımı, gıda endüstrisinde besinsel kaliteyi sürdürmek, lipid oksidasyonu engellemek veya azaltmak, gıdanın raf ömrünü uzatmak ve toksik oksidasyon ürünlerinin oluşmasını engellemek için önem arz etmektedir (221). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre de antioksidanlar "yağların acılaşması ve renk değişikliği gibi oksidasyonun neden

olduğu bozulmaları önleyerek, gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler'' olarak tanımlanmaktadır

Bu amaçla gıda endüstrisinde yağlarda ve yağca zengin diğer gıdalarda bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), propil gallatlar (PG), tert-bütül hidroksikinin (TBHQ) gibi sentetik antioksidanları gıda katkı maddesi olarak yıllardan beri kullanılmaktadır. Aşağıda Şekil.2.18'de bu maddelerin formülleri verilmiştir.



**Şekil 2.16.** Gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan bazı sentetik antioksidanların formülleri

Son yıllarda yapılan çalışmalar bu bileşiklerin toksiditesini ve karsinojenik özelliklerini ortaya koyar niteliktedir. Ayrıca günümüz toplumunda gelir seviyesi arttıkça ve beslenme konusundaki bilinç arttıkça doğal olmayan ürünlere karşı duyulan şüpheler artmış ve doğal ürünlere yönelme başlamıştır. Fare, hamster ve sıçanlarla yapılan in vivo çalışmalarda, sentetik antioksidanlardan özellikle BHA'nın bu kemirgenlerde mide ve mesane tümörü oluşumuna yol açtığı ve karsinojen oldukları gösterilmiştir (222,223,224). Buna karşılık kemirgenlerde BHA'nın karsinojenik olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (225). FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) normalde vücuda alınan düşük BHA düzeyinin insanlar için risk oluşturmadığını belirtmektedir (226).

Doğal olmayan antioksidanların, insan sağlığını tehlikeye düşürebilecek potansiyel toksik olabileceğinin öne sürülmesi, özellikle günümüzde tüketicilerin

tercihlerinin doğal tarımsal ürünlere yönelmesine ve işlenmiş gıdalarda da sağlık, kalite ve güvenlik arayışlarının ön plana çıkmasına neden olmuştur. Araştırmacılar ve gıda bilimcileri yapay antioksidanların yerine geçebilecek “doğal antioksidanlar” keşfine yoğunlaşmışlardır. Buradaki hedef, yeryüzünde geniş bir dağılım gösteren bitkisel kaynaklara yönelerek, bu kaynaklardan elde edilecek doğal antioksidanların gıdalarda kullanılan doğal olmayan antioksidanlar yerine kullanılmasını sağlamaktır. Özellikle antioksidan içeriğe sahip bitkisel ürünlerin doğrudan tüketimi veya bu ürünlerden elde edilecek ekstraktların yemeklik yağlarda ve diğer gıda maddelerinde gıda koruyucusu olarak kullanımı, kanser ve diyet ilişkisinin önemi düşünüldüğünde önem taşımaktadır.

**Tablo 2.5.** Gıdaları korumada kullanılan bazı sentetik antioksidanlar

Antioksidan	Kodu	Kullanıldığı Gıdalar
Askorbik asit tuzları	E300-302	Bebek maması; emülsifiye hayvansal-bitkisel yağlar; reçel, jöle ,marmelat; şarap, süt-süttozu; işlenmiş, dondurulmuş veya konserve ürünler; ekmek, makarna; kıymadan hazırlanan et karışımları; meyve-sebze suları.
Sentetik tokoferoller (alfa-, beta-, gama-)	E307-309	Bebek maması; emülsifiye hayvansal-bitkisel yağlar; reçel, jöle, marmelat; şarap, süt-süttozu; işlenmiş, dondurulmuş veya konserve ürünler; ekmek, makarna; kıymadan hazırlanan et karışımları; rafine zeytinyağı; yağ içeren tahıl, bisküvi, gevrek.
Propil gallat	E310	Isıl işlem görmüş gıdalardaki katı-sıvı yağlar; Katı-sıvı kızartma yağları;
BHA	E320	Balık, sığır, koyun, kanatlı yağları;
BHT	E321	Sakız; tahıl bazlı çerez; hazır kek karışımı;
TBHQ	E319	kurutulmuş patates ve et; süttozu (otomatik makine için); toz çorba ve soslar; çeşni verici maddeler; çeşitli gıda takviyeleri; işlenmiş sert kabuklu meyveler.

\*Türk Gıda Kodeksi'nin konuyla ilgili kısmından yararlanılarak hazırlanmıştır.

Özellikle baharatlar doğal antioksidan kaynağı olarak kabul görmüş ve bir çoğunun antioksidatif bileşikleri de izole edilmiştir (227). Adaçayı, biberiye, mercanköşk, kekik, zencefil ekstraktlarının zeytin, mısır, fındık, balık, ayçiçeği, soya yağları üzerindeki oksidasyon stabilitesi incelenmiş ve etkili sonuçlar bulunmuştur.

Biberiye, adaçayı, kekik ve sarımsak ile yapılan bir başka çalışmada ise, bu baharatların etin ızgarada pişirilmesi sırasında oluşan karsinojenik etkili heterosiklik aminlerin oluşumunu % 60 oranında azalttığı bildirilmiştir (228). Biberiye ekstraktı yüksek antioksidan aktivitesinden dolayı ticari olarak gıda stabilizasyonu ve et ürünlerinde kullanılmaktadır (229).

Doğal ve bitkisel kaynaklardan yeni antioksidanlar arayışları artması ile bu kaynakların ucuz, yenilebilir ve bol miktarda bulunabilir olması da önemli bir konu teşkil etmektedir. Düşük maliyetlerinden dolayı tarımsal ve endüstriyel atıkların doğal antioksidan kaynağı olarak kullanımı özellikle ilgi çekicidir. Üzüm kabuğu ve çekirdeği, patates kabuğu atıkları, havuç pulpu atığı, zeytin küspesi, yaşlı çay yaprakları, narenciye çekirdeği ve kabukları, soya fasulyesi melası ucuz antioksidan kaynağı olarak çalışılmış ve bazılarının polifenolik bileşikleri tanımlanmıştır (230).

## **2.20.Antioksidanların Metabolizma ve Hastalıklar Üzerindeki Etkileri**

### **2.20.1.Kanser**

Tüm kanser türlerinin %80-90'ının potansiyel olarak kontrol edilebilir nedenlerden oluştuğu ve %30-35'inin doğrudan diyetle ilgili olduğu düşünülmektedir (231-232). Yaşam tarzı ve yiyecekler karsinojenik maddelerin vücuda girmesine yol açmaktadır. Bazı gıdaların ve gıda bileşiklerinin risk oluşturduğu bilinmektedir. Bunlar arasında kahve, alkol, nitritler, doymuş yağlar, pestisitler ve duman sayılabilir. Bu kanser oluşturucu faktörler aktif oksijen ve süperoksit olarak adlandırılan radikalleri üretme kapasitesindedir. Bunların etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidanlar üzerinde çok durulmaktadır. Örneğin, nitrozaminler karsinojen bileşiklerdir ve nitritlerden kaynaklanmaktadır. E ve C vitaminleri kombinasyonunun güçlü bir nitrit yok edici olduğu bilinmektedir (233,234,235). Turunçgillerin yapısındaki bileşiklerin kanser üzerindeki olumlu etkisi gösterilmiştir (89). E vitamini serbest radikal yok edici, mutajen oluşumunu engelleyici ve DNA'yı onarıcıdır. C vitamini bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını artırmaktadır. Sitokrom P-450 enziminin yardımıyla toksinlerin karaciğerde temizlenmesini artırmaktadır. Sigara kullananlarda  $\beta$ -Karoten takviyesi kanser oluşumunu %18 kadar azaltmıştır.

### **2.20.2.Kardiyovasküler Hastalıklar**

Kardiyovasküler hastalıklar insan ölümlerinin nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Koroner kalp hastalıklarının yüksek kolesterol, yüksek tansiyon ve sigara gibi klasik risk faktörleri vardır.

C vitamini, kollogen formasyonunda, antioksidatif korumada ve lipid metabolizmasını kolaylaştıran teaksiyonlarda rol oynar. Kolesterol metabolizmasını etkiler (235).

### **2.20.3.Yaşlanma**

Doğal antioksidan metabolizmasından kaçan bir kısım serbest radikal moleküler zarara yol açmakta, bu zararlanmaların bir kısmı onarılamamakta ve sonuçta yaşlanmaya, yani metabolik işlevlerin azalmasına neden olmaktadır. Yaşlanmaya karşı vücudun savunmasında en önemli rolü SOD enzimi oynamaktadır.

Bu enzim zararlı oksijen radikallerini hidrojen peroksite dönüştürmektedir. Bilinçli beslenmenin bir sonucu olarak serbest radikal oluşumu ve bu radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu azaltılabilir. Sonuçta DNA ve sitosolik savunma sistemi daha az zarar görür ve yaşlanma yavaşlar (236).

### **2.20.4.Bağışıklık Sistemi**

Sağlıklı insanlarda bağışıklık hücreleri ve bunların salgıları ile patojenler tahrip edilirler. Bağışıklık sistemi, vücut hücrelerini kansere dönüşebilecek değişimlere karşı korur. Yapısı değişmiş hücreler işgalci olarak tanımlanır ve yok edilir.

Bazı çevresel faktörler bağışıklık fonksiyonunu azaltabilir. Örneğin, UV ışık, sigara dumanı, çevre kirleticiler, bazı ilaçlar, HIV gibi virüsler gibi..

C vitamini bağışıklık sisteminin düzenli çalışmasında etkilidir. E vitaminini indirgenmiş formunu rejenere eder. E vitamini bağışıklık sisteminde çok etkilidir ve bunun C vitamini ile korunması tüm vücudun bağışıklık sistemini etkiler. C vitamini bağışıklık sisteminin salgı yapmasında, interferon üretiminde ve nötrofillerin fonksiyonlarının geliştirilmesinde önem taşır (235).

### **2.20.5.İşığa Karşı Koruma**

Yeşil bitkilerde fotosentez sırasında singlet oksijenden kaynaklanan önemli miktarda serbest radikal üretilmektedir.  $\beta$ -Karoten gibi antioksidan pigmentler bitkileri bu öldürücü oksidasyondan korumaktadır.

### **2.20.6.Katarakt**

Başta ışık olmak üzere, oksijen şeker hastalığı, tansiyon gibi faktörler katarakt oluşumunu etkiler. Bu faktörler göz merceğindeki proteinlerin okside olmasına, yapısının değişmesine, enzimatik ve enzimatik olmayan glikozillenmelere neden olur. Ayrıca göz merceğindeki DNA ve lipidler de oksidatif zararlanmalara uğrayabilir. Katarakt gelişiminde serbest radikallerin ve okside edici bileşiklerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Işıklar serbest radikal oluşumunu ve bu radikaller de katarakt oluşumunu indükler (237).

### **2.20.7.Toksikantlar**

İnsanlar sürekli toksikantlara maruz kalmaktadır. Bunlar arasında duman, alkol tüketimi, çevre kirliliği, ilaç yan etkileri ve gıda zehirleri sayılabilir. Bu zararlı etkilerin değişik düzeylerde serbest radikallerden kaynaklandığı öngörülmektedir. Antioksidan tedavisinin bu etkilerden bazılarının giderilmesinde yararlı olmuştur (237).

### **2.20.8.Metabolizma Bozuklukları**

Artan oksijen radikalleri Akdeniz anemisi, orak hücreli anemi gibi metabolizma bozukluklarına yol açmaktadır. Ayrıca serbest radikaller kanda lipo protein artmasına yol açmaktadır. Bunun sonucunda damarlarda hasarlanma ve damar içi kalınlaşma oluşmaktadır. Buna karşı C ve E vitaminleri ve karotenoid uygulamaları tedavide yararlı sonuç göstermiştir (237,238,239).

### **2.20.9.Hiperoksijenasyon**

Yüksek basınçlı oksijenin bulunduğu durumlarda eğer antioksidan gıdaların alımı yetersizse özellikle bebek ve çocuklarda zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Yetişkinlerde ise hiperbarik oksijen; araşidonik asit metabolitleri, tromboksan vb. bileşiklerin fazla salgılanmasına yol açar ve damarlarda birikim oluşur. Bu hastalıkların tedavisinde antioksidan takviyesi başarılı sonuçlar vermiştir (237).

## 2.21. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları

Diyet antioksidanlarının oksidatif stresle ilgili hastalıkların önlenmesindeki pozitif etkilerinden dolayı, antioksidanlar son yıllarda artan bir ilgi konusu haline gelmiştir. Antioksidanlar ve oksidatif stresle ilgili makale sayısı geçen on yılda (1993'ten 2003'e kadar) 4 katına çıkmıştır. Bu artış tüketilen gıdaların antioksidan kapasitesini ve bileşiklerini öğrenmek için beslenme, sağlık ve gıda bilimi uzmanlarının ve özellikle halkın artan ilgisinden dolayıdır.

Gıda bileşiminin kompleksliğinden gıdadaki antioksidan bileşiklerin multifonksiyonel olması ve sinerjistik etkileşimlerinden dolayı, gıdadaki her bir antioksidan bileşiğin özel olarak ayrılması ve üzerinde çalışılması oldukça pahalı ve bir o kadar zordur. Antioksidan alanının kompleks bir konu olmasından dolayı araştırmacılar arasında antioksidanları değerlendirmede kullanılan metodlara ait fikir uyuşmazlıkları da bulunmaktadır. Bunu minimize etmek için standardize edilmiş testlere büyük ihtiyaç vardır. Bu yüzden araştırmacılar antioksidan etkinliğin hızlı, güvenilir biçimde ve bir kimyasal reaksiyon ile ölçülmesini sağlayabilecek metod geliştirme arzusundadırlar. Buna rağmen in vitro şartlarda antioksidan kapasiteyi tespitini amaçlayan birçok metod mevcuttur.

Fakat her bir değerlendirme için farklı oksidasyon koşulları altında ve farklı oksidasyon ürünlerini analizi için birkaç metod birlikte kullanılarak yapılmalıdır. Son yıllarda total antioksidan kapasite veya total antioksidan aktiviteyi ölçmek için birkaç metod geliştirilmiştir. Toplam radikal tutma parametresi (TRAP), Trolox ekivalenti antioksidan kapasite (TEAC), oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC) ve demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) bunlardan bazılarıdır.

Bu metodlar prob, substrat, reaksiyon şartları ve antioksidan etkinin hesaplanma şekline göre birbirinden farklıdır. Bundan dolayı farklı metodlardan elde edilen sonuçları karşılaştırmak oldukça zordur (240).

Kimyasal reaksiyonlarına göre bu metodlar başlıca iki gruba ayrılırlar:

Hidrojen atomu transferine (HAT) dayalı metodlar ve sadece bir tek elektron transferine (ET) dayalı metodlar. HAT ve ET temelli metodlar örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine oksidan veya radikal giderici kapasitesini belirlemeyi amaçlar. Basit "lipidsiz" sistemlerde; antioksidandan serbest radikal molekülüne H+

verilmesi veya elektron transferinin doğrudan ölçümü yapılır. Bu metodlar ticari kit şeklinde de olup, yaygın bir şekilde kullanılırlar. Lipid model sistemlerinde serbest radikal oluşumu, reaktanların kaybı (oksijen, yağ asitleri) ve primer ile sekonder oksidasyon ürünlerinin (ketonlar, aldehitler, asitler, hidroperoksitler,) oluşumunun tayin edilmesi lipid oksidasyonunda en çok kullanılan indikatörlerdir. Kısa zincirli yağ asitlerinden kaynaklanan iletkenlik metodu, (Ransimat metodu) Peroksit değeri (POV), tiyobarbütirik asit reaktif türlerin (TBARS) tayini ve ölçümü lipid oksidasyonunun tayininde en sık başvurulan metodlardır.

POV tayininde lipid peroksitlerin oluşumu iki farklı metodla izlenir. Metotlardan biri olan iyodometrik yöntem; meydana gelen peroksitlerin iyodür (I-) ile reaksiyona girerek iyot (I<sub>2</sub>) oluşturmasına ve oluşan iyodun titrimetrik yöntemle tayin edilmesi esasına dayanır. Ferrik tiyosiyanat metodunun esası ise, Fe<sup>2+</sup> iyonlarının meydana gelen peroksitler tarafından Fe<sup>3+</sup>'e yükseltgenmesi ve ortama eklenen tiyosiyanat ile oluşturulan kompleksin spektrofotometrik olarak tayinine dayanır (245).

TBARS tayini ile ketonlar, aldehitler, hidrokarbonlar ve asitler gibi sekonder oksidasyon ürünlerinin oluşumu tayin edilir. Sadece malondialdehite (MDA) spesifik olmayıp, diğer okso bileşiklerinin ölçümünde de uygulanır (242).

Ransimat yönteminde antioksidan aktivite doymamış yağ asitlerinin yüksek sıcaklıkta peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek, Ransimat cihazı ile suyun iletkenliği tayin edilir (246).



**Tablo 2.6.** In vitro koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları

HAT-temelli metodlar $ROO\bullet + AH \longrightarrow ROOH + A\bullet$ $ROO\bullet + LH \longrightarrow ROOH + L\bullet$	Oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC) Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP) LDL oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP) Crocin ağartma metodu
ET-temelli metodlar $M^n + e^- (AH'den) \longrightarrow AH\bullet + M^{(n-1)}$	Trolox ekivalenti antioksidan kapasite (TEAC) Fe(III) iyonu indirgeme g¼c¼ (FRAP) DPPH radikali giderme aktivitesi FCR ile toplam fenolik bileşik tayini
Diğer metodlar	Tiyobarbit¼rikasit ile oksidasyon ¼r¼nlerinin tayini (TBARS) Peroksit değer (POV) Ransimat metodu Çeşitli serbest radikalleri yakalama metodları

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Deneyleerde kullanılan mendek (*Aegopodium podagraria*) bitkisi Giresun ilinde doğal ortamlarda yetişen ve rakımları farklı 5 ayrı istasyondan toplandı. 1. istasyon 68 rakımlı Zeytinlik Mahallesi (yol kenarı), 2. istasyon 67 rakımlı Zeytinlik Mahallesi (bahçe), 3. istasyon 123 rakımlı Gedikkaya Mahallesi, 4. istasyon 336 rakımlı Kayadibi Mahallesi, 5. istasyon 678 rakımlı Giresun Mesudiye Köyü olarak belirlendi. Mendek bitkileri bu belirlenen istasyonlardan Mart-Mayıs 2016 tarihleri arasında toplandı ve tür teşhisi yapıldı. Köklerinden ayrılmadan bir bütün olarak toplanan bitki örnekleri temizlenip rutubetsiz oda sıcaklığında kurutma kağıtlarına serilip kuruması sağlandı. Kurumak üzere olan bitkiler çürümemesi için gün içinde ters-düz edildi. Suyu süzülen ve kurumak üzere olan bitkiler daha sonra kurutma kağıtlarıyla birlikte 37°C - 40°C deki etüvde yaklaşık 72 saat bekletilerek tam olarak kurutuldu. Kuruyan bitkiler tahta havanda dövülerek ince elekten geçirildi. Toz haline gelen bitki örnekleri etiketli poşetlere koyulup karanlık ortamda muhafaza edildi.

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

- **%75'lik Etil Alkol**

%96'lık Etil alkolden 781,25ml alınıp mezüre konuldu ve 1000ml ye tamamlandı.

- **%3,5 Hidroklorik Asit Stoğu**

Cam pipet yardımıyla %37'lık HCl çözeltisinden 7,949ml alındı ve 100ml ye tamamlandı.

- **0,02M'lık FeCl<sub>2</sub> Stoğu**

0,397gr FeCl<sub>2</sub> alınıp %3,5'luk HCl ile 100ml'ye tamamlandı.

- **%30'luk Amonyum Tiyosiyonat Stoğu**

30gr Amonyum tiyosiyonat alındı ve 100ml'ye tamamlandı.

- **Linoleik Asit Emisyonu Stok Hazırlanması**

45ml tampon çözeltisi, 155µl Linoleik asit, 160ml Tween 20 karıştırılarak stok hazırlandı.

### **3.3. Metod**

#### **3.3.1. ICP-MS Yöntemi ile Ağır Metal ve İz Elementlerin Ölçümü**

Kurutulmuş, tahta havanda dövülmüş ve plastik elekten geçirilmiş olan bitki örnekleri yaklaşık 0,5 gr tartılıp teflon tüplere konuldu. Üzerine 5ml HNO<sub>3</sub> ve 2ml HCl eklendi. Bu sırada mikro dalga fırın 210 °C dereceye ulaşması için 20 dk beklenildi. Daha sonra 1 atm basınç altında 210 °C derecede 20dk yakma işlemi gerçekleştirildi. Yakma işlemi gerçekleştirildikten sonra 90 dk fırının soğuması için beklenildi. Sıvılaşmış numune seyreltilip (genelde 50 ml ye ultra saf su ile seyreltilir) 40 mikronluk süzgeçten geçirilip ölçümün yapılması için numuneler ICP-MS cihazına verildi. Analitik bir cihaz olarak ICP-MS iki üniteden oluşmaktadır. Bunlar induktif olarak eşleştirilmiş plazma (ICP) ve kütle spektrometresi (MS)'dir.

Endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi, numunelerin yüksek sıcaklıktaki bir plazmaya, genellikle argon gönderilerek moleküler bağların kırıldığı ve atomların iyonlaştırıldığı bir analitik tekniktir. Numunedeki elementler ICP'de iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine (MS) iletilir ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp ölçülür. Örnek, genel olarak bir solüsyon halinde nebulizöre ve sprey odacığına iletilerek, yüksek hızlı argon akışı sayesinde sisleştirilir. 6000 K sıcaklıklardaki plazma örneği buharlaştırır ve iyonize eder. İyon akışı atmosferik basınçtan yüksek vakumlu bir ortama gider. Sonra iyon akımı iyon lensleri aracılığıyla quadropola odaklanarak kütle filtresine yönlendirilir. İyonlar kütle spektrometrede kütle yük oranına göre ayrılırlar ve dedektörle ölçülürler.

#### **3.3.2. Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi;**

##### **3.3.2.1. Ekstraktların Hazırlanışı**

Kurutulan ve öğütülen bitki örneklerinin ekstraktları etanol ve metanol çözücüleri kullanılarak hazırlandı. Etanol ve metanol ekstraksiyonları için 20'şer gr bitki örneği 400 mL çözücü ile oda koşullarında çalkalamalı su banyosunda 300 rpm'de 3 saat boyunca inkübe edildi (249). Süzgeç kağıdından süzülür, süzüntülerin çözücüleri bir süre evaporatörde 40 °C'de uçurulduktan sonra beherlere alınarak etüvde 40 °C'de kazanacak forma gelene kadar çözücülerin uçması beklendi. Antioksidan aktivite denemelerinde çalışılacak olan konsantrasyonlar için metanol ekstraktı metanolde, etanol ekstraktı da etanolde 200 µg/ml olacak şekilde çözüldü.

### 3.3.2.2.Ferrik Tiyosiyonat Metodu ile Total Antioksidan Kapasitesi Tayini

Ferrik tiyosiyonat metodu kullanılarak antioksidan aktivite (250) belirlendi. Bu metoda göre in vitro ortamlarda linoleik asit oksidasyonu oluşturulur ve oksidasyon esnasında  $Fe^{2+}$  iyonları  $Fe^{3+}$  iyonlarına yükseltgenir. İnkübasyondaki karışımdan belirli aralıklarla örnek alınarak spektrofotometrik ölçüm ile peroksitlerin oluşumu takip edilir. Yüksek absorbans değeri yüksek peroksit konsantrasyonu olduğu bilgisini verir.

Belirli konsantrasyondaki örnek ekstraktından 5ml alınıp, 0,02M pH=7 olan fosfat tampon çözeltisi, 155µl Linoleik asit, 160ml Tween20 karışımından 45ml eklenerek iyice karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı ağzı kapaklı tüplerde 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sırasında çeşitli zaman aralıklarında 0,1ml örnek alınarak üzerine 4,7ml %75 v/v etanol, 0,1ml %30 w/v amonyum tiyosiyonat ve 0,1ml 0,02M  $FeCl_2$  eklendi ve vorteksle karıştırıldı.

$Fe^{2+}$  iyonları, lipit oksidasyonu sonucu oluşan peroksitlerce  $Fe^{+3}$ e yükseltgenir ve oluşan  $Fe^{+3}$  tiyosiyonat ile tepkimeye girerek 500 nm'de maksimum renk sahibi bir kompleks oluşturur. Bu nedenle karışım 500 nm'de ölçüldü. Aynı koşullar antioksidan madde içermeyen kontrol örneği içinde uygulandı. Bitki ekstraktlarının linoleik asit peroksidasyonu üzerindeki inhibisyon etkileri, belirli konsantrasyonlarda ferrik tiyosiyonat (FTC) metodu ile üç tekrarlı olacak şekilde ölçülüp ortalamaları alındı ve sonuçlar kontrol, BHT ve troloks'un inhibisyon oranları ile kıyaslandı. İnkübasyon sırasında emülsiyonda oluşan peroksitlerin miktarı, oksidasyonun ilerleyişi sırasında 12 saatte bir ölçüm alınarak toplam 132 saat boyunca takibi yapıldı. Her bir ekstraktın konsantrasyonları için ve standart maddeler için absorbans-zaman grafikleri çizildi. Kontrolün maksimum absorbans değeri ile her bir örneğin maksimum peroksit oksidasyonu anına karşılık gelen absorbansları grafikler yardımıyla tespit edildi. % inhibisyon formülü yardımıyla lipit peroksidasyonunu inhibe etme oranları sonucuna ulaşıldı.

Lipit peroksidasyonu inhibisyonu hesaplanması aşağıdaki formül ile yapıldı:

$$\%LPI= 1-[(Abs_{\text{örnek}} / Abs_{\text{kontrol}}) \times 100]$$

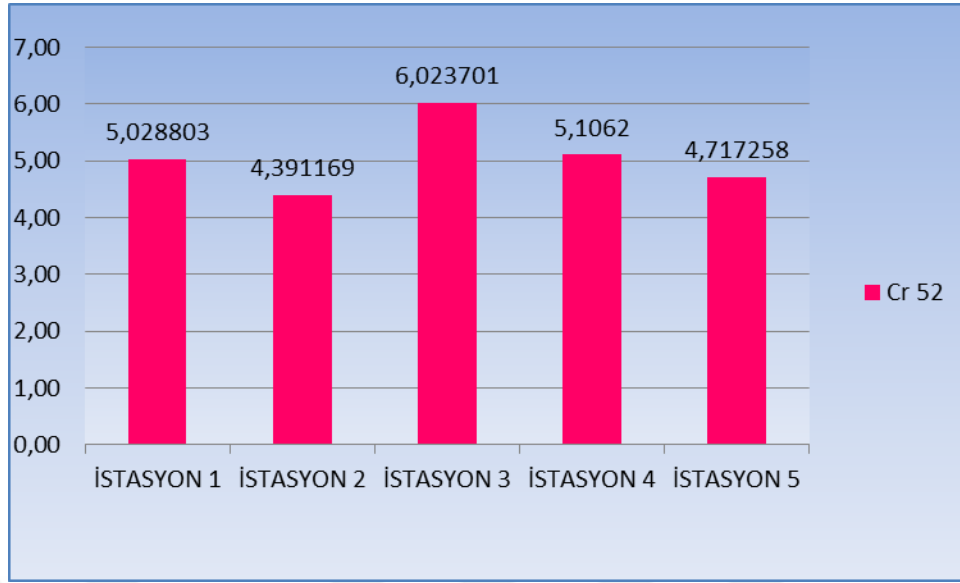
#### 4.BULGULAR

Giresun ilinde yetişen ve 5 farklı istasyondan toplanan *Aegopodium podagraria* türünün kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının karışık olarak hazırlanan numunelerinde ICP-MS yöntemi ile 8 adet ağır metal ve iz element (Cr,Ni,Zn,As,Pb, Mn, Fe, Cu) miktarları ppm cinsinden belirlendi. Farklı istasyonlardan toplanan mendek bitkisinin ICP-MS ile ölçümü sonrası ppm cinsinden elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Tablo 4.1.** ICP-MS Ölçüm Sonuçları (ppm)

	İSTASYON 1	İSTASYON 2	İSTASYON 3	İSTASYON 4	İSTASYON 5
<b>Cr 52</b>	5,028803	4,391169	6,023701	5,1062	4,717258
<b>Mn 55</b>	71,680490	56,63878	82,6505	43,75284	83,49834
<b>Fe 57</b>	119,0274	11,1313	30,89154	54,24307	153,7845
<b>Ni 60</b>	41,191860	39,22158	40,47701	36,49883	50,14805
<b>Cu 65</b>	22,940410	19,04663	24,72743	15,08091	19,43609
<b>Zn 66</b>	72,427950	67,01348	105,4179	66,88973	73,4544
<b>As 75</b>	2,207758	2,157142	0,698611	0,696582	0,953982
<b>Pb 208</b>	2,568179	1,901581	1,096106	0,154652	0,159388

#### 4.1.Krom (Cr)

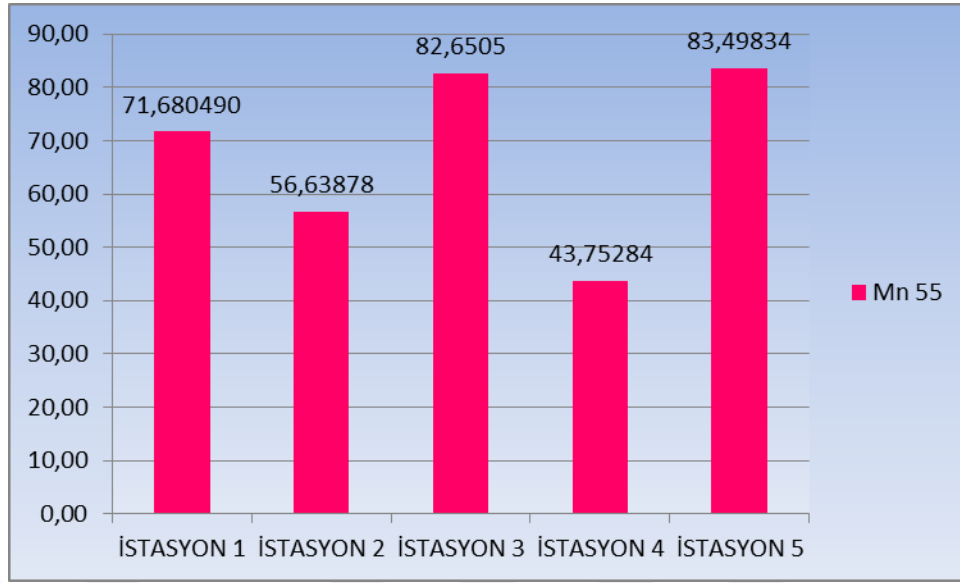


**Şekil 4.1.** Krom Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyonlardan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda ki Cr miktarı 5,029ppm,
2. İstasyonda ki Cr miktarı 4,391ppm,
3. İstasyonda ki Cr miktarı 6,024ppm,
4. İstasyonda ki Cr miktarı 5,106ppm
5. İstasyonda ki Cr miktarı 4,717ppm olarak tespit edildi.

#### 4.2.Mangan (Mn)

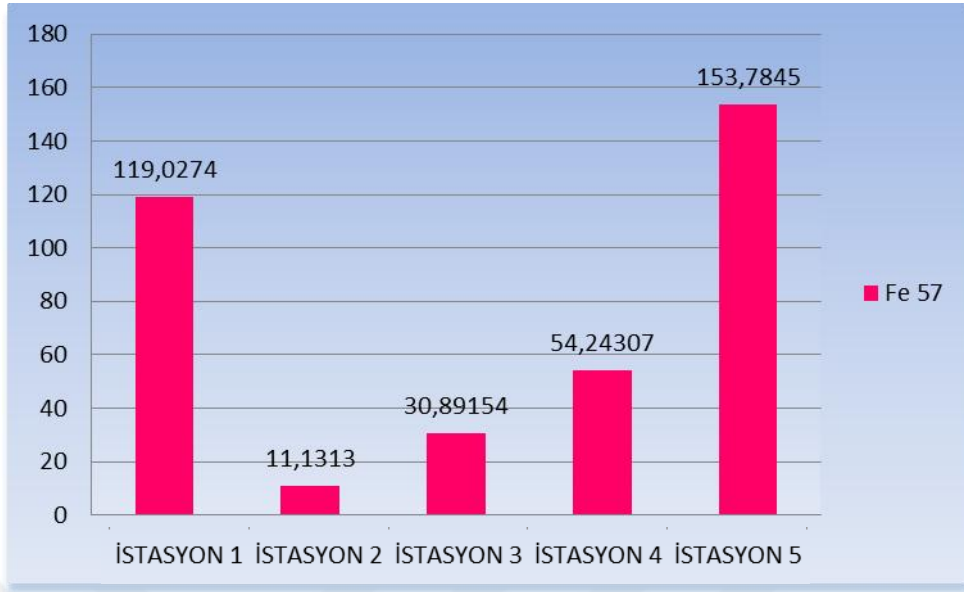


Şekil 4.2. Mangan Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyonlardan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda ki Mn miktarı 71,680ppm,
2. İstasyonda ki Mn miktarı 56,639ppm,
3. İstasyonda ki Mn miktarı 82,651ppm,
4. İstasyonda ki Mn miktarı 43,753ppm
5. İstasyonda ki Mn miktarı ise 83,498ppm olarak tespit edildi.

### 4.3.Demir (Fe)



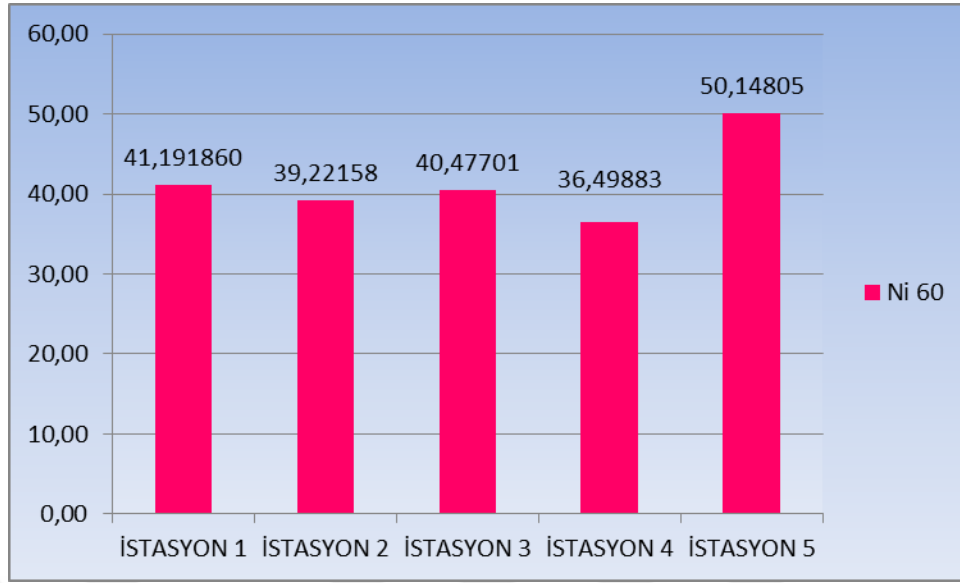
**Şekil 4.3.** Demir Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda ki Fe miktarı 119,027ppm,
2. İstasyonda ki Fe miktarı 11,131ppm,
3. İstasyonda ki Fe miktarı 30,891ppm,
4. İstasyonda ki Fe miktarı 54,243ppm
5. İstasyonda ki Fe miktarı ise 153,785ppm olarak tespit edildi.



#### 4.4.Nikel (Ni)

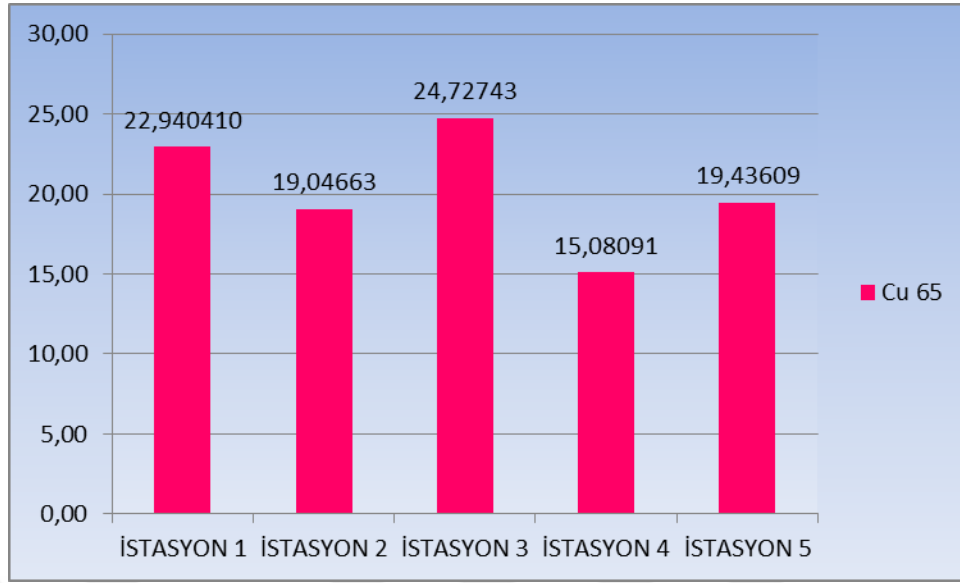


**Şekil 4.4.** Nikel Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin

1. İstasyonda Ni miktarı 41,192ppm,
2. İstasyonda 39,222ppm,
3. İstasyonda 40,477ppm,
4. İstasyonda 36,499ppm
5. İstasyonda ise 50,148ppm olarak tespit edilmiştir.

#### 4.5.Bakır(Cu)

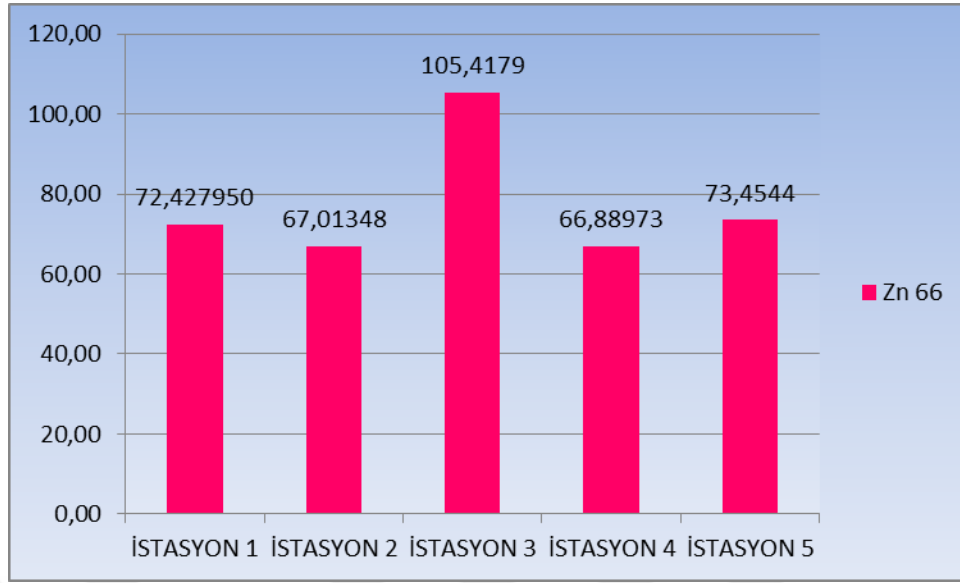


**Şekil 4.5.** Bakır Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda Cu miktarı 22,940ppm,
2. İstasyonda Cu miktarı 19,047ppm,
3. İstasyonda Cu miktarı 24,727ppm,
4. İstasyonda Cu miktarı 15,081ppm
5. İstasyonda Cu miktarı 19,436ppm olarak tespit edildi.

#### 4.6.Çinko (Zn)

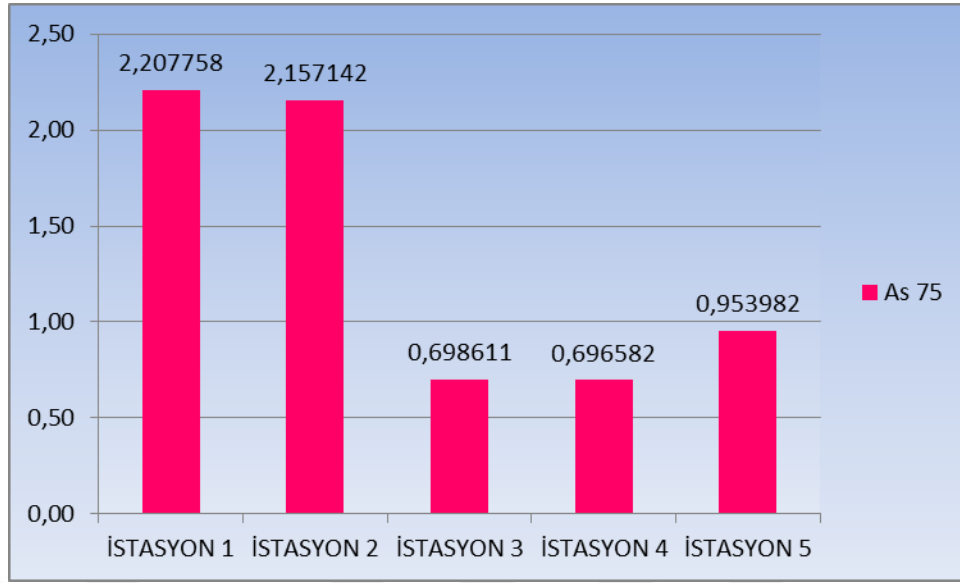


**Şekil 4.6.** Çinko Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda ki Zn miktarı 72,428ppm,
2. İstasyonda ki Zn miktarı 67,013ppm,
3. İstasyonda ki Zn miktarı 105,417ppm,
4. İstasyonda ki Zn miktarı 66,890ppm
5. İstasyonda ki Zn miktarı ise 73,454ppm olarak tespit edilmiştir.

#### 4.7.Arsenik (As)

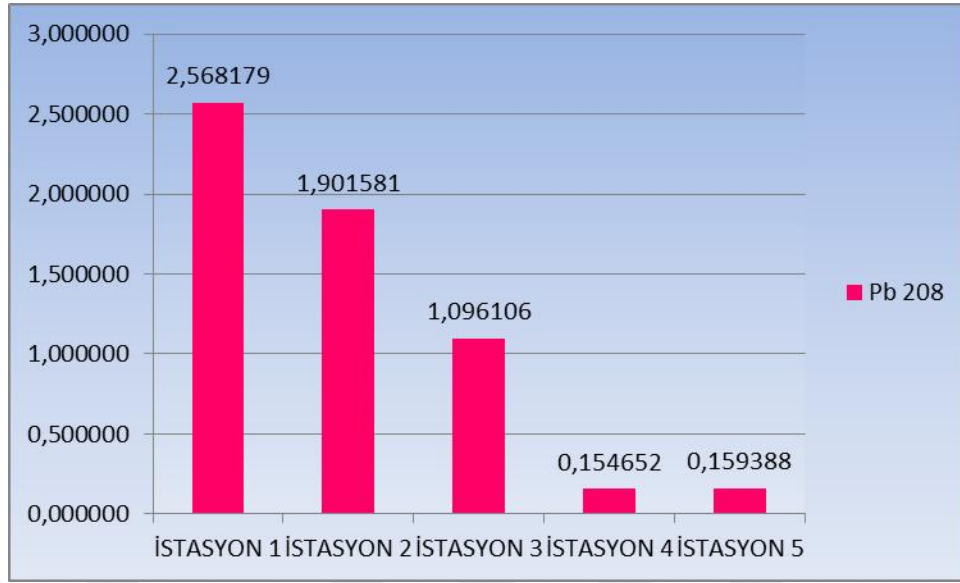


**Şekil 4.7.** Arsenik Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin,

1. İstasyonda tespit edilen As miktarı 2,208ppm,
2. İstasyondaki As miktarı 2,157ppm,
3. İstasyondaki As miktarı 0,699ppm,
4. İstasyondaki As miktarı 0,697ppm
5. İstasyondaki As miktarı ise 0,954 ppm olarak tespit edildi.

#### 4.8.Kurşun (Pb)

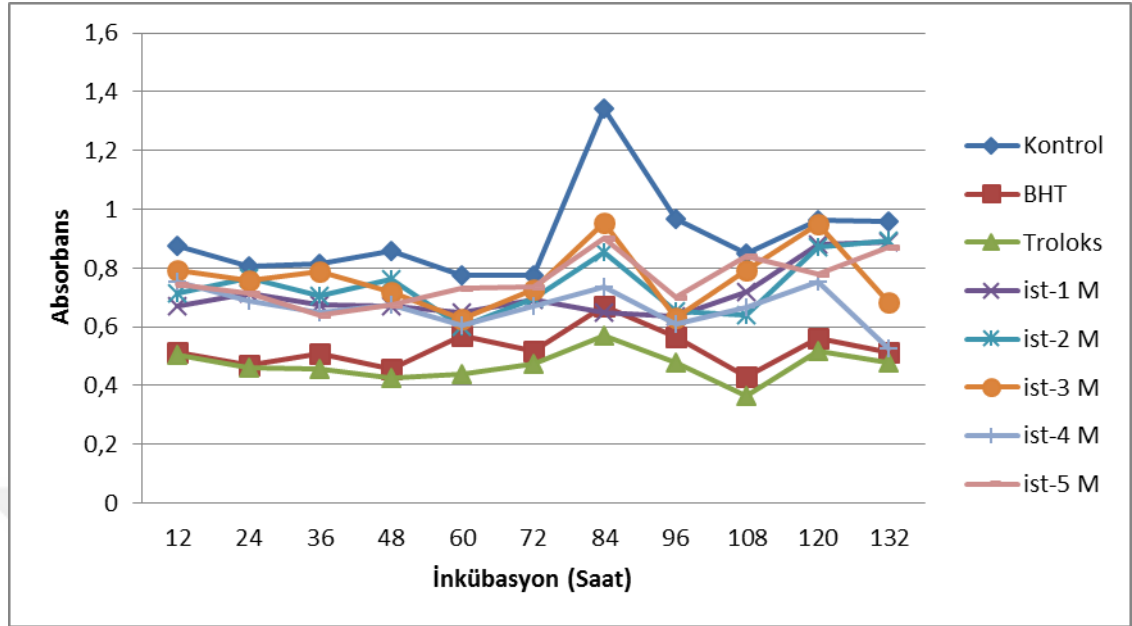


**Şekil 4.8.** Kurşun Ölçüm Sonuç Grafiği

Farklı istasyondan toplanan mendek bitkisinin,

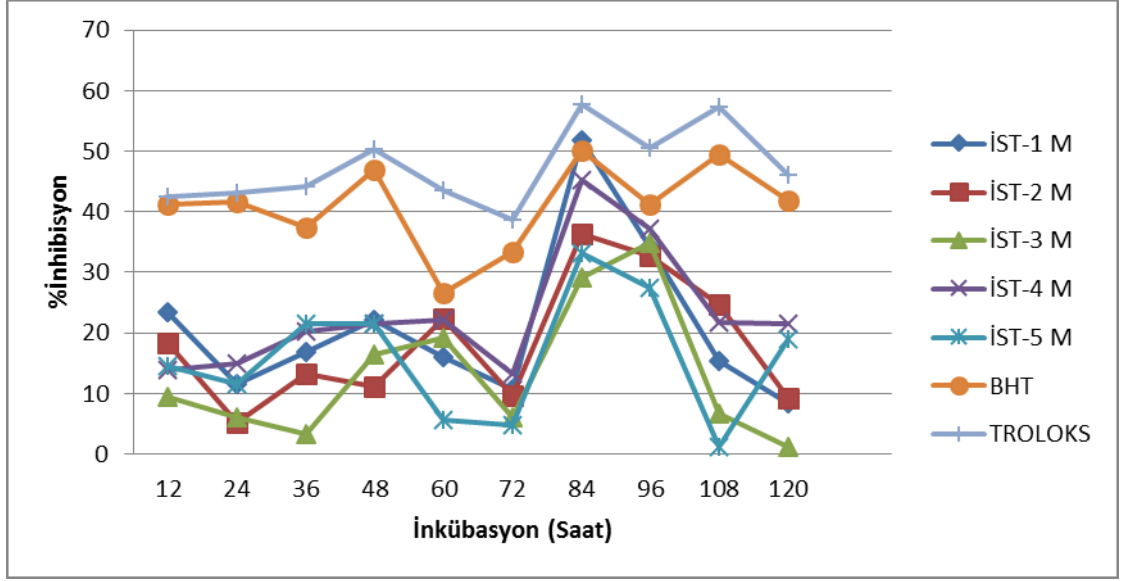
1. İstasyondaki Pb miktarı 2,568ppm,
2. İstasyondaki Pb miktarı 1,902ppm,
3. İstasyondaki Pb miktarı 1,096ppm,
4. İstasyondaki Pb miktarı 0,155ppm
5. İstasyondaki Pb miktarı ise 0,159ppm olarak tespit edildi.

#### 4.9. *Aegopodium podagraria*'nın Metanol Ekstraktlarının Total Antioksidan Kapasitesi Bulguları



**Şekil 4.9.** Linoleik asit peroksidasyonunda farklı istasyonlarda mendek bitkisine metanol ekstraktlarının etkisi

*Aegopodium podagraria*'nın 1. İstasyondan toplanan bitki örneğinin metanol ekstraktının 500 nm'deki en düşük absorbans değeri 96. saatte 0,636 iken, 132. saatte en yüksek absorbans değeri 0,889 olarak kaydedildi. 2. istasyondan toplanan bitki örneğinin en yüksek absorbans değeri 132. saatte 0,892 iken, en düşük absorbans değeri 60. Saatte 0,602' dir. 3. istasyondan toplanan bitki örneğinin en yüksek absorbans değeri 84. Saatte 0,952 iken 60. saatte en düşük 0,626 absorbansa sahiptir. 4. istasyondan toplanan bitki örneğinin 120. saatte en yüksek absorbans değeri 0,754 iken 132. saatte en düşük absorbans değeri 0,525 olarak kaydedildi. 5. istasyondan toplanan bitki örneğinin ise 84. saatte en yüksek absorbans değeri 0,900 iken, 36. saatte ise en düşük absorbans değeri 0,640 olarak kaydedildi.



**Şekil 4.10.** Linoleik asit emisyonunda mendek bitkisinin metanol ekstraktı ile BHT ve troloks % inhibisyonu grafiği

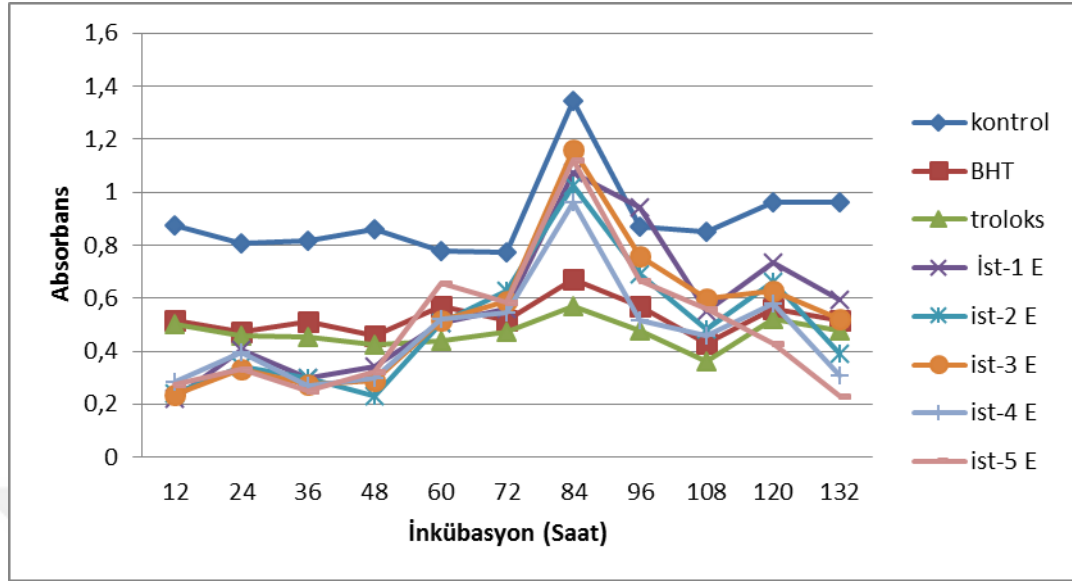
*Aegopodium podagraria* bitkisinin metanol ekstraktının % inhibisyonlarını istasyonlar ve standartlar arasında karşılaştırıldığında;

$$\text{Troloks} > \text{BHT} > \text{İst-1} > \text{İst-4} > \text{İst-2} > \text{İst-3} > \text{İst-5}$$

şeklinde sıralanabilir.

BHT ve troloks 84. saatte yüksek inhibisyon gösterirken metanol ekstraktında 1. istasyon, 2. istasyon, 4. istasyon ve 5. istasyon 84. saatte yüksek inhibisyon göstermiş olup, 3. istasyon ise 96. saatte yüksek inhibisyon göstermiştir. 12. saatte yapılan ölçümlerin inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında en düşük değer 3. İstasyon %9,486 belirlenmiş olup sırasıyla 4. İstasyon %13,982, 5. İstasyon %14,611 , 2. İstasyon %18,422 ve 1. İstasyon %23,410 olarak tespit edilmiştir.

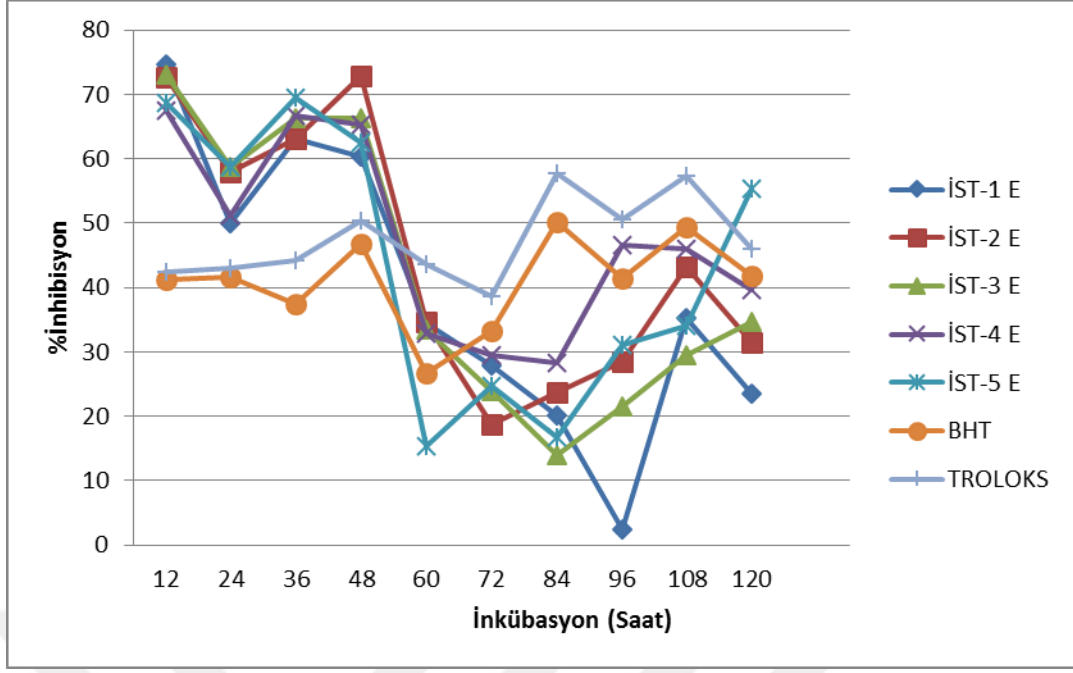
#### 4.10. *Aegopodium podagraria*'nın Etanol Ekstraktlarının Total Antioksidan Kapasitesi Bulguları



Şekil 4.11. Linoleik asit peroksidasyonunda farklı istasyonlarda mendek bitkisine etanol ekstraktlarının etkisi

*Aegopodium podagraria*'nın etanol ekstraktı 1. İstasyondan toplanan bitki örneğinin 12. saat en düşük 0,221 abs, 84. saat en yüksek 1,075 abs, 2. istasyondan toplanan bitki örneğinin 48. saat en düşük 0,233 abs, 84. saat en yüksek 1,027 abs, 3. istasyondan toplanan bitki örneğinin 12. saat en düşük 0,236 abs, 84. saat en yüksek 1,158 abs, 4. istasyondan toplanan bitki örneğinin 12. saat en düşük 0,285 abs, 84. saat en yüksek 0,963 abs, 5. istasyondan toplanan bitki örneğinin 36. saat en düşük 0,249 abs, 84. saat en yüksek 1,121 abs olduğu belirlendi.





**Şekil 4.12.**Linoleik asit emisyonunda mendek bitkisinin etanol ekstraktı ile BHT ve troloks % inhibisyonu grafiği.

*Aegopodium podagraria* bitkisinin etanol ekstraktının % inhibisyonlarını istasyonlar ve standartlar arasında karşılaştırıldığında;

$$\text{İst-1} > \text{İst-2} > \text{İst-3} > \text{İst-4} > \text{İst-5} > \text{Troloks} > \text{BHT}$$

şeklinde sıralanabilir.

BHT ve troloks 84. saatte yüksek inhibisyon gösterirken etanol ekstraktında tüm istasyonlar 12. Saatte yüksek inhibisyon göstermiştir. Bu değerler karşılaştırıldığında en düşük değer 4. istasyon %67,391 belirlenmiş olup sırasıyla 5. istasyon %68,627 , 2. İstasyon %72,620 , 3. İstasyon %73,055 ve 1. İstasyon %74,703 olarak tespit edilmiştir.

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Farklı istasyonlardan toplanan mendek bitkisinin 1. İstasyondaki Cr miktarı 5,029ppm, 2. İstasyondaki Cr miktarı 4,392ppm, 3. İstasyondaki Cr miktarı 6,024ppm, 4. İstasyondaki Cr miktarı 5,106ppm ve 5. İstasyondaki Cr miktarı 4,717ppm olarak tespit edildi. 100mg/kg krom varlığı bitkinin çimlenmesini engellemekte ve kök gelişimini durdurmakta olup, insanda günlük Cr alımı 0,20mg olarak önerilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son yıllarda yayınlamış olduğu bir kaynakta ise, bitkilerde önerilen Cr miktarı 2ppm olarak belirtilmiştir (251). Bitkide kuru maddede 100 mg/kg Cr bulunması birçok yüksek bitki için toksik etkiye sebep olmaktadır (51). Bu kaynaklara göre bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarda Cr miktarı daha yüksek seviyede tespit edildi. Fakat literatüre göre toksik etki sağlamadığı söylenebilir.

1. istasyondaki Mn miktarı 71,681ppm, 2. istasyondaki Mn miktarı 56,639ppm, 3.istasyondaki Mn miktarı 82,651ppm, 4. istasyondaki Mn miktarı 43,753ppm ve 5. istasyondaki Mn miktarı ise 83,498ppm olarak tespit edildi. Bitkilerdeki kabul edilebilir Mn miktarının 20ppm'e kadar olduğu literatürde bildirmektedir (252). Mn bitkide fotosentezde ve insan vücudunda ise bazı enzimlerin yapısında yer alarak kofaktör rolü oynamaktadır. Ayrıca fazla bulunması ise bireyde Parkinson gibi ciddi hastalıklara sebebiyet vermektedir (253,254). Bu bilgilere göre bitki örneklerimizdeki Mn miktarı oldukça yüksek tespit edildi

1. istasyondaki Fe miktarı 119,027ppm, 2. istasyondaki Fe miktarı 11,131ppm, 3. istasyondaki Fe miktarı 30,892ppm, 4. istasyondaki Fe miktarı 54,243ppm ve 5. istasyondaki Fe miktarı ise 153,785ppm olarak tespit edildi. Türk Gıda Kodeksinde gıdalarda müsaade edilen Fe miktarı 52mg/kg olarak verilirken bu sınır WHO/FAO raporlarında 200mg/kg' a kadar çıkabilmektedir. Eksikliğinde bireyde burun kanaması, anemi vs. hastalıklara neden olan Fe için toksik seviyesinin ise insanlarda 200mg/kg, bitkilerde 10-200mg/kg olduğu belirtilmektedir (255,256). Elde edilen kaynaklarda ki Fe değerlerine göre, mendek bitkisinin kabul edilen Fe değerlerinin sadece 5. istasyonda yüksek çıktığı tespit edildi.

1. istasyonda Ni miktarı 41,192ppm, 2. istasyonda 39,222ppm, 3. istasyonda 40,477ppm, 4. istasyonda 36,499ppm ve 5. istasyonda ise 50,148ppm olarak tespit

edildi. Yapılan bir çalışma da biberiye bitkisinde Ni miktarı 49,39mg/kg olarak belirlenmiştir.(257). Literatürde belirlenen başka bir çalışmada da biberiye ve ısırgan yaprak örneklerinde Ni miktarı sırasıyla ortalama 0,81 mg/kg ve 1,96 mg/kg olarak tespit edilmiştir (258). Ayrıca Ni ‘nin bitkilerde kabul edilebilir doz aralığı olarak 1,0-10,0ppm ve 0,18-5 ppm olduğuna dair bilgiler literatürde yer almaktadır (252, 259). Dolayısıyla tüm istasyonlardan elde edilen bitki örneklerinde Ni değerlerinin literatürde belirlenen değerlerden oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Ni bitkiler için esansiyel element olmakla beraber yüksek miktarlarda alımı bitkide klorofil sentezi ile yağ metabolizmasına hasar vermekte iken, bireyde kanserojen etki göstermekte, ciltte alerjik reaksiyonla beraber solunum sistemine de zarar vermektedir (260,261).

1. istasyonda Cu miktarı 22,940ppm, 2. istasyonda Cu miktarı 19,04ppm, 3. istasyonda Cu miktarı 24,727ppm, 4. istasyonda Cu miktarı 15,081ppm ve 75. istasyonda Cu miktarı 19,436ppm olarak tespit edildi. Yapılan bir çalışmada *Verbascum olympicum*’un Cu değeri 40-234 mg/kg olduğu tespit edilmiştir (262). Farklı bitki türleri üzerinde yapılan bir çalışmada alınan sonuçlara göre *Melilotus alba*’nın Cu içeriğinin 9-16 mg/kg olduğu tespit edildiği ve bu bitki için belirtgen (biyoindikatör) bitki olabileceği belirtilmiştir. Bitki kuru maddesinde 15-30 mg/kg’den fazla Cu toksik etkiye sebep olmaktadır (44). Belirlenen değerler literatürlerle karşılaştırıldığında elde edilen sonuçların ortalama değerinde bir Cu içerdiği söylenebilir.

1. istasyondaki Zn miktarı 72,428ppm, 2. istasyondaki Zn miktarı 67,0135ppm, 3. istasyondaki Zn miktarı 105,418ppm, 4. istasyondaki Zn miktarı 66,890ppm ve 5. istasyondaki Zn miktarı ise 73,454ppm olarak tespit edildi. Yapılan bir çalışmada *Salvia viridis* bitkisinde Zn miktarı 31,555ppm, meyvelerinde ise 53,804ppm olarak tespit edilmiştir (263). Canlılar için önemli bir besin elementi olan Zn birçok enzimin de aktivatörüdür ve bitkilerde ki protein sentezinde Zn’nun da önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (264). Bitkiler bünyesine aldıkları Zn konsantrasyonunun 3,6-5,5 ppm olduğu bilimsel bir kaynaktan belirtilmektedir (261). Türk Gıda Kodeksinde ve WHO/FAO raporlarında ise bazı gıda ve sebzelerde müsaade edilen maksimum Zn değerleri 5-50mg/kg olarak kaydedilmektedir (255).

Verilen bu bilgilere göre mendek bitkisinde tespit edilen Zn değerlerinin yüksek konsantrasyonda oldukları söylenebilir.

1. istasyonda tespit edilen As miktarı 2,208ppm, 2. istasyondaki As miktarı 2,157ppm, 3. istasyondaki As miktarı 0,699ppm, 4. istasyondaki As miktarı 0,699ppm ve 5. istasyondaki As miktarı ise 0,954 ppm olarak tespit edildi. Vural'ın yaptığı çalışmada bitki örneklerinde As miktarının 2,04mg/kg olduğu belirtilmiştir (265). Pais ve Jones (2000) in yapmış oldukları başka bir çalışmada ise elde edilen As miktarı ortalama olarak 0,1-5 mg/kg (Kül ağırlıkta) olduğu belirlenmiştir (266). Bu veriler ile karşılaştırıldığında çalışmada bulunan As miktarının diğer bitki örneklerinden çok daha düşük olduğunu söylenebilir.

1. istasyondaki Pb miktarı 2,568ppm, 2. istasyondaki Pb miktarı 1,902ppm, 3. istasyondaki Pb miktarı 1,096ppm, 4. istasyondaki Pb miktarı 0,155ppm ve 5. istasyondaki Pb miktarı ise 0,159ppm olarak tespit edildi. WHO kaynaklarında belirtilen bitkilerin bünyesinde bulunmasına izin verilen Pb miktarı 10mg/kg olarak verilmektedir ve çalışmadaki tüm numuneler bu değerin çok altında Pb içermektedir (267, 251). 2011 yılında yayınlanan bir çalışmada, Gıda Standartları Komisyonu CAC tarafından yapraklı sebzeler için tavsiye edilen Pb miktarı ise maksimum 0,3mg/kg olarak belirtilmektedir. 1. istasyondan toplanan bitki örneğinin Pb miktarı diğer istasyonlara göre daha yüksek konsantrasyonda çıkmıştır. Pb konsantrasyonunun yüksek oluşu 1. istasyonun yol kenarı olması sebebiyle trafik kaynaklı ağır metal kirliliği olduğunu söylenebilir.

Total antioksidan kapasitesi belirlenmesinde mendek bitkisi metanol konsantrasyonlarına karşı standartlar BHT ve troloks 84. saatte en yüksek inhibisyon yüzdesini göstermektedir. Metanol ekstraktı mendek bitkisinde 1. istasyondan toplanan bitki örneğinin en yüksek inhibisyon gösterdiği saat olan 84. saatte, BHT standardı ile eşdeğer bir inhibisyon yüzdesi elde edilmiştir. İstasyon 2, istasyon 4 ve istasyon 5'in de en yüksek inhibisyon gösterdiği saat 84. saattir. Bundan farklı olarak istasyon 3'ün yüksek inhibisyon gösterdiği saat 96. saattir. Mendek bitkisinin metanol ekstraktları 72. saatte başlayıp ortalama 108. saate kadar yüksek inhibisyon göstererek güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini söylenebilir.

Mendek bitkisi etanol konsantrasyonunda istasyonlar genel olarak ilk ölçüm saati olan 12. saatte en yüksek inhibisyonu göstermektedir. Buna karşın standartlar daha düşük inhibisyon ile başlangıç yaparak en yüksek inhibisyon saati 84. saattir. İstasyonların içinde en düşük inhibisyon gösteren istasyon ise 1. istasyonun 96.

saatidir. Bu grafiğe göre etanol ekstraktıyla hazırlanan örnekler standart olarak alınan BHT ve troloksa göre daha çabuk ve daha yüksek inhibisyon göstererek güçlü antioksidan aktivite gösterdiği söylenebilir.

Çalışmada; linoleik asit emülsiyonu ile yapılan lipid peroksidasyonu ölçümünde mendek bitkisinin etanol konsantrasyonunun metanol konsantrasyonuna göre daha çabuk inhibe etme özelliği gözlemlendi. Bunun nedeni olarak etanol konsantrasyonunun bitkide daha hızlı bir şekilde antioksidan içeriğini ortaya çıkardığını söyleyenebilir. Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde bu çalışmadaki analiz örneği ile ilgili olarak uygulanan metot ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Karşılaştırma yapmak amacı ile Öztan (2006)'ın mor havuç, konsantresi, taze nar suyu, şalgam suyu, nar ekşisi, ticari nar suyunda total antioksidan kapasitesi belirlenmesinde linoleik asidin zamanla okside olması ile kontrol örneğinin absorbanı artmış ve numunelerin lipid peroksidasyonunu inhibe etme yüzdesi de zamana bağlı artmıştır. Ayrıca örneklerinde en iyi inhibisyonu 10. gününde görülmüştür (268). Aydın (2011)'in zencefil ve zerdeçal üzerine yapmış olduğu bir çalışmada metanol ve etanol ekstraktlarının her ikisinde de etkili antioksidan aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (269). Yaprakları salata ve baharat olarak kullanılan bazı bitkiler üzerinde yapılan bir çalışmada da etanol ekstaktının diğer ekstraktlara göre daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (270).

Giresun çevresinde yetişen ve halk arasında tüketilen *Aegopodium podagraria* bitkisi yaptığımız çalışma sonuçlarına göre yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Çevre kirliliğinden uzak bölgelerden toplandığında As, Pb gibi toksik ağır metal değerlerinin düşük olduğu, Fe, Mn gibi besin elementleri değerlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre *Aegopodium podagraria* bitkisi güvenle tüketilebilir diyebiliriz. Fakat daha önce araştırılması yapılmayan bir bitki olduğu için üzerinde tekrar çalışma yapılmasına müsait bir bitki olduğunu da belirtmek gerekir.

## 6.KAYNAKLAR

- 1) Brohi, A. R., Özer, Z., Karaman, M. R., 1994. Fosforlu Gübrelemenin Yabancı Ot Mücadelesi ile Birlikte Buğday Bitkisinin Verim ve N-P-K Kapsamına Etkisi. Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Derg. 11: 157-168.
- 2) Yıldız, N., 2003. Toprak Kirletici Ağır Metaller ve Toprak Bitki İlişkileri. I. Ulusal Çevre Sempozyumu. Atatürk Üniversitesi Çevre Sorunları Araştırma Merkezi Müdürlüğü Erzurum.
- 3) Raven, J.A., Evans M.C.W. and Korb R.E., 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O<sub>2</sub>- evolving organisms. Photosynth. Res. 60:111-49.
- 4) Munzuroğlu, Ö. ve Nazmi G., 2000. Ağır Metallerin Elma (*Malus slyvestris* Miller cv. Golden)'da Polen Çimlenmesi ve Polen Tüpü Gelişimi Üzerine Etkileri. Turk J.Biol. (24) 677-684. TÜBİTAK.
- 5) Bayçu, G., 1997. "Picea abies'te Kadmiyum Toksikitesi ve Köklerde Kadmiyum Birikimi" XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi 17-20 Eylül 1996, İstanbul. Kongre Kitapçığı, Cilt:III, s:433-442.
- 6) Peterson, P.J., 1993. "Plant Adaptation to Environmental Stress: Metal Pollution Tolerance" Fowden, L., Mansfield, T., Stoddart, J., Chapman & Hall, p:171-188.
- 7) Ceylan, A. 1983. Tıbbi Bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova-İzmir.
- 8) Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö ve Çobanoğlu, D., 2004. Ağır Metal İyonlarının (Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>) Clivia sp. Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri. F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi, 16(2), 177-182.
- 9) Kennedy, C.D. and Gonsalves, F.A.N., 1987. The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and efflux of excised roots, J.Exp. Bot., 38, 800-817.
- 10) Haktanır, K ve Arcaç, S., 1998. Çevre Kirliliği. Ankara Üni. Ziraat Fak. Toprak Bölümü, Ankara Üni. Yayın No: 1503, Ders Kitabı:457, Ankara.

- 11) Paschke, M.W., Valdecantos, A and Redente, E.F., 2005. Manganese toxicity thresholds for restoration grass species. *Environmental Pollution*, 135:313-322.
- 12) Lee, J., Koo, N., and Min, D.B., 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21-33.
- 13) Cochrone G G. Cellular injury by oxidants. *The American J of Med.* 1991, 91 (Suppl. 3C): 23-30.
- 14) Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., and Exon, J. H., 2006. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 161-183.
- 15) Bast A, Haenen G, Goelmen J A. Oxidants and antioxidants. State of the Art The Am J Of Med. 1991, 91 (Suppl 3C): 2-13.
- 16) Blomhoff, R., Carlsen, M.H., Andersen, L.F., and Jacobs-Jr. D.R., 2006. Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96, S52-S60.
- 17) Fang, Y.Z., Yang, S., and Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
- 18) Parke, D.V., 2001. Nutritional antioxidants and disease prevention: Mechanisms of actions. *Antioxidans in Human Health and Diseases*, Eds: Basu, T.K., Temple, N.J., and Garg, M.L., CAB International, New York, 1 13.
- 19) Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., and Prior, R.L., 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026-4037.
- 20) Akkuş İ 1995 Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- 21) Evaluation of Some Wild Plants Aspect of Their Nutritional Values Used as Vegetable in Eastern Black Sea Region of Turkey

- 22) Webb, DA, Parnell, J. ve Doogue, D., 1996. Bir İrlandalı Flora. Dundalgan Basın Ltd Dundalk. [ISBN 0-85221-131-7](#)
- 23) Parnell, J. ve Curtis, T., 2012. Webb bir İrlandalı Flora. Cork Üniversitesi Yayınları. [ISBN 978-185918-4783](#)
- 24) Van Der Kooi, CJ; Kalem, ben .; Staal, E .; Stavenga, DG; Elzenga, JTM 2015. "Tozlayıcı ve çiçek içi toplumlu spektral benzemezlik Yarışması" (PDF). Bitki Biyolojisi. Doi: [10.1111 / plb.12328](#).
- 25) Tarla Bitkileri Bölümü 1969. "Zemin yaşlı (*Aegopodium podagraria*)". Ziraat Tazmanya Dergisi 40 (30): 190.
- 26) Dawson, F. Hugh; Hollanda, David. 1999. "Kontrol stratejilerinin geliştirilmesine ilişkin İngiltere'deki üç yabancı istilacı bitki bankside habitatları dağıtım.". *Hydrobiologia* 15: 193-201 doi: [10,1007 / 978-94-017-0922-4\\_27](#).
- 27)"- Bishops Weed (*Aegopodium podagraria*) Zemin Elder". Yenilebilir Bitkiler 2009. Alındı 2016-03-15.
- 28) Jump up ^ Hill, John 1812. The Family Herbal .
- 29) Yıldız, N., 2004. Toprak ve Bitki Ekosistemindeki Ağır Metaller. ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları. Erzurum.
- 30) Selinus O, Alloway B, Centeno JA, Finkelman RB, Fuge R, Lindh U, Smedley P (Editors), Essentials of Medical Geology, Impacts of Natural Environment on Public Health, Elsevier Academic Pres, 2005.
- 31) Dökmeci İ, Dökmeci AH, 2005. Toksikoloji Zehirlendirmede Tanı ve Tedavi, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005.
- 32) Bilir N, Yıldız A.N., 2004. İş Sağlığı ve Güvenliği, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- 33) TC Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, 1985. İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği Enstitüsü, Akü ve Matbaa İşçilerinde Kurşun Zehirlenmesi Taraması, İSGÜM, Ankara



- 34) Chuang, H. Y., 2005. Reversible neurobehavioral performance with reductions in blood lead levels—A prospective study on lead workers *Neurotoxicology and Teratology* 27, pp 497–504.
- 35) Sienko, R.A.1983. *Temel Kimya (Chemistry:Principles and Properties)*, (Çevirenler: Gündüz N., Gündüz T., Tüzün C., Pulat E., Üneri S., Zeren A., Özgüner S.), Savaş Yayınları,Fen Bilimleri Dizisi
- 36) Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S, 2009. Metallerin Çevresel Etkileri-I, *Metalurji*, 136.Sayı, [http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136\\_4753.pdf](http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf).
- 37) Güven A, Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Timur S, 2009. Metallerin Çevresel Etkileri-III [http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi138/d138\\_6471.pdf](http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi138/d138_6471.pdf), (Erişim tarihi:08.03.2016)
- 38) Sarkar B.2002. *Heavy Metals in the Enviroment*, Marcel Dekker, Inc. New York.
- 39) Klaassen CD, 2009 (Çeviri: Kalkan Ş, Soner BC), *Ağır Metaller ve Ağır Metal Antagonistleri(Konu:65)*, Brunton LL, Lazo JS, Parker KL(Editors), (Çeviri Editörü: Süzer Ö), *Tedavinin Farmakolijik Temeli*, Nobel Tıp Kitapevleri
- 40) Baba, A., Gündüz, O., Save, D., Gürdal, G., Sülün, S., Bozcu, M., Özcan, H., 2009. Madencilik faaliyetlerinin tıbbi jeoloji açısından değerlendirilmesi: Biga Yarımadası (Çan-Çanakkale), 62. Türkiye Jeoloji Kurultayı, say.514-515, Ankara.
- 41) Bakar, C., Baba, A., Karaman, H.I.O., Şengunalp, F., 2009a. The Neurotoxic Effect Of High Aluminum Levels In Drinking Water In Kirazli Area (Canakkale, Turkey), 12th World Congress On Public Health, 27 April- 1 May 2009, İstanbul, Turkey
- 42) Save D., Köse, O.Ö., Sülün, S., Şengunalp, F., Gunduz, O., Baba, A., 2009.The blood and hair heavy metal levels in two districts with different groundwater concentrations, 12th World Congress on Public Health, 27 April- 1 May 2009, İstanbul, Turkey
- 43) Kacar B ve Katkat, V., 2006. *Bitki Besleme*. Nobel Yayın No:849.
- 44) Sossé B.A., Genet P., Dunand-Vinit F., Toussaint L.M., Epron, D and Badot P.M., 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its

relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science* (166):1213-1218.

45) Çıngı F., 2007. Eser elementler. (erişim adresi: [www.firochromis.com](http://www.firochromis.com), erişim tarihi: 15.03.2016).

46) Nuhuğlu Y., Malkoç E., Gürses A ve Canpolat N., 2002. Removal of Cu(II) from aqueous solution by *Ulothrix zonata*. *Bioresource Technology* 85,3,331-333.

47) Dunand V.F., Epron D., Sossé A.B., Badot, P.M., 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science*, 163:53-58.

48) Ouzounidou G., 1994. Root growth and pigment composition in relationship to element uptake in *Silene compacta* plants treated with copper. *J.Plant Nutr*, 17:933-943.

49) Rout G.R. and Das, P., 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I.Zinc. *Agronomie* 23:3-11.

50) Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon, H and Coudret, A., 2005. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere*, 59: 1005-1013

51) Özbek H., Kaya, Z., Gök, M ve Kaptan, H., 1995. Toprak Bilimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Genel Yayın No: 73 Ders Kitapları Yayın No:16, Adana

52) Haktanır K., 1987. Çevre Kirliliği. A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu, Teksir No:140.

53) Zengin K.F ve Munzuroğlu, Ö., 2005. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>, Zn<sup>+2</sup>) Etkileri. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1); 164-172.

54) El-Ghamery A.A., El-Kholy, M.A and ElYousser, A., 2003. Evaluation of cytological effects of Zn<sup>+2</sup> in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. And *Triticum aestivum* L., *Mutation Research*, 537:29-41.

55) Van Assche F.V. and Clijsters H., 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 13, 95-206

- 56) Goyer R. A., 1991. Toxic effects of metals. In: Caserett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons (Eds. Amdur M. O., Doull, J., Klaassen, C. D.) Pergamon Press, New York, 1032.
- 57) Lyons-Alcantara M., Tarazona J.V. and Mothersill C., 1996. The differential effect of cadmium exposure on the growth and survival of primary and established cells from fish and mammals. *Cell Biol. and Toxicol.*, 12: 29-38.
- 58) Jiang W.Z. and Li J.L., 1989. "Effects of Cadmium on Photosynthetic Characteristics of Tobacco" *Plant Physiology Communications*, 6: 27-31.
- 59) Çatak E., Güler Ç., Süleyman T. ve Orhan B., 2000. Bazı Domates ve Tütün Genotiplerinde Kadmiyum Etkilerini İnceleyen İstatistiksel Bir Çalışma. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2 (1).
- 60) Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A. and Timur S., 2007. Metallerin Çevresel Etkileri –I. (erişim adresi: [www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136\\_4753.pdf](http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf), erişim tarihi: 13.05.2016).
- 61) Gouia H., Gorbil M.H. and Meyer C., 2000. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology and Biochemistry*. 38:629-638.
- 62) Quariti O., Gouia H and Ghorbal M.H.,1997. Responses of Bean and Tomato Plants to Cadmium: Growth, Mineral Nutrition and Nitrate Reduction. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35(5):347-354.
- 63) Chaffei C., Pageau K., Suzuki A., Gouia H., Ghorbel M.H. and Masclaux-Daubresse C., 2004. Cadmium Toxicity Induced Changes in Nitrogen Management in *Lycopersicon esculentum* Leading to a Metabolic Safeguard Through an Amino Acid Storage Strategy. *Plant and Cell Physiology*, 45(11):1681-1693.
- 64) Veselov D., Kudoyarova G., Symonyan, M and Veselov, St., 2003. Effect of Cadmium on Ion uptake, Transpiration and Cytokinin Content in Wheat Seedlings. *Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special issue*, 353-359.
- 65) Hernández L.E., Rodríguez E.L., Gárate A. and Ruiz R.C., 1998. Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in pea seedlings. *Plant Science*, 132: 139-151.

- 66) Dürüst, N., Dürüst, Y., Tuğrul, D and Zengin, M., 2004. Heavy Metal Contents of *Pinus Radiata* Trees of İzmit (Turkey). Asian Journal of Chemistry, Vol. 16, No. 2, 1129-1134.
- 67) Sharm P. and Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol., 17(1):3552.
- 68) Saygıdeğer S., 1995. *Lycopersicum esculentum L.* Bitkisinin çimlenmesi ve gelişimi üzerine kurşunun etkileri. 2. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. Ankara. 588-597.
- 69) Mark K.F. and Hendershot H., 1997. Trace Metals in Montreal Urban Soils and the Leaves of *Taraxacum officinale*. Can. J. Soil. Sci., 79:385-387.
- 70) Aksoy A., 1995. Kayseri-Kırşehir Karayolu Kenarında Yetişen Bitkilerde Ağır Metal Kirlenmesi. II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Programı, Kayseri.
- 71) De Jonghe W.R.A. and Adams F.C., 1982. Biochemical cycling of organic lead compounds. Ecotoxicology., 561-593.
- 72) Servant J., 1982. Airborne lead in the environment in France., 595-619., France.
- 73) Jain R., Srivastava, S and Madan, V.K., 2000. Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. Indian J. Plant Physiol, (5);228-31.
- 74) Kha, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S. and Hayes, W.J., 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. Chemosphere (41):197-207.
- 75). <http://www.inchem.org> Web adresinden 08.03.2016 tarihinde alındı.
- 76) Nriego J.O., 1979. Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. Nature 279: 409-411.
- 77) Langille W.M. and MacLean, K.S., 1976. Some essential nutrient elements in forest plants as related to species, plant part, season and location. Plant Soil. 45: 17-26.
- 78) Hana W.J. and Grant C.L., 1962. Spectrochemical analysis of the foliage of certain trees and ornamentals for 23 elements. Bull Torrey Bot Club. 89: 293-302

- 79) Baker, A.J.M. and Brooks R.R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements- A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*. 1:81-126.
- 80) Ernst WHO, Verkleji JAC, Schat, H., 1992. Metal Tolerance in Plants. *Acta Bot Neerl* 41: 229-248.
- 81) Baker, A.J.M. and Walker P.L., 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants, heavy metal tolerance in Plants. In: Shaw A.J. *Evolutionary Aspects*. CRC Pres, Boca Raton. 155-177.
- 82) Pinto E., Teresa C.S.S., Maria A.S.L., Oswaldo K.O., David M. and Pio C., 2003. Heavy metal induced oxidative stress in algae. *J. Phycol.* 39, 1008-1018.
- 83) Martin T.J. ve Juniper E.B. 1970. *The Cuticles of Plants*. Edward Arnolds, Edinburgh
- 84) Lindberg S., Meyers T.P., Taylor G.E.Jr., Turner, R.R. ve Schroeder, W.H. (1992). Atmosphere– surface exchange of mercury in a forest: results of modeling and gradient approaches. *J. Geophys Res.* 97, 2519-2528.
- 85) Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd edition. Academic Press, London.
- 86) Greger M. 1999. Metal availability and bioconcentration in plants. In: *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystem*, Eds: M.N.V. Prasad, ve J.Hagemeyer, ss. 1-27, Springer-Verlag, Berlin.
- 87) Jackson P.J., Unkefer P.J., Delhaize E. ve Robinson N.J. 1990. Mechanisms of trace metal tolerance in plants. *Environmental Injury to Plants*, Ed: F. Katterman, ss. 231-258, Academic Press, San Diego.
- 88) Murany, A., Seeling B., Ladewig E. ve Jungk, A. 1994. Acidification in the rhizosphere of rape seedlings and in bulk soil by nitrification and ammonium uptake. *Z. Pflanzenernähr Bodenkd.* 157, 61-65.
- 89) Greger M. ve Lindberg S. 1986. Effects of Cd<sup>+2</sup> and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). I. Cd<sup>+2</sup> uptake and sugar accumulation. *Physiol. Plant.* 66, 69-74

- 90) Puthotá V., Cruz-Ortega R., Johnson, J. ve Ownby, J. 1991. An ultrastructural study of the inhibition of mucilage reaction in the wheat root cap by aluminium. *Plant-Soil Interactions at Low pH*, Eds: R.J. Wright, V.C. Baligar, R.P. ve Murrmann, ss. 779-787, Kluwer, Dordrecht.
- 91) He Z., Li J., Zhang, H. ve Ma M. 2005. Different effects of calcium and lanthanum on the expression of phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*. *Plant Sci.* 168, 309-318.
- 92) Lombardi L. ve Sebastiani L. 2005. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Plant Sci.*, 168, 797-802.
- 93) Luo C., Shen Z. ve Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 59, 1-11.
- 94) Cataldo D.A., Garlve T.R. ve Wildung R.E. 1978. Nikel in plants; II: Distribution and chemical form in soybean plants. *Plant Physiol.* 62, 566-570.
- 95) Krämer U., Cotter-Howells J.D., Baker A.J.M. ve Smith J.A.C. 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379, 635-639.
- 96) Mench M., Morel J.L., Cuckert A. ve Guillet, B. 1988. Metal binding with root exudates of low molecular weight. *J. Soil. Sci.* 33, 521-527.
- 97) Greger M., Johansson M., Stihl, A. ve Hazma, K. 1993. Foliar uptake of Cd by pea (*Pisum sativum*) and sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiol. Plant.* 88, 563-570.
- 98) Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi Anadolu University Journal Of Science And Technology Cilt/Vol.:7-Sayı/No: 1 : 1-16 2006
- 99) Barceló J., Poschenrieder C., Andreu, I. ve Gunse B. 1986. Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris L. cv. Contender*). I. Effects of Cd on water potential, relative water content and cell wall elasticity. *J. Plant Physiol.* 125, 17-25.
- 100) Punz W.F. ve Sieghardt H. 1993. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environ. Exp Bot.* 33, 85-93.

- 101) Hagemeyer J. ve Breckle S.W. 1996. Growth under trace element stres. Plant Roots; the hidden half. 2nd edition. Eds: Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi, ss. 415-433, Dekker, New York.
- 102) Peralta J.R., Gardea-Torresdey J.L., Tiemann K.L., Gomez E., Arteaga S., Rascon E. ve Parsons J.G. 2000. Study on the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in solid media. Proceedings of 2000 Conference on Hazardous Waste Research, ss. 135-140.
- 103) Munzuroğlu O. ve Geckil H. 2002. Effectes of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43, 203-213.
- 104) Stolt J.P., Sneller F.E.C., Bryngelsson T., Lundborg T., ve Schat, H. 2003. Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. Environ. Exp. Bot. 49, 21-28.
- 105) Köleli N., Eker S. ve Cakmak I. 2004. Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil. Environ. Pollut. 131, 453-459.
- 106) Sharma S.S., Kaul S., Metwally A., Goyal K.C., Finkemeier I. ve Dietz K.J. 2004. Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. Plant Sci. 166, 1287-1295.
- 107) Chaoui A. ve Ferjani E. 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum L.*) seedlings. C. R. Biologies 328, 23-31.
- 108) Vance C.K. ve Miller A.F. 1998. Spectroscopic comparison of the pH dependencies of Fe-substituted (Mn) superoxide dismutase and Fe-superoxide dismutase. Biochemistry 37, 5518-5527.
- 109) Akeson M.A., Munns D.N. ve Burau, R.G. 1989. Adsorption of Al<sup>3+</sup> to phosphatidylcholine vesicles. Biochim. Biophys. Acta. 986, 33-40.
- 110) Lindberg S. ve Griffiths G. 1993. Aluminum effects on ATPase activity and lipid composition of plasma membranes in sugar beet roots. J. Exp. Bot. 44, 1543-1550.

- 111) Jones D.L. ve Kochian L.V. 1997. Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity. FEBS Lett. 400, 51-57.
- 112) Ros R., Cooke D.T., Burden R.S. ve James C.S. 1990. Effect of herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel, on the lipid composition, Mg-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from rice, *Oryza sativa cv.* Bahia shoots. J. Exp. Bot. 41, 457-467
- 113) Ros R., Morales A., Segura J. ve Picazo, I. 1992. In vivo and in vitro effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATPase from rice (*Oryza Sativa L.*) shoots and roots. Plant Sci. 83, 1-6.
- 114) De Vos, C.H.R., Schat H., De Wall M.A.M., Vooijs R. ve Ernst W.H.O. 1991. Increased resistance to copper – induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. Physiol. Plant. 82, 523-528.
- 115) Lindberg S., Szytkier K. ve Greger M. 1991. Aluminum effects on transmembrane potential in cells of fibrous roots of sugarbeet. Physiol. Plant. 83, 54-62.
- 116) Monnet F., Vaillant, N., Vernay P., Coudret A., Sallanon H. ve Hitmi A. 2001. Relationship between PSII activity, CO<sub>2</sub> fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress. J. Plant Physiol. 158, 1137-1144.
- 117) Krupa Z. ve Bazyński T. 1995. Some aspects of heavy metal toxicity towards photosynthetic apparatus-direct and indirect effects on light and dark reactions. Acta Physiol. Plant. 17, 177-190
- 118) Nedunchezian N. ve Kulandaivelu G. 1995. Effect of Cd and UV-B radiation on polypeptide composition and photosystem activities of *Vigna unguiculata* chloroplasts. Biol. Plant 37, 437-441.
- 119) Clijster H. ve Van Assche F. 1985. Inhibition of photosynthesis. Photosynth. Res. 7, 41-40.
- 120) Baszyński T. 1986. Interference of Cd<sup>2+</sup> in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants. Acta Soc. Bot. Pol. 55,291-304



- 121) Drażkiewicz M. 1994. Chlorophyllase: Accurrence, functions, mechanisim of action, effects of external and internal factors. *Photosynthetica* 30, 321-331.
- 122) Sigfridsson K.G.V., Bernát G., Mamedov F. ve Styring S. 2004. Molecular interference of Cd<sup>2+</sup> with Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 1659, 19-31.
- 123) Miles C.D., Brandle J.R., Daniel D.J., Chu-Der O., Schnore P.D. ve Uhlik, D.J. 1972. Inhibition of photosystem II in isolated chloroplasts by lead. *Plant Physiol.* 49, 820-825.
- 124) Radmer R. ve Kok B., 1974. Kinetic observation of the photosystem II electron acceptor pool isolated by mercuric ion. *Biochem. Biophys. Acta.* 357, 177-180
- 125) Shioi Y., Tamai H. ve Sasa T. 1978. Effects of copper on the photosynthetic electron transport systems in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 19, 203-209.
- 126) Veeranjanyulu K. ve Das V.S.R. 1982. In vitro chloroplast localization of <sup>65</sup>Zn and <sup>63</sup>Ni in a Zn- tolerant plant *Ocimum basilicum* Benth. *J. Exp. Bot.* 33, 1161-1165.
- 127) Lidon F.C. ve Henriques F.S. 1993. Changes in the contents of the photosynthetic electron carriers, RNase activitiy and membrane permeability triggered by excess copper in rice. *Photosynthetica* 28, 99-108
- 128) Siedlecka A. ve Baszyński T., 1993. Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cdinduced iron deficiency. *Physiol. Plant.* 87, 199202.
- 129) Prasad M.N.V. 1999. Metallothioneins and metal binding complexes in plants. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss.51-72, Springer-Verlag, Berlin.
- 130) Brierley G.P. 1977. Effects of heavy metals on isolated mitochondria. In: *Biochemical Effects of Environmental Polutants*, Ed: S.D. Lee, ss.397411, Ann Arbor Sci, Ann Arbor
- 131) Fernandes J.C. ve Henriques, F.S. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plant. *Bot. Rev.* 57, 246-273.

- 132) Murphy A. ve Taiz, L. 1997. Correlation between potassium efflux and copper sensitivity in 10 *Arabidopsis* ecotypes. *New Phytol.* 136, 211-222.
- 133) Lösch R. ve Köhl K.I. 1999. Plant respiration under the influence of heavy metals. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve. Hagemeyer, ss.139-156, Springer-Verlag, Berlin
- 134) Kalyanaram B. 1996. Thiol radicals in biological systems: significant or trivial *Biochem. Soc. Symp.* 61, 55-63.
- 135) Dietz K.J., Baier, M. ve Krämer U. 1999. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss.73-98, Springer-Verlag, Berlin.
- 136) Hausladen A. ve Alscher, R.G. 1993. Glutathione. *Antioxidants in Plants*, Eds: R.G. Alscher, ve J.L. Hess, ss. 12-14, CRC Press, London.
- 137) Delhaize E., Ryan, P.R. ve Randall, P.J. 1993. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol.* 101, 695-702
- 138) Puthotá V., Cruz-Ortega, R., Johnson, J. ve Ownby, J. 1991. An ultrastructural study of the inhibition of mucilage reaction in the wheat root cap by aluminium. *Plant-Soil Interactions at Low pH*, Eds: R.J. Wright, V.C. Baligar, R.P. ve Murrmann, ss. 779-787, Kluwer, Dordrecht.
- 139) Shah K., Kumar R.G., Verma, S. ve Dubey, R.S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 161, 1135-1144
- 140) Alsher R.G., Donahue J.L. ve Cramer C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiol. Plant.* 100, 224-233.
- 141) Vitória A.P., Ea, P.J. ve Azevedo, R.A. 2001. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry* 57, 701-710
- 142) Hegedüs A., Erdei, S. ve Horváth, G. 2001. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci.* 160, 1085-1093

- 143) Landberg T. Ve Greger M. 2002. Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of *Salix viminalis*. *J. Plant Physiol.* 159, 69-75
- 144) Mascher R., Lippmann, B., Holzinger, S. ve Bergmann, H. 2002. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. *Plant Sci.* 163, 961-969.
- 145) Schützendübel A., Nikolova, P., Rudolf, C. ve Polle, A. 2002. Cadmium and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- induced oxidative stress in *Populus X canescens* roots. *Plant Physiol. Biochem.* 40, 577-584.
- 146) Tewari R.K., Kumar, P., Sharma, P.N. ve Bisht, S.S. 2002. Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. *Plant Sci.* 162, 381-388.
- 147) Verma S. Ve Dubey R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164, 645-655
- 148) Zacchini M., Rea E., Tullio, M. ve Agazio, M. 2003. Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 49-54.
- 149) Qadir S., Qureshi, M.I., Javed, S. ve Abdin, M.Z. 2004. Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress. *Plant Sci.* 167, 1171-1181
- 150) Fatima R.A. ve Ahmad M. 2005. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Sci. Total Environ.* 346, 256-273.
- 151) Sharma N.C., Sahi, S.V. ve Jain, J.C. 2005. *Sesbania drummondii* cell cultures: ICP-MS determination of the accumulation of Pb and Cu. *Microchem. J.*
- 152) Altan N., Dingel, A.S., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem*, 31(2); 51-56.
- 153) Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol* 1990; 186: 1-89.
- 154) Hull DS. Oxygen free radicals and corneal endothelium. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1990; 88: 463-511.

- 155) Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition. Oxford: Oxford Science Publications; 2001.
- 156) Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? J Lab Clin Med 1992; 119(6): 598-620.
- 157) Hull DS, Green K, Laughter L. Cornea endothelial rose bengal photosensitization: Effect of permeability, sodium flux, and ultrastructure. Invest Ophthalmol Vis Sci 1984; 25: 455-460.
- 158) Pooler JP, Valenzeno DP. Titration of sodium channel sites for hydrogen ion block and sensitized photochemical modification of lobster axons. Biochim Biophys Acta 1979; 555: 307-315.
- 159) Lee J.D., 1991, Concise Inorganic Chemistry, 4th Ed., Chapman&Hall, New York.
- 160) Akkuş İ, 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- 161) Halliwell B., Gutteridge JMC., 1990 “Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview.” In: Methods in Enzymology, 186, 1-85.
- 162) Nehir El S., Karakaya S., Taş AA., 1999: “Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması.” TÜBİTAK Projesi No:TOGTAG-1698, İzmir.
- 163) Murray RK., Granner DK., Mayes PA, Rodwell VW, 1996, Harper’ın Biyokimyası 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- 164) Halliwell B., Clement MV., Long LH., 2000: “Hydrogen peroxida in the human body.” FEBS Letter, 486, 10-13.
- 165) Cotton F.A., Wilkinson G., 1988, Advanced Inorganic Chemistry, 5th Ed., John Wiley & Sons Inc., USA.
- 166) Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. Fourth edition. New York: W.H. Freeman and Company; 2004.
- 167) Onat T., Emerk K., Sözmen EY. (Ed.), 2002, İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara.

- 168) Van Der Vliet A., O'Neill C.A., Halliwell B., Cross C., Kaurh.,1994: "Aromatic hydroxylation and nitration of phenylalanine and tyrosine by peroxyxynitrite". FEBS Letters, 339, 89-92
- 169) Murray RK., Granner DK., Mayes PA, Rodwell VW, 1996, Harper'in Biyokimyası 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- 170) Halliwell B., 1994: "Free radicals and antioxidants:A personal view." Nutrition Reviews, 52(8), 253-265.
- 171) Hawkins CL., Davies MJ., 1998: "Degradation of hyaluronic acid, poly- and mono-saccharides, and model compounds by hypochlorite: Evidence for radical intermediates and fragmentation." Free Radical Biology and Medicine, 24(9), 1396-1410.
- 172) Mcneil JD., Wiebkin OW., Betts WH., Cleland LG., 1985: "Depolymerisation products of hyaluronic acid after expose to oxygen-derived free radicals." Annals of the Rheumatic Diseases, 44, 780-789.
- 173) Dağlı Ü., Balk M., Yücel D., Ülker A., Över H., vd., 1997: "The role of reactive oxygen metabolites in ülcerative colitis." Inflammatory Bowel Diseases, 3(4), 260-264.
- 174) Cruthirds DL., Novak L., Akhı KM., Sanders PW., Thompson JA., vd., 2003: "Mitochondrial targets of oxidative stress during renal ischemia/reperfusion." Archives Biochemistry and Biophysics, 412, 27-33.
- 175) Taşçı I., Yavuz N., Caner M., Göksel S., Yılmaz O., vd., (1995): "Karaciğer sıcak iskemi ve reperfüzyon hasarında dimetilsülfoksil (DMSO), allopurinol ve deferoksamin'in etkileri." Çağdaş Cerrahi Dergisi, 9, 198-202.
- 176) Hıpkiss Ar., (2007): "Biological aspects of ageing." Psychiatry, 6(12), 476-479.
- 177) Daurer W., Przedporski S., (2003): "Parkinson's disease: Mechanism and models." Neuron, 39, 889-909.
- 178) Mosley Lr., Benner Ej., Kadiu I., Thomas M., Boska Md., vd., (2006): "Neuroinflammation, oxidative stres, and the pathogenesis of Parkinson's disease." Clinical Neuroscience Research, 6(5), 261-281.

- 179) Zalata A., Yahia S., EL-Bakary A., Elsheikha HM., 2007: "Increased DNA damage in children caused by passive smoking as assessed by comet assay and oxidative stress." *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 629(2), 140-147.
- 180) Kösecik M., Erel Ö., Sevinç E., Selek S., 2005: "Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking." *International Journal of Cardiology*, 100(1), 61-64.
- 181) Tao F., Gonzales-Flecha B., Kobzik L., 2003: "Reactive oxygen species in pulmonary inflammation by ambient particulates." *Free Radical Biology and Medicine*, 35(4), 327-340.
- 182) Bowler RP., Barnes PJ., Crapo JD., 2004. "The role of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease." *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 1(2), 255-277.
- 183) Anderson RA., 2007: "Prescribing antioxidants." Chapter 103, p.1083-1094, In: Rakel: *Integrative Medicine*, 2nd ed., Saunders.
- 184) Becker EM., Nissen LS., Skibsted LH., 2004: "Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects." *European Food Research and Technology*, 10.107/s00217-004-1012-4.
- 185) 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.
- 186) Seven A., Candan G., 1996: "Antioksidan savunma sistemleri." *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.
- 187) Percival M., 1998: "Antioxidants." *Clinical Nutrition Insights*, 10, 1-4.
- 188) Block G., 1999: "Emerging role of nutrition in chronic disease prevention: A look at the data, with an emphasis on vitamin C." Chapter 3, p.45-54, In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.

- 189) Stahl W., 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.
- 190) Stahl W., Sies H., 2003: "Antioxidant activity of carotenoids." Molecular Aspects of Medicine, 24, 345-351.
- 191) Miller NJ., Luiz-Larrea MB., 2002: "Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants." Journal of Nutritional and Environmental Medicine, 12, 39-51.
- 192) Ross JA., Kasum CM, 2002: "Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety." Annual Review of Nutrition, 22, 19-34.
- 193) Cotelle N., Bernier JL., Catteau JP., Pommery J., Wallet JC., Gaydou EM., (1996): "Antioxidant properties of hydroxy-flavones." Free Radical Biology and Medicine, 20(1), 35-43.
- 194) Çimen MBY., 1999: "Flavonoidler ve antioksidan özellikleri." Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 19, 296-304.
- 195) Keaney JF., Frei B., 1994: " Antioxidant protection of LDL and its role in the prevention of atherosclerotic vascular disease." p.303-309, In: Natural Antioxidants in Health and Disease, Ed: Frei B., Academic Pres Inc.
- 196) Stryer L., 1995, Biochemistry, 4th Ed., W.H. Freeman and Company, New York.
- 197) Yeşilkaya A., Yeğin A., Özdem S., Aksu TA., 1998: "The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide- treated erythrocytes." International Journal of Clinical and Laboratory Research, 28, 230-234.
- 198) Reiter RJ., 1998: "Melatonin and human reproduction." The Finnish Medical Society Duodecim, 30(1), 103-108.
- 199) Yazıcı C., Köse K., 2004: "Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü." Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi, 13(2), 56-65.
- 200) Packer L., Witt EH., Tristchler HJ., 1995 "Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant." Free Radical Biology and Medicine, 19(2), 227-250.

- 201) Scott BC., Auroma OI., Evans PJ., O'Neill C., Van Der Vliet A., vd., 1994: "Lipoic acid and dihydrolipoic acid as antioxidants. A critical." Free Radical Biology and Medicine, 20 (2), 119-133.
- 202) Gutteridge JMC., Richmond R., Halliwell B., 1980: "Oxygen free radicals and lipid peroxidation: Inhibition by the protein caeruloplasmin." FEBS Letters, 112(2), 269-272.
- 203) Memişoğulları, R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 3, 30-39.
- 204) Günaydın, B. ve Çelebi, H., 2003. Genel anesteziğin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkileri. Anestezi Dergisi, 11, 87-98.
- 205) Turna, G., 2008. Ehrlich Asit Solid Tümör Modeli Oluşturulmuş Farelerde ThymusSipleus ve Taurinin Karaciğer MDA, Glutasyon, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- 206) Altınışık, M., 2000. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar. [www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf](http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf) (21.07.2016)
- 207) Cochro G G. Cellular injury by oxidants. The American J of Med. 1991, 91 (Suppl. 3C): 23-30.
- 208) Gök, V. ve Serteser, A., 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim, 2003, Ankara.
- 209) Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2; 51-62.
- 210) Diplock, A. 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- 211) Yavuzer S. Serbest radikallerle hücre yaralanması, Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu: Oksidan stres ve hücre hasarı kurs notları 1993, ss 12-14.
- 212) Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H. 1991. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. Am. J. Clin. Nutr. 53; 194-200.



- 213) Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M. and Pridham, J.B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res.* 22; 375-383.
- 214) Pokorny J., 1991: "Natural antioxidants for food use". *Trends in Food Science and Technology*, 223-227.
- 215) Steinmetz KA., Potter JD., 1996: "Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review". *Journal of the American Dietetic Association*, 96 1027-1039.
- 216) Vecchia CL., Altieri A., Tavanı A., 2001: "Vegetables, fruit , antioxidants and cancer: A Review of Italian Studies." *European Journal of Nutrition*, 40, 261-267.
- 217) Schroder H., 2007: "Protective mechanism of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes." *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18, 149-160.
- 218) Tavanı A., Negri E., La Vecchia C., 1996: "Food and nutrient intake and risk of cataract." *Annals of Epidemiology*, 6(1), 41-46.
- 219) Gugliano D., Ceriello A., esposito k., 2006: "The effect of diet on inflammation: Emphasis on the metabolic syndrome." *Journal of American College of Cardiology*, 48(4), 677-685.
- 220) Prior RL., (1998): "Antioxidant capacity and health benefits of fruits and vegetables." NABC Meetings in Portland, Oregon.
- 221) Finley JW., Given PJR, 1986: "Technological necessity of antioxidants in the food endustry". *Food and Chemical Toxicology*, 24(10/11), 999-1006.
- 222) Ito N., Fukushima S., Tsuda H., 1985: "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and the other antioxidants". *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15(2), 109-150.
- 223) Ito N., Hirose M., Fukushima S., Tsuda H., Shirai T., Tatematsu M., 1986: "Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis". *Food and Chemical Toxicology*, 24(10/11), 1071-1082.
- 224) Hirose M., Takesada Y., Tanaka H., Tamano S., Kato T., Shirai T., 1997: "Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4- methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects

in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model.” *Carcinogenesis*, 19(1), 207-212.

225) Conning DM., Phillips JC. 1986: “Comparative metabolism of BHA, BHT and other phenolic antioxidants and its toxicological relevance”. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10/11), 1145-1148.

226) Blumenthal H., Daniel J., Elias PS, Scheuplein RJ., Silano V., Turturro A., Vettorazi G., 1986: “Risk assessment associated with the use of phenolic antioxidants in foods”. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10/11), 1243-1253.

227) Madsen HL., Bertelsen G., 1995: “Spices as antioxidants”. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 271-277.

228) Murković M., Steinberger D., Pfannhauser W., 1998: “Antioxidant spices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat.” *Z. Lebensm Unters Forsch*, 207, 477-480.

229) Vazgeçer B., Ulu H., Öztana., 2005: “Et ve et ürünlerinde baharatın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi.” *Gıda*, 30(2), 75-81.

230) Maure A., Cruz JM., Franco D., Domingez M., Sineiro J., Nunez MJ., Parajo JC., 2001: “Natural antioxidants from residual sources.” *Food Chemistry*, 72, 145-171.

231) G. M. Williams: *Food: its role in the etiology of cancer*. K. W. Waldron, I. T. Johnson, G. R. Fenwick: *Food and cancer prevention: chemical and biological aspects*. The Royal Society of Chemistry 1993, 3 - 11.

232) Thurnham, D.1. 1993 *Chemical aspects and biological mechanisms of anticancer nutrients in plant foods*. In *Food and Cancer Prevention* (eds KW. Waldron, LT. Johnson, G.R. Fenwick), Royal Society of Chemistry, London: p.461.

233) Byers, T., Lachance, P. and Pierson, H. 1990. *New directions, The diet-cancer link*. *Patient Care* 24:34-46.

234) Lathia, D. and Blum, A, 1991. *Role of vitamin E as nitrite scavenger and N-nitrosamine inhibitor*. *Fett-Wiss. Technol.* 93(6):271-274.

- 235) Chen, L.H., Boissonneault, G.A. and Glauert, H.P.1988. Vitamin C. Vitamin E and Cancer (Review) *Anticancer Res.* 8:739-748.
- 236) Nagy, S.and J.A. Attaway. 1992. Anticarcinogenic activity of phytochemicals in citrus fruit. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society.*105 162168.
- 237) Bermond P (1990) Biological effects of food antioxidants. In: HudsonBJF (ed.) *Food Antioxidants.* Elsevier, London and New York, pp.193 252.
- 238) Werman MJ, Mokady S, Neeman I, Auslaender L, Zeidler A. The effect of avocado oils on some liver characteristics in growing rats. *Food Chem Toxicol.* 1989 May;27(5):279-82
- 239) Dickerson, J.W.T.1995. Pharmacological effects of food ingredients. *FoodSci&Tech. Today* 9(3):167-173.
- 240) Frankel En., Meyer As., 2000: “The problems of using one- dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants.” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.
- 241) Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan Ja., Deemer EK., 2002: “Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxydant power (FRAP) assays: A comparative study”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3122- 3128.
- 242) Becker Em., Nissen Ls., Skibsted Lh., 2004:“Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects.” *European Food Research and Techonology*, 10.107/s00217-004- 1012-4.
- 243) Tomer D., McLeman L., Ohmine S., Scherer Pm., Murray Bk., O’Neillkl., 2007: “Comparision of the total oxyradical scavenging capacity and oxygen radical absorbance capacity antioxidant assays”. *Journal of Medicinal Food*, 10(2) ,337- 344.
- 244) Huang D., Ou B., Prior R., (2005): “The chemistry behind antioxidant capacity assays”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- 245) Pan Y., Zhang X., Wang H., Liang Y., Zhu J., Li H., Zhang Z., Wu Q., 2007: “Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil.” *Food Chemistry*, 105(4), 1518-1524.

- 246) Barrera-Arellano D., Esteves W., 1992: "Oxidative stability of potato chips determined by Rancimat." *JAOCS*, 69(4), 335-337.
- 247) Franke Sır., Ckless K, Silveira JD, Rubensam G., Brendel M., Erdtmann B., Henriques Jap., 2004: "Study of antioxidant and mutagenic activity of different orange juices." *Food Chemistry*, 88(1), 45-55.
- 248) Dasgupta N., De B., 2007: "Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study." *Food Chemistry*, 101, 471-474.
- 249) Tawaha K., Alalı FQ., Gharabeh M., Mohammad M., EL-Elımat T., 2007: "Antioxidant activity and total phenolic of selected Jordanian plant species." *Food Chemistry*, 104, 1372-1378.
- 250-) Pan Y., Zhang X., Wang H., Liang Y., Zhu J., Lı H., Zhang Z., Wu Q., 2007: "Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil." *Food Chemistry*, 105(4), 1518-1524.
- 251) World Health Organization, 2007. WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines with Reference to Contaminants and Residues. Spain. 1-105.
- 252) Tanak, A. G., 2006. Samsun Çevresinde Yetişen Bazı Yeşil Bitkilerdeki Ağır Metallerin Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- 253) Erdoğan, Ö., Tosyalı, C., Erbilir, F. 2005. Kahramanmaraş'ta Yetişen Bazı Sebzelelerde Demir, Bakır, Mangan, Kadmiyum ve Nikel Düzeyleri. *KSU, Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2):27-29
- 254) Meraler, S. A., 2010. Mahlep (*Prunus mahaleb* L.) in Bitki Kısımlarında Mineral Bileşiminin Belirlenmesi. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 56s, Kilis
- 255) Deveci, T. 2012. Gaziantep'te Atık Sulardan Etkilenen Toprak ve Bitkilerde Eser Element (Cu, Co, Mn ve Zn) ve Fe Konsantrasyonlarının ICP-MS ile Tayini. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 61s, Gaziantep.

- 256) Khan, S. A., Khan, L., Hussain, I., Marwat, K. B., ve Akhtar, N. 2008. Profile of Heavy Metals in Selected Medicinal Plants. *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 14 (1-2): 101-110.
- 257) Saltan, F. Z., Ozaydın, O., 2013. Ethnobotany of Eskişehir and its Environs. *Pakistan Journal of Botany*, 45 (S1): 207-214.
- 258) Esetlili, B. Ç., Pekcan, T., Çobanoğlu, Ö., Aydoğdu, E., Turan, S., Anaç, D., 2014. Essential Plant Nutrients and Heavy Metals Concentrations of Some Medicinal and Aromatic Plants. *Journal of Agricultural Sciences*, 20: 239-247.
- 259) Kartal, E., 2010. İstanbul Avrupa Yakası D-100 Karayolu Çevresindeki Bazı Bitkilerde Ağır Metal Birikimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- 260) Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A. M., Pehlivan, M., 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. *Alinteri*, 17 (B): 14-26.
- 261) Öktüren Asri, F., Sönmez, S. 2006. Ağır Metal Toksikitesinin Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri. *Derim* 23 (2): 36-45
- 262) Güteryüz G., Arslan A., İzgi B., Güçer Ş., Element Content (Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, and Zn) of the Ruderal Plant *Verbascum olympicum* Boiss from East Mediterranean *Z. Naturforsch*, 61, 357362, 2006
- 263) N. Ergün, H. Yolcu, S. Karanlık, E Dikkaya 2010 Amanoslar'da (Hatay) Yetişen Bazı Bitki Türlerinde Ağır Metal Birikimi ve Mineral İçerik Üzerine Bir Çalışma *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 3 (2): 121-127, 2010 ISSN: 1308-3961, [www.nobel.gen.tr](http://www.nobel.gen.tr)
- 264) Kadioğlu. A 200 Bitki Fizyolojisi Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- 265) Vural A., Assessment of Heavy Metal Accumulation in the Roadside Soil and Plants of *Robinia pseudoacacia*, in Gumushane, Northeastern Turkey *Ekoloji*, 22, 1-10, 2013
- 266) Pais I., Jones J.B., *The Handbook of Trace Elements*, St. Lucie Press, 222 s, 2000
- 267) World Health Organization, 1999. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, Vol. I, Geneva, Switzerland. 1-295

268) Özatan T., Özçelik B.; Mor Havuç,konsantresi,şalgam suyu,nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi ve fenolik madde tayini belirlenmesi ; yüksek lisans tezi; pp. 59; 2006

269) Aydın H., Yeşiloğlu Y. ; Bazı baharatların farklı ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi; pp. 73; 2011

270) İşbilir Ş., Sağıroğlu A., Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi; doktora tezi; TÜBAP-660-2008

