

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu Elif BİLGE

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

MAYIS 2023

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu Elif BİLGE

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Gülnur ARABACI

MAYIS 2023

Duygu Elif BİLGE tarafından hazırlanan “Farklı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 13.04.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Doç.Dr. Esra ALTINTIĞ**
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Prof.Dr. Gülnur ARABACI** (Danışman)
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç.Dr. Armağan GÜNSEL**
Sakarya Üniversitesi

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “FARKLI BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tezin bana ait, orjinal bir çalışma olduğunu; hazırladığım çalışmanın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergenin şartlarına göre hareket ettiğimi, tezin içeriğinde bulunan yenilik ve sonuçları farklı yerlerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri esasına uygun olarak kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(06/01/2023).

Duygu Elif BİLGE

Anneme, Babama, Eşime ve Oğluma

TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum çalışmanın tüm basamaklarında desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden katkı sağladığım çok sevgili danışman hocam Prof.Dr. Gülnur ARABACI'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmam boyunca yanımnda olup beni destekleyen ve fikirlerini benden esirgemeyen aėla ABAK ve Duygu YAMAN'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni hiç yalnız bırakmayıp bu günlere getiren, destek ve inançlarını her zaman hissetiğim canım annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Tüm bu zaman zarfında beni yılmadan destekleyen ve yardım eden canım eşime teşekkür ederim.

Duygu Elif BİLGE

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Antioksidanların Tarihi	5
1.1.1. Çeşitli bitkiler ile daha önce çalışılmış antioksidan aktiviteleri	5
1.2. Tezin Amacı	6
2. ANTİOKSİDAN TÜRLERİ	9
2.1. Antioksidan Etki Mekanizması	10
2.1.1. Antioksidanların sınıflandırılması	11
2.1.2. Doğal antioksidanlar	11
2.1.2.1. Tokoferoller	11
2.1.2.2. Askorbik asit ve tuzları	11
2.1.2.3. Askorbil palmitat ve stearatlar	11
2.1.2.4. Glukoz oksidaz	12
2.1.2.5. Sülfidler	12
2.1.3. Yapay antioksidanlar	12
2.1.3.1. Sodyum eritorbat ve eritorbik asit	12
2.1.3.2. Gallatlar	13
2.1.3.3. BHT (bütilendirilmiş hidroksitoluen)	13
2.1.3.4. TBHQ (tersiyer bütil hidroksid)	13
2.1.3.5. NDGA (nordihidroguairatik asit)	13
2.2. Fenolik Bileşikler	13
2.3. Fenolik Bileşiklerin Tanımı	14
2.4. Fenolik Bileşiklerin Önemi	14
2.5. Fenolik Bileşik Çeşitleri	14
2.5.1. Fenolik asitler	15
2.5.2. Flavonoidler	15
2.6. Serbest Radikaller	15
2.7. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	16
2.8. Hidrojen Atomu Transferine Dayalı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	16
2.8.1. ORAC (oksijen radikal absorban kapasitesi) yöntemi	16
2.8.2. TRAP (toplam radikal tutma parametresi) yöntemi	17
2.8.3. Diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) yöntemi	17

2.8.4. Luminol yöntemi	18
2.8.5. Krosin ağartma yöntemi (crocin bleaching assay)	18
2.8.6. CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi.....	19
2.8.7. TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi) / ABTS yöntemi.....	19
2.8.8. FRAP (demir(III) indirgeyici antioksidan gücü) yöntemi.....	20
2.8.9. DPPH yöntemi.....	21
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	23
3.1. Kullanılan Materyal ve Maddeler.....	23
3.1.1. Kullanılan cihazlar	23
3.1.2. Harcanan kimyasallar	23
3.1.3. Bileşenlerin ekstraksiyon aşaması.....	23
3.2. Kalibrasyon Grafik Çizimleri ve Antioksidan Aktivite Yöntemleri	24
3.2.1. Demir (II) iyonunun şelatlama kapasitesinin testi	24
3.2.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini	24
3.2.3. İndirgenme kapasitesi tayini.....	25
4. SONUÇLAR	27
4.1. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini Sonuçları	27
4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Test Sonuçları	29
4.3. İndirgeme Kapasite Tayin Sonuçları	31
5. TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	41

KISALTMALAR

BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksianisol
CUPRAC	: Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazi
EDTA	: Etilendiamin tetra asitik asit
FRAP	: Ferrik İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
HAT	: Hydrojen atom transfer
ORAG	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
RNS	: Reaktif azot
ROS	: Reaktif oksijen
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SR	: Serbest radikal
TBHQ	: Tersiyer bütül hidroksikinin
TCA	: Trikloro asetik asit
TEAC	: Trolox eşdeğri antioksidan kapasitesi
TOSC	: Toplam oksidan yakalama aktivitesi
TRAP	: Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi
TSA	: Tiptik Soy Agar PAS : P-aminosalisilik asit

SİMGELER

mM	: Dokunun kapasitansı
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
g	: Gram
M	: Molar [mol/L]
$^{\circ}$C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde
•	: Radika

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. Bitki meyvesi etanol ekstratlarının % metal şelatlama kapasitesi	27
Tablo 4.2. Bitki yaprağı etanol ekstratlarının % metal şelatlama kapasitesi.....	28
Tablo 4.3. Bitki meyvesi etanol ekstratlarının DPPH serbest radikal kapasitesi	30
Tablo 4.4. Bitki yaprağı etanol ekstratlarının DPPH serbest radikal kapasitesi.....	30
Tablo 4.5. Bitki meyvesi ekstraktların indirgenme gücü kapasiteleri.	32
Tablo 4.6. Bitki yaprağı ekstraktların indirgenme gücü kapasiteleri	33

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Mürver otu (<i>Sambucus nigra</i>).....	2
Şekil 1.2. Acı kavun otu (<i>Ecballium elaterium</i>),	3
Şekil 1.3. Dul avrat otu (<i>Arctium lapa</i>),.....	4
Şekil 1.4. Sazlık otu (<i>Phragmites australis</i>)	5
Şekil 2.1. Askorbik asit (vitamin C) formülü	11
Şekil 2.2. BHT molekülünün kimyasal formülü	13
Şekil 2.3. Fenol kimyasal formülü	14
Şekil 2.4. Flavonoidlerin kimyasal formülü	15
Şekil 2.5. DPPH serbest radikalinin formülü.....	21
Şekil 2.6. DPPH radikalinin indirgenmesi	22
Şekil 4.1. Bitki meyvesi etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi (%).	28
Şekil 4.2. Bitki yaprağı etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi (%).	29
Şekil 4.3. Bitki meyvesinin etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%).	30
Şekil 4.4. Bitki yaprağının etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%).	31
Şekil 4.5. Bitki meyvesi ekstraktların indirgenme gücü kapasiteleri.....	32
Şekil 4.6. Bitki yaprağı ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri.....	33

FARKLI BİTKİLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Antioksidanlar, sağlığa olan faydaları ile pek çok kişi tarafından bilinen ve gıda takviyeleri, kozmetik, işlenmiş tahıl gevrekleri gibi ürünler de çoğunlukla yer alan bileşenlerdir.

Sağlık üzerindeki faydaları saymakla bitmeyen ve besinlerin içerisinde değişen oranlarda yer alan antioksidanlar, serbest halde bulunan radikaller nedeniyle oluşan hücresel tahribatın önlenmesinde veya yavaşlatılmasında katkı sağlayan maddelerdir ve vücuda besinler ya da takviye edici gıdalar (özellikle bitkiler) ile alınabilmektedir.

Aynı zamanda antioksidan maddeleri vücudun kendi içinde, serbest halde bulunan radikallere karşı savunma amacıyla üretilir. Antioksidan kapasitesi, varlığı keşfedilmiş birçok farklı madde vardır.

Canlı metabolizmasında olağan şartlar altında her zaman serbest radikaller meydana gelir. Serbest radikaller; belirlenmiş bir seviyenin üstünde olunca kararsız kimyasal yapıları sebebiyle sağlıklı olan hücreleri tahribata uğratarak kanser, diyabet, Alzheimer, kalp hastalıkları gibi pek çok ciddi hastalığa yakalanma olasılığını arttırmış olur. Eğer vücut serbest radikalleri etkili olarak ortadan kaldıramazsa oksidatif stres adı verilen bir durum meydana gelebilir.

Metabolizmadaki oksidatif stres, tütün ve alkol tüketimi, ağır metallerle etkileşim, çevre kirliliği, radyasyon, sık geçirilen enfeksiyonlar, antioksidan azlığı sonucuna bağlı olarak daha da artabilir. Geniş bir zaman boyunca var olan yüksek oksidatif stres, hücrelerin genetik bileşeni olan DNA'da tahribatlara neden olarak kanser ve kronik hastalıklara, hatta hücre ölümlerine dahi başlangıç oluşturabilir. Tüm bunlara ek olarak serbest radikallerin metabolizmada pozitif yönde faaliyetleride bulunmaktadır. Örneğin immün sistem, metabolizmaya katılan enfeksiyon ajanları ile savaşırken serbest radikalleri kullanır. Sağlığımızın stabil kalabilmesi için serbest radikaller ve antioksidanlar metabolizmada belirli bir denge içerisinde bulunmalıdır. Lakin sağlıksız ve dengesiz diyetle ilgili olarak antioksidanlar, besinlerle birlikte gerektiği düzeyde metabolizmaya alınmaz ise bu denge bozulur ve vücut, hastalıklara karşı savunmasız bir yapıda olmuş olur. Bu nedenle gerektiği kadar ve belirli periyotlarla antioksidan kullanımına dikkat etmek oldukça önemlidir.

Canlı metabolizmaların toksik maddelerle mücadele etmek amacıyla ürettiği antioksidanlar; katalaz, glutatyon peroksidaz, askorbat peroksidaz ve SOD (superoksit dismutaz) gibi enzimlerdir. Antioksidanların pek çok çeşitleri bulunur. Bunlardan E Vitamini (alfa tokoferol) içinde alfa, beta, gama ve delta tokoferolleri bulundurulur. Bunlardan en önemli antioksidan olanı alfa tokoferoldir. Diğerleri; Askorbik Asit (C Vitamini), beta caroten ve flavonoid gibi antioksidanlardır. Tüm bunların dışında var

olduğu kanıtlanmış onlarca farklı antioksidan çeşidi bulunmaktadır. Bitkisel kökenli pek çok türden besinin yapı taşında farklı tür ve miktarlarda bulunan antioksidanlar beslenme yoluyla vücuda alınır.

Bu tez kapsamında Sakarya Üniversitesi'nin Biyokimya laboratuvarında farklı bitkilerin farklı kısımlarının etanol ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri DPPH serbest radikali yakalama testi, Demir (II) iyonları şelatlama aktivitesi ve indirgenme kapasitesini içeren üç farklı yöntem ile belirlenmiştir. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali; C₁₈H₁₂N₅O₆) antioksidan analizi, farklı bileşiklerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için kullanılan hızlı, yaygın ve maliyetsiz bir yöntemdir. Metal iyonları şelatlama testi serbest halde bulunan ağır metallerin bozucu etkilerini baskılamak amacıyla kullanılan bir test yöntemidir.

Çalışma için, Bursa'nın Mudanya ilçesinden ; acı kavun otu (*Ecballium elaterium*), dul avrat otu (*Arctium lapa*), sazlık otu (*Phragmites australis*) ve mürver otu (*Sambucus nigra*) gibi dört farklı bitki yaprak ve meyveleri ile beraber toplanarak antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bu dört bitki halk arasında hastalıklara tedavi amacıyla veya cilt bakımı gibi pek çok alan için yaygın olarak tüketilmektedir. Mürver otu dünya üzerinde astorpikal bölgelerde çoğunluktadır ve koyu mavi ya da siyah renkte bulunur. Canlı metabolizmasında bir antioksidan ve anti-inflamatuar ajan olarak görev alır.

Toplanan dört bitki türünün yaprak ve meyve kısımları etanol ile ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlem için uygun kimyasallar kullanılarak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüm bitkilerin hem yaprak hem de meyve kısımlarından antioksidan aktivite taraması yukarıda bahsedilen üç yöntem ile yapılmıştır.

DPPH serbest radikal süpürme testinde karanlıkta inkübasyon yapılarak 517 nm de değerler okunmuştur. Demir (II) iyonları şelatlama testinde deiyonize su ile FeCl₂ oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır ve 562 nm de değerler okunmuştur.

İndirgenme kapasitesi testi için ise fosfat tamponu ve kompleks bir tuz ile su banyosunda inkübasyonu yapılmıştır. 700 nm de değerler okunmuştur. DPPH serbest radikal bağlama aktivitelerine bakıldığında; derişim oranları arttıkça aktivite oranlarının da arttığı gözlemlenmiştir. Demir (II) iyonlarının şelatlama işleminde de konsantrasyon değerleri arttıkça aktivite oranının arttığı görülmüştür.

Analizi yapılan çalışmanın sonucunda en yüksek DPPH aktivitesi, etanolde mürver bitkisinin meyve kısmında % 82,12 olarak belirlenmiş olup yaprak kısmında %72,12 olarak ölçülmüştür. İndirgenme kapasitesi tayininde en yüksek değer etanol ile ekstrakte edilen hem kabuk hem de meyve kısmı için yine mürver otunda ölçülmüştür. Demir (II) iyonlarını şelatlama tayininde de tekrardan etanol ile ekstraktesi yapılan hem yaprak ve meyve kısımları için mürver otu yüksek değere sahiptir. Yapılan üç yöntemde de en düşük orana sahip olan ot ise sazlık otu olmuştur.

Alternatif tıpta daha çok tercih edilen mürver otunun sinüzit rahatsızlığı gibi pek çok rahatsızlığı gidermesi, sazlık otunun ise sadece süs eşyaları yapımında kullanılması, insan vücuduna bir faydasının görülmemesi bu çalışmayı desteklemektedir. Bu çalışmaya göre uygulanan yöntemlerden en iyisi DPPH yönetimi demek kesin sonucu oluşturmayacaktır.

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF DIFFERENT PLANTS

SUMMARY

Antioxidants are components that are known to many people for their health benefits and are often included in products such as food supplements, cosmetic products, enriched cereals.

In this study, the antioxidant activities of bitter melon grass (*Citrullus colocynthis*), dul avrat grass (*arctium lapa*), reed grass (*phragmites*) and elderberry grass (*Sambucus Nigra*) of four different plants collected in Mudanya district of Bursa were determined. These plants are widely consumed among the population Decently.

The benefits on health do not end with counting and are contained in varying proportions in nutrients antioxidants are substances that contribute to the prevention or slowing of cellular destruction caused by free radicals and can be taken into the body with foods or supplements (especially plants).

At the same time, antioxidant substances are produced in the body itself for the purpose of defense against free radicals.

Antioxidant capacity, there are many different substances whose existence has been discovered. Under normal conditions in living metabolism, free radicals occur all the time. Free radicals; When they are above a certain level, they destroy healthy cells due to their unstable chemical structure, increasing the likelihood of developing many serious diseases such as cancer, diabetes, Alzheimer's, heart diseases. Oxidative stress in the body may increase due to conditions such as smoking and alcohol consumption, environmental pollution, exposure to heavy metals, radiation, frequent infections, antioxidant deficiency.

Oxidative stress in metabolism, tobacco and alcohol consumption, environmental pollution, exposure to heavy metals, radiation, frequent infections, may increase even more depending on the result of antioxidant deficiency. High oxidative stress, which has existed for a long time, can cause damage to the DNA, which is the genetic component of cells, causing the onset of cancer and chronic diseases, even cell death. In addition to all these, free radicals also have positive activities in metabolism. October 19, 2016. For example, the immune system uses free radicals when fighting infectious agents involved in metabolism. In order for our health to remain stable, free radicals and antioxidants must be present in a certain balance in metabolism. However, if antioxidants are not metabolized at the required level along with nutrients due to an unhealthy and unbalanced diet, this balance is disrupted and the body becomes vulnerable to diseases. For this reason, it is very important to pay attention to the use of antioxidants as much as necessary and with certain periods.

Antioxidants produced by living metabolisms in order to combat toxic substances; catalase, glutathione peroxidase, ascorbate peroxidase and SOD (superoxide dismutase). There are many types of antioxidants. Alpha tocopherol (Vitamin E) contains alpha, beta, gamma, and delta tocopherols. Among them, alpha tocopherol is an important antioxidant. Others; Antioxidants such as Ascorbic Acid (Vitamin C), beta carotene and flavonoids. Apart from all these, there are dozens of different types of antioxidants that have been proven to exist. Antioxidants, which are found in different types and amounts in the building blocks of many types of plant-based foods, are taken into the body through nutrition.

A large number of methods have been developed to date to measure antioxidant capacity. Methods that allow measuring the total antioxidant capacity can be divided into two, namely methods based on hydrogen atom transfer (HAT) reactions and methods based on electron transfer (ET). Many of the LINE-based methods use competitive kinetic reactions based on the competition of antioxidant and substrate for peroxy radicals formed by the degradation of azo compounds. MEAT-based methods, on the other hand, measure the antioxidant's ability to reduce oxidants by color change. The degree of color change is related to the antioxidant concentration of the samples.

ORAC; This method, which examines the effect of free radicals and uses the area under curve (AUC) technique in determining the amount, is a method that can express both the percentage of antioxidants inhibiting free radicals and the inhibition time as a single value. The net AUC is proportional to the amount of antioxidants.

In the TRAP method, the delay time of the reaction is measured and the total amount of antioxidants is calculated in terms of trolox by comparing the results found with trolox. The disadvantage of this method is that the endpoint of the oxygen electrode is not precisely detected, and the stability of the oxygen electrode cannot be maintained within the required time frame.

This method, which is called DCFH-DA and is based on the TRAP method, the total antioxidant capacity is calculated in two stages. At the first stage, the capacity of the antioxidants in the sample is calculated in terms of delay time, and then trolox solution, the amount of which is known, is added to the same sample. After the Trolox solution is consumed by free radicals, the second delay time is calculated. The total antioxidant capacity in trolox is calculated by taking advantage of the difference between these two Deceleration times.

The luminol method is used by oxidizing the luminol substance with hydrogen peroxide or perborate. In order for the reaction to occur faster, HRP (horse radish peroxidase) was used as a catalyst and the light propagation was faster. Under normal conditions, this reaction occurs as a low intensity light emission that decreases rapidly. When p-iodophenol is added to the reaction medium, the light emission becomes more intense, long-lasting and stable. In order for light to be emitted by luminol radicals, all antioxidants in the environment must be consumed. Therefore, this method is sensitive to antioxidant interference. The most significant disadvantage of this method is that the antioxidants studied reduce not only the radicals formed from AAPH, but also the luminol radicals.

In the crocin bleaching method, the degree of bleaching of crocin, a carotenoid, is measured by peroxy radicals formed as a result of thermal degradation of the azo initiator. Fr chromogenic oxidant in the cuprac method(II)-reagent using neocuproin, plasma antioxidants, flavonoids, polyphenols food, vitamin C and vitamin E for a simple, widely applicable, an antioxidant capacity determination method has been developed. This reagent is a stable, inexpensive, easily accessible reagent that can respond to hydrophilic and lipophilic antioxidants. This method used in the determination of total antioxidant capacity has been introduced into the world literature under the name CUPRAC (copper(II) ion reduction antioxidant capacity).

The TEAC/ABTS method, expressed as Trolox equivalent antioxidant capacity, is a method based on the inhibition of the absorbance of the 2,2' azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) chromogenic radical cation by hydrogen-donating antioxidants. By taking advantage of the decrease in absorbance, the total antioxidant capacity is given in trolox.

In the original FRAP method, the Fe³⁺-tripridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ) complex is reduced to the Fe²⁺-tripridyltriazine (Fe²⁺-TPTZ) complex by an antioxidant substance with reducing properties in an acidic pH environment (pH=3.6).The Fe²⁺-TPTZ complex gives a violent blue color. The absorbance of this Fe²⁺-TPTZ complex formed at 593 nm is measured and the reducing power (or capacity) of electron-donating antioxidants is measured in total.

The DPPH method is a method based on the measurement of the scavenging effects of antioxidants on a stable free radical, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical. This radical is reduced to hydrazine when hydrogen interacts with donors. The red-colored DPPH radical provides maximum absorption at 517 nm. With the addition of antioxidants to ethanol or methanol DPPH solution, there is a decrease in absorption and the color of the radical turns from red to yellow with the presence of antioxidants. This method is known as an easy and valid method for evaluating the radical scavenging abilities of antioxidants.

In this study, DPPH free radical capture test, Iron (II) ion chelating activity, reduction capacity were studied by three different methods in the Biochemistry laboratory of Sakarya University. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil radical; C₁₈H₁₂N₅O₆) antioxidant analysis is a fast, common, efficient, and inexpensive method used to evaluate the antioxidant capacity of different compounds. Metal ion chelation test is a test method used to suppress the destructive effects of free heavy metals.

In this study, antioxidant effects of elderberry (*Sambucus Nigra*) were determined. Elderberry is concentrated in the astropical regions of the world and is available in dark blue or black. It functions as an antioxidant and anti-inflammatory agent in the human body. Elderberry herb was first subjected to the extraction process. Drying was carried out using suitable chemicals for this process. Antioxidant activity screening was done from both leaf and fruit parts of elderberry.

For the study, four different plants such as bitter melon grass (*Ecballium elaterium*), widow avrat grass (*Arctium lappa*), reed grass (*Phragmites australis*) and elderberry grass (*Sambucus nigra*) from Mudanya district of Bursa were collected together with their leaves and fruits and their antioxidant activities were determined. These four

plants are widely consumed among the people for the treatment of diseases or for many areas such as skin care. Dec. Elderberry grass is mostly found in astorpical regions around the world and is found in dark blue or black color. It acts as an antioxidant and anti-inflammatory agent in live metabolism.

The leaf and fruit parts of the four plant species collected were subjected to ethanol extraction process. The drying process was carried out by using suitable chemicals for this process. The screening of antioxidant activity from both leaf and fruit parts of all plants was carried out by the three methods mentioned above.

In the DPPH free radical scavenging test, values were read at 517 nm by incubating in the dark. In the chelating test of iron (II) ions, deionized water and FeCl₂ were incubated at room temperature and values were read at 562 nm.

For the reducing capacity test, it was incubated in a water bath with phosphate buffer and a complex salt. Values were read at 700 nm. Considering the DPPH free radical binding activities; It was observed that as the concentration ratios increased, the activity ratios also increased.

As a result of the analyzed study, the highest DPPH activity was determined as 82.12% in the fruit part of the elderberry plant in ethanol and was measured as 72.12% in the leaf part. The highest value in determining the reduction capacity was again measured in elderberry grass for both the peel and the fruit part extracted with ethanol. In the determination of chelating iron (II) ions, elderberry grass has a high value for both leaf and fruit parts, which are extracted with ethanol again. The grass with the lowest rate in all three methods was reed grass.

In fact, when we look at daily life, elderberry herb relieves many ailments such as sinusitis discomfort, while reed grass is only used in the production of ornaments, no benefit to the human body is seen supports this study.

According to this study, DPPH management is the best method, which will not create a definitive result.

1. GİRİŞ

Bitkiler insan ve hayvansal yaşam için vazgeçilmez besin kaynaklarıdır. Bitkilerin bir çoğu ayrıca tedavi amaçlı ve antioksidan olarak halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerden bazıları Türkiyede de yaygın olarak yetişen ve halk arasında tedavi amaçlı kullanılan mülver otu, ve e

Bunlardan kara mülver otu (*Sambucus nigra*) Adoxaceae familyasından bir bitki cinsidir. İlk başta hanımeli familyasına (Caprifoliaceae) dahil olmanın yanı sıra son yıllarda Adoxaceae familyasıyla kesin bir genetik akrabalık ortaya çıkmıştır. Astorpikal bölgelerde dünya yaygın bir dağılıma sahip bir bitkidir. Kuzey ve Güney yarımkürede yetişmesine rağmen, Kuzeyde yarımkürede daha yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca güneyde Avustralya ve Güney Amerika daki ülkelerinde de sıklıkla görülmektedir.

Türkiyede yaygın olarak kara mülver otu bulunmaktadır. Mülver otu doğada koyu mavi veya siyah renkte bulunur. Genellikle keskin ve tatlımsıdır. Bu özelliği nedeniyle şurup, jöle, reçel ve salça gibi çeşitli tatlılarda tercih edilen ve hatta pek çok içecek ve kokteyl de kullanılmaktadır.

Mülver otu demir, potasyum, bakır ve fosfor gibi mineraller bakımından zengin olup doyurucu ve beleyici olup iyi bir diyet lifi ve protein kaynağı olan bir bitkidir. Ayrıca A, B ve C vitaminleri açısından da zengindir. Bunlara ilave olarak insan vücudun da yüksek derece bir antioksidan ve anti-inflamatuar madde olarak etki göstermektedir.

Zıt düzenli yapraklar, 5-9 yaprakçıklı (veya nadiren 3 veya 11) ince ve uzundur. Her yaprak 5-30 cm (2-12 in) uzunluğundadır. Yaprakların tırtıklı kenar boşlukları vardır. İlkbaharın sonlarında büyük beyaz veya krem renkli çiçek kümeleri taşırlar; bunları küçük mavi-siyah veya kırmızı meyve (nadiren sarı veya beyaz) kümeleri takip eder [1].

Mülver meyveleri suyu seyreltildiğinde kırmızımsı olan yoğun bir mavi-mor renk vermek için bir araya gelen antosiyanidinler açısından zengindir. Bu renk hücreleri çeşitli ürünlerde renklendirici olarak kullanılır ve "mülver suyu rengi" ABD Gıda ve

İlaç Dairesi tarafından sertifikalı organik gıda ürünlerinde izin verilenler arasında belgelenmiştir [2].



Şekil 1.1. Mürver otu (*Sambucus nigra*)

Acıdülek, çıtlak eşek hıyarı gibi isimleriyle de bilinen acı kavun (*Ecballium elaterium*), Aralık ayında alternatif tıp alanında sıkça kullanılan bitkiler arasında yer almaktadır.

Elaterin bakımından zengin bir bitki olup sarı renkli çiçeklere sahiptir. Bitkinn yüksekliği yaklaşık 1,5 metre kadarolabilmektedir. Halk arasında genellikle Başı kesilmiş eşek olarak adlandırılır. Faydaları oldukça fazla olmasına rağmen kabukları ve çekirdekleri toksik bir yapıya sahiptir. Bu nedenle sadece acı kavunun özsuğu ve kökleri kullanılmalıdır [2].



Şekil 1.2. Acı kavun otu (*Ecballium elaterium*),

Uluavrat otu olarak da bilinen dul avrat otu (*Arctium lapa*), geçmişten beri sağlık için kullanılan önemli bir bitkidir. Geçmişten beri alternatif tıpta tercih edilen bu bitki sağlık açısından da yararlıdır. Doğal botoks etkisi olan bu bitki eski çağlardan beri genç kalmak için tercih edilmiştir. Ayrıca özellikle cilt ve saç için de yararlıdır. Latince adı '*Arctium lapa*' olan güzel avrasya otu, *papatya* ailesinin (*aster* ailesi) bir üyesidir. Soğuk havaya karşı dirençlidir ve nemli bölgeleri sever [2].



Şekil 1.3. Dul avrat otu (*Arctium lapa*),

Pampas otu veya saz püskülü isimleriyle bilinen keskin yaprak kenarları olan bir bitkidir. Doğada yaygın olarak bulunan ve kuvvetli bir çayır formu olan saz püskülünün yaprakları her zaman yeşildir. *Hasırgil* ailesine aittir. Bağırsak solucanlarını azaltmaya yardımcı olur. Dekoratif alanlarda da sıklıkla kullanılır [1].



Şekil 1.4. Sazlık otu (*Phragmites australis*)

1.1. Antioksidanların Tarihi

Sentetik antioksidanların besinlerdeki kullanım alanı 1940 yıllarında BHA (bütilendirilmiş hidroksitoluen) ve gallik asit esterleri oksidasyon reaksiyonunu engelleyebildiklerinin keşfedilmesiyle başlamıştır.

Demir ve bakır gibi metallerin zararlı etkilerini azaltan maddeler olarak sitrik asit (CA), etilendiamintetraasetik asit (EDTA) veya bunların türevleri bir metal deaktivatör veya şelatlama maddesi olarak etki ettiği bulunmuştur.

1954'te ABD'de gıdalarda BHT kullanımına izin verildi. Üçüncül bütil hidrokinon (TBHQ) 1972 yılından itibaren ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır [3].

Sentetik antioksidanların olası kanserojen etkileri nin tespit edilmesi ile Japonya ve diğer birçok ülke BHA'nın gıdalarda kullanılmasını yasaklamıştır. TBHQ'nun Kanada, Japonya ve Avrupa ülkelerinde de kullanılmasına halen izin verilmemektedir. Bu nedenle yapay antioksidanlar yerine doğal antioksidanlar kullanmak için genel bir ilgi ve istek vardır [4].

1.1.1. Çeşitli bitkiler ile daha önce çalışılmış antioksidan aktiviteleri

Selda ve arkadaşları (2015) üzümlerden üretilen şaraplardaki kükürt dioksit miktarını GFAAS kullanılarak geliştirilen moleküler atomik absorpsiyon yöntemi ile belirlemişlerdir ve CERAC yöntemine ile etkileşebildiğinden dolayı kükürt dioksidin şarap numunelerinden ayırarak asıl antioksidan kapasitelerini bulmaya çalışmışlardır.

Yapılan çalışmada kırmızı şaraptaki antioksidan miktarının beyaz şaraptakinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir [3].

Onur ve arkadaşları (2016) doğu karadeniz bölgesinde kendiliğinden yetişmekte olan çay üzümü yaprak örneklerinin toplam polifenol ve toplam flavonoid miktarlarını araştırılmıştır. Doğal bir tür olan bu bitkide yüksek oranda antioksidan ölçülmüştür [4].

Ahmet ve arkadaşları (2015) *Salvia fruticosa* bitkisinin su ile elde ettikleri ekstrelerin fenolik bileşimini araştırıp bu ekstrelerin kanser bağlantılı enzimler üzerindeki etkisini anlayabilmek için antioksidan kapasitesini ölçmüşlerdir. *S. fruticosa* etkileştirilen HT-29 hücrelerindeki bazı faz I ve faz II enzimleri ile bazı antioksidan enzimlerinin genlerinin arttığını bazılarının ise azaldığını gözlemlemiştir.

Özge ve arkadaşları (2019) deniz alglerinin içerdiği pigmentlerden yararlanarak antioksidan içeriklerini tayin etmişlerdir. Ayrıca sentetik antioksidanların doğal antioksidanlar yerine kullanıp kullanılmayacağına araştırmışlardır. Kahverengi alglerde kırmızı algere göre daha çok antioksidan aktivitesinin bulunduğunu bulmuşlardır [6].

Şeyda ve arkadaşları (2008) Türkiye’de yetişen elma çeşitlerinin antioksidan tayinlerini ve miktarlarını çalışmıştır. Yapılan araştırmaya göre elmanın etindeki antioksidan değeri kabuğu ve suyundan daha düşük olarak bulunmuştur [7].

Rukiye ve arkadaşları ise (2011) yaptıkları çalışmalarında bazı doğal ve sentetik bileşiklerin antioksidan kapasitelerini ölçmüştür. Çalışmanın sonucunda çıkan antioksidan seviyelerine göre besinlerde kullanılan yapay antioksidanlar yerine aynı seviyede aktivasyon gösteren doğal antioksidanlarında yeterli düzeyde kullanılabilceği görülmüştür [8].

1.2. Tezin Amacı

Antioksidanların sağlığa pek çok faydası bulunmaktadır. Hemen hemen pek çok gıda maddesinde, kozmetik malzemeler gibi çok geniş alanlarda antioksidanlar yer almaktadır.

Canlı metabolizması kendi doğal döngüsünde serbest radikaller meydana getirmektedir. Bunun sonucunda vücut otomatik olarak antioksidanları sentezlemeye başlar. Bu sayede oluşan tahribatlar engellenmiş olur. Bu amaçları karşılayabilmek,

gıdaların raf ömrünü uzatabilmek için yapay antioksidanlarda bulunmakta fakat doğal antioksidanlarında bu görevi yeterli düzeyde karşıladığı bilinmektedir.

Yapılan bu çalışmanın amacı canlılar için bu kadar önem taşıyan antioksidanların çeşitli bitkilerde de varlığını göstererek literatüre doğal antioksidanlara katkı sağlamaktır. Yapay antioksidanlardansa doğal antioksidanların daha çok oluşturulabilmesi adına da birden fazla bitki incelenmiştir.

Bu sebeple üç farklı bitki mürver, dul avrat, sazlık ve acı kavun otları ve bunların farklı kısımlarının etanol ekstraktları elde edilerek bu ekstraktların antioksidan aktiviteleri yaygın olarak kullanılan üç farklı metot (demir-II-iyonlarını şelatlama aktivitesi, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, indirgenme kapasitesi) ile antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür.

2. ANTIOKSİDAN TÜRLERİ

Antioksidan özelliklere sahip olduğu tespit edilen çok sayıda farklı maddeler mevcuttur. Bu maddelerin bir kısmını diyetimizden (özellikle bitkilerden) alırken, vücut bir kısmını metabolik reaksiyonlar sırasında meydana gelebilecek olan serbest radikalleri engellemek üzere savunma mekanizması olarak tek başına üretir. Organizmanın serbest radikalleri engellemek üzere ürettiği başlıca antioksidan enzimler katalaz, glutatyon peroksidaz ve SOD (süperoksit dismutaz) gibi enzimlerdir [9].

Bilinen doğal antioksidanlardan biri E vitamini (Alfa tokoferol)dir. Doğada E vitamini genellikle alfa, beta, gama ve delta tokoferollerini içerir. Bunlardan en önemli antioksidan Alfa-tokoferoldür. Mısır, buğday, pirinç gibi tahıllarda E vitamini açısından zengindir. Ayrıca ayçiçek yağı, mısır yağı, pamuk tohumu yağı gibi yağlarda badem, ceviz ve yer fıstığı gibi kuruyemişlerde ve yeşil sebzelerde bulunur. E vitamini ayrıca pişirmeye ve ısıya dayanıklıdır, bu nedenle pişirme sırasında yok edilmezler. E vitamini dışındaki farklı maddelerde bulunan tokoferoller kolayca yok edilebilir. Bununla birlikte, yağda kızartma ve tahıl öğütme sırasında E vitaminleri de yok edilir ve çoğu bozulur.

Askorbik Asit (C Vitamini) - Turunçgiller, domatesler, yeşil yapraklı sebzeler (ıspanak, brokoli vb.) ve meyvelerde bulunmaktadır. Bununla birlikte, C vitamini çok hızlı oksitlendiğinden, meyve ve sebzeler pişirilir ve hazırlanırken C vitamininin çoğu bozunur. Bu nedenle C vitamini içeren yiyeceklerin az pişirilmesi, yenilirse çiğ yenmesi ve hazırlanırken de çok kısa bir süre de tüketilmesi gerekmektedir.

Beta-karoten- dışarıdan diyetle alınan ve organizmada depolanabilen ve A vitaminine de çevrilebilen kırmızımsı-turuncu pigment yapıda güçlü bir antioksidan maddedir. Bu nedenle özellikle kanser yakalanma riskini azalttığı belirlenmiştir. Ispanak ve brokoli gibi yeşil yapraklı sebzeler ile havuç ve kayısı ve şeftali gibi meyvelerde bol miktarda bulunur.

Flavonoidler de antioksidan olup sarı-beyaz pigmentlidirler ve pek çok meyve ve sebzede yüksek oranda bulunur. Çoğu bitkide bulunan bu antioksidan, aynı zamanda

antioksidan olan C ve E vitaminlerinden çok daha yüksek miktarlarda bulunduğundan, özellikle meyve ve sebzelerde ağır bir diyetle vücuda büyük miktarlarda alınabilir. Çilek, elma, üzüm ve özellikle çay gibi meyveler belirli oranlarda flavonoid içerir.

Koenzim q- Özellikle kanser ve bazı nörolojik hastalıklar üzerindeki olumlu etkileri ile bilinen Koenzim q da önemli bir antioksidan maddedir. Hem insan vücudunda üretile bildiği gibi hemde diyet ile dışarıdanda alınabilmektedir. Karaciğer, kalp ve böbrek gibi et ürünlerinde ve balıklarda yüksek miktarlarda bulunmasına rağmen besin takviyeleri olarakta koenzim q alınabilmektedir.

Likopen – meyvelere kırmızı rengi veren ve Beta-karoten ve lutein ile aynı ailenin bir üyesi olan bir maddedir.. Kalp damar hastalıkları ve kansere karşı etkileri ve bağışıklık sistemi üzerindeki olumlu etkileri bilinen ve yüksek antioksidan özelliği olduğu belirlenmiştir. Özellikle domateslerde çok büyük miktarlarda bulunur. Prostat ve kolon kanseri risklerini büyük ölçüde azalttığı laboratuvar çalışmaları ile kanıtlanmıştır [10].

Doğal gıdalardan vücuda elde edilen antioksidanların yanı sıra son yıllarda antioksidan içeren birçok besin takviyesi ürünü ve krem ortaya çıkmıştır. Şimdiye kadar ciddi yan etkiler, olumsuz sonuçlar veya zehir oranı görülmemekle birlikte, bu tür besin takviyesi ürün ve kremlerinin uzun vadede nasıl sonuçlara veya yan etkilere neden olabileceği kesin değildir. Antioksidanların kanser risklerini ve yaşlılığın etkilerini azaltmada önemli olmasına rağmen "sihirli bir iksir" olmadıkları da unutulmamalıdır.

Antioksidanlar, bir çeşit oksit sökücü olup her türlü kimyasal maddeye verilen isimdir, sadece canlıların sistemlerinde de kullanılmazlar. Ayrıca kimyasal reaksiyonlarda ve endüstride kullanılabilen çok sayıda antioksidan bulunmaktadır [11].

2.1. Antioksidan Etki Mekanizması

Yağlar çok kolaylıkla oksitlenebildiklerinden dolayı yağlarda ve yağlı gıda üretiminde yaygın olarak kullanılan antioksidanların başlıca özellikleri:

- Gıdaların üretiminde kullanılan dozlarda zehir etkileri bulunmamalıdır.
- Düşük derişimlerde etkin olmalıdırlar
- Kolaylıkla elde edilebilir olmalıdırlar
- Pişirme gibi ısı işlemler sırasında etkilerini korumalıdırlar
- Gıdalarda istenilmeyen renk ya da lezzette bozulmalara sebep vermemesi gerekir

- Düşük maliyette bulunmalıdır [12].

2.1.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Var olduğu kaynağa göre antioksidanlar ;

Doğan ve sentetik olmak üzere iki gruptadır.

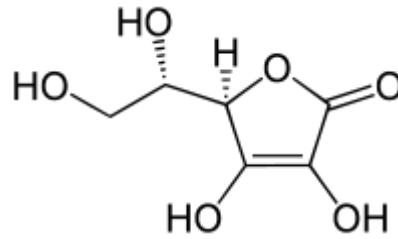
2.1.2. Doğal antioksidanlar

2.1.2.1. Tokoferoller

- Bitkilerde sık rastlanır hayvansal dokularda az rastlanır
- Doğal antioksidanların en yaygın kullanım bölgesine sahip olanıdır.
- Bitkisel yağlarda bulunur.
- Ticari kaynağı soya fasulyesidir
- Karanlık ortamda daha etkilidir.

2.1.2.2. Askorbik asit ve tuzları

- Vitamin C (L-askorbik asit)
- Enzimatik olmayan esmerleşmeyi engellemek için kullanılır
- Sodyum ve potasyum tuzu olarak gıdaya katılır
- Özellikle konserve ve şişelenmiş ürünlerde tepe boşluğu kısmında oksijen tutucu olarak kullanılır.
- Askorbik asitten dehidro askorbik aside dönüşerek antioksidan etkisini göstermektedir.



Şekil 2.1. Askorbik asit (vitamin C) formülü

2.1.2.3. Askorbil palmitat ve stearatlar

- Askorbik asit, gıdaya tuz şeklinde ve ayrıca askorbil palmitat ve askorbil stearat formundaki yağ asidi esterlerine eklenebilir
- Yağlarda kullanılabilmesi için yağ asidi esteri şeklinde olmalıdır
- Bitkisel yağlarda kullanıldığında BHA ve BHT den daha etkin yapıdadırlar

- Bazı tokoferoller ile kullanıldığında sinerjistik etkili olabilmektedir.

2.1.2.4. Glukoz oksidaz

- Kategori olarak enzim formatında bulunan bir maddedir
- En önemli ticari kaynağı *Aspergillus niger* in bir türevidir
- Çözünmüş haldeki veya tepe boşluğundaki oksijeni engeller
- Toz haldeki yumurta ürünlerinde glukozu uzaklaştırmak için kullanılır. Bu sayede maillard reaksiyonunu engellemiş olur.
- Turunçgil suları, kola, içecek, bira, şarap, gazlı içecek ve salata soslarında kullanılır.

2.1.2.5. Sülfidler

- Sodyum ve potasyum bisülfid, kükürt dioksit ve metabisülfid gibi maddeler değişik gıdalara pasif antioksidan olarak kullanılır
- Örneğin kükürt dioksit biraya depolama sırasında tat bozulmasını engellemek için kullanılır
- Hem enzimatik hem enzimatik olmayan tepkimeleri kontrol eder, aynı zamanda mikrobiyel gelişmeyi de önler.
- Alternatif bulmak zordur çünkü pek çok fonksiyonu bulunmaktadır. yaygın kullanımına devam etmekte.
- ABD de GRAS listesinden çıkarılmıştır. 10 ppm üzeri etikette belirtme zorunluluğu vardır
- Meyve ve sebzelerin daha çok kurutulmuş olanlarında, üzümde, şarapta, kabuk soyma öncesi patateslerde kullanılır.

2.1.3. Yapay antioksidanlar

2.1.3.1. Sodyum eritorbat ve eritorbik asit

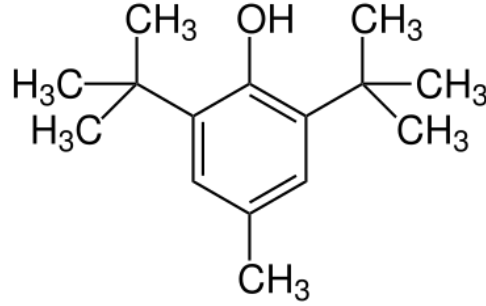
- İzoaskorbik asit ikinci ismidir
- Anoksidatif etkisi sayesinde oksijen bağlama özelliği vardır
- Sülfidler ve sitrik asit ile beraber farklı bir seçenek şeklinde kullanılmakta. Donmuş deniz ürünleri, salata, elma larda oluşan kararmayı ve acılaşmayı önlemek için de kullanılır.
- 150-200 ppm donmuş meyvelerde kullanılabilir.

2.1.3.2. Gallatlar

- Yüksek antioksidan potansiyeline sahiptir.
- Suyun içinde demir artıklarıyla beraber siyah-mavi renk oluşturması yağlarda kullanımını engellemektedir
- Yüksek çözünürlük noktasına sıvı ve katı yağlarda ulaşır
- BHA ve BHT ile birlikte daha yüksek etkiye sahiptir.

2.1.3.3. BHT (bütilendirilmiş hidroksitoluen)

- Gliseritler üzerinde etkili ve koruyucu etkiye sahiptir
- Ancak bitkisel yağlarda çok etkin değildir. Diğer antioksidanlarla sinerjistik etki meydana getirir
- Erime noktası 69.7 derecedir
- BHA ile sinerjistik etki oluşur, gallatlar ile oluşturmaz.



Şekil 2.2. BHT molekülünün kimyasal formülü

2.1.3.4. TBHQ (tersiyer bütil hidroksit)

- 1972 de kullanımına izin verilmiştir.
- Çoklu doymamış bitkisel yağlarda koruyucu etkili.en güçlü etkisi sitirik asit ile beraber kullanıldığında ortaya çıkmıştır.
- BHA ve BHT'ye nazaran uçuculuğu az, aşırı sıcaklığa dayanıklı,demir varlığında renk bozulmasına neden olmayan, daha etkili yapaylar arasındadır.

2.1.3.5. NDGA (nordihidroguairatik asit)

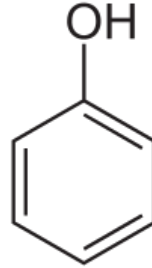
Ülkemizde kullanımına izin yoktur [13].

2.2. Fenolik Bileşikler

Metabolizmalarındaki tüm bitkiler, ikincil bir metabolit olarak ancak bitkinin kendi

metabolizmalarında rolleri henüz tam olarak belirlenememiş çok sayıda fenolik moleküller üretmektedir.

Bu sebeple, bitki kökenli tüm gıdalarda her zaman değişik özellikte ve oranda çeşitli fenolik bileşikler bulunur [14].



Şekil 2.3. Fenol kimyasal formülü

2.3. Fenolik Bileşiklerin Tanımı

Bir ya da çok fazla adette hidroksil grubunun bağlandığı bir benzen halkası onu bulunduran bileşikler topluluğuna fenolik bileşikler ya da polifenoller denmektedir.

Bu halkada en az bir aromatik halkaya ve çok sayıda hidroksil süstitüentine sahip olan tüm bileşiklere fenolik bileşikler denir [15].

2.4. Fenolik Bileşiklerin Önemi

Bir grup gıda katkı maddesi oluşturan renk maddeleri günümüzde önemli bir ilgiye sahiptir.

Günümüzde modern tüketici, gıdada yer alan her bir maddeyi bilmeye ve tüketici açısından en üst düzeyde kabul edilebilirliği konusunda titiz olmaya çalışmaktadır.

Nihai ürün elde edilene kadar hammaddede farklı aşamalarda kullanılacak renk maddelerinin tüketici açısından kabul edilebilir olması gerekmektedir.

Flavanoidler; meyve, sebze ve çayların kendi içeriğinde bulunan polifenolik antioksidanlardır.

2.5. Fenolik Bileşik Çeşitleri

Fenolik bileşikler, flavonoid ve fenolik asitler olarak iki ayrı grupta incelenmektedir [16].

2.5.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler genellikle canlı bitki dokularında serbest halde bulunmuyorlar, fakat bitkilerin işlendiği esnada hidrolize olurlar.

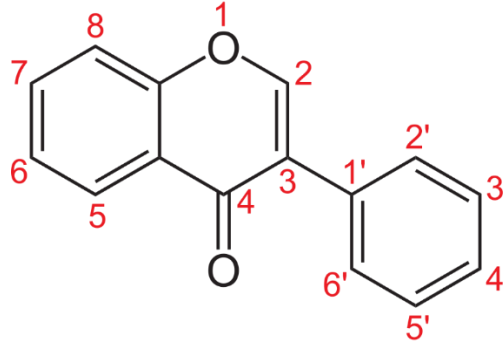
Karboksil grupları karbonhidratlar, glikozitler, amino asitler veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve alkollerle fenol esterleri ve amino bileşiklerle amidler oluşturabilir.

Fenol halkasına bağlı fenolik asitlerin hidroksil grupları da çok aktiftir ve glikozitler oluşturmak için şekerlerle birleşir. Meyvelerdeki fenolik asit miktarları olgunluk durumuna bağlı olarak değişir [17].

2.5.2. Flavonoidler

Flavonoidler C6–C3–C6 difenilpropan yapısındadır ve fenil grupları arasındaki üçlü karbon köprüsü oksijenli bir halka oluşturur (flavan halkası). Flavonoidler C6-C3-C6 difenilpropan ve Kaynatma yapısındadır.

Farklı flavonoidler arasındaki farklar, bağlı hidroksil gruplarının adedi, doymamışlık mertebesi ve Karbonsuzlaştırılmış üçlü karbon segmentinin oksidasyon seviyesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.4. Flavonoidlerin kimyasal formülü

2.6. Serbest Radikaller

Radikaller (çoğu zaman serbest radikal şeklinde bahsedilir) ortaklanmamış elektronu olan atom, molekül veya iyonlardan oluşur. Bu ortaklanmamış elektronlar genelde son derece tepkimeye girmeye isteklidir.

Radikaller yanma, atmosfer kimyası, polimerizasyon, plazma kimyası, biyokimya ve diğer birçok kimyasal aşamada önemli bir rol oynar. Örneğin insan anatomisinde süperoksit ve azot oksit, damar da birçok biyolojik süreci düzenler.

Radikal ve serbest radikal terimleri genellikle eşanlamlı olarak kullanılsa da, bir radikal bir çözelti yapısında hapsedilebilir veya başka bir moleküle bağlanabilir. Moses Gomberg tarafından 1900'de Michigan Üniversitesi'nde tanımlanan trifenilmetil radikali, tespit edilen ilk organik serbest radikaldi [18].

Serbest radikaller yaşamda çok gerekli olduğu için, serbest radikallerin sebebiyet verdiği tahribatı düşürmek ve neden olduğu tahribatı tekrardan düzeltmek için vücudun çeşitli mekanizmaları vardır. Bunlara süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimleri dahildir. Aralık. Ayrıca antioksidanların bu savunma sistemlerinde önemli bir rolü bulunmaktadır. Bunlar esas olarak A, C, E vitaminleri ve polifenol gruplarını taşıyan antioksidanlardır. Diğer taraftan bilirubin ve ürik asitte bir kısım serbest radikalleri etkisiz hale getirerek antioksidan görevi de görebilir. Bilirubin hemoglobinin yok edilmesinden, ürik asit pürin türevlerinin yok edilmesinden oluşur. Aşırı miktarda bilirubin, merkezi sinir sistemine zarar verebilecek sarılığa neden olabilir. Aşırı ürik asit ise gut hastalığına neden olur [19].

2.7. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Bugüne kadar antioksidan miktarını ölçebilmek amacıyla çok sayıda metot geliştirilmiştir. Totaldeki antioksidan miktarının ölçülmesini sağlayan metotlar, hidrojen atomu transferi (HAT) reaksiyonlarına dayalı yöntemler ve elektron transferine (ET) dayalı yöntemler olarak ikiye ayrılabilir.

Çizgiye dayalı yöntemlerin çoğu, azo bileşiklerinin bozulmasıyla meydana gelen peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın çekişmesine dayanan rekabetçi kinetik reaksiyonlar kullanır.

ET bazlı yöntemler ise antioksidanın renk değişikliği ile oksidantı azaltma yeteneğini ölçer. Renk değişiminin derecesi, numunelerin antioksidan konsantrasyonu ile ilgilidir [20].

2.8. Hidrojen Atomu Transferine Dayalı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

2.8.1. ORAC (oksijen radikal absorban kapasitesi) yöntemi

ORAC yönteminde 2,2'-azobis (2-amido propan) hidroklorür (AAPH) peroksil

hidroksil radikalini oluşturmak için β -PE, hidroksil radikalini oluşturmak için Cu (II) -Th₂O₂ ve oksitlenebilir substrat olarak β -Fr kullanılır.

Serbest radikaller ve β -PE arasındaki oksidasyon reaksiyonunun bir sonucu olarak, Tikoeritrin bir flüoresan bileşiğine ayrışır ve antioksidanların varlığında bu flüoresandaki azalma ölçülür ve toplam antioksidan kapasitesi hesaplanır.

Serbest radikallerin etkisini inceleyen ve miktarını belirlemek için eğri altında kalan bölge (AUC) tekniğini kullanan bu yöntem, hem serbest radikalleri inhibe eden antioksidanların yüzdesini hem de inhibisyon süresini tek bir değer olarak tanımlayan bir metottur. Net AUC, antioksidan miktarı ile orantılıdır [21].

2.8.2. TRAP (toplam radikal tutma parametresi) yöntemi

Wayner ve arkadaşları [22] tarafından geliştirilen bu yöntem, serum veya plazmadaki toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesinde kullanılan ana yöntemlerden biridir. TUZAK yöntemi, peroksil radikali 2,2 'azobis (2-amidinopropan) diklorürü (AAPH) oluşturmak için kullanılır. Plazmada var olan antioksidanlar oksidasyon tepkimesinin yavaş oluşmasına neden olur.

Tepkimenin gecikme süresi ölçülür ve bulunan sonuçlar troloks ile karşılaştırılarak toplam antioksidan miktarı troloks cinsinden hesaplanır. Bu yöntemin dezavantajı, oksijen elektrodunun uç noktasını tam anlamıyla tespit edememesi ve oksijen elektrodunun stabilitesinin gerekli zaman dilimi içinde muhafaza edilememesidir [23].

2.8.3. Diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) yöntemi

TRAP yöntemine dayanan bu metot Valkonen ve Kuusi tarafından geliştirilerek öne sürülmüştür. [24]. Yöntemde, bir peroksil radikali oluşturmak için AAPH kullanıldı ve oksitlenebilir bir substrat olarak DCFH-DA kullanıldı.

Peroksil radikali ile DCFH-DA arasındaki oksidasyon tepkimesi sonucunda meydana gelen klorofloresin (DCF) yüksek floresans özelliğine sahiptir. 480 nm'de uyarılır ve 526 nm'de emisyon yayar. ayrıca 504 nm'de maksimum emilim gösterir.

Metot uygulandıktan sonra DCF miktarı ve bu miktarla ilişkili olan toplam antioksidan kapasitesi hesaplanır.

Toplam antioksidan miktarı iki sırada hesaplanır. İlk aşamada, numunedeki antioksidanların kapasitesi gecikme süresi cinsinden hesaplanır ve daha sonra miktarı bilinen bir troloks çözeltisi aynı numuneye eklenir. Troloks çözeltisi serbest radikaller tarafından sonlandırılınca ikinci gecikme zamanı hesaplanmaktadır. Trolox'taki

toplam antioksidan kapasite, bu iki Yavaşlama süresi arasındaki farktan yararlanılarak hesaplanır [25].

2.8.4. Luminol yöntemi

İlk olarak, Metsä-Ketelä ve ark. 1991 yılında Alho tarafından geliştirilen ve yayınlanan kemilüminesans bazlı TRAP metodu sonraları Alho ve Leinonen tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmıştır [26].

AAPH bileşiğinden oluşan peroksil radikallerinin oksitlenebilir substratının (luminol) oksidasyonu sonucunda ışık yayan luminol radikalleri oluşur. Elde edilen ışık, luminolmetre denilen cihazlarla ölçülmektedir.

Antioksidan özelliklere sahip bir madde, belirli bir süre (gecikme süresi) kemilüminesans radyasyon oluşumunu engeller. Gecikme süresi, bir numunedeki total antioksidan potansiyeliyle paralel olarak artar ya da azalır. Sonuçta çıkan veriler troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır.

Whitehead ve arkadaşları, luminol yöntemi üzerine bazı eklemeler yapmıştır [27]. Luminol maddesini hidrojen peroksit veya perborat ile oksidasyonu için kullanmıştır. Reaksiyonun hızlı olarak gerçekleşmesi için katalizör olarak HRP (horseradish peroksidaz) tercih edilerek kullanılmış ve bunun sonu olarak ışığın yayılması daha hızlı olmuştur. Normal koşullar altında, bu tepkime hızla azalıp düşük yoğunluklu bir ışık emisyonu olarak ortaya çıkar.

Reaksiyon ortamına p-iyodofenol eklendiğinde, ışık emisyonu daha şiddetli, uzun ömürlü ve stabil duruma gelmiş olur. Işığın luminol radikalleri aracılığıyla yayılabilmesi için ortamdaki tüm antioksidanların tüketilmesi gerekir. Bu nedenle, bu yöntem antioksidan girişime duyarlıdır. Bu metodun en olumsuz yönü, bakılan antioksidanların sadece aaph'den oluşan radikalleri değil, aynı zamanda luminol radikallerini de azaltmasıdır [28].

2.8.5. Krosin ağartma yöntemi (crocin bleaching assay)

Bu yöntemde, bir karotenoid olan krosinin ağartma derecesi, azo başlatıcısının termal bozunma sonucunda meydana gelen peroksil radikaller ile ölçülür.

Yöntem, aaph'nin termal bozunmasıyla oluşan peroksil radikalleri tarafından krosinin oksidasyonuna (ağartılmasına) dayanır. Bu yöntemin gıda numuneleri için uygulanması sınırlıdır. Bazı fitokimyasalların reaksiyon hızı sabitleri krosine benzer ve

bu nedenle gecikme fazı yoktur. Bununla birlikte, diğer kimyasalların bir gecikme aşaması vardır. Ağartma olayında azalma süresi çok kısadır. Krosin, safrandan ekstrakte edilmiş doğal pigmentlerin bir karışımıdır ve kantitatif prosedürlerde endüstriyel kullanımını sınırlayan çok çeşitlilik gösterir [29].

2.8.6. CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi

Bu çalışmayı öne sürenler tarafından kromojenik oksidan Cu (II) -neokuproin reaktifi kullanılarak antioksidanlar, C ve E vitamini ile flavonoidler için kolay ve yaygın olarak uygulanabilir bir antioksidan kapasite belirleme yöntemi geliştirilmiştir. Plazma antioksidanları, flavonoidler, gıda polifenolleri, C vitamini ve E vitamini. Bu reaktif, hidrofilik ve lipofilik antioksidanlara yanıt verebilen stabil, ucuz, kolay erişilebilir bir reaktiftir. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan bu yöntem CUPRAC (bakır(II) iyon indirgeme antioksidan kapasitesi) adı altında dünya literatürüne girmiştir. Bu yöntemde antioksidanların, antioksidan kapasitesi, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinin (Neokuproin-Nc) oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc) Cu(II) ile bakır(I)'ye indirgeme kabiliyetinden yararlanılarak ölçülebilir) -antioksidan bileşiklerin varlığında 450 nm'de maksimum absorbans veren neokuproin [Cu (I) -Nc] kelattır.

Bu özelliğinden yola çıkarak 'Bakır(II) iyon İndirgeme Antioksidan Kapasitesi' ile geliştirilen antioksidan kapasite yöntemine kısaca CUPRAC yöntemi adı verilmiştir. Bu yöntem, Cu (II) klorür çözeltisi, neokuproin (Nc) çözeltisi ve amonyum asetat (Fr = 7 tampon) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra belirlenecek herhangi bir antioksidan çözeltinin (doğrudan veya asit hidrolizinin sonunda) eklenmesi ve absorbans değerlerinin 450 nm'de ölçülmesinden oluşur. takip eden 30 dakikanın sonunda antioksidanlar ölçülür [30].

2.8.7. TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi) / ABTS yöntemi

Troloks eşdeğeri antioksidan miktarı şeklinde anlatılan TEAC / ABTS yöntemi ilk olarak Miller ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, kromojen radikal katyonu 2,2'-azinobis'in(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) hidrojen bağışlayan antioksidanlar tarafından absorbansının inhibisyonuna bağlı olan bir yöntemdir.

Absorbanstaki azalıştan faydalanarak troloks cinsinden total antioksidan miktarı verilmektedir. Orijinal yöntemde ABTS. + katyonu, metmiyoglobinin H₂O₂ ile aktivasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan ferrilmiyoglobin radikal türlerinin

abt'lerle etkileşiminden oluşur. ABT'LER. + radikal katyonun karakteristik uzun dalga boyu absorpsiyon spektrumu, 660, 734 ve 820 nm'de maksimum verir.

Re ve diğ. [31] ABTS tarafından değiştirilen TEAC yönteminde. + radikal katyon, abt'lerin potasyum persülfat ile oksidasyonunun bir sonucu olarak oluşur. Oluşan radikal katyon, oda koşullarında ve karanlık bir yerde 2 gün boyunca dirençlidir.

Geliştirilen yöntemin orijinal olan yöntemden ayrımı, hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabilir olması ve bir renk giderme (renk giderme) yöntemi olmasıdır [32].

2.8.8. FRAP (demir(III) indirgeyici antioksidan gücü) yöntemi

Benzie ve Strain tarafından çalışılmış olan bu metotta oksidan olarak Fe^{3+} kullanılmıştır [33].

Bu metotta Fe^{3+} -tripridiltriazin (Fe^{3+} -TPTZ) kompleksi, asidik bir pH ortamında (pH = 3.6) indirgeyici özelliğe sahip bir antioksidan madde ile Fe^{2+} -tripridiltriazin (Fe^{2+} -TPTZ) kompleksine indirgenir. Fe^{2+} -TPTZ kompleksi güçlü bir mavi renk verir. Oluşan bu Fe^{2+} -TPTZ kompleksinin absorbansı 593 nm'de ölçülür ve elektron bağışlayan antioksidanların indirgeme gücü (veya kapasitesi) toplamda ölçülür.

Orijinal FRAP yönteminde fark absorbansı ($\Delta A = A_{4\text{dakika}} - A_{0\text{dakika}}$) 4 dakika içinde ölçülür. 1 FRAP birimi, 1 mol Fe (III) 'ün Fe (II)'ye indirgenmesi olarak kabul edilir. Başka bir deyişle, teac'den farklı olarak Fe^{2+} + eşdeğeri indirgeme kapasitesi kullanılır. Kolay ve maliyetsiz bir yöntem olan FRAP yöntemi, antioksidanların renkli bir bileşik oluşturmak üzere indirgenme kabiliyetini ölçer.

Bu metodun diğer bir unsuru da, hem $Fe(III)$ -TPTZ kompleksinin biyolojik bir numunede bulunan antioksidanların $Fe(II)$ -TPTZ kompleksine indirgenmesi hem de $Fe(II)$ iyonlarının hidroksil radikalleri ile etkileşimi nedeniyle antioksidan kapasitenin doğrudan ölçülememesidir. ortamdaki H_2O_2 ile reaksiyonun sonucu. Başka bir söyleyişle FRAP yöntemi, toplam antioksidan gücü belirleyebilen dolaylı bir yöntemdir [26]. pH=3.6' da uygulanan FRAP yöntemi fizyolojik pH'da çalışmadığından, elde edilen neticelerin insan vücudundaki redoks tepkimelerine dönüşmesi beklenmemelidir.

Metodun asidik pH'da çalışması, protonlarından vazgeçmemiş bazı antioksidanların kolayca oksitlenememesine ve dolayısıyla toplam antioksidan miktarının var olduğundan daha düşük olmasına neden olabilir.

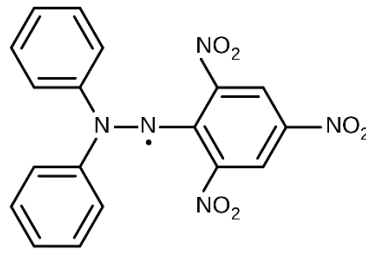
Ek olarak, bu yöntemin bir diğer olumsuz yönü, plazma antioksidanlarını dolaylı olarak ölçüyorken in vivo koşullar altında önemli bir tiyol (-SH) grubu antioksidan olan glutatyon ile reaksiyona girmemesidir [34].

2.8.9. DPPH yöntemi

Bu yöntem, antioksidanların stabil bir serbest radikal olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali üzerindeki temizleyici etkilerinin ölçülmesine dayanan bir yöntemdir. Hidrojen donörlerle etkileşime girdiğinde bu radikal hidrazine indirgenir.

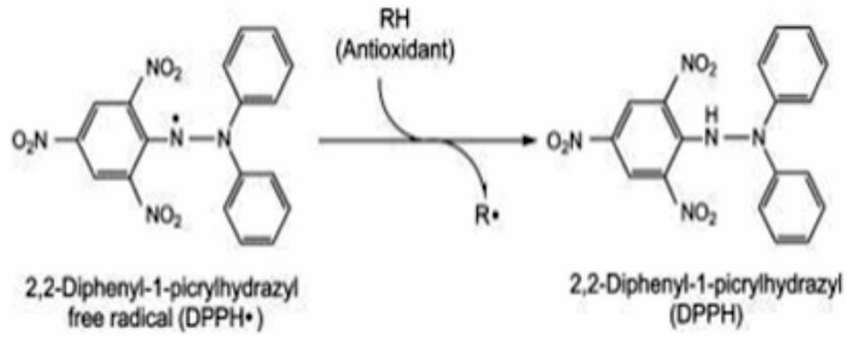
Kırmızı renkli DPPH radikali, 517 nm'de maksimum absorpsiyon sağlar. Metanol veya etanoldaki DPPH çözeltisine antioksidan ilavesi ile absorbansta bir azalma meydana gelir ve radikalın rengi antioksidanların varlığı ile kırmızıdan sarıya evrilir.

Bu metot, antioksidanların radikal süpürücü yeteneklerini değerlendirmek için basit ve kabul edilir bir yöntem olarak bilinir. Bu metot hızlı ve kolay olmasına rağmen bazı bileşenlerin (özellikle karotenoidlerin) 515 nm'de DPPH ile çakışan bir spektrum vermesi analizin yorumlanmasını zorlaştırmaktadır.



Şekil 2.5. DPPH serbest radikalının formülü

Ek olarak, çoğu antioksidan, sterik inhibisyona bağlı olarak DPPH ile yavaş reaksiyona girer. Bu sebepten ötürü, metot; DPPH ile reaksiyona giren antioksidan maddelerin antioksidan kapasitesinin doğru olarak değerlendirilmesine izin vermez. Ek olarak, DPPH rengi ışığa, hava oksijenine, neme ve pH'a karşı çok hassastır, bu nedenle Ekim ayında tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek zordur [35].



Şekil 2.6. DPPH radikalinin indirgenmesi

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Materyal ve Maddeler

3.1.1. Kullanılan cihazlar

Çalışma boyunca kullanılmış olan cihazlar;

Spektrofotometre	:	SHIMADZU UV-2600
Vortex	:	Heidolp Reaxtop
Mikropipetler	:	Brand Transferpette® S 200 ve 1000 µL'lik
Derin Dondurucu	:	Uğur UD 100BK
Santrifüj Cihazı	:	Nüve NF 200
Blender	:	Hotmix 2155 Beko
pH Metre	:	Lab 850 SCHOTT
Protein Elektroforezi	:	P8DS Owl Thermo Scientific
Hassas Terazi	:	ATX 220 SHIMADZU
Buzdolabı	:	Beko

3.1.2. Harcanan kimyasallar

Deneyde kullanılan kimyasal ve malzemeler biyokimya laboratuvarlarından almıştır. Deneysel çalışmalarda Bursa'nın Mudanya bölgesinde yetişen sazlık otu (*phragmites*), dul avrat otu (*arctium lapa*), mürver (*sambucus nigra*) ve kara kavun otları (*citrullus colocynthis*) toplanarak kullanılmıştır.

DPPH, etanol, destile su, fosfat tamponu, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ tuzu, TCA, $FeCl_2$, $FeCl_3$, ferrozin, hidroklorik asit, fosforik asit, gallik asit, kafeik asit, hidrojen peroksit, askorbik asit, PVP (polivinil piroldon), triton-x-100, kloroform, aseton, SDS (sodyumdodesilsülfat), Na_2HPO_4 kimyasalları kullanılmıştır.

3.1.3. Bileşenlerin ekstraksiyon aşaması

Tüm bitki türleri parçalandıktan sonra ortalama 40 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulularak blender sayesinde ile toz şeklinde elde edilmiştir. Kurutulmuş bitki numuneleri etanol

çözücüsüne eklenmiş ve 24 saat çalkalayıcılı su banyosunda 250 rpm'de bekletilerek ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır. Ekstraksiyon işleminde çözücü olarak etanol kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra Whatman filtre kağıdından süzülüp, süzüntü kısmı toplanarak evaporatörde 50°C sıcaklıkta çözücüler uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katı tartılarak istenen konsantrasyonlarda ekstrakte edildikleri çözeltilerde çözülerek stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerin istenen konsantrasyonlarında seyreltme yapmak için etanol çözeltileri kullanılmıştır.

3.2. Kalibrasyon Grafik Çizimleri ve Antioksidan Aktivite Yöntemleri

3.2.1. Demir (II) iyonunun şelatlama kapasitesinin testi

Bitki ekstraktlarından farklı konsantrasyonlardaki (50-1000 µg/mL) Fe²⁺ iyonlarının şelatlama kabiliyeti Dinis ve arkadaşlarının bilirdiği yöntemdeki gibi yapılmıştır. Buna göre Fe²⁺ iyonlarını tutmak için ortamdaki ferrozin reaktifi, güçlü bir demir şelatör ve metal bağlayıcı bileşiklerin rekabetine dayanmaktadır. Şelatlama kuvveti büyük olduğunda kırmızı renkte olan Fe²⁺ ferrozin yapısının meydana gelmesi engellenir [36].

Bu yöntemde, 1 mL numuneye 3.7 mL saf su ve 100 µL (2 mM) FeCl₂ ilave edilmiştir. Oda koşullarında 30 dakika reaksiyon bekletilip üzerine 200 µL (5 mM) ferrosin ilave edilerek karıştırılır. 10 dakika beklemeden sonra çözeltilerin absorbans değerleri 562 nm'de belirlenmiştir. 1 mL saf su kontrolde numunede kullanmak için hazırlanmıştır. EDTA standard olarak kullanıldı. Blank sadece saf su ile hazırlandı. Ferrosin-Fe²⁺ kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = 1 - \frac{562 \text{ nm}' \text{deki örnek absorbansı}}{562 \text{ nm}' \text{deki kontrol absorbansı}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini

Bitki özlerinin ve standartlarının DPPH radikal süpürücü aktivitesi, Brand Williams ve arkadaşlarının kullandığı yöntemle göre belirlenmiştir. 100 mL etanolde çözülerek 4 mg DPPH çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltilerden 4 mL alınmış ve üzerine çeşitli konsantrasyonlarda (50-1000 µg/mL) hazırlanan 1 mL bitki ekstraktlarından eklenmiş ve oda koşullarında 30 dakika sonunda absorbans değeri spektrofotometrede 517 nm'de okunmuştur. Standart olarak troloks ve BHT kullanıldı. Kontrol olarak 1 mL distile su ve 4 mL DPPH çözeltisi kullandı. Kör olarak sadece etanol kullanıldı. Ölçümler her konsantrasyon için iki kez alınmış ve kaydedilmiştir. Düşen absorbans

değeri DPPH çözelti ölçüsünü yani serbest radikal süpürme aktivitesini gösteriyor [37]. DPPH serbest radikal kapasitesi aşağıda verilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH giderim kapasitesi (\% inhibisyon)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.3)$$

A_0 = Kontrol absorbans değeri A_1 = Örnek veya standardın absorpsiyon değeri

3.2.3. İndirgenme kapasitesi tayini

İndirgeme kapasitesinin belirlenmesi, derişimi ile ilgili olarak antioksidan miktarı hakkında detay verebilmektedir. İndirgeme kapasitesi genel olarak $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3+}$ 'nin $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{2+}$ olarak redüksiyon olması ile belirlenir. İndirgenmiş ürüne Fe^{3+} 'ün eklenmesi 700 nm'de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kompleksini oluşturur. Bu çalışmada indirgeme kapasitesi, Oyaizu'nun yolune göre çalışılmıştır [115]. Bunun için 1 mL bitki ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda (50-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ve kimyasal maddeleri sulu çözeltilerinde, 2.5 ml 0.2 M fosfat tamponu (pH = 6.6) ve 2.5 ml (% 1 potasyum ferro siyanür $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi birlikte karıştırılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, 30 dakika boyunca 50°C'de bir su banyosunda inkübe edilmiştir. Çözeltilere 2.5mL % 10 trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklenmiş ve 10 dakika 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bundan sonra, karışımın üzerinden 2.5 mL alındı ve buna 2.5 mL su ve 0.5 mL (% 0.1 FeCl_3) çözeltisi eklenmiştir. Kör olarak damıtılmış su kullanılırken, pozitif standart olarak C vitamini ve BHT kullanılmış ve çözeltilerin absorbansları 700 nm'de bir spektrofotometre üzerinde belirlenmiştir [38].

4. SONUÇLAR

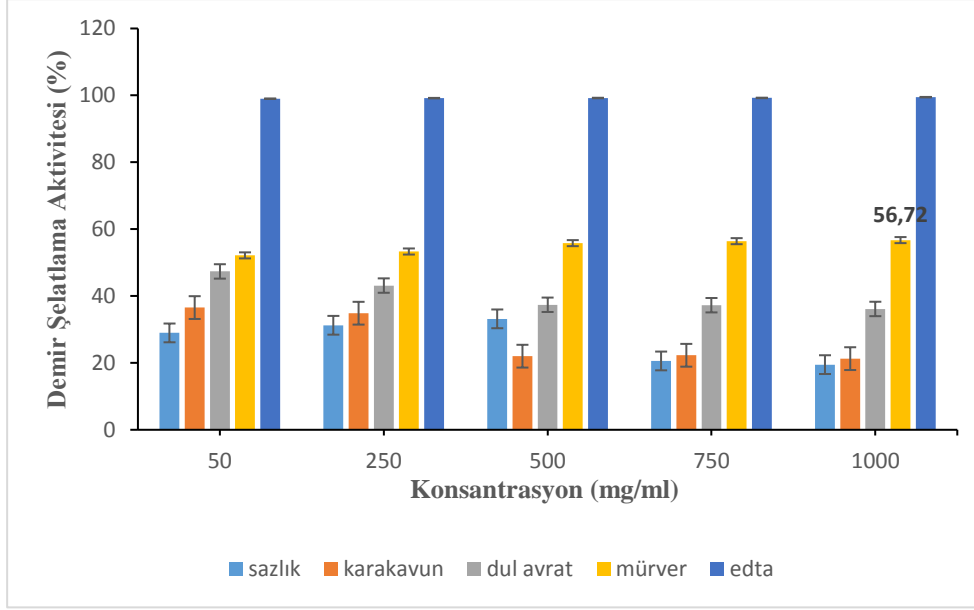
4.1. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini Sonuçları

Geçiş metallereinden olan demir fazla reaktivitesi sebebiyle yağları oksitleyebilen önemli bir metaldir. Geçiş metallereinin radikal oluşum mekanizmaları Fenton ve Haber-Wiess reaksiyonları ile bilinir. O yüzden, antioksidan aktivite analizleri yapılırken konuyla ilgili olarak bu metallereinin özellikle demir Fe (II) veya bakır Cu (II) iyonlarının şelatlama kabiliyetlerinin belirlenmesi en yaygın kullanılan metodlardandır. Bu nedenle bu çalışmada, numunelerin çözücü ekstraktlarının demir Fe (II) iyonlarının şelatlama kapasitesi incelenmiştir. Metal iyonu şelatlama kapasitesi; çözeltideki Fe²⁺ iyonlarını bağlamak için bitki ekstraktlarını ferrozinin bileşiği ile yarışmasına bağlı olarak incelenir. Bu test, verilen numunelerin içerisindeki şelatlayıcı moleküllerin, Fe (II) iyonları ile ferrozinin bileşiği arasında oluşacak olan kompleksi ne oranda engellediği ve bunun sonucunun da spektroskopik olarak belirlenebilmesi esasına dayanır. Metal şelatlayıcı moleküllerin varlığında metalle-ferrozinin kompleksi oluşamaz [39]. Kompleks oluşumu 562 nm'de izleneceğinden bu dalga boyundaki absorbans azalması kompleksin oluşmadığını göstermektedir.

Ekstraktların şelatlama kapasitesi ferrozinin kısmı kullanılarak metal şelatlama yöntemi ile belirlendi ve tüm ekstraktların metal şelatlama kapasitesi beş değişik konsantrasyonda (50, 250, 500, 750 ve 1000 mg/ml) yaprak ve meyve kısımları için belirlendi (Tablo 4.1.) ve (Tablo 4.2.). Sonuçlar; Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Bitki meyvesi etanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasitesi

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	28,97	31,25	33,17	20,58	19,48
Karakavun	36,54	34,86	22,01	22,28	21,27
Dulavrat(çiçek)	47,35	43,12	37,38	37,25	36,13
Mürver	52,15	53,31	55,81	56,4	56,72
EDTA	98,994	99,172	99,207	99,234	99,457

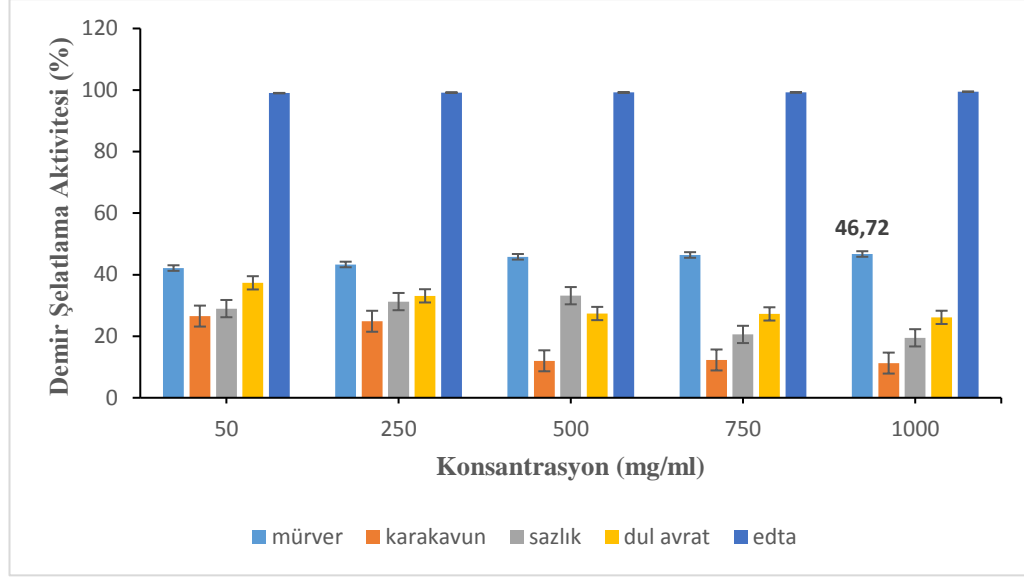


Şekil 4.1. Bitki meyvesi etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi (%).

Etanol ekstraktlarda, en yüksek değeri metal şelatlama aktivitesini EDTA (%99,457) standardından sonra mürver otunun meyve ekstraktları (%56,72) gösterirken, en düşük değeri metal şelatlama aktivitesi sazlık otunda (%19,48) gözlenmiştir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.2. Bitki yaprağı etanol ekstratlarının % metal şelatlama kapasitesi

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	28,97	31,25	33,17	20,58	19,48
Karakavun	26,54	24,86	12,01	12,28	11,27
Dulavrat (yaprak)	37,35	33,12	27,38	27,25	26,13
Mürver	42,15	43,31	45,81	46,4	46,72
EDTA	98,994	99,172	99,207	99,234	99,457



Şekil 4.2. Bitki yaprağı etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi (%).

Etanol ekstraktlarda, en yüksek değeri metal şelatlama aktivitesini EDTA (%99,457) standardından sonra mürver otunun yaprak ekstraktları (%46,72) gösterirken, en düşük değeri metal şelatlama aktivitesi sazlık otunda (%19,48) gözlenmiştir (Tablo 4.2.).

4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Test Sonuçları

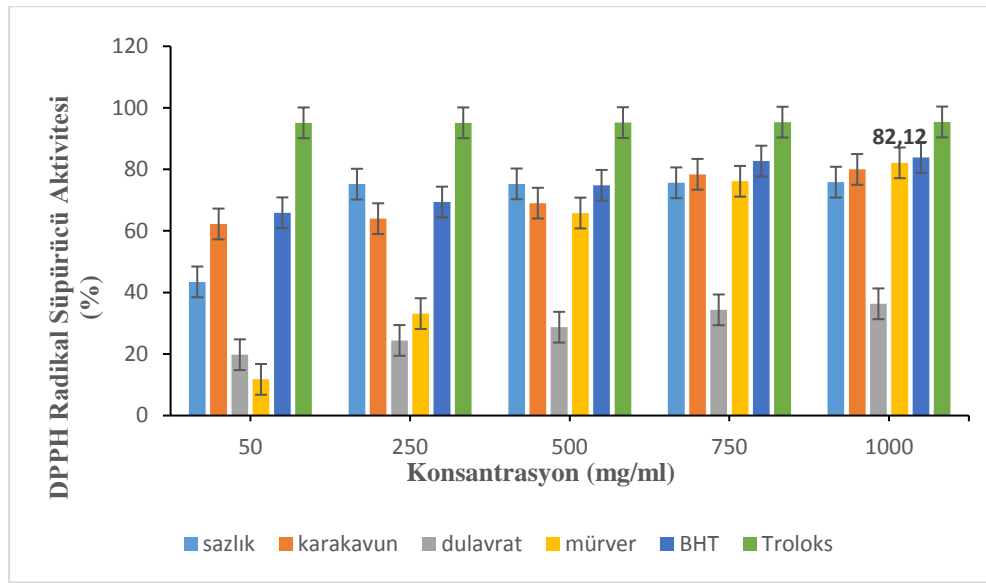
Bu yöntemin temeli DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından hidrojen veren gruplara indirgenmesine bağlıdır. DPPH antioksidanların radikal süpürücü aktiviteleri için yaygın olarak kullanılan uzun ömürlü bir azot radikalidir.

Bu yöntemde DPPH radikalini azalmadan önceki rengi koyu mor, antioksidanlarla azaldığında ise açık pembe renge dönüşür. Bu da DPPH radikalini difenil-pikrilhidrazine indirgenmesini ifade etmektedir. Bu renk değişimi 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenebilmektedir. DPPH molekülü 517 nm’de yüksek absorpsiyon verirken, indirgenmesinde antioksidan miktarına bağlı olarak absorpsiyonda düzgün bir azalma meydana gelir [40]. Bu çalışmada, sazlık, mürver, dulavrat ve karakavun otu ile hazırlanan etanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal giderim aktivite yöntemine göre beş farklı konsantrasyonda (50, 250, 500, 750 ve 1000 mg/mL) belirlenmiştir.

Çalışmadan çıkan verilere göre, en yüksek DPPH serbest radikal aktivitesi her ekstraktta kullanılan troloks maddesi (%95,404) ile en düşük DPPH serbest radikal aktivitesi etil asetat ekstraktında mürver otunun meyvesinde (%11,75) gözlenmiştir.

Tablo 4.3. Bitki meyvesi etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	43,43	75,19	75,28	75,63	75,84
Karakavun	62,26	63,97	69,02	78,39	79,98
Dulavrat (çiçek)	19,77	24,41	28,71	34,34	36,31
Mürver	11,75	33,12	65,81	76,12	82,12
BHT	65,893	69,372	74,814	82,689	83,884
Troloks	95,116	95,133	95,194	95,343	95,404

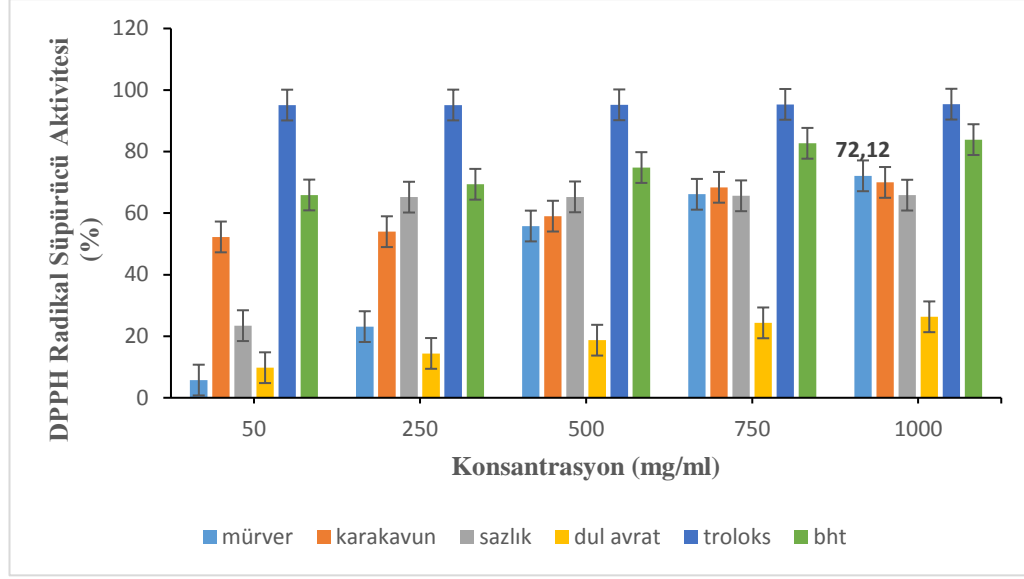


Şekil 4.3. Bitki meyvesinin etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%).

Çıkan neticelere göre DPPH serbest radikal aktivitesi 1000 mg/mL konsantrasyonda troloks maddesinde (%82,12) en büyük değeri mürver bitkisinin meyve kısmı gösterir. Dolayısıyla, troloks maddesinin DPPH serbest radikali giderme yeteneğinin her diğer maddelerden de yüksek gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2.).

Tablo 4.4. Bitki yaprağı etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	23,43	65,19	65,28	65,63	65,84
Karakavun	52,26	53,97	59,02	58,39	59,98
Dulavrat(yaprak)	9,77	14,41	18,71	24,34	26,31
Mürver	5,75	23,12	55,81	66,12	72,12
BHT	65,893	69,372	74,814	82,689	83,884
Troloks	95,116	95,133	95,194	95,343	95,404



Şekil 4.4. Bitki yaprağının etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%). Çıkan neticelere göre DPPH serbest radikal aktivitesi 1000 mg/mL konsantrasyonda troloks maddesinde (%72,12) en büyük değeri mürver bitkisinin yaprak kısmı gösterir. Dolayısıyla, troloks maddesinin DPPH serbest radikali giderme yeteneğinin her diğer maddelerden de yüksek gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.4.).

4.3. İndirgeme Kapasite Tayin Sonuçları

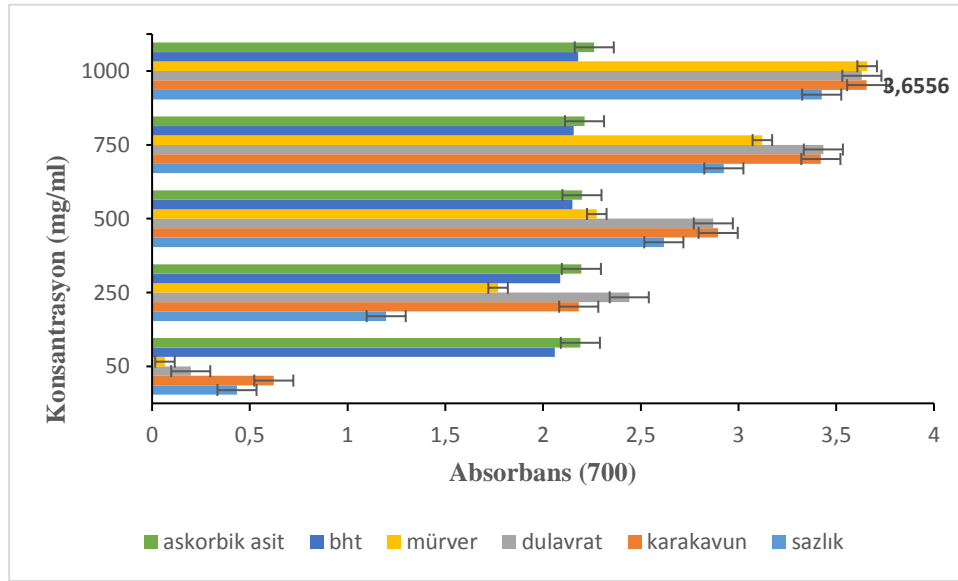
İndirgeme kapasitesi istenen örnekteki antioksidanların varlığı ile Fe^{3+} 'nin elektron alarak Fe^{2+} 'ye indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Fe^{2+} kompleksinin miktarı 700 nm'de oluşan mavi rengin ölçülmesi ile belirlenir. Absorbans değeri ne kadar yüksek olursa indirgeme yeteneği o kadar yüksek olur.

Fe^{3+} iyonlarının indirgenmesi, elektron verme yeteneğinin bir göstergesidir, bileşiğin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermek için önemli bir yöntemdir ve diğer yöntemlerle de ilişkilidir. Ancak ortamdaki antioksidanların aktivitelerinin azalması nedeniyle çözeltinin sarı rengi farklı tonlarda yeşile döner [41].

Ekstraktların ortamdaki Fe^{3+} 'ü azaltma kabiliyetini belirlemek için sazlık, mürver, karakavun ve dulavrat otunun farklı konsantrasyonlarda çeşitli ekstrakt ve standart konsantrasyonları çalışılmış ve 700 nm'de oluşan komplekslerin absorbansları ölçülmüştür. Sonuçlar Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Bitki meyvesi ekstraktların indirgenme gücü kapasiteleri.

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	0,4343	1,1975	2,618	2,925	3,4256
Karakavun	0,6226	2,1825	2,896	3,4213	3,6556
Dulavrat	0,1977	2,441	2,871	3,434	3,631
Mürver	0,0658	1,77	2,275	3,122	3,658
BHT	2,06	2,088	2,15	2,157	2,179
Askorbik asit	2,191	2,196	2,199	2,212	2,262

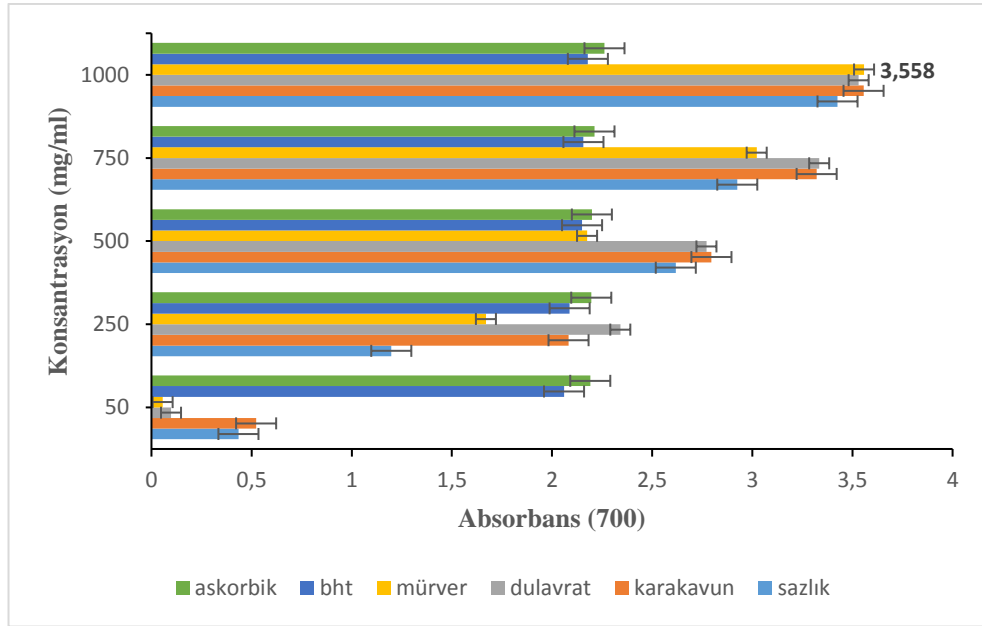


Şekil 4.5. Bitki meyvesi ekstraktların indirgenme gücü kapasiteleri.

Elde edilen sonuçlara göre deneyde kullanılan ekstraktların indirgeme kapasiteleri test edilen ekstraktların konsantrasyonunun artması ile birlikte doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.3.). Bu testte en fazla indirgeme kapasitesi mürver etanol ekstraktı (3,658 mg/mL) ile olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.6. Bitki yaprağı ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Sazlık	0,4343	1,1975	2,618	2,925	3,4256
Karakavun	0,5226	2,0825	2,796	3,3213	3,5556
Dulavrat	0,0977	2,341	2,771	3,334	3,531
Mürver	0,0558	1,67	2,175	3,022	3,558
BHT	2,06	2,088	2,15	2,157	2,179
Askorbik asit	2,191	2,196	2,199	2,212	2,262



Şekil 4.6. Bitki yaprağı ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri

5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) ölçütlerine göre; dünya nüfusunun önemli bir bölümünün "geleneksel tıp" olarak bilinen bitkilerden ve onlardan elde edilen ürünlerden hastalıkların tedavisi ve hastalıklardan korunma açısından yararlandığı bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü de bu tıbbi amaçlı kullanılan bitki sayısının 70,000, ilaç olarak kullanılan bitki sayısının ise 21,000 olduğunu bildirmiştir [42].

Bugün şifalı bitkilerin kökü,yaprak, çiçek, meyve gibi kısımlardan alınan özler, birçok tıbbi ilacın ana bileşenini oluşturmaktadır [43]. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROT), yaşantımız boyunca vücudumuzda gelişen metabolik olaylar sırasında ortaya çıkar. Oksidatif stres, ROT üretimi ile antioksidan savunma arasında dengeyi bozar ve oksidatif bozulmaya neden olmuş olur bu, antioksidan savunma mekanizmalarının (A, C, E, glutasyon, ubikinon, flavonoidler vb.) enzimatik (katalaz, süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, vb.) eksikliğinden ve ayrıca ROT ve aşırı aktivasyon kalp ve sinir hastalıkları, diyabet, astım ve romatizma hastalıklar gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasında rol oynadığı gösterilmiştir [44].

Oksidasyonu önleyen veya geciktiren bir madde antioksidan olarak bilinir [45, 46]. Reaktif oksijen türleri, sebze ve meyvelerde bulunan karotenoidler, fenolik bileşikler ve vitaminler gibi antioksidanların yanı sıra vücudumuzda bulunan antioksidanlar sayesinde zararsız hale gelmektedir. Bu bileşikler meyve ve sebzelerde, bazı kanser türlerinde, kardiyovasküler hastalıklarda, felçte ve kataraktlarda bulunur. Alzheimer ve Parkinson gibi rahatsızlıklara yakalanma riskini azaltıp ve önemli ölçüde önlediğini çeşitli araştırmalar göstermiştir [47 - 50].

Bu çalışma ile Bursa'da yetişen sazlık, mürver, karakavun ve dulavrat otlarının farklı çözücüler yardımıyla antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bu ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, üç farklı antioksidan ayırma metodu kullanılıp belirlenmiştir ve bu metotlar; DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi, demir iyonları şelatlama kapasite ve indirgenme kapasitesi yöntemleridir. Etanol kullanılarak çözülen dört ayrı ot üç farklı yöntemle antioksidant özellikleri kıyaslanmıştır.

Sonuçlara göre DPPH, indirgenme kapasitesi ve demir şelatlama yöntemleri mürver otu meyvesi etanol ekstraktının en büyük değeri aldığı görülmüştür. (DPPH için; % 95,404, Demir şelatlama için; %56,72, İndirgenme kapasitesi için; 3,65 mg/mL). Yine mürver otu yaprakları en yüksek değeri vermiştir. (DPPH için; %72,12, Demir şelatlama için %46,72, İndirgenme için 3,65 mg/ml).

En düşük kapasiteyi ise sazlık otu vermiştir. (DPPH için %65.84, Demir şelatlama için %19.48, indirgenme kapasitesi için %3.42)

Bu çalışma sonucunda mürver otunun etanol ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin en yüksek değerlerde olduğu görülmüştür. Günlük yaşantıda, son zamanlarda yapılan diğer çalımlarda mürver otunun hastalıkları tadevici edici özelliği belirlenmiş ve hatta tabletleri de dahi üretilmektedir. Sinüzit,romatit artrit gibi pek çok önemli hastalıklara tedavisi olduğu kanıtlanmıştır. Sazlık otunun ise insan vücuduna hiçbir faydasının olmadığı görülmüştür. Yalnızca dekoratif amaçlı kullanılmaktadır. Çalışmamızdan çıkan sonuçlar da bu bilgileri destekler niteliktedir.

KAYNAKLAR

- [1] Mandal S., Yadav S., Yadav S. ve Nema, R.K., Antioxidants: A Review, Journal Of Chemical and Pharmaceutical Research, 1, 1, 102-104, 2009.
- [2] Lushchak V., Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, Chemico- Biological Interactions., 224, 164–175, 2014.
- [3] Ulusoy E., Anzer Balı ve Poleninin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan Özellikleri. Karadeniz Teknik Ünivesitesi, Fen Bilimlerinin Enstitüsü, Doktora Tezi, 2010.
- [4] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, In: Methods in Enzymology, 186, Packer, L., Glazer, A. N. (Eds.), Academic Press, San Diego, ISBN: 0121820874, pp. 1-85, 1990.
- [5] Tsao R. ve Deng Z., Separation Procedures For Naturally Occurring Antioxidant Phytochemicals, Journal of Chromatography B, 812, 85-99, 2004.
- [6] Halliwell B., Cross C.E. ve Gutteridge J.M.C., Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease. Where are We Now?, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 119, 598-620, 2002.
- [7] Düzgüner, V., Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Mustafa Kamal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (VET) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2005.
- [8] Koleva I.I., van Beek T.A., Linnsen J.P.H., de Groot A. ve Evstatieva, L.N., Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study of Three Testing Methods, Phytochemical Analysis. 13, 8-17, 2002.
- [9] Wettasinghe M. ve Shahidi F., Antioxidant and Free Radical-Scavenging Properties of Ethanolic Extracts of Defatted Borage (*Borago officinalis* L.) Seeds, Food Chemistry, 67,4, 399-414, 1999.
- [10] Janovska D. Kubikova K, Kokoska L, Screening for Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Species of Traditional Chinese Medicine. Czech J. Food Sci. 21: 107-110.), 2003.
- [11] Çakatay, U., Kayalı, R., Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 37, 162-167, 2006.
- [12] Reddy, S. V., Suchitra, M. M., Reddy, Y. M., Reddy, P. E., Beneficial and detrimental actions of free radicals: a review, Journal of Global Pharma Technology, 2, 3-11, 2010.
- [13] Gutteridge, J. M. C., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clinical Chemistry, 41, 1819-1858, 1995.
- [14] Halliwell, B., Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, Plant Physiology, 141, 312-322, 2006.

- [15] Aruoma, O. I., Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 199-212, 1998.
- [16] Heves, M. D., Akyıldız (Ornithogalum sigmoideum Freyn Et Sint.)'ın antioksidan aktivitesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2008.
- [17] Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya, 978-975-543-038-6, 1995.
- [18] Bergendi, L., Benes, L., Durackova, Z., Ferencik, M., Chemistry, physiology and pathology of free radicals, *Life Sciences*, 65, 1865-1874, 1999.
- [19] Bayan, Y., Genç, N., *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca*'nın toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5 (2), 158- 166, 2016.
- [20] Karabulut, H., Gülay, M.Ş., *Antioksidanlar*. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi, 1 (1), 65-76, 2016.
- [21] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., *Free radicals in biology and medicine*, 3rd ed., Oxford Science Publications, 978-0198500452, 2001.
- [22] Wayner d.d.m., burton g. w., ingold k. locke u.s., 1985, Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation, *Febs lett.*, 187, 33-37.
- [23] Matés J. M., Pérés-Gomez C. ve De Castro I. N., *Antioxidant Enzymes and Human Diseases*, *Clinical Biochemistry*, 32,8, 595-603, 1999.
- [24] Günaydın B. ve Çelebi H., Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller ve Antioksidanlarla İlişkileri, *Anestezi Dergisi*, 11, 87-98., 2003.
- [25] Lee J., Koo, N. ve Min D.B., *Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals*, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*., 3, 21- 33, 2004.
- [26] Schoneich C., *Reactive Oxygen Species and Biological Aging:a Mechanistic Approach*, *Exp Gerontol*, 34, 19-34, 1999.
- [27] Yapar S.B., *Alfa Lipoik Asidin Rat Karaciğer Homojenatlarında İndüklenmiş Lipid Peroksidasyonuna Etkisi*. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2006.
- [28] Onat T., Emerk K. ve Sözmen E.Y., *İnsan Biyokimyası* , Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
- [29] Irmak, E., Farklı bölgelerden alınan dut ve sumak ürünlerinin antioksidan kapasitesinin incelenmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2019.
- [30] Bayramoğlu, M., *Rosa pisiformis (christ) D. Sosn. bitkisinin antioksidan, antiradikal aktivitesinin ve isoproterenol ile oksidatif stres oluşturulan ratlarda antioksidan etkisinin belirlenmesi*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2013.
- [31] Karovicova J. ve Simko P., *Determination of Synthetic Phenolic Antioxidants in Food by High-Performance Liquid Chromatography*, *Journal of Chromatography A*, 882, 271–281, 2000.

- [32] Szöllösi R. ve Szöllösi Varga I., Total Antioxidant Power in Some Species of Labiatae (Adaptation of FRAP method), *Acta Biologica Szegediensis*, 46, 3-4, 125- 127, 2002.
- [33] Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C. ve Candan F., Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types from Anatolia, *Food Chemistry*, 100, 526-534, 2007.
- [34] Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S, Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(2), 45-50, 2012.
- [35] Tufan, A.N., Tahıllarda spektrofotometrik toplam antioksidan kapasite tayini ve antioksidan bileşenlerin kapiler elektroforezle saptanması. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2012.
- [36] Dınsı Tcp., Madeira Vmc., Almeida Lm., “Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers.” *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161- 169, 1994.
- [37] Blois M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200, 1958..
- [38] Cuvelier M.E., Antioxidative Activity and Phenolic Composition of Pilot Plant and Commercial Extracts of Sage and Rosemary , *Journal of American Oil Chemistry Society*, 73, 5, 645-652, 1996.
- [39] Durling N.E., Catchpole O.J., Grey J.B., Webby R.F., Mitchell K.A., Foo L.Y. Ve Perry N.B., Extraction of Phenolics and Essential Oil from Dried Sage (*Salvia officinalis*) Using Ethanol-Water Mixtures, *Food Chemistry*, 101, 1417-1424, 2007.
- [40] Şensoy N.D., Adaçayı (*Salvia officinalis*) Yapraklarından süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu ile doğal antioksidan eldesi ve tayini. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.
- [41] Saldamlı, İ. ve Sağlam, F., Vitaminler ve mineraller. Gıda Kimyası, Ed: Saldamlı, İ., Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 337-398, 1998.
- [42] Anıl, M., Antioksidan olarak tahıllar. Hububat 2006 - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 7-8 Eylül, Gaziantep, 2006.
- [43] Eren E., Bazı soğansız bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [44] Gök, V. ve Serteser, A., Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim, Ankara, 2003.
- [45] Tüzün, Y. ve Garip, F., E vitaminin dermatolojideki yeri. *Dermatose*, 4, 96-98, 2005.
- [46] Kim, D.-O. and Lee, C.Y., Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 253-273, 2004.

- [47] Salman, E., Bayraktarođlu, M., Doğan, O.V., Yörükođlu, Y., Yücel, E., Kösebalaban, Ő., ve Özer, N., Askorbik asitin serbest oksijen radikal temizleyici olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı. GKD Cerrahi Dergisi, 2, 216-220, 1994.
- [48] Anonim, USDA/ARS National Nutrient Database. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp.>, EriŐim Tarihi: 01.05.2020.
- [49] Eken, S., Bazı materyallerde antioksidan tayinleri. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.
- [50] Çöllü, Z., Urtica Pilulifera L. bitkisinin antioksidan aktivitesinin araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.

ÖZGEÇMİŞ

Ad – Soyad : Duygu Elif BİLGE

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans : 2017, Sakarya Üniversitesi, Fen – Edebiyat, Kimya
- Yüksek lisans : 2023, Sakarya Üniversitesi, Kimya, Biyokimya

MESLEKİ DENEYİM

- 2018-2019 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığı'nda öğretmen olarak çalıştı.
- 2020 yılından itibaren Milli Eğitim Bakanlığı'nda öğretmen olarak çalışmaktadır.