

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

**SAKARYA BÖLGESİNDE YETİŞEN AYVA VE AYVA
YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Inam Muayad Abdulmaged AL-SABBAGH

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gülnur ARABACI

Haziran 2022

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

**SAKARYA BÖLGESİNDE YETİŞEN AYVA VE AYVA
YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Inam Muayad Abdulmaged AL-SABBAGH

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez tarihinde 03.06.2022 aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim

Inam Muayad Abdulmaged AL-SABBAGH

22.04.2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca bana her zaman destek ve yardımlarını esirgemeyen, her zaman yayında olan ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülnur ARABACI'ya teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresince eğitimlerinde benimle birlikte emeği geçen tüm kimya bölümü hocalarıma özellikle saygıdeğer hocam Prof. Dr. Meryem Nilüfer YARAŐIR'ya teşekkür ederim . Ayrıca tavsiye ve yardım veren laboratuvarında arkadaşlarım teşekkür ederim

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen ve bana olan güvenlerini her zaman hissettiren sevgili aileme teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xii

BÖLÜM 1.

GİRİŞ	1
-------------	---

BÖLÜM 2.

GENEL BİLGİLER	4
2.1. Serbest Radikaller Hakkında Genel Bilgi (SR)	4
2.2. Serbest Radikal Oluşum Mekanizması	5
2.2.1. Kovalant bağların hemolitik parçalanması	5
2.2.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi	5
2.2.3. Tek bir elektronun normal moleküle transferi.....	6
2.3. Serbest Radikal Kaynakları	7
2.4. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi	8
2.4.1. Antioksidan sınıflandırılması	9
2.5. Bazı Antioksidan Maddeler	11
2.5.1. Doğal antioksidan	11
2.5.1.1. A vitamini (Beta-karoten).....	12
2.5.1.2. E vitamini (Alfa tokoferol)	12
2.5.1.3. C vitamini (Askorbik Asit).....	13

2.5.2. Sentetik antioksidan.....	15
2.5.2.1. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA).....	15
2.5.2.2. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT).....	16
2.5.2.3. Troloks.....	16
2.6. Fenolik Bileşikler.....	17
2.6.1. Fenolik bileşikler hakkında genel bilgi	17
2.6.2. Sinamik asitler	18
2.6.3. Aldehit ve karboksiller	19
2.6.4. Flavonoidler.....	19
2.7. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri.....	25
2.7.1. Ayva (<i>Cydonia oblonga</i>) ve bileşimi	26
2.8. Antioksidan Kapasite Ölçüm Yöntemleri.....	28
2.8.1. Demir (II) iyonlarını şelatlama	30
2.8.2. DPPH serbest radikal aktivitesi	31
2.8.3. İndirgeme kapasitesi tayini.....	32
2.9. Antibakteriyel Hakkında Genel Bilgi	33
2.10. Antibakteriyellerin Sınıflandırması	34
2.10.1. Etki tipine göre sınıflandırma	34
2.10.2. Antibakteriyel maddeler köklerine göre sınıflandırma.....	34
2.10.3. Kimyasal yapı ve spektrumlarına göre sınıflandırma.....	35
2.10.4. İnhibitör türlerine göre sınıflandırması.....	36
2.10.4.1. Hücre zarı sentezinin inhibitörleri	36
2.10.4.2. Protein sentezinin inhibitörleri.....	37
2.10.4.3. Nükleik asit sentezi inhibitörleri.....	37
2.10.4.4. İnter Metabolizmayı Bozanlar	38
2.11. Literatür Özeti.....	38

BÖLÜM 3.

DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	40
3.1. Materyal ve Yöntem	40
3.1.1. Kimyasal materyal.....	40
3.1.2. Kullanılan aletler	40

3.1.3. Bitkisel materyal.....	41
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	41
3.2.1. Demir (II) iyonlarını şelatlama kapasitesinin testi yolunda kullanılan çözeltiler.....	41
3.2.2. DPPH serbest radikali kapasitesi deneylerinde kullanılan çözeltiler.....	41
3.2.3. İndirgeme kapasitesi testinde kullanılan çözeltiler.....	42
3.3. Deneysel Çalışma	42
3.3.1. Bileşenlerin ekstraksiyon aşaması.....	42
3.4. Antioksidan Aktivite Yöntemleri ve Kalibrasyon Grafik Çizimleri.	43
3.4.1. Demir (II) iyonunu şelatlama kapasitesinin testi.....	43
3.4.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini	43
3.4.3. İndirgeme kapasitesi tayini.....	44
3.5. Antibakteriyel Aktivite Tayini.....	44
3.6. Besiyeri Hazırlanması.....	45
3.7. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi.....	45
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA VE BULGULAR	46
4.1. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini Sonuçları.....	47
4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Test Sonuçları	49
4.3. İndirgeme Kapasite Tayin Sonuçları	53
4.4. Antibakteriyel Test Sonuçları	55
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR	64
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	78

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

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

PABA	: p-amino benzolik asit
MHA	: Muller hinton Agar
mM	: Milimola
mL	: Mililitre
μ L	: Mikrolitre
g	: Gram
M	: Molar
$^{\circ}$ C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
•	: Radika

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. A-> β -> γ -> δ -tokofero formül	12
Şekil 2.2. Askorbik asit (c vitamini) formül	14
Şekil 2.3. BHA molekülünün kimyasal formül	15
Şekil 2.4. BHT molekülünün kimyasal formül	16
Şekil 2.5. Troloks molekülünün kimyasal formül	16
Şekil 2.6. Fenol kimyasal formül	17
Şekil 2.7. Kafeik asit formül	18
Şekil 2.8. Klorojenik asit formül	19
Şekil 2.9. Gallik asit ve vanilin formül	19
Şekil 2.10. Flavonoidlerin genel kimyasal formülü	20
Şekil 2.11. Flavonoidlerin grubunu esas kimyasal formüller	21
Şekil 2.12. Rutin, apigenin'in kimyasal formülü	21
Şekil 2.13. Kuersetin bileşikler formülü	22
Şekil 2.14. Daidzein ne Enistein formülü	22
Şekil 2.15. Flavanol bileşikleri gallatın formülleri	23
Şekil 2.16. Delfinidin, apigenidin, malvidin, siyanidin bileşikleri formülleri ...	23
Şekil 2.17. Kimyasal förmülü, flavonoidlerin klasik antioksidan aktivitelerini belirlemede mühim özellikleri gösterir	25
Şekil 2.18. Ayva (cydonia oblonga) ve ayva yaprak formülü	27
Şekil 2.19. DPPH serbest radikalinin formülü	32
Şekil 2.20. DPPH radikalinin indirgenmesi [96].	32
Şekil 4.1. Etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi (%)	48
Şekil 4.2. Aseton ekstraktının demir şelatlama kapasitesi (%)	48
Şekil 4.3. Etil asetat ekstraktının demir şelatlama kapasitesi (%)	49
Şekil 4.4. Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%).....	50
Şekil 4.5. Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi.....	51

Şekil 4.6. Etil asetat ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%)	51
Şekil 4.7. Ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri	55
Şekil 4.8. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (SBT8) bakteri neticesi	56
Şekil 4.9. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (SBT8) bakteri neticesi	56
Şekil 4.10. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (SBT8) bakteri neticesi	57
Şekil 4.11. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi	58
Şekil 4.12. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi	58
Şekil 4.13. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi	59
Şekil 4.14. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakteri neticesi	60
Şekil 4.15. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakteri neticesi	60
Şekil 4.16. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) neticesi	61
Şekil 4.17. <i>Bacillus cereus</i> (SBT-8) bakterisine Ampisilinin antibiyotik neticesi	62
Şekil 4.18. <i>Escherichia coli</i> (25922) bakterisine Ampisilinin antibiyotik neticesi	62
Şekil 4.19. <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakterisine Ampisilinin antibiyotik neticesi	63

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları [15]	8
Tablo 2.2. Antioksidan sınıflandırılması	11
Tablo 2.3. A-β-γ-δ tokoferolün alternatifler	13
Tablo 2.4. Fenolik bileşiklerin karbon numaralarına göre sınıflandırılması	18
Tablo 2.5. Ayvanın kimyasal bileşimi (100g yenen kısımda)	28
Tablo 3.1. Denemelerde kullanılan kimyasal maddeler.....	40
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar	41
Tablo 4.1. Etanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasitesi	47
Tablo 4.2. Aseton ekstraktının % metal şelatlama yetenekleri	48
Tablo 4.3. Etil asetat ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri	49
Tablo 4.4. Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi	50
Tablo 4.5. Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi	50
Tablo 4.6. Etil asetat ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi	51
Tablo 4.7. Ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri	54
Tablo 4.8. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (sbt8) bakteri neticesi	56
Tablo 4.9 . Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (sbt8) bakteri neticesi	56
Tablo 4.10. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (sbt8) bakteri neticesi	57
Tablo 4.11. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi	57
Tablo 4.12. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi	58
Tablo 4.13. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (25922) bakteri neticesi.	58

Tablo 4.14. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakteri neticesi.	59
Tablo 4.15. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakteri neticesi.	60
Tablo 4.16. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) bakteri neticesi	60
Tablo 4.17. Ampisilin <i>Bacillus cereus</i> bakterisine antibakteriyel neticesi	61
Tablo 4.18. Ampisilin <i>Escherichia coli</i> bakterisine antibakteriyel neticesi	62
Tablo 4.19. Ampisilin <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisine antibakteriyel neticesi	62
Tablo 4.20. İncelenen ekstraktların ve standard antibiyotiğin mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkilerinin mm olarak çapları	63

ÖZET

Anahtar kelimeler: Ayva (*Cydonia Oblonga*), Antioksidan, DPPH, Demir Şelatlama, İndirgeme Kapasitesi, Antibakteriyel.

Bu çalışma, Sakarya'da yetiştirilen ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ayva (*Cydonia oblonga*) ve ayva yaprağı ekstraktlarının çeşitli çözücüler ile antioksidan ve antibakteriyel etkilerini belirlemeyi amaçlamaktadır. Kurutulmuş ayva ve yaprakları etanol, aseton ve etil asetat çözücülerini ile ekstrakte edilmiş ve antioksidan aktiviteleri üç farklı yöntemle belirlenmiştir. Bu yöntemler, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, demir iyonu şelatlama ve indirgeme kapasitesi yöntemleridir. Deneyler sonucunda test edilen maddelerden etanolde en yüksek DPPH aktivitesi ayva meyvesi maddesi ile %95.282 olarak tespit edilmiştir. Demir (II) iyonlarını şelatlama kapasitesinde %68.250 değeri ile asetonda en yüksek aktiviteye sahip ayva meyve maddesidir. Etil asetat ekstraktları arasında en yüksek indirgeme kapasitesi oranı 3.91 mg/mL ayva yaprağı ekstraktı olarak belirlendi. Ayrıca ayva ve yapraklarının antibakteriyel özellikleri, *E. coli*, *B. Cereus* ve *S. aureus* bakterilerine karşı agar kuyusu difüzyon yöntemi ile belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, ayva meyvesinin ekstraktları çapları 10 ila 20 mm arasında değişen tüm bakterilere karşı etkili antibakteriyel özellikler göstermiştir ve ayva yaprağının materyali, çapları 18 de 19 mm arasında değişmiştir. Aseton solüsyonunda en yüksek ayva meyve oranı B. Cereus'a karşı bulunan 16 mm zon çapı iken, en yüksek oranı *E. coli*'ye karşı bulunan 20 mm zon çapıdır.

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF QUINCE AND QUINCE LEAF EXTRACTS GROWN IN SAKARYA REGION

SUMMARY

Keywords: Quince (*Cydonia Oblonga*), Antioxidant, DPPH, Ferrous Ion Chelating, Reducing Power, Antibacterial.

This study aims to determine the antioxidant and antibacterial effects of quince (*Cydonia oblonga*) and quince leaf extracts grown in Sakarya and used in the treatment of various diseases with various solvents. Dried quince and leaves were extracted with ethanol, acetone, and ethyl acetate solvents, and their antioxidant activity was determined with three different methods. These methods are DPPH free radical removal activity, iron ion chelating, and reduction capacity methods. As a result of the experiments, among the tested substances, the highest DPPH activity in ethanol was determined as 95.282% with quince fruit substance. The highest activity of quince fruit substance in acetone with a value of 68.250% in its capacity to chelate iron (II) Ions. The highest reducing capacity ratio among ethyl acetate extracts was determined as 3.91 mg/mL of quince leaf extract. In addition, the antibacterial properties of the quince and leaves were determined by the agar well diffusion method against *E. coli*, *B. Cereus* and *S. aureus* bacteria. According to the results obtained, the material of the quince fruit showed effective antibacterial properties against all bacteria, the diameters of which ranged from 10 to 20 mm, and the material of the quince leaf, the diameters of which ranged from 18 to 19 mm. The highest quince fruit ratio in acetone solution is 16 mm zone diameter found against *B. Cereus*, while its highest ratio is 20 mm zoned against *E. coli*.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Oksijenli solunum için temel gereksinim olan oksijen, oksidasyon sırasında serbest radikal kaynaklarından olan reaktif oksijen türlerini (ROS) de oluşturabilir ve bu türler temel biyomolekülleri etkileyerek zararlı etkileri oluşturabilir [1]. Serbest radikaller, dış yörüngelerinde çift olmayan elektronlar sahip inorganik ve organik olan moleküllerle reaksiyona girme kabiliyetine sahip, oldukça reaktif ve kısa ömürlü bileşiklerdir [2, 3].

En önemli serbest radikaller, süperoksit radikalleri (O_2^-), hidroksil radikali ($\cdot OH$), monomerik oksijen ($1O_2$), radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$). Reaktif oksijen türleri (ROT) canlı organizmadaki nükleik asitler, lipidler karbonhidratlar ve proteinler gibi biyolojik moleküller ile kolaylıkla reaksiyona girip onların yapılarına zarar verebildikleri için, yaşa bağlı hastalıklar, kanser, kalp hastalıkları, bağışıklık sistemi hastalıkları, böbrek ve karaciğer hastalıkları ve mercek ile ilgili hastalıklardan sorumludurlar [4].

Serbest radikalleşmenin artmasına neden olan birçok faktör vardır. Bu faktörlerden bazıları, kimyasallar, çevre kirliliği, UV ışınları, X ışınları, ilaçlar, stres, virüsler, sigara dumanı vb. olarak sıralanabilir. Ayrıca hazır gıdalar, yağ ve şeker oranı yüksek besinler, alkol ve yoğun egzersiz oksijen kullanımında artışa neden olurken aynı zamanda serbest radikal miktarını da artırabilir. Oluşan serbest radikaller kanser, damarlar tıkanıklığı, şeker hastalığı ve sıtma gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilebilir [5, 6].

Serbest radikallerin canlı organizmalardaki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak veya hafifletmek için antioksidan savunma sistemleri de vardır. Fakat bazen antioksidan savunma sistemleri serbest radikallerin neden olduğu etkileri tamamen ortadan

kaldıramaz ve bu nedenle oksidatif stres adı verilen bir durum oluşur. Başka deyişle, hücrede oksijen ve araçlardan türetilen reaktif radikallerin aşırı oluşumu 'oksidatif stres' olarak tanımlanır. Metabolizmada oluşan bu stresi en aza indirecek savunma sistemleri mevcuttur. Bu sistemler SOD, CAT ve GPX gibi endojen antioksidan enzimler, GSH'ı, transferin ve seruloplazmin gibi metal bağlayıcı proteinler, çinko ve bakır gibi bazı antioksidan elementleri ve A, C ve E gibi antioksidan vitaminleri içermektir [7].

Antioksidanlar, hücrede çeşitli nedenlerden dolayı oluşan ve hücreye zarar veren serbest radikallerle etkileşerek başlattıkları zincirleme reaksiyonu durduran veya ilerlemesini yavaşlatan bileşiklerdir. Bu bileşikler, aşırı serbest radikal üretimini engelleyerek oluşan serbest radikallerin etkisini azaltıp meydana getirdikleri hasarı onarabilir yada en aza indirebilirler. Son yıllarda serbest radikallerin verdiği hasarın artması, antioksidan özelliği olan maddelere olan ilginin artmasına neden olmuştur. Günümüzde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların yan etkilerinden dolayı bitkilerden elde edilen doğal antioksidanlara ilgi artmaktadır [8, 9].

İnsan sağlığını tehdit eden bir diğer faktör de çevre kirliliği ve diyetin ihmal edilmesi nedeniyle ortaya çıkan zararlı mikroorganizmalardır. Bu zararlı mikroorganizmaların büyümesini ve çoğalmasını engelleyen faktörlerden biri antibakteriyel ajanlar ve antibiyotiklerdir. Fitosyaninler bunlar arasında önemli antibakteriyel etkileri olan antibakteriyel bileşiklerdir. Tedavide sık antibiyotik kullanımı ve bunların yanlış kullanımı sebebiyle mikroorganizmalar bu antibiyotiklere direnç geliştirmiştir. Günümüzde bakterilerin antibakteriyel ajanlara karşı artan dirençlerinden dolayı araştırmaları yeni antibakteriyel ajanların geliştirilmesine yönlendirmektedir [10].

Antibiyotikler ve antibakteriyel ajanlar bakterilere saldıran ve onları ortadan kaldırmayı amaçlayan maddeler olarak tanımlanırken, yıllar içinde bu terimler iki farklı anlama gelecek şekilde literatürde yerini almıştır.

Günümüzde yüzeylerin dezenfeksiyonunda ve zararlı bakterilerin yok edilmesinde antibakteriyel ajanlar kullanılmaktadır. Antibakteriyel maddelerin, bu enfeksiyonlara

yakalanma riskinin en yüksek olduğu hastane yataklarında, bakım evlerinde ve yenidoğan bakım odalarında bulunan fungal ve bakteriyel enfeksiyonları kontrol edebildiğini gösterilmiştir [10]. Antibiyotiklerin tersi , insanlar veya hayvanlar için ilaç olarak kullanılmayan , ancak deterjan, sabun, sağlık ve cilt bakım ürünlerinde desenfektanlar ve antibakterial etkili maddeler bulunur [10]. Son yıllarda birçok antioksidan ve endüstriyel olarak üretilen antibakteriyel maddeler geliştirilmiş ve kullanılmıştır [10].

Bu çalışmanın amacı farklı çözücüler kullanarak ayva meyve ve yapraklarından ekstraktlar hazırlayarak bunların antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller Hakkında (SR)

Bir veya daha fazla paylaşılmamış (ortaklanmamış) elektron içeren iyon, atom veya moleküllere serbest radikaller (veya sadece radikaller) denir [11,12]. Başka bir deyişle serbest radikaller, en dış yörüngede eşleşmemiş bir elektrona sahip moleküller olarak tanımlanır. Başka herhangi bir kimyasal türe bağımlı olmadıkları, bağımsız bir varlığa sahip oldukları için "serbest" olarak tanımlanmaktadır [13,14].

Bu bileşikler, eşleşmemiş elektronları sebebiyle genellikle oldukça kararsız ve reaktiftir. Bu nedenle, en fazla radikal en fazla bir elektron verebilir veya diğer moleküllerden bir elektron alabilir, böylelikle yükseltgen (oksidan) veya indirgen (redütan) olarak davranır. En basit serbest radikal hidrojen atomudur. Bir hidrojen atomu, bir proton ve eşleşmemiş bir elektron içerir, bu da onu serbest radikal yapmaktadır. [4, 12]. Genellikle bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronun varlığını belirtmek için bir radikal nokta (·) yerleştirilerek belirtilir [15]. Yüksek reaktiviteleri nedeniyle radikaller kısa ömürlüdür ve pozitif yüklü (katyonik), negatif yüklü (anyonik) veyahut nötr elektrik yüklü olabilir [16].

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde önemli bir rol oynamaktadır. Serbest radikal reaksiyonlar, bitkiler ve hayvanlar için çok zararlı olan dallı dallanma reaksiyonlarını başlatmak için çok az enerji gerektirir. İnsanlar ve hayvanlarda fizyolojik ve patolojik koşullar altında oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerden olup, reaktif azot türleri (RAT) ve reaktif klor türleri ile organizmadaki başlıca serbest radikalleri oluşturmaktadırlar. Organizmada C ve S'den türetilen radikal ve inorganik moleküller de bulunmaktadır.

Fe^{3+} , Mo^{5+} ve Cu^{2+} gibi geçiş metalleri eşleşmemiş elektronlar içermesine rağmen serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak bu iyonlar reaksiyonları katalize ettikleri için serbest radikallerin oluşumunda önemli rol oynarlar [17, 18]. Serbest radikaller, çevresel faktörler, stres, radyasyon ve dış faktörlerin etkisi altında insanlarda ve hayvanlarda normal metabolik aktivitelerin gerçekleştirilmesi sırasında ortaya çıkar [19].

Canlı organizmalarda bulunan lipidler, DNA, RNA, karbonhidrat ve protein molekülleri ile basitçe etkileşime girebilir. Biyomoleküllerin yapılarına ve dikleri zararlar yaşlanma, kanserler, bağışıklık sistemi hastalıkları ve karaciğer hastalıkları gibi birçok hastalıklara neden olabileceği için tehlikeli olarak değerlendirilmektedir [19, 20].

2.2. Serbest Radikal Oluşum Mekanizması

Farklı fiziksel faktörler ve kimyasal olayların sonucu olarak çevrede ve hücresel koşullarda çok miktarda ve farklı tiplerde radikalik bileşikler üretilmektedir. Serbest radikaller üç farklı yolla oluşturulabilir [21]:

2.2.1. Kovalant bağların hemolitik parçalanması

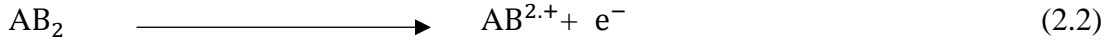
Yüksek güçlü elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık ($500-600^{\circ}C$) kimyasal bağların kopmasına neden olmaktadır. Kovalent bağ yapısındaki her iki elektron da kopma sırasında ayrı atomlar üzerinde kalırsa, yani bağ elektronları eşit olarak paylaşılırsa, bozunma yıkımı meydana gelebilir.



2.2.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi

Radikal olmayan bir molekülden elektronlar kaybolurken, bu molekülün en dış yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron kalırsa, radikal bir form oluşur. Örneğin,

askorbik asit, tokoferol ve glutatyon gibi hücrel antioksidanlar, radikal formları oluşturulurken radikal indirgeyici türlere bir elektron bağışlar.



2.2.3. Tek bir elektronun normal moleküle transferi

Radikal özelliklere sahip olmayan bir moleküle bir elektron aktarılırsa ve onun dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron oluşursa, bu radikal oluşumuna yol açabilir. Örneğin, moleküler oksijenin bir elektronla indirgenmesi, radikal formun, süperoksidin oluşumuna yol açar. Süperoksit radikal oluşumundaki artış ayrıca diğer oksijen radikallerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumları için bir katalizör görevi görür.



Serbest radikal çeşitleri sınıflandırıldığında, oksijen ve oksijensiz olarak ayrılabilirler. Oksijen serbest radikallerle kolayca reaksiyonu girer çünkü iki eşleşmemiş elektron içerir. Bu sebeple biyolojik sistemlerde en etkili ve en önemli serbest radikaller oksijen radikalleridir. Bunların çoğu, elektronun mitokondrideki indirgenmiş karbon birimlerinden farklı elektron taşıyıcıları vasıtasıyla nihai elektron reseptörü moleküler oksijene transferi sırasında aerobik solunum sırasında meydana gelir.

Oksijenin tamamen indirgenmediği reaksiyonlarda nihai ürün her zaman sudur. Oksijenin serbest radikalleri, moleküler indirgenmesinin bir sonucu serbest olarak oluşur. Oksijen merkezli başlıca serbest radikaller; süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), perhidroksilik radikal (HO_2^{\cdot}) [22, 23] ve peroksil lipid radikalidir (LOO^{\cdot}) [24, 25, 26]. Ayrıca, hidrojen peroksit (H_2O_2), tek oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$) ve peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) gibi radikal olmayan, ayrıca, yüksek kimyasal aktiviteye sahip azot/oksijen bileşikleri vardır. Oksijenik olmayan radikaller; Karbon merkezli lipid ve alkoksi radikalleri (L , RO), kükürt merkezli tiyol (RS), hidrojen merkezli hidrojen (H)

ve demir merkezli ve demir merkezli ferrionik (Fe^+ , Fe^{+2} , O_2) radikalidir [27]. Serbest radikaller vücutta birçok olumsuz etkiye neden olur.

Özellikle lipidler, protein, nükleik asit, karbonhidratlar ve enzimler gibi hücrelerin tüm önemli bileşiklerini etkilerler [28]. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) tek eşleşmemiş elektrona sahip olduğundan, bu nedenle çok etkili değildir ve güçlü bir oksitleyici değildir.

Süperoksit radikalleri, aerobik hücrelerde sıklıkla meydana gelir, ancak çoğunlukla enzimatik sistemler tarafından zararsız hale getirilirler. Serbest radikaller arasında önemli bir yer tutan hidroksil molekülü ($\cdot OH$), en reaktif moleküldür ve diğer kimyasal türlerle sıklıkla reaksiyona girer. Ayrıca bu radikal, hücrelerde bulunan tüm organik yapılara saldırma yeteneğine sahiptir.

Hidroksil radikali ayrıca iyonlaştırıcı radyasyonla da oluşturulabilir ve muhtemelen X-ışınları ve γ -ışınlarıyla hücre ölümünün en etkili türlerinden biridir. Bu radikal, süperoksit radikalleri ile peroksit radikalleri arasındaki reaksiyonla kimyasal olarak da üretilebilir. Bu nedenle, hidroksil radikalının biyokimyasal oluşumu, süperoksit ve oksidin aynı anda üretildiği canlı sistemlerde de mümkündür.

2.3. Serbest Radikal Kaynakları

Oksijen açısından zengin bir çevrede yaşam, oksidatif fosforilasyon yoluyla adenozintrifosfat (ATP) üretimine birçok fayda sağlasa da bazı riskleri birlikte getirir. Serbest radikal kaynakları hücre içi sıvılar, biyolojik sıvılar veyahut zararlı toksit bileşenler olabilir. Kaynaklar endojen (iç kökenli) ve eksojen (dış kökenli) olarak iki sınıfta incelenirler (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları [15].

İç kökenli (Endojen) kaynaklar	Dış kökenli (Eksojen) kaynaklar
Oksidan enzimler	İyonize radyasyon
Oksidatif stres	İşı şoku
Proteniler	X- ışını
Plazma membranı	Sigara dumanı
Peroksizomlar	Ozon
Egzersiz	Metal iyonlar
Fagositik hücreler	Egsoz gazlar
Transizyon(geçiş) metalleri	Kirleticiler
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Çözücüler
Mikrozomal elektron transport zinciri	Anestezikler
Kloroplast elektron trnsport zinciri	İlaçlar
Araşidonik ait döngüsünün aktivasyonu	Güneş ışığı (UV)
Endojenik bileşiklerin otookidasyon reaksiyonşarı	Glutasyonu okside eden maddeler Asetaminofen – kokain

2.4. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi

Serbest radikalleri ortadan kaldıran veya etkilerini azaltan ya da sebep oldukları hastalıkları azaltan veya önleyen moleküllere antioksidanlar denir [29]. Antioksidanlar; dokularda ve vücut sıvılarında uygun miktarda bulunmalı, serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırmalı, redoks metalleri ile şelat oluşturmalı, kolay absorbe olmalı hem sıvı ortamda hem de membranlarda kolaylıkla işlenmelidir [30].

Canlı organizmaların yaşam kaynaklarından biri olan oksijen, organizmaya alınan gıdaları yakmak için kullanılır. Canlıların çoğu genellikle aerobik solunumla ve diğer yollarla alınan oksijen molkülünün oksidatif etkisine maruz kalırlar ve bu da yaşlanmanın temel sebeplerindendir. Oksijenli solunum esnasında oksijenin tamamen indirgenir ve bu esnada bir su molekülü oluşurken, eksik indirgeme ürünlerinden serbest oksijen radikalleri (hidrojen, süperoksit, peroksit, hidroksil radikalleri) oluşur.

Serbest radikaller genellikle çok reaktif olup toksik olduğundan, organizmalar onları etkisini azaltmak veya ortadan kaldırmak için savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Dokular ve hücreler radikal ürünleri ve reaksiyonları engelleyen bir sisteme sahiptirler. Bu sistem canlı organizmalarda meydana gelen oksidasyonu başlatan ve onun

ilerlemesine neden olan serbest radikallerin oluşumunu engeller. Başka bir deyişle hücrelerde oksidatif stresi azaltan veya ortadan kaldıran bileşikler antioksidanlar olarak bilinir [31, 32, 33]. Antioksidanlar, peroksit zincir reaksiyonunu inhibe ederek veya reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak lipid oksidasyonunu önler. Ayrıca antioksidanlar, hücreyi ilaçların, kanserojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerinden onu hem doğrudan hem de dolaylı olarak koruyan bir bileşenlerdir. Antioksidanların oluşturduğu kontrol mekanizmasının temel amacı, komşu sağlıklı hücreleri korurken aynı zamanda aşırı serbest radikal üretimini engellemektir.

Antioksidanlar serbest radikalleri dört çeşitli mekanizma ile etkisiz hale getirir.

- 1 Temizleme (Scavenging) etkisi: Oksitleyici maddelerin zayıf bir moleküle dönüştürülmesiyle oluşur.
- 2 Baskılama (Quencher) etkisi. Hidrojen transferi ile oksidanların nötralize edilmesi işlemidir. Genellikle flavonoid bileşikler tarafından yapılır.
- 3 Onarma etkisi: Oksitleyici maddelerin neden olduğu hasarı yok etme şeklinde hareket ederler.
- 4 Zincir koparma etkisi: Hemoglobinin ve E vitamininin bu etkisi oksidanları bağlar ve fonksiyonlarını engeller [34].

Bazı antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilirken ve bazı gıda yoluyla alınabilir. Meyve ve sebzelerde bulunan ve metabolizmayı serbest radikallerden korumayı başaran antioksidanlar vitaminler (A, C ve E vitaminleri), karotenoidler, flavonoidler ve polifenollerdir. Sebze ve meyve tüketimi ile birlikte bazı hastalıkların oluşumu düşürdüğü bilinmektedir. Onların bu etkilerinin, içerdikleri güçlü antioksidan bileşiklerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir [35].

2.4.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar iki sınıfa ayrılabilir: Doğal ve sentetik antioksidanlar. Doğal antioksidanlar, eksojen ve endojen antioksidanlar olarak iki gruba ayrılmaktadır. Eksojen antioksidanlar ilaçlar, vitaminler ve gıda antioksidanlarıdır. Vitaminler olan

eksojen antioksidanlar; askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), β - karoten ve folik asit (folat)'tir.

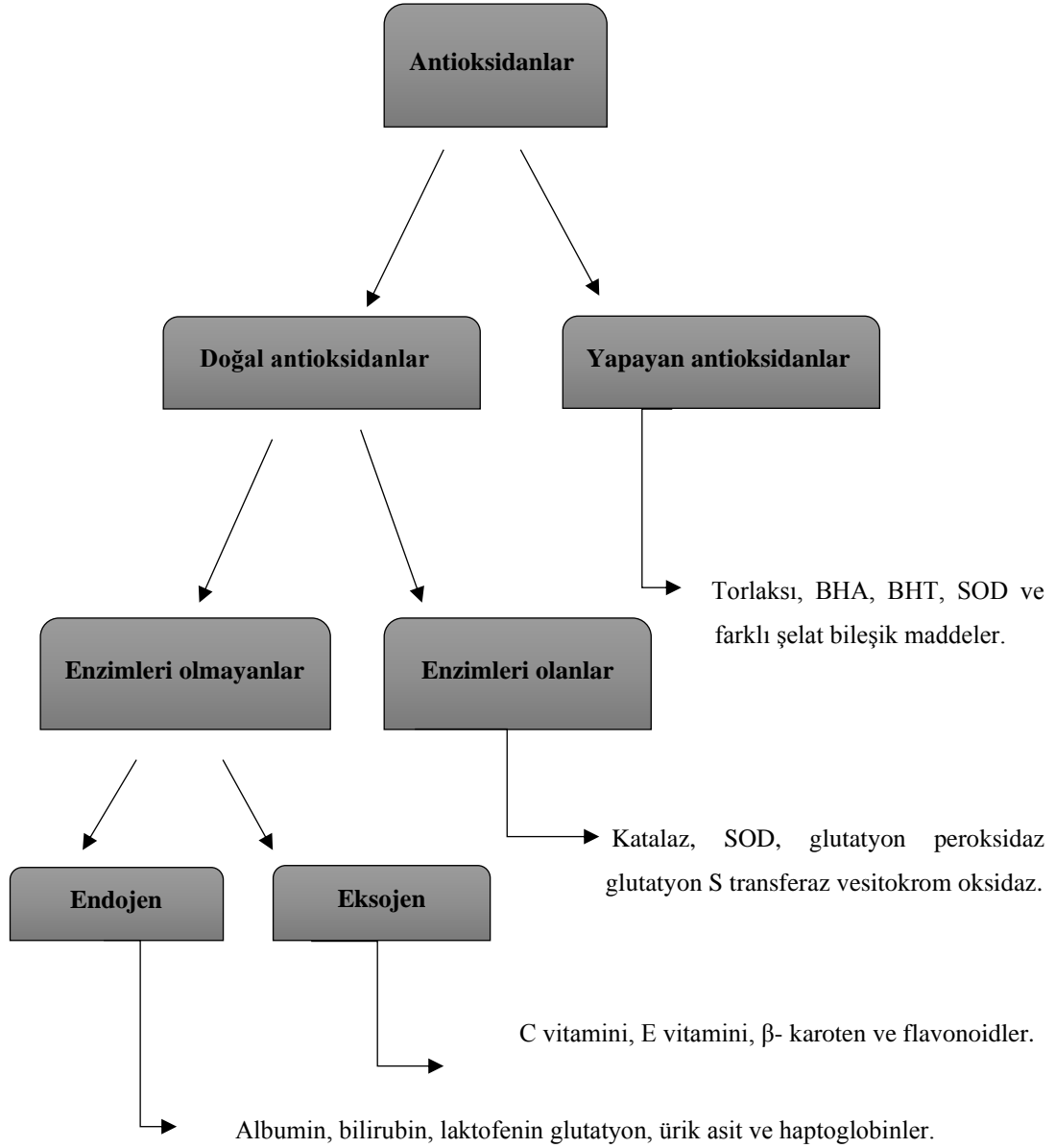
Endojen antioksidanlar ise enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve hidroperoksidaz antioksidan enzimler olarak tanımlanmaktadır. Melatonin, seruloplazmin, transferrin ve miyoglobin enzimatik olmayan antioksidanlara örnek verilebilir.

Onlar, ayrıca buldukları yere ve aktivitelerini nerede gerçekleştirdiklerine bağlı olarak intraselüler (hücre içi) antioksidanlar ve membran ve ekstraselüle (hücre dışı) antioksidanlar olarak ise 3 sınıfa ayrılabilir. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar, tükettiğimiz birçok ürünün içinde yer almaktadır. En yaygın olanları bütilhidroksitoluen (BHT) ve bütilenmiş hidroksianisoldür (BHA) (Tablo 2.2.).

Bu sentetik antioksidanlar, gıda bileşenlerinin oksidasyonunu ve gıda bozulmasını önleyerek raf ömrünü uzatabilir. Bu bağlamda gıda maddelerinde katkı maddesi olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır [36, 37]. Ancak son yıllarda sentetik antioksidanların toksik etkilere neden olabileceği düşüncesinin yaygınlaşmasıyla birlikte doğal ürünlere olan ilgi artmıştır [38, 39, 40].

Araştırmalar, çoğu bitki türünün sentetik antioksidanlarla benzer olan ve yüksek antioksidan kapasite gösterdiğini ve bu bitkilerin gıda endüstrisinde yapayı antioksidanlara alternatif olarak uygulanabileceğini göstermektedir [36].

Tablo 2.2. Antioksidan sınıflandırılması.



2.5. Bazı Antioksidan Maddeler

2.5.1. Doğal antioksidan

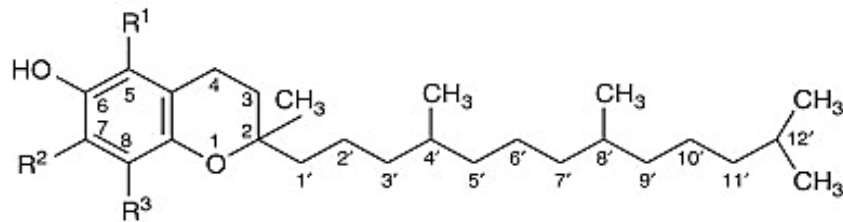
2.5.1.1. A vitamini (Beta-karoten)

Beta-karoten, her ikisi de güçlü antioksidanlar olan A vitamininin öncüsüdür. Bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal renk pigmentleridir. Bitkileri foto-oksidasyon süreçlerinden korur, A vitamini cilt ve mukoza zarlarının gelişimi ve oluşumu açısından önemlidir ve bağışıklığı güçlendirir. Beta-karoten ve A vitamini kanserojenleri yok eder, vücudu kalp hastalıkları ve felçlerden korur ve kolesterolü düşürür. Özellikle koyu yapraklı sebzeler, havuç, ıspanak ve domates yapılarında fazla miktarda karoten içerir.

2.5.1.2. E vitamini (Alfa tokoferol)

E vitamini, yağda çözünen, bitkiler tarafından sentezlenen, tokoferol ve tokotrienol formlarında bulunan bir antioksidan vitamindir. Klorofil içeren bitkilerdeki tüm dokular, özellikle kloroplastlar, tokoferol içermektedir. Tokoferoller ya da E vitaminin kimyasal yapısında fenolik hidroksil grubu bulunur ve bu hidroksilli aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını meydana getirir. Alifatik yan halka polar değildir, bu da molekülü suda çözünmez hale getirir.

E vitamini alfa, beta, gama ve delta-tokoferol içerir ve en yüksek E vitamini aktivitesine sahip olan alfa-tokoferol daha yüksek oranlarda bulunurken diğer tokoferoller ve tokotrienoller bitkilerde yaygın olarak bulunur (Tablo 2.3.). Tüm tokoferoller ve tokotrienoller, esterleşmedikçe antioksidan aktiviteye sahiptirler (Şekil 2.1) [41, 42].



Şekil 2.1. α -> β -> γ -> δ -Tokofero formülü

Tablo 2.3. α - β - γ - δ Tokoferolün alternatifler

	R1	R2	R3
α	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β	CH ₃	H	CH ₃
γ	H	CH ₃	CH ₃
δ	H	H	CH ₃

Alfa-tokoferol önemli bir antioksidandır ve mısır, darı ve pilav gibi tahıl ürünlerde bol miktarda vardır. Ayrıca ayçiçeği, mısır ve pamuk tohumu yağları ile ceviz, badem, yer fıstığı gibi kuruyemişler ve yeşil sebzelerde bulunur. E vitamini ısıya dayanıklı olmasından dolayı pişirme gibi koşullarda bozulmaz. E vitamini dışında, çeşitli maddelerde mevcut olan tokoferoller çoğu zaman bozunabilir. Tahılların kızartılması ve öğütülmesi sırasında E vitamini bozulacağından, E vitamini içeren besinler yağda kızartılmadan yenilmeli, tam buğday gibi tahıl ürünleri olarak tüketilmelidir [43].

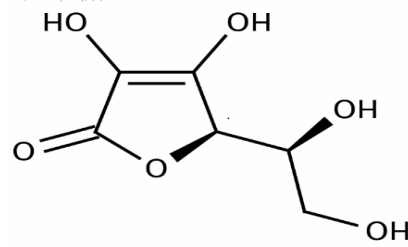
Hayvan ve insan dokularında en az etkili olanı beta-tokoferoldür [44]. Çünkü bu molekül, α -tokoferolü seçici olarak lipoproteine aktaran spesifik bir taşıyıcı protein içerir. Serbest radikaller sadece vücudun kendi endojen antioksidanlarını tüketmekle kalmaz, aynı zamanda proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi doğal biyomoleküllere de zarar verir ve alfa-tokoferol gibi antioksidanlar serbest radikalleri ve peroksil yağ radikallerini temizleyerek bu hasarı düzenler [45].

E vitamini antioksidan özelliğinden dolayı kolayca oksitlenebilen ve bu sayede çeşitli bileşiklerin oksidasyonunu engelleyen bir elementtir. E vitamininin temel işlevi, hücre içi zarın bütünlüğünü korumak ve hücre zarlarındaki fosfolipitlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu engellemektir.

2.5.1.3. C vitamini (Askorbik Asit)

Askorbik asit, vücutta sentezlenemeyen ve suda çözünen bir vitamindir. Nispeten kararlı bir form olan serbest radikal formuna, dehidroaskorbik aside kolayca

oksidlenebilir. Daha sonraki oksidasyon basamaklarında biyolojik işlevi olmayan diketogolik aside dönüşür (Şekil 2.2.) [42, 44, 46].



Şekil 2.2. Askorbik asit (c vitamini) formülü

Askorbik asit bilinen güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir vitamindir. Askorbik asitin antioksidan aktivitesi, elektronlarından kolay vazgeçmesinden kaynaklanmaktadır. Birçok reaktif oksitleyici tür için indirgeyici madde olarak işlev görür. Tokoferol radikallerinin hücre zarlarında aktif formlarına dönüşünü azaltır. Ancak serbest demir iyonları, oksidatif ayrışmayı katalize eden tehlikeli Fe^{2+} iyonları oluşturabilir.

C vitamini eksikliği hayvanlarda ateroskerozu alevlendirmektedir [42, 44]. α -tokoferol (E vitamini), askorbik asit, ve troloksun (E vitamininin suda çözünen bir analogu) serbest radikaller tarafından kısmi oksidasyonuyla oluşan tokoferil ve troloks radikallerini yeniden troloks ve alfa-tokoferole dönüştürebilir. Böylece membranda oluşabilecek serbest radikallerin hasara neden olabilecekleri lipid fazından nispeten daha inert sulu faza transfer edilirler [47].

En iyi C vitamini kaynakları taze meyve ve sebzelerdir. Ayrıca narenciye, kuşburnu, çilek, kivi, yeşil biber, kızcık, kırmızı pul biber, yeşil lifli sebzeler, patates ve turpgiller iyi askorbik asit kaynakları arasındadırlar. Maydanoz, C vitamini açısından çok zengin olmasına rağmen az miktarda tüketilmesi nedeniyle günlük diyeteye çok az katkıda bulunur. Yağlı tohum, tahıl ve baklagillerin ise C vitamini içeriği çok düşüktür [41, 42, 48].

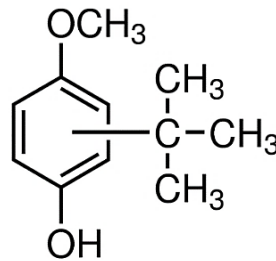
2.5.2. Sentetik antioksidan

İşlenmiş gıdalarda radikallerin oluşması, antioksidanların besinlerin korunmasında kullanımını önemli hale getirmiştir. Gıdaların tat, renk ve vitamin değerlerini korumak için antioksidanların eklenmesi gereklidir. Bunun için bütillenmiş hidroksitoluen , bütül hidroksianisol ve tersiyer bütül hidroksikinon gıdalara eklenen sentetik antioksidanlara örnek olarak verilebilir.

2.5.2.1. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

BHA, (2- tersiyer-bütül-4-hidroksianisol ve 3- tersiyer-bütül-4-hidroksianisol karışımı; $C_{11}H_{16}O_2$), beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip sentetik bir antioksidandır. Hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünen fakat suda çözünmeyen bir sentetik antioksidandır. Bu antioksidana ilk olarak 1948 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdalarda izin verilmiş ve bugün birçok alanda gıda tüketiminde kullanılan sıvı ve katı yağlarda kullanılırlar.

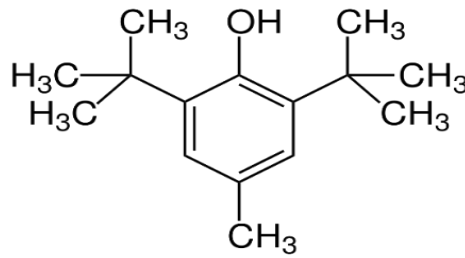
BHA, yapısındaki hidroksil grubu karşısında orto veya meta konumunda bulunan üçüncül bütül grubu nedeniyle "fenol inhibitörü" olarak adlandırılır. Bu sterik engelin, üçüncül bütül grubunun fenolik yapısının antioksidan aktivitesine müdahale ettiği ve bu sebeple BHA'nın bitkisel yağlardaki etkisinin düşük olduğu öne sürülmüştür (Şekil 2.3.) [49].



Şekil 2.3. BHA molekülünün kimyasal formülü

2.5.2.2. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

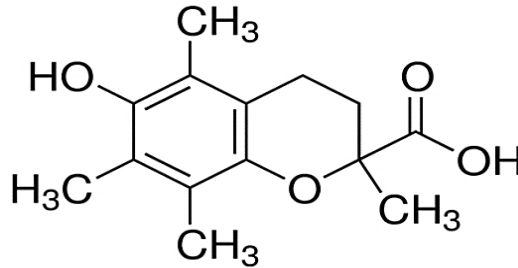
Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ise diğer sentetik antioksidan bileşiktir. 2,6-ditersiye butil-4-metil fenol ($C_{15}H_{24}O$) olan BHT yağlarda iyi çözünen fakat suda çözünmeyen, beyaz renkli ve kristal bir yapıya sahiptir. BHT, ilk olarak soya fasulyesi yağının oto-oksidasyonundaki bozunma ürünleri tanımlanarak tanımlanmıştır. BHT, yağların ve yağ asitlerinin oksidasyonunda oksitleyici lipidlerle etkileşimi sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder (Şekil 2.4.) [50].



Şekil 2.4. BHT molekülünün kimyasal formülü

2.5.2.3. Troloks

Troloks [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit; $C_{14}H_{18}O_4$], E vitamininin suda çözünür eşdeğeridir [51]. Trolox canlı sistemlerde doğal bir bileşik olmasa da antioksidan aktiviteyi belirlemek için birçok yönden standart olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.5.).

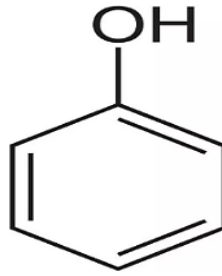


Şekil 2.5. Troloks molekülünün kimyasal formülü

2.6. Fenolik Bileşikler

2.6.1. Fenolik bileşikler hakkında genel bilgi

Fenolik bileşikler, aromatik halka ve aynı zamanda buna bağlı fonksiyonel türevlerini kapsayan bir veya daha fazla hidroksil grubu içinde barındıran maddeler olarak tanımlanır. Gıda maddesi olarak kullanılan fenolik bileşikler insan sağlığı bakımından işlevleri, koku, tat ve renk kompozisyonuna etkisi, renk değişimine katkısı, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri, enzimleri inhibe etmeleri ve çeşitli gıdalarda saflık kontrolünde standart olması gibi birçok açıdan önemlidir. Fenol halkasındaki hidroksil gruplarının sayısı arttıkça antioksidan etki artar ve aynı bileşikte orto, metave yarı sıralılarda bu etki artar (Şekil 2.6.) [46, 52, 53, 54].



Şekil 2.6. Fenol Kimyasal Formülü

Fenoller en aktif doğal antioksidandır ve antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlayarak, metalleri şelatlayarak ve oksijenaz enzimini inaktive ederek sağlar [44, 54]. Polifenollerin antioksidan olarak tanımlanabilmeleri için iki önemli özelliği taşımaları gerekir. Bunlardan birincisi, çok düşük derişimlerde oksidasyonu geciktirme, yavaşlatma veya engelleme yapabilmelilerdir. İkincisi ise serbest radikallere dönüştürüldüğünde kararlı bir yapıda kalabilmeleridir [42, 55].

Birçok bitki kaynaklı besin, güçlü antioksidanlardan biri olan ve vücudun oksidasyona karşı durabilmesine katkıda bulunan fenolik fitokimyasalları içerir. Bu bileşikler gıdaları bozulmaya karşı korur ve tüketim sonucunda vücudumuza antioksidan ihtiyacını karşılarlar. Bitkisel gıdalarda mevcut olan fenolik maddeler; Flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilben gibi alt sınıflara ayrılırlar.

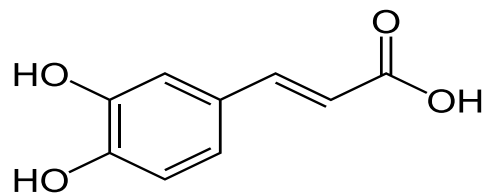
Bunlar arasında asitler, fenolik asitler ve antioksidan olarak flavonoidler bulunur. Antioksidan özelliklerinden dolayı flavonoidler, beslenmede yer alan en önemli anti kanserojenlerden biridir [42, 46, 55, 56]. Polifenoller, bir veya daha fazla benzen halkasına bağlanan birden fazla hidroksil grubundan oluşur. Fenol terimi, çeşitli bileşikleri içerir ve bunların gruplandırılması çok çeşitlidir [43]. Simmonds ve Harborne 1964 yılında molekülün yapısındaki karbon sayılarına dayanan bir sınıflandırma tanımlamıştır (Tablo 2.4.).

Tablo 2.2. Fenolik bileşiklerin karbon numaralarına göre sınıflandırılması

Yapısı	Sınıfı
C6	Basit fenolikler
C6-C1	Fenolik asit ve bileşikleri
C6-C2	Fenilasetik asitler ve Asetofenonlar
C6-C3	Sinamil alkoller, sinamik asitler ve sinamil aldehitler
C6-C3	Kumarinler, izokumarinler, chromene
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzofenonlar, xanthone, stilbene
C6, C10, C14	Binone
C15	Flavanonol
C15	Antosiyanidinler
C15	Aurone, dihidrochalkone, chalkone
C15	Flavanone
C15	Flavan
C30	Biflavon
C18	Beta siyaninler

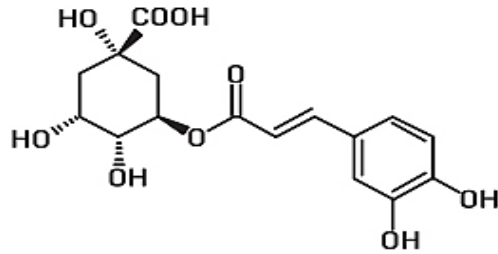
2.6.2. Sinamik asitler

Bilinen 6 sinamik asit mevcuttur, ancak bunlardan üç tanesi tüm bitkilerden bulunur ve bu en düşük miktardır. Bu asitler; (5- hidroksiferulik asit, Sinamik asit, Sinapik asit, P- kumarik asit, Ferulik asit, Kafeik asit) (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Kafeik asit formülü.

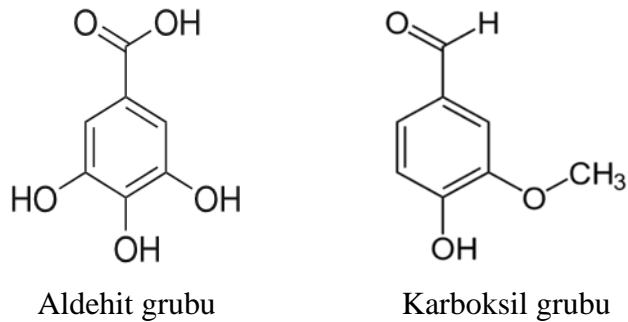
Shikimic asit, quinic asit ve tartarik asit bitkilerde özellikle bulunan asitlerdir. Quinic asit ve kafeik asit esterinden klorojenik asit oluşturandır (Şekil 2.8.) [43].



Şekil 2.8. Klorojenik asit formülü.

2.6.3. Aldehit ve karboksillere

Hidroksibenzoik asitler, fenol ve ikamelerine bağlı karboksil gruplarıdır (Şekil 2.9.) [43].

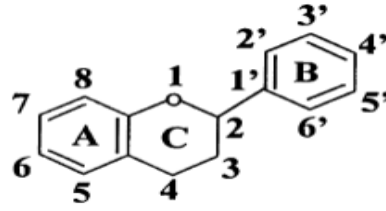


Şekil 2.9. Gallik asit ve vanilin formülü

2.6.4. Flavonoidler

Flavonoidler, düşük moleküler ağırlıklı bitki fenollerinin en büyük sınıfını oluşturmaktadır. Heterosiklik halkanın oksidasyon derecesine göre 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler farklılık gösterir. Aromatik halkalar A ve B olarak adlandırılır ve heterosiklik halka C olarak adlandırılır. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlangıç yaparak numaralandırılır ve B halkasındaki karbon atomları üs numaralarıyla (') numaralandırılır. (Şekil 2.10.). Doğada, çoğu yapraklarda, çiçeklerde ve köklerde bulunan 4.000'den fazla flavonoid türü vardır.

Antioksidan aktivitesini belirleyen aromatik halkalar birçok fenolik hidroksil grubu içerir. Metal bağlama özelliklerine sahiptir, lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve reaktif oksijen çeşitlerini içeren süreçleri azaltır. Gıdalarda yaygın olarak 3 orto-glikozit ve polimerik yapıdadır. Glikozit birimleri genellikle glikozdur, ancak glukoraminoz, galaktoz, arabinoz ve ramnoz da bulunabilir. Bu bileşikler yapılarına bağlı grupların tipine, pozisyonuna ve sayısına bağlı olarak farklı süpürücü ve radikal şelasyon aktivitelerine sahiptir. [57]



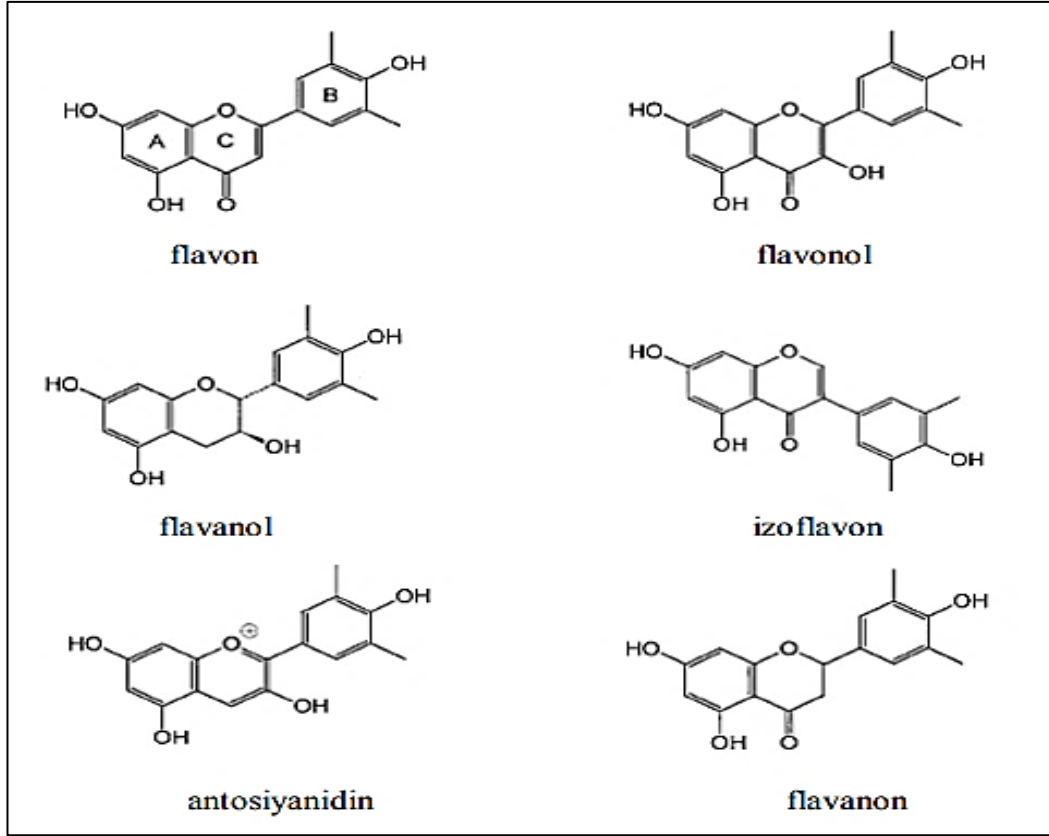
Şekil 2.10. Flavonoidlerin genel kimyasal formülü.

Flavonoidler, benzo-beta-furan türevleridir ve fenol ve furan halkalarından oluşur [57]. Bunlar A, B ve C halkalarından oluşup halkalarında farklı glikoziti hidroksil ve metoksi grupları içerir. Onların bu farklı kombinasyonu farklı kategorilerde sınıflandırılmasına yol açmıştır [58]. Bu sınıflarlar antosiyaninler ve antoksantinlerdir. Antoksantinler beş çeşitli sınıfa ayrılır (Şekil 2.11.).

1. Antoksantinler

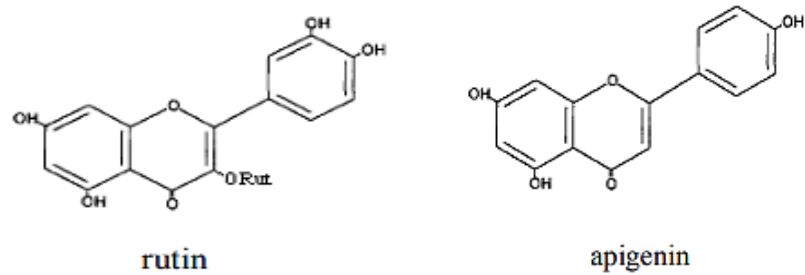
- İzoflavonlar
- Flavonoller
- Flavanoller
- Flavonlar
- Flavanonlar

2. Antosiyanidinler ve antosiyanin



Şekil 2.11. Flavonoidlerin grubunu esas kimyasal formüller.

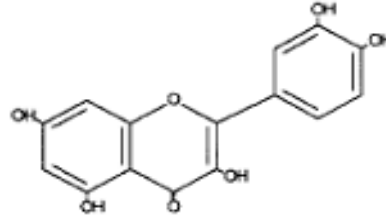
Flavonoidlerin ana bileşeni 2-fenil kromon yapısındaki flavon'dur. Başlıca flavonlar; apigenin, rutin, krisin ve luteolin'dir. Apigenin; kereviz ve maydonoz sapında, kirsin; meyve kabuğunda, luteolin ise acı biberlerde mevcuttur. Rutin ise kırmızı şarap ve domateste bulunmaktadır (Şekil 2.12.).



Şekil 2.12. Rutin, apigenin'in kimyasal formülü

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun üçüncü karbon atomuna bağlı olarak bir hidroksil taşır. Bitkilerde bulunan en geniş kapsamlı flavonoid sınıfıdır. Başlıca fisetin

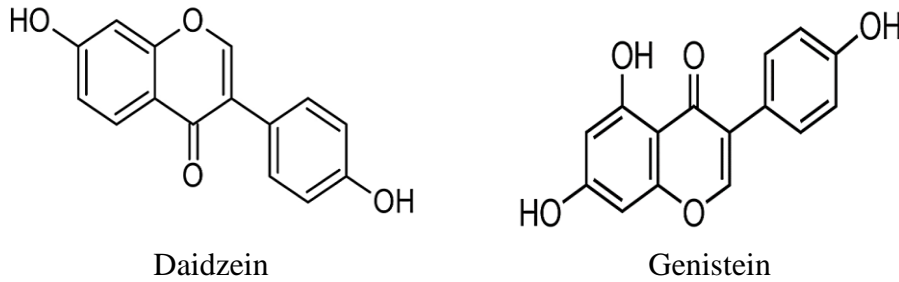
mirisetin, flavonoller kuersetin ve kaemferoldur. Bitkilerin ana fenolik bileşeni kuersetin olup flavonoidlerin en önemli bileşiklerinden biridir. Elma, soğan ve lahanada fazla oranda bulunur (Şekil 2.13.) [59].



kuersetin

Şekil 2.13. Kuersetin bileşikler formülü.

Aromatik B halkasının, C halkasında üçüncü karbon atomun ile bağlanması sonucunda flavonların izomerleri oluşturulur. Glikozidler, genistein ve daidzein izoflavonlardandır ve soya fasulyesi ve soya yemişlerinde bulunur (Şekil 2.14.) [60].

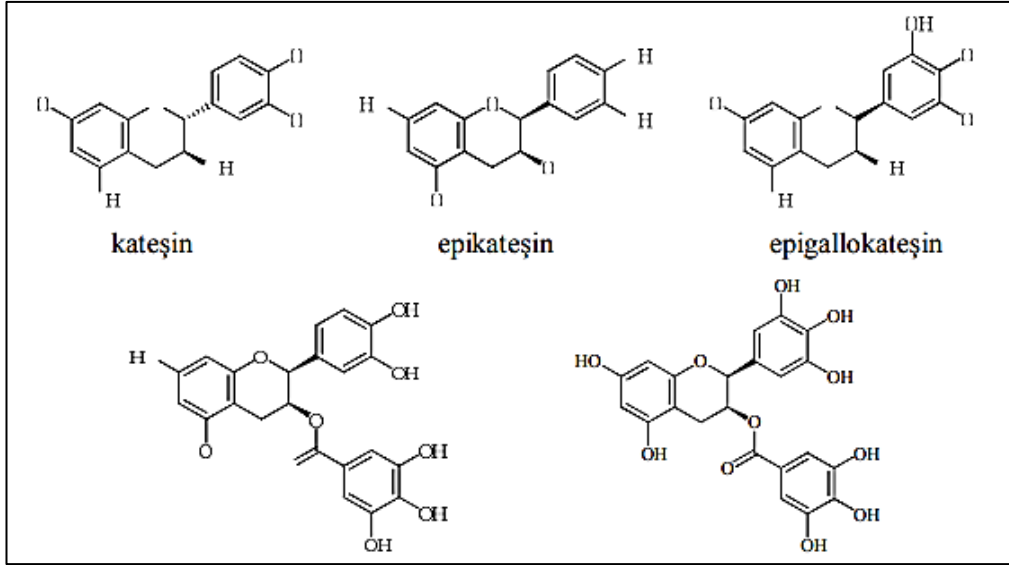


Daidzein

Genistein

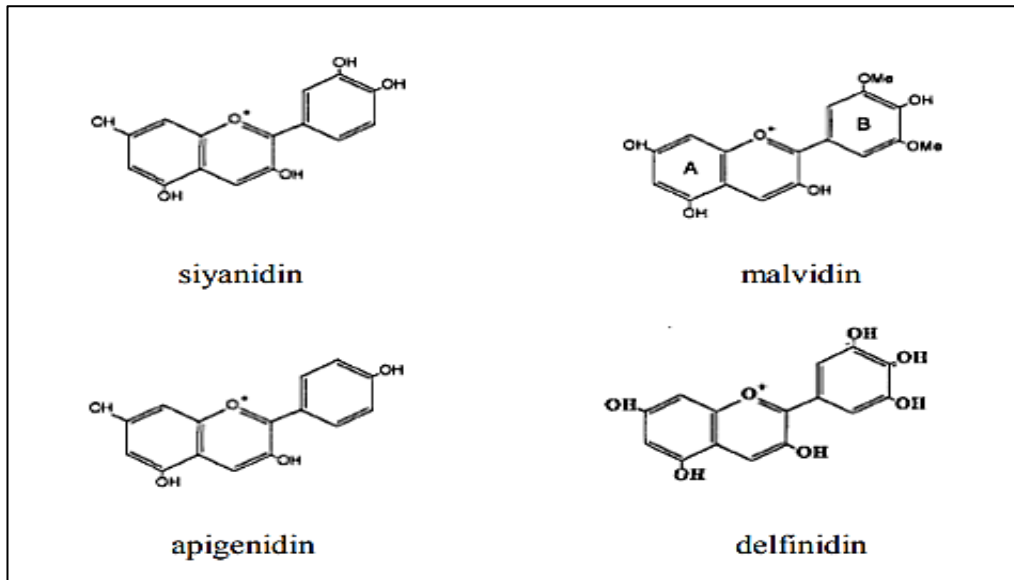
Şekil 2.14. Daidzein ve enistein formülü.

Bir flavonolün C halkasındaki çift bağlı oksijen atomunun yerini -CH₂ grubu aldığıında flavanoller meydana gelen flavonların indirgenmiş türevleridir. Başlıca kateşin ve epikateşin dir. Bu bileşikler siyah çay, yeşil çay, beyaz ve kırmızı şarap elma ve şeftalide bol miktarda bulunurlar (Şekil 2.15.) [59,61,62].



Şekil 2.1. Flavanol bileşikleri galledin formülleri.

Antosiyaninler, hidroksil grubunun flavanollerin aromatik B halkasına bağlanması ile oluşturulur. Bunlardan mühimleri; siyanidin, delphinidin, apigenidin ve malvidin'dir. Renkli meyvelerde daha fazla miktarda bulunur, husus ile mor ve kırmızı meyvelerdir (Şekil 2.16.) [61].



Şekil 2.2. Delphinidin, apigenidin, malvidin, siyanidin bileşikleri formülleri

Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi siklik nükleer yapıdaki fonksiyonel grubun konumuna bağlıdır. Flavonoidlerin yapılarındaki ikamelerin konumu nedeniyle

antioksidan aktiviteleri tek başına flavaoidlerinkinden daha büyük olabilir. Çok sayıda polifenolik antioksidan birbiriyle kıyaslandığında hem hidroksil grupları hem de konfigürasyonun antioksidan aktivitesini daha fazla etkiye fark edilmiştir [63,64].

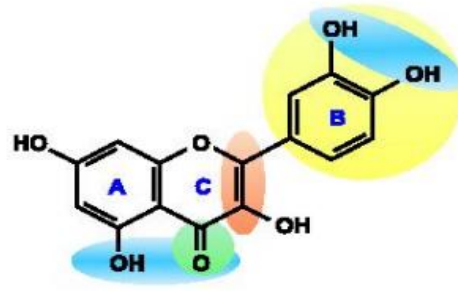
Flavonoidlerin yapılarına göre antioksidan kapasitelerindeki farklılaşmada antioksidan değerlerini saptamada önemli birkaç belirteç mevcuttur:

- B halkasındaki o-dihidroksi grubu (bu yapı radikal formun karaklılığını sağlar ve elektron delokalizasyonunun yer alır).
- 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çifte bağ (Halkadaki 4. karbondaki keto grubunu oluşturur ve elektronun B halkasından radikale delokalizasyonunu artırır).
- A ve C halkalarındaki 3. ve 5. konumda hidroksil grupları (maksimum radikal-uzaklaştırma kapasitesi için gereklidir).

Flavonoidlerin antioksidan tesir etkileri hidroksilasyon derecesine göre artar ve madde ile ilişkili şeker türüne göre düşer [65]. B halkasındaki hidroksil oluşumu; reaktif azot (RNS) ve reaktif oksijen (ROS) tiplerinin temizlenmesinin başlıca bileşenidir. B halkasında bulunan hidroksiller; hidrojen elektron ile bağışlayarak hidroksil, peroksil ve peroksinitrit radikallerini kararlı hale getirir [63]. B halkasındaki 3',4'-kateşol yapısı lipid peroksidasyonunu ciddiye düşürür [66]. Bu site çoğunluk antioksidanın dikkat çekici özelliğidir. Misal olarak, luteolin aemferolden bir daha kuvvetli antioksidan kapasiteye bulunur. Her ikisinde aynı hidroksil sayısına rağmen kaemferol B halkasındaki katekol içermez (Şekil 2.11., 2.12.).

Kateşinin radikal giderim kapasitesi çoğunlukla kateşolün yapısından kaynaklanmaktadır (Şekil 2.15.). Flavonlarda pirogallol veya kateşol sistemlerinin bulunmamasından dolayı istikrarsız radikaller ve güçsüz temizleyicilerdir [67,68]. Serbest radikalleri flavonoidler ile temizleme kabiliyeti büyük ölçüde 3-OH takımının bulunmasına etkilendir. 3-OH ve 3',4'-kateşol içerenler serbest radikallere göre fazla aktiftirler. Örnek olarak, siyanidin, kateşinin ve kuersetinin antioksidan yetenekleri bu hususiyetleri nedeniyle yüksektir [57].

Şekil 2.17.'de, yüksek antioksidan kapasitesi kuersetinin yapısındaki sarı renkte gösterilmiş orto-dihidroksile kateşol B halkasından gelmektedir. Başka önemli özellikleri ise; C heterosiklik halkasındaki (kırmızı renkte gösterilmiş) doymamış yapı ve aynı halkadaki yeşil renkli 4-okso fonksiyonel grubun bulunmasıdır. Kateşol ve başka fonksiyonel gruplar (mavi renkte gösterilmiş) bakır ve demir gibi geçiş metalleriyle şelatlaşma kapasitesini sağlar [69].



Şekil 2.3. Kimyasal formülü, flavonoidlerin klasik antioksidan aktivitelerini belirlemede mühim özellikleri gösterir.

2.7. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri

Meyve sebze tüketiminin artması ile kanser ve kalp damar hastalıkları gibi pek çok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Bu rolün meyve ve sebzelerde bolca bulunan antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler, E vitamini, karotenoidler ve askorbik asitlerin varlığının olduğuna inanılmaktadır [70]. Yüksek oranda meyve içeren bir diyetin nükleik asittaki (DNA) oksidatif hasarı düşürdüğü ve dolayısıyla oksidatif stresi önleyerek kanseri önlemede önemli bir yer tuttuğu bildirilmektedir [71].

Ayva (*Cydonia oblonga*) insanlık tarafından bilinen en eski meyvelerden biridir ve antik Yunanlılar ve Romalılar zamanından beri yetiştirilmektedir. Ayva adını Cydonia'dan Girit'teki Cydon şehrinden alır ve bugünkü adı Canea'dır [72]. Antioksidan, antibakteriyal ve ülser önleyici özelliklere sahip olan biyoaktif bileşikleri içeren ayvanın, ucuz ve mühim bir sağlık destekleyici besin kökenli olduğuna inanılmaktadır [70].

Dünya ayva üretiminde 101000 tonla Çin birinci, 95395 tonla Türkiye ikinci 55000 tonla Özbekistan üçüncü sırada yer almaktadır. Bu memleketleri İran ve Arjantin izlemektedir. Türkiye'nin, küresel ayva üretiminde %19,86'lık bir paya sahip olduğu [73] ve aynı zamanda geçen 20 yılda ayva üretiminde %87,5'lik bir yükselme olduğu bildirilmektedir [72].

Diğer kaynaklara göre ise Türkiye'nin küresel meyve üretimindeki payının 1961-1965 yıllarında %11,36 olduğu, 2001-2004 yılları içinde ise bu oranın %27,37'ye vardığı belirtilmiştir [74]. Ayva meyvesi çok asidik, kirli ve taze tüketilmesi zor olduğundan genellikle jöle veya reçel yapılarak tüketilmektedir [75]. Son yıllarda meyve suyu yapımında kullanılan ayva, meyve suyu ve nektar olarak işlenmektedir. Ayva ve ayva reçelinde antioksidan aktivite ve fenolik içeriğin belirlenmesine yönelik çalışmalar mevcuttur [76, 77].

Ayvadaki başlıca fenolik bileşikler posa fraksiyonunda rutin, 3-O-kafeoilquinik asit, 4-O-kafeoilquinik asit, 5-O-kafeoilquinik asit, 3,5-dikafeoilquinik asit, kuersetin 3-galaktoziddir, hamurda bulunan fenolik bileşiklerin kamferol-3-rutinozit ve kamferol-3-glukozit olduğu bildirilirken [78], hamur kısmında ise toplam fenolik maddeler 11,7-268,3 mg/kg ve 243,5 mg/kg ve öz kısımda 1738,6 mg/kg olduğu belirlenmiştir [79].

2.7.1. Ayva (*Cydonia oblonga*) ve bileşimi

Ülkemizin hemen her bölgesinde yetiştirilebilen ayva, sofralık değeri diğer meyve türlerine göre fazla olmadığı için bu gün kadar fazla yetiştirilmemiştir. Genellikle bordür ağaçları veyahut başka bir meyve türleri ile çeşit bahçelerde yapılan ayva yetiştiriciliği, büyük ölçüde kapalı bahçelere dönüşmüştür. Bu bahçelerin güzel örneklerine özellikle Kocaeli, Sakarya, Bilecik ilçe ve ilçelerinde rastlandığı bildirilmektedir [80].

- Latince Adı: *Cydonia oblonga*
- Familyası: Rosaceae (gülgiller)

- Kullanılan Kısımları: Meyve, tohum, olgunlaşan çiçek ve yapraklarıdır (Şekil 2.18.).



Şekil 2.4. Ayva (Cydonia Oblonga) ve ayva yaprak formülü

Ayva kültürü yeterince önem kazanmadığı için ayva çeşitlerinin sayısı aynı gruptaki armut ve elma kadar yüksek değildir.

Marmara bölgesi en fazla ayvanın yetiştiği bölgedir ve bölgedeki "Eşme" ayva çeşidi ulusal ve uluslararası bir üne sahiptir [81]. Ayvanın hoş bir tadı ve kokusu vardır. Pektin içeriği fazla meyveler takımına aittir ve bakteriyel maddeler nedeniyle daha iyi jelatinmsi yapı oluşturabilir. Ayva meyvesi fazla miktarda tanen içeriği nedeniyle acı bir tada sahiptir, dolayısıyla bu özelliği onun taze tüketimini negatif olarak etkilemektedir [72].

Ayva; mineral vitamin ve karbohidrat bakımından oldukça zengin olup besleyicili yüksek bir meyvedir. Ayrıca iyi bir potasyum, C vitamini ve lif kaynağı olduğuna da inanılmaktadır [82]. Ayvanın kimyasal bileşimi Tablo 2.5.'te verilmiştir [72].

Tablo 2.3. Ayvanın kimyasal bileşimi (100g yenen kısımda).

Maddeler	Ortalama Değer	Maddeler	Ortalama Değer
Protein (G)	0,30	Kükürt (Mg)	5,00
Toplam Azot (G)	0,05	Riboflavin (Mg)	0,02
Yağ (G)	0,10	Klor (Mg)	2,00
Karbonhidrat (G)	6,30	Thiamin (Mg)	0,02
Toplam Şeker (G)	6,30	Vitamin B6 (Mg)	0,04
Fruktoz (G)	3,70	Demir (Mg)	0,30
Sodyum (Mg)	3,00	Magnezyum (Mg)	6,00
Sakkaroz (G)	0,30	Bakır (Mg)	0,13
Glukoz (G)	2,30	Çinko (Mg)	0,50
Malik Asit (G)	0,8	Vitamin C (Mg)	15,00
Su (G)	84,20	Kalsiyum (Mg)	14,00
Potasyum	200,0	Fosfor (Mg)	19,00

Ayva; 7 organik asit içerir: oksalik, sitrik, askorbik, malik, kinik, şikimik ve fumarik. Bunlar arasında şikimik asit 17,4 mg/kg, oksalik asit 3,4 mg/kg, fumarik asit 0,2 mg/kg, sitrik asit 186,2 mg/kg, askorbik asit 63,4 mg/kg, ve malik ve kinik toplamı asit 11064,6 mg/kg'dır. Malik asit ve kinik asit toplamının toplam organik asit içeriğinin ise %97,61'ini oluşturduğu bildirilmektedir [83]. Diğer çalışmalarda ayva yapraklarının organik asit profili incelenmiş ve sonuçların ayva meyvesi ve ayva reçelinin organik asit profiline göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Ayva yapraklarının oksalik, sitrik, malik, şikimik kinik ve fumarik asitlerden ibaret 6 organik asit bulundurduğu tespit edilmiştir. Ayva yaprağı çayı yatıştırıcı, ateş düşürücü, öksürük önleyici ve ishal önleyici olarak kullanılmaktadır [70].

2.8. Antioksidan Kapasite Ölçüm Yöntemleri

Gıdaların antioksidan aktivitelerinin belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları elektron transferine (ET, Elektron Transfer), diğer kısmı ise hidrojen atomu transferine (HAT, Hydrogen Atom Transfer) dayanmaktadır.

- 1 Elektron Transferine (ET) dayalı method: Antioksidan maddelerin elektron transferiyle metal, karbonil ve radikal içeren bileşiklerin indirgenmesine sağlan bir yoludur [84].

- 2 Hidrojen Atomu Transferi (HAT) bazı yöntem: Antioksidan aktivite; antioksidan hidrojen ile serbest radikallerin inaktivasyonu ölçülerek belirlenir.

Hidrojen atomu transferine bağlı bazı yöntemler;

- Oksijen radikali absorban yeteneği (ORAC).
- Radikal tutuklama için toplam antioksidan kapasitesi (TRAP).
- Kemiluminesans (CL).
- Toplam oksidan temizleme aktivitesi (TOSC, Total Oxidant Scavenging Capacity) gibi yollar bulunmaktadır.
- Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu (Low Density Lipoprotein Oxidation).
- Krosin veya β -karoten ağartma metodu (Crocic or β -karotene Bleaching Method).

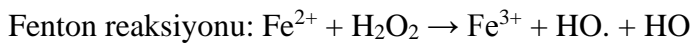
Elektron Transferine bağlı bazı yöntemler;

- Demir (II) İndirgeme Kapasitesi (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Powers).
- Bakır (II) İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC, Copper Reduction).
- Trolox eşiti antioksidan yeteneği (TEAC, Trolox Equivalent Antioxidant Activity).
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikali temizleme kapasitesi gibi metodlar mevcuttur [84].

Bu çalışmada Demir (II) iyonlarını şelatlama, DPPH serbest radikali ve İndirgeme gücü yöntemleriyle çalışıldığından aşağıda bu yöntemlere özetle değinilmektedir.

2.8.1. Demir (II) iyonlarını şelatlama

Yaşamımızın önemli bir unsuru olan demir, yağlar, proteinler ve başka bileşenler ile istenmeyen bir şekilde oksidatif reaksiyonlara sebep olabilir. Bununla birlikte demir serbest radikal oluşturma özelliğine Fenton reaksiyonlardan dolayı da sahiptirler. Bu nedenle bu reaksiyonlarındaki düşük Fe^{2+} konsantrasyonu ile oksidatif zararı engelleyici bir etkiye sahiptir [85]. Fe^{2+} iyonlarının geçiş metalleri arasındaki yüksek etkileşimi nedeniyle lipit oksidasyonuna neden olan mühim bir pro-oksidadandır [86].



Metalle şelat oluşturma özelliği bulunan antioksidan moleküller serbest demir ile kompleks oluşturmak suretiyle onu etkisiz hale getiriler ve böylece Fenton reaksiyonları sonucu meydana gelecek olan peroksit ve hidroksil radikal oluşumunu engeller. Bu sebeple metal şelatlama kabiliyeti antioksidan aktiviteyi tespitlenmede mühim bir rol almaktadır [87]. Metal şelatlama kapasitesi ortamdaki Fe^{2+} iyonlarının inhibisyonuna bağlıdır. Aktivite demir iyonları ile şelatlama ajanlarının bir sonucu olarak kırmızı renkte bir azalma ile kendini bildirir.

Metal şelatlama kapasitesi ayrıca lipit peroksidasyonunda katalitik özellikteki geçiş metallerinide azalttığı için önemlidir. Şelatlama kapasitesine sahip moleküller redoks potansiyelini bu şekilde azaltarak metallerin oksidasyonunu stabilize edebilir. Bu sebeple şelatlama yapabilen moleküller ikincil antioksidanlardır [88]. Antioksidanların bu yüksek metal tutabilme kabiliyetleri insan sağlığına yararlıdır. Vücuttaki metal iyonları birçok anormalliğe neden olabilir. Metal iyonlarının dönüşümleri vücutta oksidatif zarara neden olur ve bu da Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif rahatsızlıklara yol açar.

Metal şelatlama yöntemi, şelatlama tedavisi adı altında bazı hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Şelatlama tedavisi, demir iyonlarını nötralize ederken talasemi ve diğer anemilerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemlerdendir. Bu metal şelatlama yönteminde şelatlayıcı olarak sentetik bileşikler kullanılmaktadır ancak

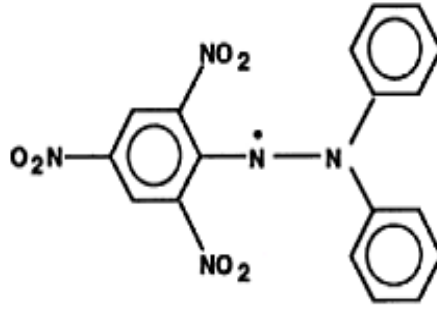
bunların yan etkisi olduğu da ileri sürülmektedir. Bu sebeple metal iyonlarını şelatlayacak doğal hatta bitkisel ilaçların kullanıldığı şelatlama yönteminin geliştirilmesi terapötik açıdan önemli ve ilgi çekicidir [89].

2.8.2. DPPH serbest radikal aktivitesi

Serbest radikal giderme aktivitesi genellikle Brand-Williams yöntemine göre (DPPH 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) radikali kullanılarak belirlenmektedir [90]. DPPH kristal yapıda toz halinde ve ticari olarak temin edilebilen kararlı serbest radikaldir (Şekil 2.19.) [91]. 515-528 nm'de maksimum absorbanza sahiptir. Maddede bir serbest elektronun yer değiştirmesi (delokalizasyonu) onun menekşe renkte oluşmasına sebep olur [92]. Bir elektron veya hidrojen radikalleri ile etkileşim yoluyla kararlı bir manyetik molekül olmaya meyillidir [93].

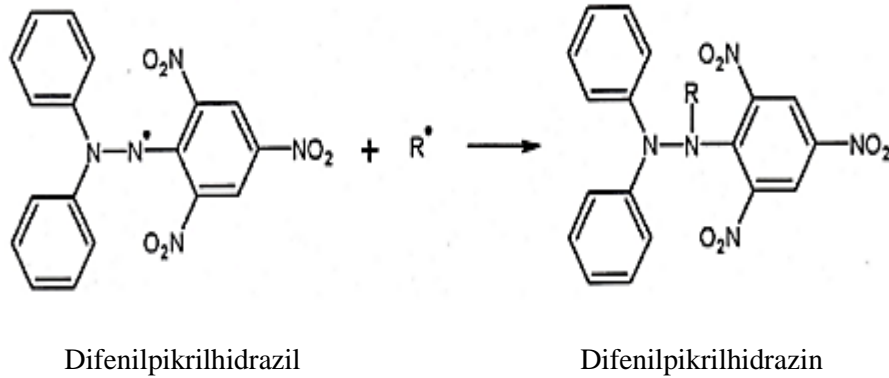
Bu yöntem antioksidanların DPPH radikalini indirgeme yeteneğini belirlemektedir. Bu yöntem, araştırmacılar tarafından bitki ve gıdalardan elde edilen ekstraktlarda veya bileşiklerde serbest radikal söndürme aktivitesini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır [94]. Bu yöntem basitliği ve kısa süreli olması sebebiyle kök temizleme aktivite tayinlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. DPPH kökü kolayca bulunabildiğinden ve toz halinde satın alındığından çözücü içinde hemen çözülmesi ve çalışma konsantrasyonuna göre kullanılması önemlidir.

Bu yöntemin önemli bir dezavantajı büyük yapılı antioksidan moleküllerin sterik etkinliğinin azalmasından dolayı inaktif olarak kullanılmasıdır. Bu yöntemde antioksidan özelliği belirlenecek maddenin yapısı ve boyutu analizin sonucunu etki edebilmektedir.



Şekil 2.5. DPPH Serbest radikalinin formülü

DPPH içeren çözelti bir elektron veyahut hidrojen atomu sağlayan bir molekül ile etkileştirildiğinde difenilpikrilhidrazine indirgenir ve mevcut menekşe rengi kaybolarak soluk sarı renk ortamda mevcut olan pikril grubu nedeniyle meydana gelir (Şekil 2.20.) [92, 95].



Şekil 2.6. DPPH Radikalinin indirgenmesi [96].

2.8.3. İndirgeme kapasitesi tayini

Oyaizu (1986) ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemle göre indirgeme kabiliyeti, dolaylı olarak test edilen maddenin toplam indirgeme kabiliyetini ifade eder. Bu sırada meydana gelen $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ indirgenmesi ile renk değişimi meydana gelir ve bu da 700 nm'de gözlemlenebilir. Sonuçlar, genellikle yüksek indirgeme kapasitesine sahip standart bir antioksidan (askorbik asit (C vitamini) gibi) ile kıyaslanarak açıklanır.

2.9. Antibakteriyel Hakkında Genel Bilgi

Antibakteriyel, doğadaki organizmaları nötralize eden veya üremeyi azaltan bir kimyasaldır. Tıpta kullanılan kelimelerden mikroorganizma terimi küçük organizma anlamına gelir. Mikroskobik dünyada bu canlıların her türlü mikroskobik incelemesi mümkündür. Tüm mikroorganizmalardır hastalığa neden olmazlar. İnsanların var olabileceği anatomik habitatları bile var [97].

Antibakteriyel özelliklere sahip maddeler kullanılarak patojenik organizmalar yok edilebilir veya minimumda tutulabilir. Bilindiği gibi, mikroorganizmalar çok kolay değişebilir. Kullanılan antibiyotiklere hızla direnç kazanabilirler. Her yıl çevrede farklı bir yapıda yaşam alanı bulabilirler. Sağlık alanındaki tüm çalışmalara rağmen, bu mikroorganizmalara karşı yeterli tedavinin olmamasının nedeni, hızlı bir şekilde genetik değişime uğrayabilmeleridir.

İnsanlar antik çağlardan bu yana birçok hastalığın tedavisinde bitki kullanmaya çalışmış ve olumlu sonuçlara dikkat çekmişlerdir. Ülkemizde tıbbi açıdan önemli bitkilerin köklerinden, saplarından, yapraklarından veya meyvelerinden elde edilen ürünler gastrointestinal enfeksiyonlar, ishal, yaralar, ciltte yanıklar vb. için kullanılmaktadır. Son yıllarda mikroorganizmaların kimyasal yollarla elde edilen sentetik ilaçlara karşı geliştirdikleri direnç nedeniyle tedavinin başarısızlığı fitoterapiyi ön plana çıkarmıştır [98].

Bitkilerin antibakteriyel aktivitesi üzerine daha önce yapılmış olan çalışmalar daha çok bitkinin kök, yaprak, kök ve köksap özleri kullanılarak yapılmıştır [99]. Bununla birlikte, antimikrobiyal bileşenler bitkinin çiçeklerinden, tohumlarından ve meyvelerinden de elde edilebilir [100]. Türkiye'de antik çağlardan beri birçok hastalığın tedavisinde şifalı bitkiler kullanılmaktadır ve bu bitkilerin antibakteriyel aktiviteleri bitkinin türüne, bileşimine, konsantrasyonuna, hedef mikroorganizmaların türüne ve miktarlarına bağlıdır [101].

Bitkilerin antibakteriyel aktivitelerini değiştiren faktörler proteinler, tuzlar, pH ve sıcaklık ve yağlar gibi maddelerdir [102]. Ülkemizde yetiştirilen büyük bitkiler ve bunların birçoğunun antik çağlardan beri tedavi amaçlı kullanılması nedeniyle, son yıllarda bitkilerin antibakteriyel aktivitesini belirlemeye yönelik çalışmaların sayısında artış olmuştur.

2.10. Antibakteriyellerin Sınıflandırılması

İnsanların hastalık ve vefatının önde gelen nedenlerinden biride bulaşıcı hastalıklardır. Bu sağlık problemlerinin üstesinden gelebilmek amacıyla geliştirilen antibiyotiklerin 1940 yılında beri umut veren ilaçlar oldukları kanıtlanmıştır. Antibiyotikler grubuna dahil olan ve bunların bir alt sınıfında yer alan antibakteriyeller, birkaç şekilde ayrılmıştır. Buna göre antibakteriyel ajanlar 5 grubta sınıflandırılır [103].

2.10.1. Etki tipe göre sınıflandırma

Antibiyotikler etkilerine göre çok sayıda gruba ve alt gruba ayrılmaktadırlar. Ancak bakterilerin yok edilmesinde, antibiyotikler iki ana etkin mekanizmaya sahiptir;

- a. Bakteriyostatik Etkililer
- b. Bakterisid Etkililer

Bakterilerin hücre duvarını veya zarını hedef alarak onların sentezini durdurarak bakterileri yok eden antibakteriyellere bunlara bakterisid denir. Bakteri üremesini yavaşlatan veya engelleyenler de bakteriyostatik olarak sınıflandırılır. Bakteriyostatik ajanlar bakteride protein sentezini veya bazı bakteriyel metabolik yolların etkileyerek fayda sağlamaktadır [104].

2.10.2. Antibakteriyel ajanların kökene göre sınıflandırılması

Antibakteriyeller, doğal fungal kökenlerinden ve kimyasal olarak değiştirilmiş doğal ürünlerden yarı sentetik veya sentetik olarak elde ettiğimiz bir antibiyotik alt sınıfıdır.

Gentamisin, sefamisin, benzilpenisilin ve sefalosporinler, doğal antibiyotik / antimikrobialerin önemli misalleridir.

Genelde, sentetik antibakteriyeller doğal antibakteriyellerden daha düşük toksisite gösterir. Ampisilin kullanımı, düşük toksik etki vermek ve aktiviteyi yükseltmek için yapılmış yarı sentetik antibiyotiklerdendir. Ayrıca sentetik antibiyotikler daha aktif ve düşük toksik etkiye sahip olarak tasarlanmıştır ve kullanıcıya zarar vermeden bakterilere etki edecek şekilde düzenlenmiştir. Moksifloksasin ve norfloksasin umut verici sentetik antibiyotiklerdendir [105].

2.10.3. Kimyasal yapı ve spektrumlarına göre sınıflandırılma

Çeşitli kimyasal yapılar içeren antibiyotikler farklı tedaviler için kullanılırlar; bu sebeple, antibakteriyeller kimyasal yapılarına göre de sınıflandırılabilirler. Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler; sülfonamidler, beta laktamlar, fenikoller, tetrasiklinler, aminoglikozidler, polipeptidler, makrolidler, linkozamidler, nitrofuraneler, kinolonlar, imidazoller ve rifamisinler olarak sınıflandırılırlar.

Bu sınıflandırma aynı zamanda çok önemlidir, çünkü benzer yapısal birimler benzer toksisiteye, aktiviteyi ve başka ilgili özelliklere sahiptir. Görüldüğü gibi, günümüzde enfeksiyonların tedavisinde başarıyla kullanılan birçok antibiyotik grubu bulunmaktadır. Özellikle son yirmi yılda bir dizi yeni antibiyotik sınıfı geliştirildi ve pek çoğu çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılması onaylandı.

2.10.4. İnhibitör tiplerine göre sınıflandırılması

2.10.4.1. Hücre zarı sentezinin inhibitörleri

Bakterinin hücre duvarının görevi, hücre içindeki atmosfer basıncına direnerek hücre şeklini korumaktır. Bu duvar zayıflarsa (veya duvarı oluşturan maddelerin sentezi yavaşlarsa), bakteriler şişmeye başlar, hücre yırtılır, atmosfer basıncına dayanamaz (normotonik ve hipotonik bir ortamda).

Diğer herhangi bir organizma gibi, bakterilerin hücre zarı da hücrenin yapısal olarak tamamlanmasını sağlamaktadır. Bu sebepten, bakterilerin büyümesini önlemek için en önemli eylem, hücre duvarının sentezini bozmaktır. Yapısal olarak, bakteri hücre duvarının katmanlarını oluşturan peptidoglikan adı verilen N-asetilmuramik asit ve n-asetilglukozamin polisakkarit yapılarından oluşur [106].

Hücre duvarı inhibitörleri, hücre duvarını oluşturan maddelerden biri olan peptidoglikan zincirinin yan dallarını oluşturan transpeptidaz enzimini inhibe ederler ve zincirlerin birbirlerine temas etmesini önleyerek durdururlar. Penisilin, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenlerin türevlerini içeren B-laktam ilaçları, bakteri hücre duvarının sentezini engelleyen ana antibiyotiklerdir. İnhibisyon sürecinde, peptidoglikanların sentezindeki son adım olan penisilin bağlayıcı proteinler etki eder.

Yani, başlangıçta ilacın, başka bir deyişle, inhibisyon süreci penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanarak gerçekleşir. Diğer bazı antibiyotikler basit tracin, teikoplanin, vankomisin, ristosetin ve novobiocin gibi peptidoglikan üretiminin erkence evrelerini önleyen inhibitörler arasındadır [107]. Bu tür antibiyotikler genellikle bakterisidal özelliklere sahiptir. İnsanlarda hücre duvarı olmadığı için bu bakteriler insanlarda hücre yapısını bozamazlar.

2.10.4.2. Protein sentezinin inhibitörleri

Bakteri hücrelerinde ve insanlarda önemli bir fonksiyonlar protein sentezine bağlıdır. Bu sebeple, patojenik bakterilerin neden olduğu bulaşıcı hastalıkların tedavisi nedeniyle protein sentezini inhibe eden antibiyotiklerin temel amacıdır. Tüm canlı organizmalar da olduğu gibi insan ve bakteri hücreleride protein ürettiğinden ve insan proteinleri bakterilerinkine kıyasla yavaş olması nedeniyle seçici olarak bakteriler için antibiyotiklerin geliştirilmesi uygun bir hedef olmaya devam etmiştir [106,108]. Bu tip antibiyotikler m-RNA'yı inaktive ederek çalışır. Çoğu geniş spektrumlu ve bakterisidal etkilere sahiptir.

İnsan ve bakteri ribozomları yapısal olarak farklı olduğundan, ribozoma bağlanarak etki eden antibiyotikler protein sentezine ve insan ribozomlarına zarar veremez. Makrolitler, aminoglikozitler, tetrasiklinler, linkozamitler, kloramfenikol bu gruptaki antibiyotiklere örnek olarak verilebilir [106, 108].

2.10.4.3. Nükleik asit sentezi inhibitörleri

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin önemli amaçlarından biri nükleik asit sentezidir ve kullanılan antibiyotiklere nükleik asit sentez inhibitörleri olarak bilinirler. Prokaryotik ve ökaryotik hücreler arasında DNA ve RNA'nın sentezinde görev alan enzimlerdeki farklılık, seçici olarak antibiyotik gelişimini destekleyerek bakteriler üzerinde toksisiteye ulaşmaya yardımcı olmaktadır. Bu sınıfın antibakteriyel ajanları DNA inhibitörlerine ve RNA inhibitörlerine ayrılabilir. RNA inhibitörleri, RNA kopyalarının genetik materyalden üretildiği ve daha sonra proteinlere dönüştüğü bakteriyel transkripsiyon işlemine etki eder. Rifamisin grubundan iyi bilinen bir örneklerinden olan rifampin antibiyotiği RNA polimeraza bağlanır ve bu sayede RNA sentezinin uzamasını önleyen bir engel oluşturarak durdurur. Böylece bakteri hücrelerinin ölümüne neden olacak bakterilerin normal işlevini etkileyen gen transkripsiyonunu önlemiş olurlar. Diğer tüm mevcut biyolojik polimerizasyon olayları gibi, DNA sentezi de başlatma, uzama ve sonlanma adımları

ile gerçekleşir; bu sebeple DNA sentezinin durdurulması için yukarıdaki işlemlerden herhangi birine etki etmek için antibakteriyel ilaçların geliştirilmektedir.

2.10.4.4. İnter Metabolizmayı Bozanlar

Bu gruptakiler daha çok bakteriostatiktir. Sülfonamidler, sülfonatlar, PAS (p-aminosalisilik asit), izoniazid, etambutol gibi ilaçlar bu çeşit bir etkiye sahiptir.

2.11. Literatür Özeti

Shinomiya ve arkadaşlarının çalışmasında, farelere 63 gün boyunca ayva ile takviye edilmiş diyet ağızdan verildiğinde atopik dermatit (egzama) gelişiminde önemli bir azalma gözlemlenmiştir. Ayva suyu ve ayvanın hidroalkollü ekstraktının sıçanlarda trinitro benzenin neden olduğu ülseratif etkileri Kolit üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak ayva suyu ve ayva hidroalkollü ekstraktının uygun dozlarda uygulanmasının ülseratif kolit lezyonlarını önemli ölçüde azalttığı belirlendi [109].

Szychowski ve arkadaşlarının çalışmasında, kalite parametreleri, biyoaktif bileşenler, antioksidan aktivite ve temel duyuşal parametreler için altı ayva türünü inceledi. Ayvanın fitik, malik ve kinik asit miktarları açısından zengin olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda içeriğindeki fruktoz, sorbitol ve glikoz miktarının asitlik, tekstür ve tatlılık açısından dengeyi sağlayacak düzeyde olduğunu ortaya koydular. Altı çeşit ayvadan bazıları, toplam fenolik ve antioksidan içerikleri nedeniyle ayva bazlı ürünler için daha uygunken, diğerleri dengeli ekşi tadı, tatlılık seviyeleri ve yüksek ayva aroması nedeniyle taze tüketime daha uygundur [110].

Trigueros ve arkadaşlarının çalışmasında. Flavonoidler, fenolik bileşikler, organik asitler ve şeker açısından zengin ayva kaynatılmış su ile az yağlı yoğurt üretimi. Kaynatılmış su ayvası, yüksek polifenol içeriği nedeniyle laktik asit bakterilerine karşı inhibitör etkiye sahiptir. Bu nedenle ürettikleri fonksiyonel yoğurdun diğer standart

yoğurtlardan daha yüksek pH ve daha düşük laktik asit bakteri içeriğine sahip olduğunu belirlediler. Buna göre, reolojik ve bileşimsel değişiklikler gözlemlendi [111].

Silva ve arkadaşlarının çalışmasında. (2002) HPLC ile ayva örneklerinin organik asit içeriği. Analizlerde ayva içeriğinde bulunan altı organik asit sitrik asit, askorbik asit, malik asit, kinik asit, şikimik asit ve fumarik asit olarak belirlenmiştir. Tsonia ve diğerleri (1983), gaz kromatografisi kullanarak ayvadaki uçucu bileşikler üzerinde bir çalışma yürütmüştür. 2 hidrokarbon, 13 ester, 11 alkol, 11 aldehit, 11 keton, 5 lakton ve 9 farklı bileşik dahil olmak üzere 62 uçucu bileşik tanımladılar [112].

BÖLÜM 3. DENEYESEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal ve Yöntem

3.1.1. Kimyasal materyal

Deneyleerde kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik kalitededir. Tüm deneyleerde kullanılan su ise distile sudur. Tablo 3.1.'de kullanılan kimyasallar belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Denemelerde kullanılan kimyasal maddeler

Madde adı	Firması	Madde adı	Firması
Etanol	Merck (Darmstadt, Germany)	Etıl asetat	Merck (Darmstadt, Germany)
Aseton	Merck (Darmstadt, Germany)	BHT	Merck (Darmstadt, Germany)
DPPH	Sigma_ Aldrich	EDTA	Sigma_ Aldrich
TCA	Sigma_ Aldrich	KH ₂ PO ₄	Sigma_ Aldrich
K ₄ Fe (CN) ₆ .3H ₂ O	Sigma_ Aldrich	Na ₂ HPO ₄	Sigma_ Aldrich
Fecl ₃	Sigma_ Aldrich	Fecl ₂	Sigma_ Aldrich
Fosfat tamponu	Sigma_ Aldrich	Trolox	Sigma_ Aldrich
Ferrozın (C ₂₀ H ₁₂ N ₄ Na ₂ O ₆ S ₂)	Sigma_ Aldrich	MHA	Sigma_ Aldrich

3.1.2. Kullanılan aletler

Deneyselda kullanılan kimyasal ve malzemeler biyokimya laboratuvarlarından almıştır. Kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Alet adı	Markası
Buzdolabı	Arçelik
PH metre	Hanna
Santrifüj	Nüve-NF200, ROTINA 420-HETTICH.
Etüv	Nüve-FN120.
Hassas terazi	AND GR-200.
UV-VIS Spektrofotometre	Shimatzu UV-2401.
Vorteks karıştırıcı	Vortex 2 GENIE ve SHAKER QL 861.
Otomatik Pipet	BIOHIT PROLINE Ve BRANDTRANSFERPETTE S-100-1000MICROLT.
Evaporatör	RÜCHI Waterbath B 480 ve RÜCHI Rotavapor B-114

3.1.3. Bitkisel materyal

Deneysel çalışmalarda Sakarya bölgesinden yetiştirilen ayva meyvesi ve yaprakları toplanarak kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

3.2.1. Demir (II) iyonlarını şelatlama kapasitesinin testi yolunda kullanılan çözeltiler.

2mM FeCl₂ çözümü hazırlanması: 0,0245gr FeCl₂ tartılıp destile suda çözülüp ve 100 mL'ye tamamlandı.

5 mM Ferrozin çözümü hazırlanması: 0,0616 gr ferrozin tartılıp destile suda çözülüp 25 mL'ye tamamlandı.

3.2.2. DPPH serbest radikali kapasitesi deneylerinde kullanılan çözeltiler.

0,1 mM DPPH çözeltisi için: 4 mg DPPH tartılıp 100 mL etanolde çözüldü.

3.2.3. İndirgeme kapasitesi testinde kullanılan çözeltiler.

0,2 M fosfat tamponu (pH=6,6) hazırlanması: 27,22 gr KH_2PO_4 ve 28,40 gr Na_2HPO_4 çözülmüş pH=6,6 karıştırılarak hazırlandı.

% 1'lik $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'nın hazırlanması :1 gr ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) tartılıp saf suda çözülüp ve balon jode 100 mL'ye tamamlandı.

% 10'luk TCA çözeltisinin hazırlanması: 10 gr (TCA) tartılıp saf suda çözülüp ve balon jode 100 mL'ye tamamlandı.

%0,1'lik FeCl_3 çözeltisinin hazırlanması: 0,1gr (FeCl_3) tartılıp saf suda çözülüp ve balonjode 100 mL'ye kadar tamamlandı.

3.3. Deneysel Çalışma

Bu bölümde Ayva meyvesi (*Cydenia oblonga*) ve yaprakları kullanılmıştır. Deneysel çalışmada kullanılan bitki materyalleri Sakarya yerel pazardan temin edildi. Temin edilen bitkiler, ayıklama işlemlerinden sonra distile sudan geçirilerek gölgede kurutuldu.

3.3.1. Bileşenlerin ekstraksiyon aşaması

Ayva meyve ve yaprakları parçalandıktan sonra ortalama 40 °C sıcaklıktaki etüvde kurutuldu ve daha sonra öğütücü ile toz haline getirildi. Çözücüleri eklendi ve 24 saat çalkalayıcı su banyosunda 250 rpm'de bekletilerek ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Ekstraksiyon işleminde çözücü olarak etanol, aseton ve etil asetat kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra Whatman filtre kağıdından süzülür. Süzüntü kısmı toplanarak evaporatörde 50°C sıcaklıkta çözücüler uzaklaştırıldı ve kalan katı tartılarak istenen konsantrasyonlarda ekstrakte edildikleri çözeltilerde çözülerek stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltilerin istenen konsantrasyonlarında seyreltme yapmak için etil asetat, aseton ve etanol çözeltileri kullanılmıştır.

3.4. Antioksidan Aktivite Yöntemleri ve Kalibrasyon Grafik Çizimleri.

3.4.1. Demir (II) iyonunu şelatlama kapasitesinin testi

Bitki ekstraktlarından farklı konsantrasyonlardaki (50-1000 µg/mL) Fe²⁺ iyonlarının şelatlama kabiliyeti Dinis ve arkadaşlarının bilirdiği. yöntemindeki gibi yapıldı [113]. Buna göre Fe²⁺ iyonlarını tutmak için ortamdaki ferrozin reaktifi, güçlü bir demir şelatör ve metal bağlayıcı bileşiklerin rekabetine dayanmaktadır. Şelatlama kuvveti yüksek ise kırmızı renkli Fe²⁺ ferrozin kompleksinin oluşumu yasaklanır.

1 mL numuneye 3,7 mL saf su ve 100 µL (2 mM) FeCl₂ çözeltisi ilave edildi. 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra üzerine 200 µL (5 mM) ferrozin eklendi ve karıştırıldı. 10 dakika beklemeden sonra çözeltilerin absorbans değerleri 562 nm'de belirlendi. Kontrolde numune yerine 1 mL saf su kullanılarak hazırlandı. EDTA standard olarak kullanıldı. Blank sadece saf su ile hazırlandı. Ferrozin-Fe²⁺ kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = 1 - \frac{562 \text{ nm'de örnek absorbansı}}{562 \text{ nm'de kontrol absorbansı}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.4.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini

Ayva meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standartların DPPH radikali süpürme aktivitesi Brand Williams ve arkadaşlarının yöntemine göre belirlendi [114]. 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 sıcaklığında 30 dakika sonra 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 miktarını yani serbest radikal süpürme aktivitesini göstermektedir [95].

3.6. Besiyeri Hazırlanması

Besiyerini hazırlamak için Muller-Hinton agar yöntemi kullanılmıştır. 1 litre distile suda MHA'dan 34 gram çözülmüştür. Şişenin ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak otoklavada sterilize edilmiştir. Besi yerleri otoklavdan çıkınca hafif soğumaya bırakılır. Petri kaplarına 20 mL döküldü, petri kapları kapatıldı ve soğuması için alüminyum folyoya sarılarak buzdolabına kaldırıldı. Tüm bakteriler için besi yerleri aynı şekilde hazırlanmıştır.

3.7. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi için Mueller Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. Petri kaplarına istenilen agar kalınlığını elde etmek için EUCAST tarafından kabul edilen standart ortam kalınlığı 4 mm olacak şekilde besiyerleri dökülmüş ve soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra agarda 6 mm çapında agar delici (corkborer) ile kuyucuklar açılmıştır [116]. Delicinin her kullanışta alkolle muamele edilip ateşte yakılarak sterilize edilmiştir. İstenen sayıda genellikle bir petri kabında 4 adet kuyucuk açıldıktan sonra 0,5 McFarland'a ayarlı bakteri solüsyonu agar petrilere yayılarak ekim yapılmıştır. Daha sonra kuyucuklara bitki ekstraktları 20 µL olarak ilave edilmiş ve hazırlanan plaklar 16-18 saat boyunca 37°C'ye ayarlı etüvde inkübe edilmiştir [116]. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra bakteri üremeleri incelenerek inhibisyon zon çapları mm cinsinden ölçülmüştür.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

Son zamanlarda antioksidan aktivite sahip doğal ve çevre dostu kaynaklar için bitkilerin gıda ve beslenme alanlarında kullanımı konusunda çok sayıda çalışma yapılmış ve bu kapsamlı çalışmalar halen sürmektedir. Bunun nedeni bitkilerin antioksidan olan karotenoidler, flavonoidler ve fenolik bileşikler açısından zengin olması ve herhangi bir yan etkisi olmamasıdır [117]. Gıdaların antioksidan aktivitelerinin ve antioksidan bileşenlerinin profili ve sağlık ve biyokimya araştırmacılarının yanı sıra tıp ve beslenme uzmanlarının da ilgisini çekmektedir.

Antioksidanların toplam kapasitesini ölçmek için yöntemlerin kullanılmasına odaklanmanın temel sebebi çok farklı türde besin maddelerinin özellikle bitki bileşenlerin sebebiyle her bir antioksidanın ayrı ayrı tanımlanması ve ayrılmasının zorluğudur. Bunun yanında az sayıda kimyasallı reaksiyona dayalı olarak bir antioksidanın toplam kapasiteini belirlemek gerçekçi olmayabilir, hatalara neden olabilir. Bu yüzden toplam antioksidan kapasiteyi ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Üslup farklılıkları çok fazla olup, konuyla ilgili yayınlanmış sayısız yayına ve birçok gelişmiş yöntemle rağmen bir fikir birliğine varılamamıştır. Antioksidan aktivitenin genel bir yöntemi;

- 1 Farklı oksidasyon durumlarını test edebilmeli,
- 2 Biyolojik olarak anlamlı bir substrat seçmeli,
- 3 Aynı molar konsantrasyona sahip etken madde içeren antioksidanları karşılaştırabilme,
- 4 Hem birincil hem de ikincil oksidasyon ürünlerini ölçebilmeli,
- 5 İndüksiyon periyodu, inhibisyon yüzdesine, hidrojen peroksit oluşumu veya hidroliz hızına veya IC_{50} 'ye (%50 inhibisyonu sağlamak için gerekli antioksidan konsantrasyonu) dayalı nicelleştirmeye izin vermelidir [43].

4.1. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini Sonuçları.

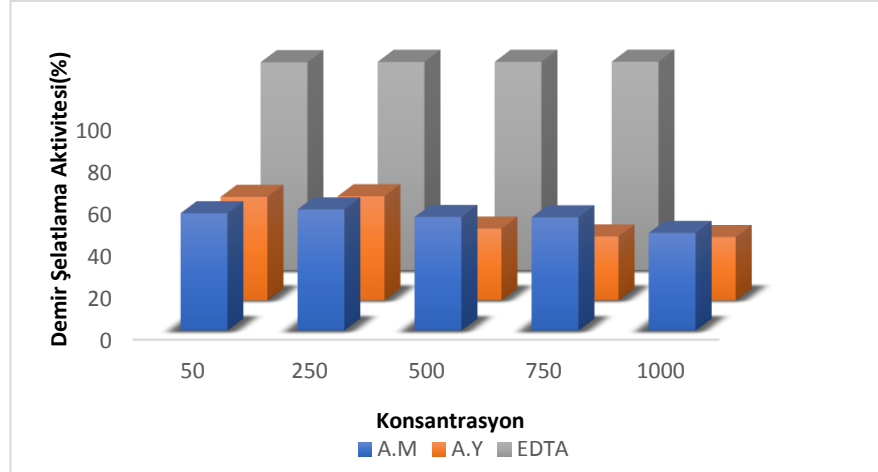
Geçiş metallereinden olan demir fazla reaktivitesi sebebiyle yağları oksitleyebilen önemli bir metaldir. Geçiş metallereinin radikal oluşum mekanizmaları Fenton ve Haber-Wiess reaksiyonları ile bilinir. O yüzden, antioksidan aktivite analizleri yapılırken konuyla ilgili olarak bu metallereinin özellikle demir Fe (II) veya bakır Cu (II) iyonlarının şelatlama kabiliyetlerinin belirlenmesi en yaygın kullanılan metotlardandır.

Bu nedenle bu çalışmada, numunelerin çözücü ekstraktlarının demir Fe (II) iyonlarının şelatlama kapasitesi incelenmiştir. Metal iyonu şelatlama kapasitesi; çözültideki Fe²⁺ iyonlarını bağlamak için bitki ekstraktlarını ferrozin bileşiği ile yarışmasına bağlı olarak incelenir. Bu test, verilen numunelerin içerisindeki şelatlayıcı moleküllerin, Fe (II) iyonları ile ferrozin bileşiği arasında oluşacak olan kompleksi ne oranda engellediği ve bunun sonucunun da spektroskopik olarak belirlenebilmesi esasına dayanır.

Metal şelatlayıcı moleküllerin varlığında metalle-ferrozin kompleksi oluşamaz. Kompleks oluşumu 562 nm'de izleneceğinden bu dalga boyundaki absorpsiyon azalması kompleksin oluşmadığını göstermektedir. Ekstraktların şelatlama kapasitesi ferrozin kısmı kullanılarak metal şelatlama yöntemi ile belirlendi ve tüm ekstraktların metal şelatlama kapasitesi beş değişik konsantrasyonda (50, 250, 500, 750 ve 1000 mg/ml) belirlendi (Tablo 4.1.). Sonuçlar; Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Etanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasitesi/

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	56,010	57,853	54,212	54,059	46,599
Ayva yaprak	49,377	49,69	34,234	30,500	30,172
EDTA	98,994	99,172	99,207	99,234	99,457

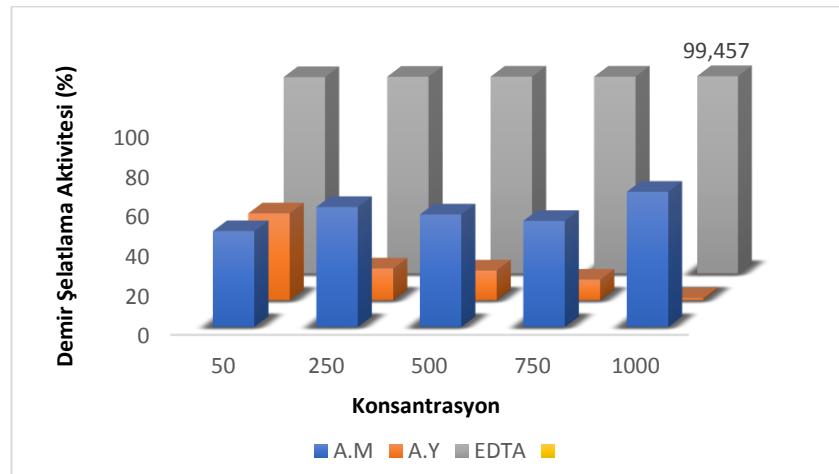


Şekil 4.1. Etanol ekstraktlarının demir şelatlama kapasitesi(%).

Etanol ekstraktlarda, en yüksek değeri metal şelatlama aktivitesini EDTA (%99,457) standardından sonra ayva meyve ekstraktları (%57,853) gösterirken, en düşük değeri metal şelatlama aktivitesi ayva yaprak maddesi (%30,172) gözlenmiştir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.2. Aseton ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri.

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	48,395	60,575	56,789	53,525	68,250
Ayva yaprak	43,864	15,999	15,0	10,350	1,0
EDTA	98,994	99,172	99,207	99,234	99,457



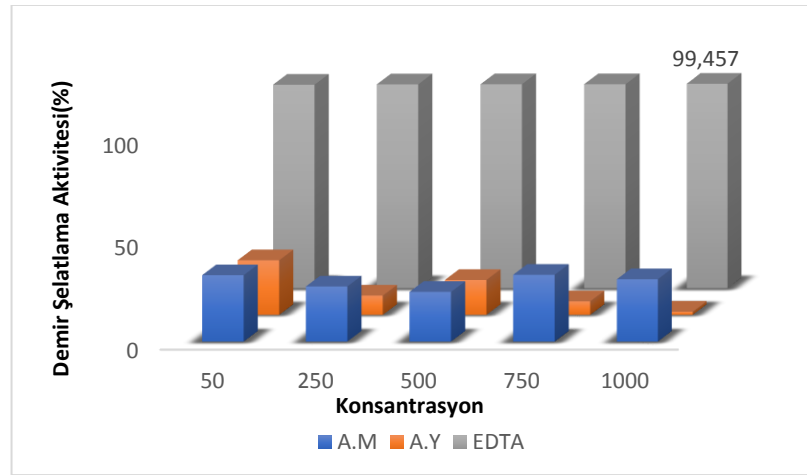
Şekil 4.2 . Aseton ekstraktının demir şelatlama kapasitesi (%).

Aseton ekstraktlarda, en büyük değeri metal şelatlama aktivitesini EDTA standardından (%99,457) sonra ayva meyve ekstratı (%68,25) gösterirken, en düşük

değeri metal şelatlama aktivitesi ayva yaprak maddesi (% 1,0) göstermiştir (Tablo 4.2., Şekil 4.2.).

Tablo 4.3. Etil asetat ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri.

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	32,361	26,853	24,238	32,568	30,401
Ayva yaprak	26,616	9,388	17,037	6,576	1,554
EDTA	98,994	99,172	99,207	99,234	99,457



Şekil 4.3. Etil asetat ekstraktının demir şelatlama kapasitesi (%).

Etil asetat ekstraktlarda, en büyük değeri metal şelatlama aktivitesini EDTA standardından (%99,457) sonra ayva meyve ekstratı (%32,568) gösterirken, en düşük değeri ayva yaprak maddesi (% 1,554) göstermiştir (Tablo 4.3., Şekil 4.3.).

4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Test Sonuçları

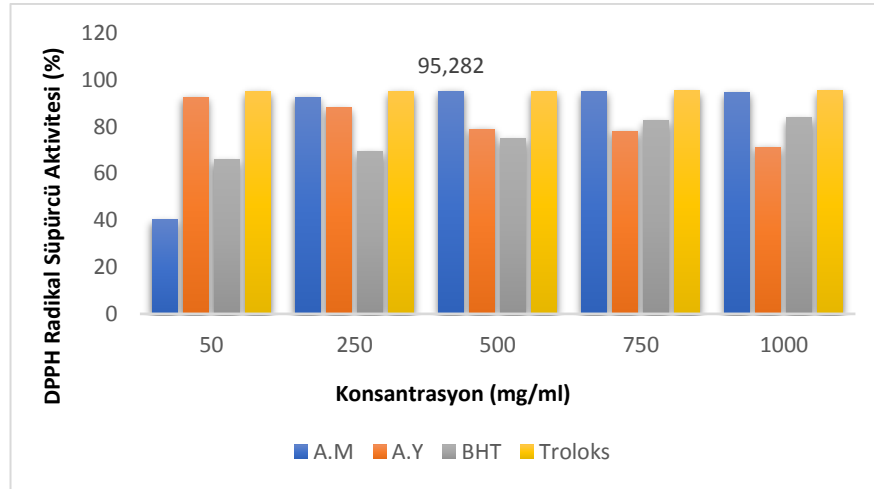
Bu yöntemin temeli DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından hidrojen veren gruplara indirgenmesine bağlıdır. DPPH antioksidanların radikal süpürücü aktiviteleri için yaygın olarak kullanılan uzun ömüre sahip bir azot radikalidir [118]. Bu yöntemde DPPH radikali azalmadan önceki rengi koyu mor, antioksidanlarla azaldığında ise açık pembe renge dönüşür. Bu da DPPH radikalinin difenil-pikrilhidrazine indirgenliğini ifade etmektedir. Bu renk değişimi 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenebilmektedir. DPPH molekülü 517 nm'de yüksek absorpsiyon verirken,

indirgendiğinde antioksidan miktarına bağlı olarak absorpsiyonda düzgün bir azalma meydana gelir.

Bu çalışmada, ayva meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal giderim aktivite yöntemine göre beş farklı konsantrasyonda (50, 250, 500, 750 ve 1000 mg/mL) belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, en yüksek DPPH serbest radikal aktivitesi her ekstraktta kullanılan troloks maddesi (%95,404) ile en düşük DPPH serbest radikal aktivitesi etil asetat ekstraktında ayva meyvesi (%12,312) gözlenmiştir.

Tablo 4.4. Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi.

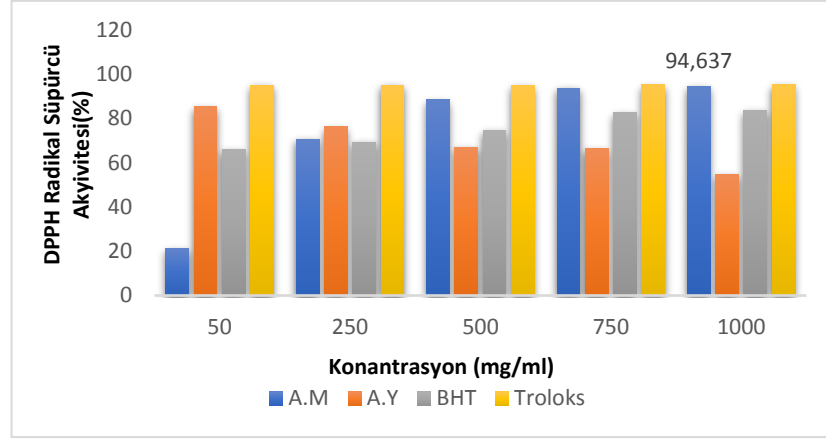
Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	40,338	92,692	95,282	95,111	94,657
Ayva yaprak	92,702	88,055	79,024	78,187	71,172
BHT	65,893	69,372	74,814	82,689	83,884
Troloks	95,116	95,133	95,194	95,343	95,404



Şekil 4.4. Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%)

Tablo 4.5. Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi

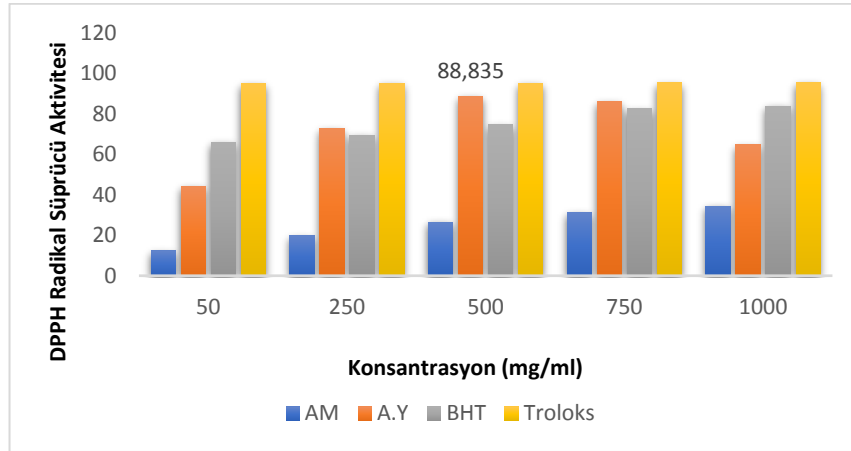
Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	21,227	70,678	88,519	93,811	94,637
Ayva yaprak	85,384	76,373	67,100	66,293	54,722
BHT	65,893	69,372	74,814	82,689	83,884
Troloks	95,116	95,133	95,194	95,343	95,404



Şekil 4.5. Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi

Tablo 4.6. Etil asetat ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi.

Ekstrakt	50mg/ml	250mg/ml	500mg/ml	750mg/ml	1000mg/ml
Ayva meyve	12,312	19,779	26,557	31,156	34,408
Ayva yaprak	44,158	72,588	88,835	86,068	64,771
BHT	65,893	69,37	74,814	82,689	83,884
Troloks	95,116	95,133	95,194	95,343	95,404



Şekil 4.6. Etil asetat ekstraktlarının DPPH serbest radikal kapasitesi (%)

Çıkan neticelere göre DPPH serbest radikal aktivitesi 1000 mg/mL konsantrasyonda troloks maddesinde (%95,40) en büyük değeri gösterir. Dolayısıyla, troloks maddesinin DPPH serbest radikali giderme yeteneğinin her diğer maddelerden de yüksek gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.4.).

Etanol ekstraktlarda en büyük değeri DPPH giderim aktivitesine ayva meyve ekstraktında gözlenmiştir (%95,282). Analiz neticede en yüksek DPPH giderim

aktivitesine ait çözelti ayva ekstrtlarının sıralaması; Etanol ve aseton içinde (Ayva meyve> Ayva yaprak) şeklinde kaydedilmiştir(Tablo 4.5., Şekil 4.5.). Etil asetat içinde Ayva yaprak> Ayva meyve şeklindedir (Tablo 4.6., Şekil 4.6.). Tüm çözümler içinde ise en yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi 500mg/mL konsantrasyonda %95,282 ile ayva meyve aseton ekstrakti olarak belirlenmiştir. Bu sonuç ile bu ekstraktın radikal giderim aktivitesinin troloks standardına eş değer iyilikte olduğu belirlenmiştir. Neticeleri, DPPH serbest radikal aktivitesini çözücü çeşitliliğine göre değiştiği ve her maddelerin yüksek konsantrasyonlarda % inhibisyon değerlerinin en yüksek olduğu görülmüştür.

Silva ve arkadaşlarının çalışmasında, ayva meyvesi ve reçelinin metanol özütlarının antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Ayva kabuğunun metanol özütünün IC50 değeri 0,6 mg/mL olup ayvanın en yüksek antioksidan aktiviteye sahip kısmı olmuştur. Ayva eti metanol özütü ve ayva çekirdeği metanol özütünün ise IC50 değerleri sırasıyla 1,7 mg/mL ve 2,0 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Reçel-A'da IC50 değeri 8,9 mg/mL Reçel-B'de 8,4 mg/mL'dir. Yapılan çalışmada antioksidan aktiviteleri arasındaki bu belirgin farkın içeriğindeki bileşiklerin farklı olmasının bir sonucu olabileceği belirtilmiştir [112]. Örneğin; kateşol grubu, elektron delokalizasyonuna katılarak fenoksil radikallerine büyük bir kararlılık kazandırdığından içeriğinde bulunduğu meyveye antioksidan aktivite sağlamaktadır. Yalnızca fenolik asit içeriğine değil minerallerin çeşidi ve miktarının bile bu farklılıkta etkili olabileceği tespit edilmiştir.

Brand-Williams ve arkadaşlarının çalışmasında, antioksidant aktivite değerleri kullanılan çözüme bağlı olarak, DPPH yönteminde 44,6 (ayva meyvesinin etil asetat özütünde) – 96,8 (ayva meyvesinin su özütünde) mmol/L arasında; FRAP yönteminde ise 146,2 (ayva meyvesinin etil asetat özütünde) 1867,2 mmol/L (ayva meyvesinin su özütünde) değişkenlik göstermiştir. En yüksek antioksidant aktivite değeri en polar olan çözüme yani suda gözlenmiştir [119]. Özüt eldesinde metanol en yüksek verimi sağlamıştır; en yüksek toplam fenol içeriği ise yine metanolde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda DPPH serbest radikali sayısının mevcut hidroksil sayısı ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir.

Wojdylo ve arkadaşlarının çalışmasında, DPPH, FRAP, ABTS metotlarıyla 13 farklı ayva türünün antioksidan etkinliğini tespit etmeye çalışmıştır. Tüm analizler için Trolox'un farklı konsantrasyonları kullanılarak bir standart eğri hazırlanmıştır. DPPH metodu ile bulunan sonuçlar üzerinden yapılan hesaplamalara göre IC50 değerleri 2,5 ve 0,9 mmol/g arasında değişmektedir [120]. Çin ayvası ve başka bir çeşit ayva meyvelerinin fenolik profili, antioksidan aktivitesi ve viral aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada ayva çeşitlerinden ilkinin 12,80 mg/g, ikinci ayva türünün ise 3,02 mg/g fenolik madde miktarına sahip olduğu bulunmuştur [121]. Çin ayvasının bu yüksek fenolik madde içeriğini destekleyen başka çalışmalar da mevcuttur [122].

Silva ve arkadaşlarının çalışmasında, yaptığı bir çalışmada Portekiz'de farklı yerlerden toplanan ayva meyvelerinde toplam fenolik madde miktarının 0,25-2,00 mg/g aralığında değişiklik gösterdiği gözlemlenmiştir [112]. Ayva meyvesinin eti, kabuğu ve çekirdeklerinin fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde içeriğinin meyve kabuğu (6,3 mg/g > meyve eti (2,5 mg/g) > meyve çekirdeği (0,5 mg/g) sıralamasıyla ilerlediği, ancak DPPH metodu kullanılarak tespit edilen antioksidan aktivitenin de bunun aksine en fazla çekirdekte olduğu belirlenmiştir. Standart olarak 5-O-kafeolikuinik asit kullanılmıştır. Çözgen olarak metanolün kullanıldığı ayva özütünde (çekirdek hariç) toplam 8,8 mg/g fenolik madde mevcuttur [123]. Farklı araştırmacıların farklı ayva çeşitleri ile yaptıkları çalışmada toplam fenol değerleri önemli oranda değişkenlik göstermektedir. Bu durum çeşit farkından olduğu kadar deney prosedüründen de kaynaklanabilir. Bu çalışmada elde edilen 7,00-8,02 mg GAE/g toplam fenol değerleri Silva ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarına yakındır.

4.3. İndirgeme Kapasite Tayin Sonuçları

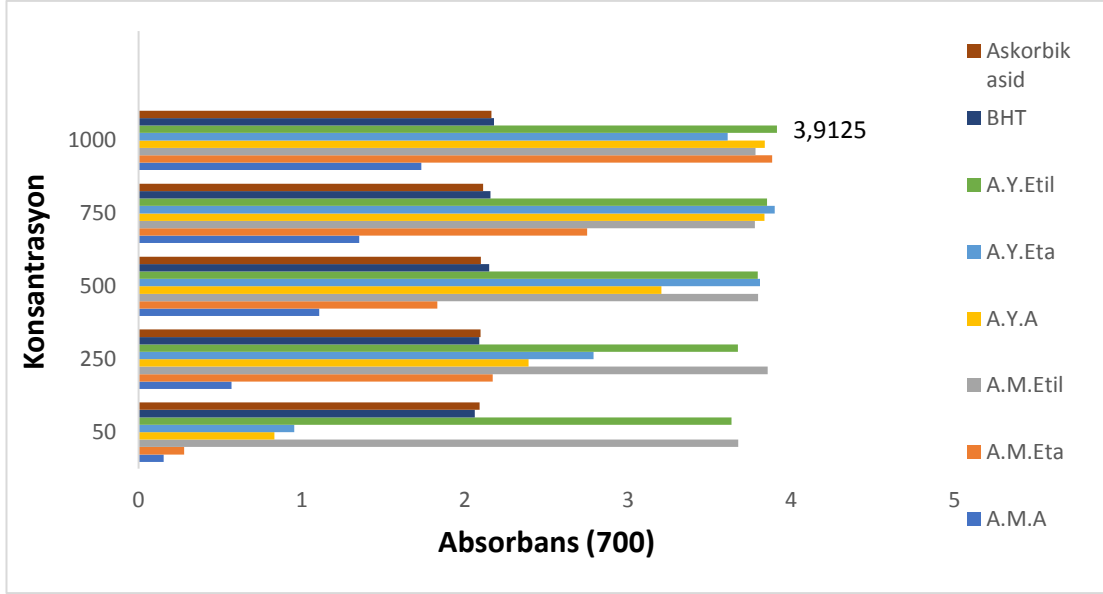
İndirgeme kapasitesi istenen örnekteki antioksidanların varlığı ile Fe^{3+} 'nın elektron alarak Fe^{2+} 'ye indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Fe^{2+} kompleksinin miktarı 700 nm'de oluşan mavi rengin ölçülmesi ile belirlenir. Absorbans değeri ne kadar yüksek olursa indirgeme yeteneği o kadar yüksek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

Fe^{3+} iyonlarının indirgenmesi, elektron verme yeteneğinin bir göstergesidir, bileşimin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermek için önemli bir yöntemdir ve diğer yöntemlerle ilişkilidir [124]. Ancak ortamdaki antioksidanların aktivitelerinin azalması nedeniyle çözeltinin sarı rengi farklı tonlarda yeşile döner [125, 126].

Ekstraktların ortamdaki Fe^{3+} 'ü azaltma kabiliyetini belirlemek için ayva meyve ve yapraklarının farklı konsantrasyonlarda çeşitli ekstrakt ve standart konsantrasyonlar çalışılmış ve 700 nm'de oluşan komplekslerin absorpsanları ölçülmüştür. Sonuçlar Tablo 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri.

ekstrakt	50 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml	750 mg/ml	1000 mg/ml	
Ayva Meyve	Aseton	0,154	0,5699	1,1074	1,3573	1,7322
	Etanol	0,2801	2,1712	1,832	2,749	3,883
	Etil asetat	3,875	3,876	3,796	3,777	3,781
Ayva Yaprak	Aseton	0,832	2,389	3,203	3,837	3,837
	Etanol	0,955	2,788	3,809	3,898	3,610
	Etil asetat	3,634	3,673	3,795	3,852	3,912
BHT	2,06	2,088	2,15	2,157	2,179	
Askorbik asit	2,091	2,096	2,099	2,112	2,162	



Şekil 4.7. Ekstraktların indirgeme gücü kapasiteleri

Elde edilen sonuçlara göre deneyde kullanılan ekstraktların indirgeme kapasiteleri test edilen ekstraktların konsantrasyonunun artması ile birlikte doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.7.). Bu testte en fazla indirgeme kapasitesi ayva yaprak etil asetat ekstraktı (3,912 mg/mL) ile en düşük indirgeme kapasitesinin ise ayva meyve etanol ekstraktı (0,154 mg/ml) ile olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.7.)

4.4. Antibakteriyel Test Sonuçları

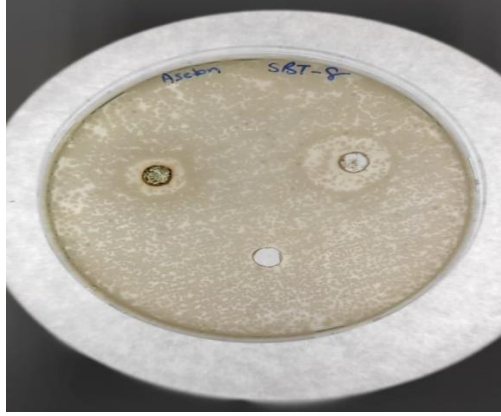
Antibakteriyeller patojenik organizmaların yanı sıra bakteriyel ve fungal enfeksiyonların kontrolünde hala etkili olan ve yüzeyleri dezenfekte etmek ve zararlı bakterileri yok etmek için son yıllarda yaygın olarak kullanılan maddeler olarak tanımlanmaktadır.

Çeşitli sentetik ve doğal maddelerin bakteriler üzerindeki etkilerini belirlemek amacı ile agar kuyucuk difüzyon yöntemi, antibakteriyel duyarlılık testi için en sık kullanılan antibakteriyel duyarlılık testi yöntemlerinden biridir ve genellikle klinik laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Bu yöntem yaygın olarak bulunan bakteri ve çoğu patojen bakteriyi test etmek için kullanılmaktadır.

Bu çalışmada ayva meyve ve yapraklarının üç farklı çözücü ile ekstraktlarının antibakteriye etkileri üç farklı bakteriye (*Escherichia coli* (25922), *Bacillus cereus* (SBT8) ve *Staphylococcus aureus* (29213) karşı agar kuyucuk difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol olarak Ampisilin antibiyotiği kullanılmıştır. Sonuçlar toplu olarak Tablo 4.20. verilmiştir.

Tablo 4.8. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi

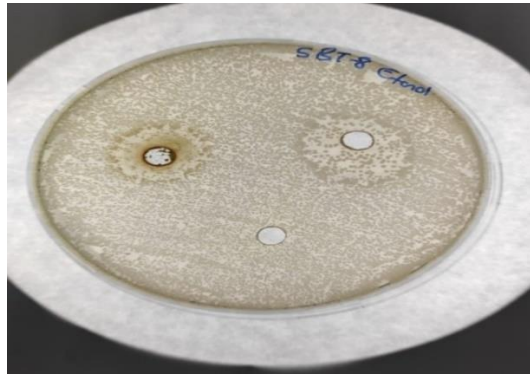
Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Bacillus cereus</i> (STB-8)	16
Ayva yaprak	<i>Bacillus cereus</i> (STB-8)	11



Şekil 4.8. Ayva meyve ve ayva yaprak ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi.

Tablo 4.9 . Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi.

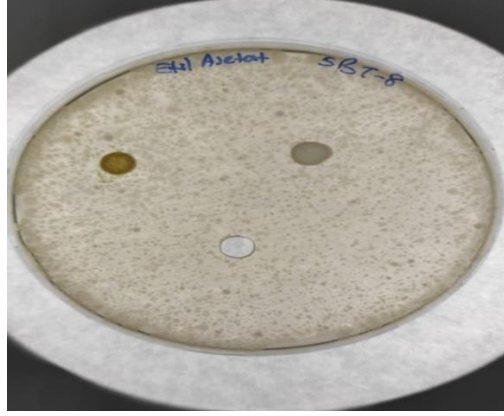
Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Bacillus cereus</i> (STB-8)	15
Ayva yaprak	<i>Bacillus cereus</i> ((STB-8)	15



Şekil 4.9. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi

Tablo 4.10. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi.

Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Bacillus cereus</i> (STB-8)	-
Ayva yaprak	<i>Bacillus cereus</i> (STB-8)	-

Şekil 4.10. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Bacillus cereus* (SBT-8) bakteri neticesi

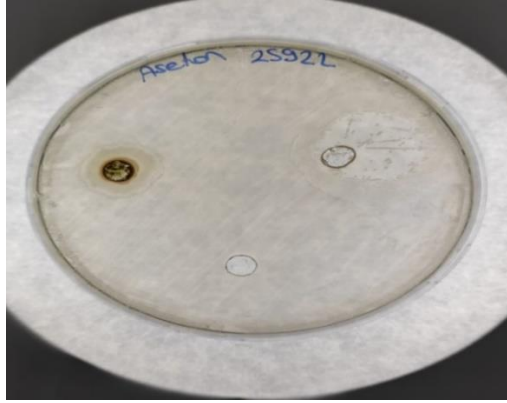
Aseton ayva ve ayva yaprak ekstraktları incelendiğinde (Tablo 4.8.) ayva meyve aseton ekstraktı *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine 16 mm inhibisyon zon çapı gösterirken, ayva yaprak'ta *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı 11 mm zon çapı bulunmuştur (Şekil 4.8.).

Etanol ayva ve ayva yaprak ekstraktlarında (Tablo 4.9.) ayva meyve etanol ekstraktı *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisini 15 mm zon çapı ile inhibe ederken, ayva yaprak'ta *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisi 15 mm zon çapı ile inhibi ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.9.).

Etil asetat ekstraktlarının hiç birisinden *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı antibakteriyel sonuç alanamamıştır (Tablo 4.10., Şekil 4.10.).

Tablo 4.11. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi

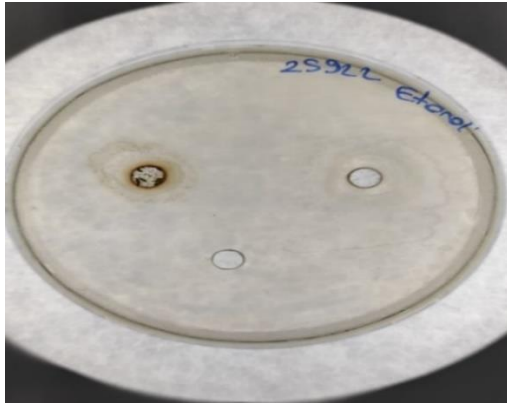
Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Escherichia coli</i> (25922)	20
Ayva yaprak	<i>Escherichia coli</i> (25922)	-



Şekil 4.11. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi

Tablo 4.12. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi

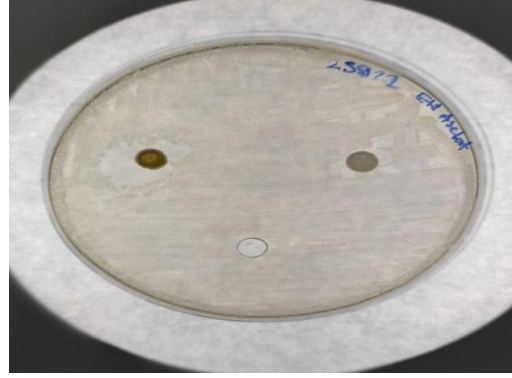
Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Escherichia coli</i> (25922)	11
Ayva yaprak	<i>Escherichia coli</i> (25922)	12



Şekil 4.12. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi.

Tablo 4.13. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi.

Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Escherichia coli</i> (25922)	10
Ayva yaprak	<i>Escherichia coli</i> (25922)	18



Şekil 4.13. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Escherichia coli* (25922) bakteri neticesi

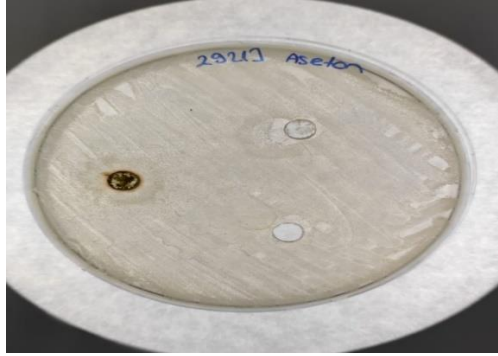
Aseton ayva ve ayva yaprak ekstrakt sonuçları incelendiğinde ise (Tablo 4.11.) ayva meyve ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisini 20 mm zon çapı ile antibakteriyel etki gösterirken, ayva yaprak ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisine herhangi bir antibakteriyel etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir sonuç (Şekil 4.11.).

Etanol ayva ve ayva yaprak ekstrakt sonuçları incelendiğinde (Tablo 4.12.) ayva meyve ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisine karşı 11 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahipken, ayva yaprak ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisine karşı 12 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12.).

Etil asetat ile elde edilen ayva ve ayva yaprak ekstraktları incelendiğinde ise (Tablo 4.13.) ayva meyve ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisine karşı 10 mm zon çaplı antibakteriyel elki göstermesine karşın, ayva yaprak ekstraktının *Escherichia coli* (25922) bakterisine karşı 18 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13.).

Tablo 4.14. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) bakteri neticesi.

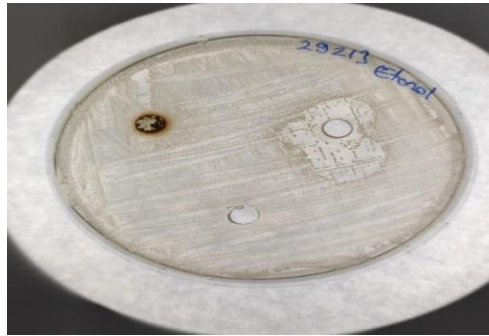
Bileşek ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	10
Ayva yaprak	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	-



Şekil 4.14. Ayva meyve ve ayva yaprak aseton ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) bakteri neticesi.

Tablo 4.15. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) bakteri neticesi.

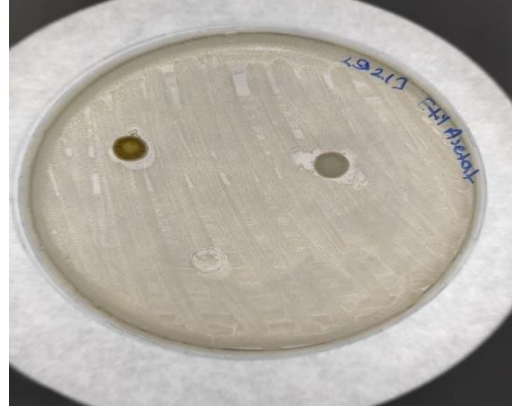
Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	17
Ayva yaprak	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	-



Şekil 4.15. Ayva meyve ve ayva yaprak etanol ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) bakteri neticesi.

Tablo 4.16. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) bakteri neticesi.

Bileşen ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ayva meyve	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	11
Ayva yaprak	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	-



Şekil 4.16. Ayva meyve ve ayva yaprak etil asetat ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (29213) neticesi.

Aseton ayva ve ayva yaprak ekstrat sonuçları ise (Tablo 4.14.) ayva meyve ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine karşı 10 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahipken, ayva yaprak ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine antibakteriyel bir etki göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4.14.).

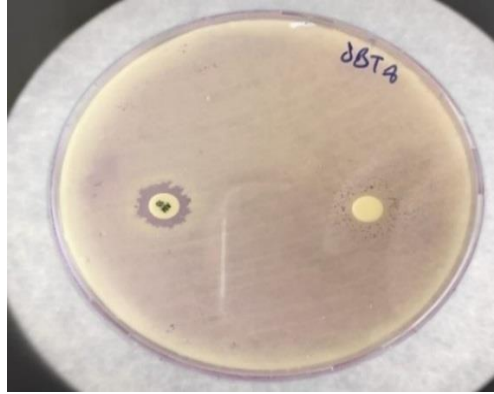
Etanol ayva ve ayva yaprak ekstraktları incelendiğinde (Tablo 4.15.) ayva meyve ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine karşı 17 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahipken, ayva yaprak ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine antibakteriyel etki göstermediği saptanmıştır (Şekil 4.15.).

Etil asetat ayva ve ayva yaprak ekstrakt sonuçları incelendiğinde ise (Tablo 4.16.) ayva meyve ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine karşı 11 mm zon çaplı antibakteriyel etkiye sahipken, ayva yaprak ekstraktının *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine karşı antibakteriyel sonuç verilmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.16.).

Antibiyotikler

Tablo 4.17. Ampisilin *Bacillus Cereus* bakterisine antibakteriyel neticesi.

Antibiyotik ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ampisilin	<i>Bacillus cereus</i> (SBT-8)	10

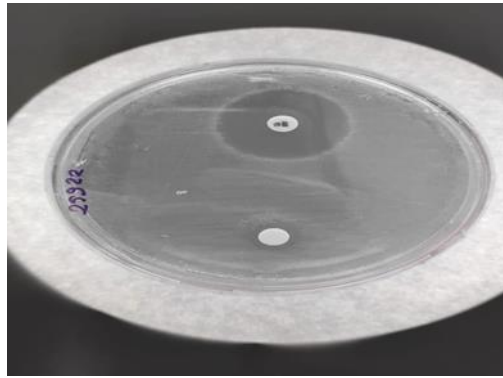


Şekil 4.17. *Bacillus Cereus* (SBT8) bakterisi Ampisilin antibiyotik neticesi

Bacillus cereus bakterisi Ampisilin antibiyotik ile test edilmiştir. Tablo 4.17.'de *Bacillus cereus* (SBT8) ampisilin antibiyotiğinde 10 mm çapında inhibisyon gözlemlendiği belirlenmiştir (Şekil 4.17.).

Tablo 4.18. Ampisilinin *Escherichia coli* bakterisine antibakteriyel neticesi

Antibiyotik ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ampisilin	<i>Escherichia coli</i> (25922)	22

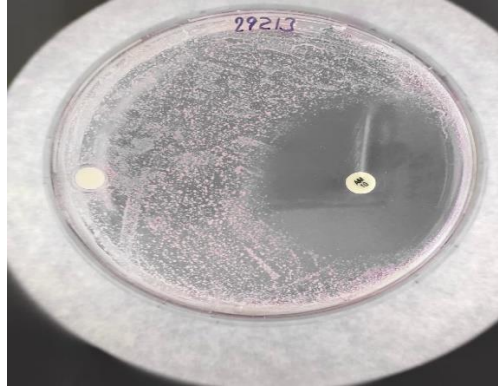


Şekil 4.18. *Escherichia Coli* (25922) bakterisi ampisilin antibiyotik neticesi

Escherichia coli bakterisi Ampisilin antibiyotiğine karşı incelendi. Tablo 4.18.'de ampisilin *E. coli* (25922) bakterisinde 22 mm çapında inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.18.).

Tablo 4.19.Ampisilinin *Staphylococcus aureus* bakterisine antibakteriyel neticesi

Antibiyotik ismi	Bakteri ismi (ATCC)	zon çapı (mm)
Ampisilin	<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	48



Şekil 4.19. *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisi ampisilin antibiyotik neticesi

Ampidilinin *Staphylococcus aureus* bakterisine antibiyotik etkisi test edilmiştir. Tablo 4.19.'da *S. aureus* (29213) bakterisi ampisilin antibiyotiği ile 48 mm çapında bir inhibisyon antibiyotik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.19.).

Tüm antibakteriyel sonuçlar değerlendirildiğinde Tablo 4.20. 'de görüldüğü üzere, test edilen tüm ayva ekstraktları arasında, ayva meyvesinin aseton ekstraktının tüm test edilen bakterilere karşı inhibisyon çaplarının 10 ila 20 mm arasında değişen inhibisyon etkisi göstererek en iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.20. İncelenen ekstraktların ve standard antibiyotiğin mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkilerinin mm olarak çapları.

Bakteri adı	Aseton		Etanol		Etil asetat		Ampisilin
	A.M	A.Y	A.M	A.Y	A.M	A.Y	
<i>Bacillus cereus</i> (SBT8)	16	11	15	1	-	-	10
<i>Escherichia coli</i> (25922)	20	-	11	12	0	18	22
<i>Staphylococcus aureus</i> (29213)	10	-	17	-	11	-	48

BÖLÜM 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre; dünya nüfusunun büyük 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 [127].

Bugün şifalı bitkilerin kökü,yaprak, çiçek, meyve gibi kısımlardan alınan özler, birçok tıbbi ilacın ana bileşenini oluşturmaktadır [128]. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROT), yaşam boyu vücudumuzda gelişen metabolik olaylar sırasında meydana gelir. Oksidatif stres, ROT üretimi ile antioksidan savunma arasında dengeyi bozar ve oksidatif hasara neden olur bu, antioksidan savunma mekanizmalarının (A, C, E, glutatyon, ubikinon, flavonoidler vb.) enzimatik (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon 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 [129].

Oksidasyonu önleyen veya geciktiren bir madde antioksidan olarak bilinir [125, 126]. 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 hastalıklara yakalanma riskini azalttığını ve önlediğini çeşitli araştırmalar göstermiştir [130 - 133].

Bu çalışma ile Sakarya'da yetişen ayva ve ayva yapraklarının farklı çözücüler yardımıyla antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bu etkilerinin antioksidan

aktiviteleri, üç farklı antioksidan analiz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir ve bu yöntemler; DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi, demir iyonları şelatlama kapasite ve indirgenme kapasitesi yöntemleridir. Etanol, etil asetat ve aseton kullanılarak çözülen ayva meyvesi ve ayva yaprağı üç farklı yöntemle antioksidant özellikleri kıyaslanmıştır.

Sonuçlara göre DPPH, indirgenme kapasitesi ve demir şelatlama yöntemleri ayva meyvesinin etanol ekstraktının en yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. (DPPH için; % 95,28, Demir şelatlama için; %57,85, İndirgenme kapasitesi için; 3,88 mg/mL).

Ayrıca, DPPH ve indirgeme kapasitesi yöntemleri etil asetat ayva yaprak ekstraktı en yüksek değerleri gösterirken, demir şelatlama'da ayva meyvesi en yüksek değeri göstermiştir. Ayva yaprak için DPPH %88,83, İndirgenme kapasitesi 3,91mg/mL ve ayva meyve için Demir şelatlama %32,56 olarak belirlenmiştir.

Ayrıca ,DPPH ve demir şelatlama yöntemlerinde aseton ayva meyve ekstraktının en yüksek antioksidan değer gösterirken, indirgenme kapasitesi yöntemi ile ayva yaprak ekstraktının en yüksek antioksidan değere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayva meyve için DPPH %94,63, demir şelatlama %68,25 ve ayva yaprak için indirgenme kapasitesi 3,78 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Ayrıca, etanol, etil asetat ve aseton kullanılarak elde edilen ayva ve ayva yaprağı ekstraktlarının antibakteriyel özellikleri üç farklı bakteriye (*Escherichia coli* (25922), *Bacillus cereus* (SBT8) ve *Staphylococcus aureus* (29213)) karşı incelenmiştir.

Sonuçlara göre etanol ekstraktlarında; *Staphylococcus aureus* (29213) (17 mm inhibisyon çapı) bakterilerinde ayva meyvesi en yüksek değerleri gösterirken, *Bacillus cereus* (SBT8) (15 mm inhibisyon çapı) bakterilerinde ayva meyve ve ayva yaprak aynı değere sahip oldukları belirlenmiştir.

Ayrıca çözücü olarak aseton kullanıldığında ; *Escherichia coli* (25922) (20 mm zon çapı), *Bacillus cereus* (SBT8) (16 mm zon çapı) bakterilerinde ayva meyve ekstresinin antibakteriyel etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çözücü olarak etil asetat kullanıldığında; *Escherichia coli* (25922) (18 mm zon çapı) bakterilerin ayva yaprak ekstraktının en yüksek antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Ayva yaprak ekstreleri *Staphylococcus aureus* (29213) bakterisine herhangi bir etki veya antibakteriyel aktivite göstermediği tespit edilmiştir.. Bu çalışma sonucunda en iyi olarak ayve meyve aseton ekstresinin tüm test edilen bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

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 Üniversitesi, 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, 2006a.
- [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, Mimosza Yayınları, Konya, 978-975-543-038-6, 1995.
- [18] Bergendı, L., Benes, L., Durackova, Z., Ferencık, 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, 2016a.
- [21] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Free radicals in biology and medicine, 3rd ed., Oxford Science Publications, 978-0198500452, 2001.
- [22] Winston G. W., Oxidant and Antioxidants, in *Aquatic Animals*, *Comp. Biochem.Phys.*, 100, 173-176, 1991.
- [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 Foodn 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] Krishnaiah D., Sarbatly R. ve Nithyanandam R., A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89, 217- 233, 2011.
- [37] Elmastaş M. ve Gerçekçiöğlü R., Bazı üzüksü meyve türlerinin antioksidan aktiviteleri, II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu ve Tokat Bildiriler Kitabı, 295-298, 2006.

- [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 soğansı 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., Bayraktaroğlu, M., Doğan, O.V., Yörükoğlu, Y., Yücel, E., Kösebalaban, Ş., 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/>, Erişim 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.

- [51] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237, 1999.
- [52] Acar, J., Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri. *Gıda Kimyası*, Ed: Saldamlı, İ., Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 435-452, 1998.
- [53] Dimitrios, B., Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505-512, 2006.
- [54] Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., and Exon, J. H., A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 161-183, 2006.
- [55] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., And Jiménez, L., Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306, 2005.
- [56] Fernandez-Panchon, M.S., Villano, D., Troncoso, A.M., and Garcia-Parrilla, M.C., Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 649-671, 2008.
- [57] K. E. Heim, R. Tagliaferro, D. J. Bobilya, "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584, 2002.
- [58] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga, "Antioxidant properties of phenolic compounds", *Trends in Plant Science*, 2, 152-159, 1997.
- [59] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga, "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956, 1996.
- [60] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, P. G. Bolwell, P. M. Bramley, J. B. Pridham, "The relative activities of plant-derived polyphenolic flavonoids", *Free Radical Research*, 22, 375-383, 1995.
- [61] H. Keskin, G. Erkmen, 'Besin Kimyası', Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul, 1987.
- [62] E. Cadenas, L. Packer, "Handbook of Antioxidants", Marcel Dekker, Second Edition, New York, 0-8247-0547-5, 2002.
- [63] G. Cao, E. Sofic, R.L. Prior, "Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships", *Free Radical Biology & Medicine*, 22, 749-760, 1997

- [64] S. Burda, W. Oleszek, "Antioxidant and antiradical activities of flavonoids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779, 2001.
- [65] Shahidi, F., Wanasundara, P., K., J., "Phenolic antioxidants", *Critical Review of Food Science and Nutritional*, 32, 67-103, 1992.
- [66] Mora, M. Paya, J. L. Rios, M. J. Alcaraz, "Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of nonenzymic lipid peroxidation", *Biochemistry and Pharmacology*, 40, 793-797, 1990.
- [67] S. Pannala, T. S. Chan, P. J. O'brien, C. A. Rice-Evans, "Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics, *Biochemistry*", *Biophysics Research Communication*, 282, 1161-1168, 2001.
- [68] S. Burda, W. Oleszek, "Antioxidant and antiradical activities of flavonoids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779, 2001.
- [69] R. J. Williams, J. P. E. Spencer, C. Rice-Evans, "Flavonoids: Antioxidants or Signaling Molecules", *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 838-849, 2004.
- [70] Oliveira, P. A., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valenta, P., Seabra, M. R. And Silva, B. M. Organic acids composition of *Cydonia Oblonga* Miller leaf. *Food Chem.*, 111,393-399, 2008.
- [71] Vinson, J. A., Su, X., Zubik, L. And Bose, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5315-5321, 2001.
- [72] Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E. and İsfendiyaroğlu, M., *İlman İklim Meyve Türleri*, 2.Cilt. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:556, İzmir, 200, 2004.
- [73] Anonymous, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Web sitesi: <http://faostat.fao.org/default.aspx>, Erişim Tarihi: 16.03.2010.
- [74] Gül, M. Ve Akpınar, M. G., Dünya ve Türkiye meyve üretimindeki gelişmelerin incelenmesi. *Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1),15-27, 2006.
- [75] Silva, B. M., Casal, S., Andrade, P. M., Seabra, R. M., Oliveira. M. B. and Ferreira, M. A. Development and evaluation of a GC/FID method for the analysis of free amino acids in quince fruit and jam. *Analy. Sci.*, 19, 1285-1290, 2003.
- [76] Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N. And Soyer, Y., Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *J. Agric. Forestry*, 29, 297-303, 2005.

- [77] Silva, B. M., Andrade, P. M., Goncalves, A. C., Seabra, R. M., Oliveira, M. B. And Ferreira M. A., Influence of jam processing upon the contents of phenolics, organic acids and free amino acids in quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller). *Eur. J. Food. Res. Technol.*, 218, 385–389, 2004.
- [78] Silva, B. M., Andrade, P. B., Martins, R. C., Valentao, P., Ferreres, F., Seabra, R. M. And Ferreira, M.A., Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit characterization using principal component analysis. *J.Agric.Food Chem.*, 53, 11-122, 2005.
- [79] Silva, B. M., Andrade, P. B., Ferreres, F., Domingues, A. L., Seabra, R. M. And Ferreira, M. A., Phenolic profile quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (Pulp and Peel). *J.Agric. Food Chem.*, 50, 4615-4618, 2002a.
- [80] Açıkgöz, Ç. Ve Poyraz, Z., Extraction and characterization of pectin obtained from quince (*Cydonia vulgaris* Pers.). *Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12, 27-34, 2006.
- [81] Kuzucu, C. F. And Sakaldaş, M., The effect of different harvest times and packaging types on fruit quality of *Cydonia Oblongo* cv. 'EŞME'. *J.Agric. Fac.HR.U.*, 12(3),33-39, 2008.
- [82] Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M.D. And Vallejo, N., Thermodynamic analysis of experimental sorption isotherms of loquat and quince fruit. *J. of Food Eng.*, 88,514-521, 2008.
- [83] Silva, B. M., Andrade, P. B., Mendes, G. C., Seabra, R. M. And Ferreira, M. A., Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam. *J.Agric. Food Chem.*, 50, 2313-2317, 2002b.
- [84] Prior, R. L., Wu, X. and Scaich, K., Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53(8),3110-3113, 2005.
- [85] Rival, S.G., Boerriu, C.G., Wichers, H.J, “Caseins and casein hydrolysates antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition”, *J. of Agricul. and Food Chem.*, 49, 295-302, 2001.
- [86] Gülçin, İ., “Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)”, *Toxicol.*, 217, 213-220, 2005.
- [87] Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M., “Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system”, *Free Radical Bio and Med.*, 24, 1355-1363, 1998.
- [88] Mathew, S. And Abraham, T.E., “Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models”, *Food Chem.*, 94, 520-528, 2006.

- [89] Sudan, R., Bhagat, M., Gupta, S., Singh, J., & Koul, A., Iron (FeII) chelation, ferric reducing antioxidant power, and immune modulating potential of *Arisaema jacquemontii* (Himalayan Cobra Lily). Hindawi Publishing Corporation, Bio Med Research International, 1-7, 2014.
- [90] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant acitivity, *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie/ Food Science and Technology*, 28, 25-30, 1995.
- [91] Ionita, P., Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?, *Chemical Papers*, 59, 11-16, 2005.
- [92] Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 26, 211-219, 2004.
- [93] Birnboim, H. C., Kanabus-Kaminska, M., The production of DNA strand breaks in human leukocytes by superoxide anion involve a metabolic process. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82, 6820-6824, 1985.
- [94] Akkuş, İ., Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 157 s, 1995.
- [95] Soares, J. R., Dıns, T. C. P., Cunha, A. P., Ameıda, L. M., Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, *Free Radical Research*, 26, 469-478, 1997.
- [96] Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856, 2005.
- [97] Snieszko, S. F., The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *Journal of Fish Biology*, 6(2): 197-208, 1974.
- [98] Baytop T, Türkiye de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün), İstanbul Üniversitesi, p, 1984.
- [99] Pişkin Ç., Lamiaceae familyasına mensup bazı baharat bitkilerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.
- [100] Borchardt Jr, Wyse Dl, Sheaffer Cc, Kauppi Kl, Ehlke Rgfnj, Biesboer Dd, Bey Rf, Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of medicinal plants research*, 2, 5, 098-110, 2008.
- [101] Tüney İ, Cadirci Bh, Ünal D, Sukatar A, Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 30, 3, 171-5, 2006.

- [102] Sagdic O, Karahan A, Ozcan M, Ozkan G, Note: effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International*, 9, 5, 353-8, 2003.
- [103] Adzitey, F., Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry. *World's eVterinary Journal*. 5(3):36-41, 2015.
- [104] Aminov RI., A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*., 1:1 – 5, 2010.
- [105] Oloke JK., Activity pattern of natural and synthetic antibacterial agents among hospital isolates. *Microbios.*, 102:175 – 181, 2000.
- [106] Bugg, T.D.H., Braddick, D., Dowson, C.G., Roper, D.I., Bacterial cell wall assembly: Still an attractive antibacterial target. *Trends in Biotechnology*, 2011, <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.12.006>.
- [107] Chung, Y., Su, Y., Chen, C., Jia, G., Wang, H., Wu, J. C. G., Lin, J., Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacologica Sinica* 25(7): 932–936, 2004.
- [108] Newton BA., Mechanisms of antibiotic action. *Annual Review of Microbiology*, 19:209- 240, 1965.
- [109] Shinomiya, F., Hamauzu, Y., & Kawahara, T. Anti-allergic effect of a hot-water extract of quince (*Cydonia oblonga*). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(8), 1773-1778, 2009.
- [110] Szychowski, P. J., Munera-Picazo, S., Szumny, A., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Hernández, F. Quality parameters, bio-compounds, antioxidant activity and sensory attributes of Spanish quinces (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 165, 163-170, 2014.
- [111] Trigueros, L., Pérez-Alvarez, J. A., Viuda-Martos, M., & Sendra, E. Production of low-fat yogurt with quince (*Cydonia oblonga* Mill.) scalding water. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1388-1395, 2011.
- [112] Silva, B. M., Andrade, P. B., Mendes, G. C., Seabra, R. M., & Ferreira, M. A. Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2313-2317, 2002.
- [113] Dmis 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.

- [114] Blois M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199–1200, 1958.
- [115] Oyaizu, M., Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307- 315, 1986.
- [116] EUCAST(2019)Disk DiffusionMethodforAntimicrobialSusceptibilityTesting. Version7.0 (January 2019).
- [117] Şerbetçi H., Meyan (*Glycyrrhiza Glabra L.*) bitkisinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.
- [118] Özçelik, Oxidant and antioxidant status of cadmium administired rats, *Journal de physique* 107, 1309-1312, 2003.
- [119] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30, 1995.
- [120] Wojdylo, A., Oszmiański, J., & Bielicki, P. Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(11), 2762-2772, 2013.
- [121] Hamauzu, Y., Inno, T., Kume, C., Irie, M., Hiramatsu, K., & Yasui, H. Some health beneficial properties of phenolics from Chinese quince, quince and apple. In I International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables, 744, 417-424, 2005.
- [122] Manabe, T., & Kadowaki, R. Some physico-chemical properties for non edibility of Chinese quince (*Chaenomeles sinensis* Koehne). *Bull Hiroshima Pref Univ*, 9, 103-109,1998.
- [123] Magalhães, A. S., Silva, B. M., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., & Carvalho, M. Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human, 2009.
- [124] İşbilir, Ş.S., Yaprakları salata ve baharat olarak kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.
- [125] Gülçin, İ., “Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine”, *Life Sciences*, 78, 803-811, 2006.

- [126] Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*:3-O-(β Dglucopyranosyl)-hederagenin, *Phyther. Res.*, 20, 130-134, 2006.
- [127] Atalay, D., Erge, H.S., Gıda takviyeleri ve sağlık üzerine etkileri, *Food and Health*, 4 (2), 98-111, 2018.
- [128] Kurt, P., Karaoğul, E., Bartın'da aktarlarda satılan tıbbi aromatik bitkiler ve ülkemizdeki pazar payları, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 73-80, 2018.
- [129] Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C., Diabetes mellitus ve oksidatif stres, *Türk Biyokimya Dergisi/Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2), 51-56, 2006.
- [130] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S., Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract, *Food Chemistry*, 96 (2), 254-260, 2006.
- [131] Wolfe, K.L., Liu, R.H., Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (22), 8896-8907, 2007.
- [132] Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R., Saura-Calixto, F., Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (11), 5489-5493, 2001.
- [133] Liu, R.H., Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (3), 517-520, 2003.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Inam Muayad Abdumaged Al-SABBAGH

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniveresitesi /Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Bölümü	Devem ediyor
Lisans	Samara Üniversitesi / Fen Fakültesi / Kimya	2015
Lise	Alşeyma Lisesi	2011

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2021-Halen	Sakarya Üniversitesi	Araştırmacı
2015-2020	Alhayat okul(lisesi) öğrenciler	Kimya öğretim

YABANCI DİL

Arapça	Ana dil seviyesi
İngilizce	Orta seviye
Türkçe	İyi seviye

HOBİLER

Turizm, Okuma, Dil öğrenme