



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**YAYLA ÜVEZİ (*SORBUS SUBFUSCA (LEDEB. EX NORDM.) BOİSS.*)
EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selahattin KOCABAŞ

**MART 2021
GÜMÜŞHANE**

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

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**YAYLA ÜVEZİ (*SORBUS SUBFUSCA (LEDEB. EX NORDM.) BOİSS.*)
EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**



Selahattin KOCABAŞ

**Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarihi: 15.02.2021
Tezin Sözlü Savunma Tarihi: 03.03.2021**

MART 2021

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda, tezin yazımına ait kurallara uygun olarak hazırladığım “Yayla Üvezi (*Sorbus subfusca* (Ledeb. Ex. Nordm.) Boiss.) Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi” isimli yüksek lisans tezi çalışmasında; söz konusu tüm bilgi ve belgeleri genel akademik kurallara göre elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 01/04/2021

Selahattin KOCABAŞ

ÖZET
YÜKSEK LİSANS

**YAYLA ÜVEZİ (*SORBUS SUBFUSCA (LEDEB. EX NORDM.) BOİSS.*)
EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Selahattin KOCABAŞ

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fevzi TOPAL

2021, 85 sayfa

Bu çalışmada Gülgiller (*Rosaceae*) familyasına ait olan yayla üvezinin (*Sorbus subfusca*) liyofilize edilmiş su ve evapore edilmiş etil alkol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yayla üvezini (*Sorbus subfusca*) ülkemizde sadece Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan endemik bir bitkidir. Dünya'da ise sadece Asya Bölgesi'nde 4-5 ülkede kendine yer bulmuştur.

Yayla üvezinin (*Sorbus subfusca*) antioksidan ve radikal giderme aktivitelerini değerlendirmek için Cu^{2+} - Cu^{+} indirgeme kapasitesi (CUPRAC metodu), Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme

aktivitesi, FRAP indirgeme kapasitesi, Bipiridil metal şelatlama aktivesi, 2,2-Azino-bis (3- etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali giderme aktivitesi, DMPD radikali giderme aktivesi, total antioksidan aktivitesi, total fenolik bileşik miktarı ve total flavonoit bileşik miktarı tayinleri yapılmış olup, BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks referans antioksidan olarak kullanılıp karşılaştırma yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evapore edilmiş etil alkol ekstralarının düşük indirgeme kapasitesi içinde olduğu gözlemlenmiştir. Standart antioksidanlarla kıyaslandığında, yine düşük aktivite gözlenmiştir. Radikal giderme metotlarında da ekstraların standart antioksidanlardan daha düşük radikal giderme aktiviteleri gözlenmiştir. Hem indirgeme kapasitesi hem de radikal giderme aktivitelerinde evapore edilen alkol ekstralarının liyofilize edilmiş su ekstralarına göre daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer metotların aksine ekstraların bipiridil metal şelatlama aktivitesinin, standart antioksidanlarla mukayese edildiğinde daha yüksek aktivitede olduğu gözlenmiştir.

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evapore edilmiş etil alkol ekstralarının ve standart antioksidanların $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonda bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdeleri yayla üvezi-su %75.18, yayla üvezi-alkol %68.73, Troloks %12.53, α -tokoferol %20.92, BHA %45.96, BHT %66.54 ve EDTA için %90.88 olarak tespit edilmiştir. Yine yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evapore edilmiş etil alkol ekstralarının ve standart antioksidanların $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonda linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri; yayla üvezi-su %70.93, yayla üvezi-alkol %82.63, α -tokoferol %91.26, troloks %98.00, BHA %98.67 ve BHT için %99.00 olarak sıralanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, fenolik içerik, radikal giderme, indirgeme kapasitesi

ABSTRACT
MS THESIS

DETERMINATION of ANTIOXIDANT CAPACITIES of EXTRACTS of
SORBUS SUBFUSCA (LEDEB. EX. NORDM.) BOISS.

Selahattin KOCABAŞ

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Fevzi TOPAL

2021, 85 pages

In this study, antioxidant activities of lyophilized water and evaporated ethyl alcohol extracts of (*Sorbus subfusca*) belonging to the *Rosaceae* family were evaluated. *Sorbus subfusca* is an endemic plant found only in the Eastern Black Sea Region in our country. In the World, it has been found in only 4-5 countries of the Asian Continent.

Sorbus subfusca to evaluate the antioxidant and radical removal activities of Cu^{2+} - Cu^+ reduction capacity (CUPRAC method), Fe^{3+} - Fe^{2+} reduction capacity, 1,1-Diphenyl 2-pikril hidrazil (DPPH) free radicals and removing the activity of the frap reducing capacity, Bipiridil metal chelating activity, and 2,2-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonic acid) (ABTS) radical removal activity, DMPD radical removal activity, total antioxidant

activity, the amount of total flavonoid total phenolic compound amount and compound determinations are made, BHA, BHT, α -tocopherol and trolox were used as reference antioxidants and compared.

Sorbus subfusca used in the study was observed to have a low reduction capacity of lyophilized water and evaporated alcohol extracts. Compared to standard antioxidants, low activity was observed again. Radical removal methods also showed lower radical removal activities of extracts than standard antioxidants. It was found that alcohol extracts evaporated in both reduction capacity and radical removal activities showed better antioxidant activity than lyophilized water extracts. Unlike other methods, it has been observed that the bipyridyl metal chelating activity of extracts is higher in activity compared to standard antioxidants.

Metal chelating activity percentages of lyophilized water and evaporated ethyl alcohol extracts of *Sorbus subfusca* and evaporated ethyl alcohol extracts and standard antioxidants at a concentration of $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ with bipyridyl reagent were 75.18% in *Sorbus subfusca*-water, 68.73% in *Sorbus subfusca*-alcohol, 12.53% in Trolox, 20.92% in α -tocopherol. It was determined as 45.96% for BHA, 66.54% for BHT and 90.88% for EDTA. Again, the percentage of lyophilized water and evaporated ethyl alcohol extracts of *Sorbus subfusca* and evaporated ethyl alcohol extracts and linoleic acid emulsion at a concentration of $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ to inhibit peroxidation was 70.93% in *Sorbus subfusca*-water, 82.63% in *Sorbus subfusca*-alcohol, 91.26% in α tocopherol, 98.00% in trolox. BHA was 98.67% and 99.00% for BHT.

Keywords: Antioxidant activity, phenolic content, radical scavenging, reducing capacity

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması kapsamında yapılmış olan deneyler, Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarlarında gerçekleşmiştir.

İlk olarak çalışmalarında her zaman yanımda olan, her türlü desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Gıda Mühendisliği bölüm başkan yardımcımız ve danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fevzi TOPAL'a, yine bölümümüzün her türlü imkânlarını bizlerle paylaşan bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Bilge BAHAR'a, çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen hep yanımda olan Doç. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA'ya ve Doç. Dr. Meryem TOPAL'a,

Yayla Üvezi'nin isminin belirlenmesinde yardımcı olan Erzincan Binali YILDIRIM Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e,

Eğitim hayatım boyunca bana hep destek veren ve hep yanımda olan babam Cengiz KOCABAŞ, annem Hakime KOCABAŞ ve canım kardeşim Mert KOCABAŞ'a laboratuvar çalışmaları sürecinde yardımcı olan kıymetli arkadaşlarım Adem İKTÜ, Gizem Coşkun ve Ebubekir ÖZLER'e, teşekkürlerimi sunarım.

Selahattin KOCABAŞ

Gümüşhane, 2021

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Serbest Radikaller ve Vücut İçindeki Etkileri.....	1
1.2. Antioksidanlar ve Serbest Radikaller Üzerine Etkileri	11
1.3. Fenolik Bileşikler	21
1.4. Yavla Üvezi (<i>Sorbus Subfusca</i>)	24
1.5. Çalışmanın Amacı.....	26
2. KAYNAK ÖZETLERİ	29
3. MATERYAL ve METOT.....	34
3.1. Materyal	34
3.1.1. Bitki Materyali	34
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar	34
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	35
3.1.3.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler.....	35
3.1.3.2. Total Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler	35
3.1.3.3. Cuprac Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler.....	35
3.1.3.4. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler	35
3.1.3.5. FRAP İndirgeme Metodu ile İlgili Çözeltiler	36
3.1.3.6. DPPH· Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler.....	36
3.1.3.7. DMPD ⁺ Giderme Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler	36
3.1.3.8. ABTS ⁺ Giderme Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler.....	37
3.1.3.9. Bipiridil Metal Şelatlama Metodu ile İlgili Çözeltiler	37
3.1.3.10. Total Antioksidan Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler	37
3.2. Metot	38

3.2.1.	Yayla üvezi (<i>Sorbus subfusca</i>) Meyvesinin Liyofilize Edilmiş Su ve Evaporate Edilmiş Etil Alkol Ekstrelerinin Hazırlanması.....	38
3.2.2.	Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	38
3.2.3.	Total Flavonoit Miktarı Tayini	39
3.2.4.	Cu^{2+} - Cu^+ İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC Metodu).....	39
3.2.5.	Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi.....	39
3.2.6.	FRAP İndirgeme Kapasitesi	39
3.2.7.	DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi	40
3.2.8.	DMPD ⁺ Radikal Giderme Aktivitesi.....	40
3.2.9.	ABTS Radikal Giderme Aktivitesi	40
3.2.10.	Bipiridil Metal Şelatlama Aktivitesi	41
3.2.11.	Total Antioksidan Aktivitesi.....	41
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	42
4.1.	Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Bulgular	42
4.2.	Total Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Bulgular	43
4.3.	Cu^{2+} - Cu^+ İndirgeme Kuvveti (Cuprac Metodu) Bulguları.....	44
4.4.	Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kuvveti Bulguları.	45
4.5.	Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) Bulguları.....	46
4.6.	DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları	47
4.7.	DMPD Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	49
4.8.	ABTS ⁺ Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	50
4.9.	Bipiridil Metal Şelatlama Aktivitesi Bulguları	51
4.10.	Total Antioksidan Aktivitesi Tayini ile İlgili Bulgular.....	52
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	54
6.	KAYNAKLAR	67
	ÖZ GEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Moleküler oksijenden ara ürünler oluşması	3
Şekil 1.2. Reaktif oksijen türlerinin antioksidan enzimler tarafından giderilmesi	3
Şekil 1.3. Bazı sentetik antioksidanların açık yapıları.....	14
Şekil 1.4. Tokoferol ve tokotrienollerin sınıflandırılması	16
Şekil 1.5. C vitaminin kimyasal yapısı ve enolat formu.....	20
Şekil 1.6. <i>Sorbus subfusca</i> 'nın dünya üzerindeki yayılışı.	25
Şekil 1.7. <i>Sorbus subfusca</i> 'nın meyve görünümü	26
Şekil 1.8. <i>Sorbus subfusca</i> 'nın çiçeklenme evresinde ki görünümü.	26
Şekil 4.1. Total fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik	42
Şekil 4.2. Total flavonoit miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart grafik.....	43
Şekil 4.3. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstratlarının farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 µg mL ⁻¹) kuprik iyonlarını (Cu ²⁺) indirgeme aktivitelerinin sentetik antioksidan olan BHT, BHA, troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırması	44
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 µg mL ⁻¹) yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstratlarının ferrik iyonlarını (Fe ³⁺) indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) ile karşılaştırması	45
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstraksiyonlarının, FRAP metoduna göre indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	46
Şekil 4.6. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 µg mL ⁻¹) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	48
Şekil 4.7. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstratlarının farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 30 µg mL ⁻¹) DMPD ^{·+} giderme aktivitelerinin sentetik antioksidan olan troloks ve BHA ile mukayese edilmesi.....	49

Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki yayla üvezinin liyoflize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 10, 20 ve 30 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ABTS ⁺ giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	50
Şekil 4.9. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ekstresi ile evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının, BHA, BHT, α -tokoferol ve troloksun 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdeleri.....	51
Şekil 4.10. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki (20 $\mu\text{g mL}^{-1}$) standart antioksidan olan α -tokoferol, troloks, BHT ve BHA ile karşılaştırması	52
Şekil 5.1. Gallik asidin açık yapısı.....	56
Şekil 5.2. Kuersetinin açık yapısı	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. Reaktif azot türleri.....	7
Çizelge 1.2. Reaktif oksijen türleri.....	8
Çizelge 1.3. Bazı endojen ve ekzojen antioksidan kaynaklar.....	13
Çizelge 1.4. <i>Sorbus subfusca</i> taksonomi.....	25
Çizelge 4.1.Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 750 µg mL ⁻¹ konsantrasyonunda bulunan total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) ve total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivelen (GAE) olarak miktarları	44
Çizelge 4.2.Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 20 µg mL ⁻¹ konsantrasyonda sırasıyla kuprik (Cu ²⁺) iyonlarını ve ferrik iyonlarını (Fe ³⁺) indirgeme kapasitelerinin ve FRAP metoduna göre ferrik iyonlarını (Fe ³⁺) indirgeme kapasitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırılması.....	47
Çizelge 4.3.Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının DPPH [·] , ABTS ^{·+} , DMPD ^{·+} ve radikali giderme aktivitelerinin IC ₅₀ değerlerinin sentetik antioksidan olan BHT, BHA, troloks ve α-tokoferol ile mukayese edilmesi	49
Çizelge 4.4.Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının ve standart antioksidan bileşiklerin linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme yüzde miktarları	53
Çizelge 5.1.Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdelerinin standart antioksidanlar ile mukayese edilmesi.....	64

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
DMPD ⁺	: N,N-Dimetil-fenilendiamin radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorik asit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
KE	: Kuersetin eşdeğeri
g	: Gram
Kg	: Kilogram
LOOH	: Lipit hidroperoksit
IC ₅₀	: Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
TCA	: Triklorasetik asit
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
Troloks	: 6-Hidroksi-2,5,7,8-tetramethilkroman-2-karboksilik asit
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzttiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS ⁺	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzttiyazolin-6-sülfonik asit) radikali

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Serbest Radikaller ve Vücut İçindeki Etkileri

Kimyasal bileşikler birden çok elementin aralarında ki bir bağ sayesinde meydana gelmektedir. Bu bağın etrafı negatif yüklü elektronlar ile çevrelenmiştir. Elektronlar düzenli halde olunca bileşik kararlı olur. Düzenli hal demek, bu elektronların çiftlenmiş halde olmasıdır (Gökpınar vd., 2006).

Çiftlenmemiş elektronu bünyesinde bulunduran bileşik ve elementlere serbest radikaller denir. Eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer (Gökpınar vd., 2006). Ayrıca herhangi bir molekülün bir parçası diye de ifade edilebilir. Serbest bir radikal elektriksel yük açısından pozitif, nötr ya da negatif olabilmektedir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Serbest radikaller üç şekilde oluşabilir:

- a) normal bir molekülün kovalent bir bağının homolitik bölünmesiyle, her bir kısım eşleştirilmiş elektronlardan birini kendisinde tutar,
- b) normal bir molekülden sadece bir elektron ayrılması sebebiyle,
- c) normal bir moleküle tek bir elektron transferi ile (Cheeseman ve Slater, 1993).

Serbest radikaller moleküllere saldırırken onlardan elektron çalar ve onları okside eder. Oluşan bu yeni molekül serbest radikal haline dönüşür. Canlı hücrenin zarar görmesiyle beraber devam eden birçok reaksiyon son bulur. Radikallerin en büyük zararı hücre zarıdır. Çünkü serbest radikaller hücre zarından elektron alır ve eşlenerek, hücre yapısını bozar. Organizmada oksijen kullanımıyla beraber radikallerin ortaya çıkması için gerekli ilk kıvılcım çıkmış olur. Atom veya molekülden ortaklanmamış elektron içerenler, hücrelerin zarar göreceği reaksiyonlar serisini başlatır (Gökpınar vd., 2006).

Vücudumuzda radikal oluşumu 2 tür olarak gerçekleşir. Bunlar metabolik reaksiyonlar ve dış faktörlerdir. Dış faktörler: yağlı beslenme, sağlıksız beslenmeyi alışkanlık haline getirme, sigara ve nargile içmek, alkol tüketimi, ilaç tedavileri, çevre kirliliği, ultraviyole ışık ve radyasyon gibi yollar olup artabilmektedir. Serbest radikaller vücudun otomatik savunma sistemi olan bağışıklık sistemini zayıflatır. Bunun sonucunda erken yaşlanma ve çeşitli hastalıklar meydana gelir (Gökpınar vd., 2006).

Koruyucu ozon tabakasının kalınlığının azalması ile canlıların UV ışığına maruz kalma riski her geçen gün artmaktadır. UV ışığı, biyomoleküllerle kimyasal reaksiyonlar başlatarak canlı organizmalara doğrudan zarar vermektedir. UV ışığına maruz kalan dokularda oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), fizikokimyasal süreçlerden kaynaklanan hasara da neden olabilmektedir (Sies ve Stahl, 2001). Singlet moleküler oksijen ve hidrojen peroksit, UV'ye maruz kalma ile oluşan en önemli ROS'dir (Pourzand vd., 1999). Karotenoidler, tokoferoller veya askorbat gibi diyet antioksidanlar fotooksidatif reaksiyonlara karşı koruma sağlamaktadır (Sies ve Stahl, 2001).

Serbest radikal biyokimyasının en önemli moleküllerinden biri olan oksijen, bazen bir di-radikal olarak kabul edilir. Oksijenin di radikal doğası, diğer birçok serbest radikal ile kolayca reaksiyona girmesine izin verir. Tepkilerini radikal biyokimyası açısından değerlendirirken, genellikle serbest radikallerden tek bir elektron alan basit bir molekül olarak düşünmek en basit yoldur (Cheeseman ve Slater, 1993).

Literatüre göre serbest radikaller protein, lipitler ve karbohidratlar gibi hücre bileşenlerini negatif yönde etkiler. Bunun sonucunda serbest radikaller DNA'da tahribata yol açar, ayrıca yararlı enzimleri de bozarak oksidatif hasarı meydana getirir. Vücuda verdiği bu zarar sonucunda astım, hipertansiyon, kanser, bronşit, tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, parkinson, yaşlanma, eklem ağrısı gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır (Mates ve Sanchez-Jimenez, 2000).

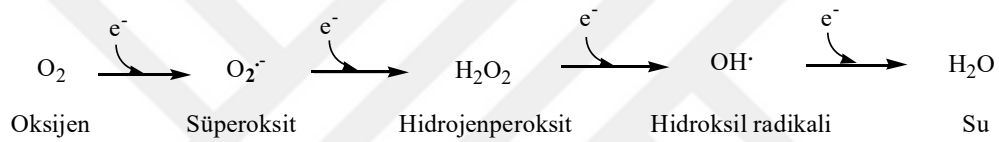
Artan kanıtlar, çeşitli dejeneratif hastalıkların gelişiminde serbest radikal aracılı hücre hasarına işaret etmektedir. Vücudun serbest radikal stresine ve peroksidatif hasara duyarlılığı, serbest radikal yükü ve antioksidan savunmanın yeterliliği arasındaki denge ile ilgilidir. Serbest radikal hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilen antioksidan seviyeleri, normal diyetlerden kolayca elde edilebilen alımlardan önemli ölçüde daha yüksektir (Diplock vd., 2001).

Canlıların hayatlarını idame ettirebilmeleri için oksijen şarttır. İndirgenme olayı herhangi bir elementin kimyasal tepkimede elektron almasıyla oluşur. Hücrelere çok büyük zararı olan ROS, eğer oksijen eksik indirgenirse bu indirgenme ile beraber oluşur. Yükseltgenme olayı ise oksidasyon olarak adlandırılır. Oksidasyon reaksiyonları demirin paslanmasına, patates cipsin bozulmasına, sütün ekşimesine ve özellikle yağ veya etin

kokmasına neden olur (Davies, 2000). Oksidasyon olayı gıdaların raf ömrünü belirlemede çok önemli bir konudur.

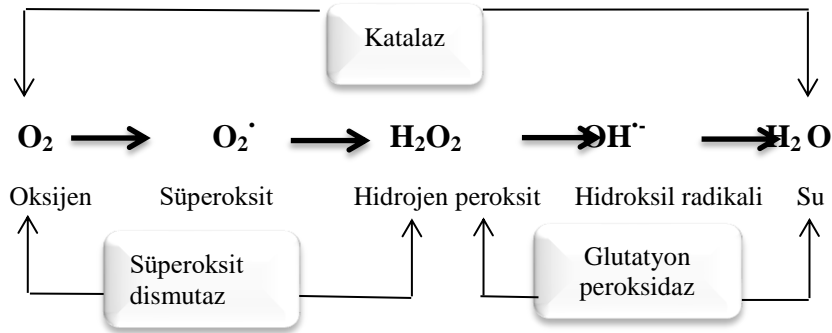
Hücre büyümesinde doğal olan oksijen tüketimi bir dizi reaktif oksijen türünün oluşumuna yol açar (Barros vd., 2007; Ak ve Gülçin, 2008). Soluduğumuz tüm oksijenin %95'inden fazlası, mitokondriyal elektron taşıma zincirinde sitokrom oksidaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonda su üretmek için uyumlu bir dört değerlikli indirgenmeye maruz kalır (Davies, 1995).

Bu indirgenmenin sonucunda oksijenin hepsi suya dönüşemediğinden dolayı bazı ara ürünler oluşur. Bunlar; hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalidir (Southorn, 1988; Öztürk Sarıkaya, 2009).



Şekil 1.1. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu (Topal, 2014)

Vücudun kendi içerisinde ürettiği katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim sistemleri; radikalleri kolay bir şekilde yok edebilecek kadar güçlüdür (Diplock, 1998). Lipit hidroperoksitler dâhil olmak üzere diğer peroksitler de bu enzimler için substratlar olarak işlev görebilir, bu nedenle lipit peroksidasyonundan kaynaklanan hasarın onarılmasında rol oynayabilir. Glutatyon peroksidazlar aktif bölgede selenyum gerektirir ve ciddi selenyum eksikliğinin varlığında eksiklik meydana gelebilir (Nakane vd., 1998).



Şekil 1.2. Reaktif oksijen türlerinin antioksidan enzimler tarafından giderilmesi (Öztürk Sarıkaya, 2009)

Kardiyovasküler hastalık, son dönemde böbrek yetmezliği olan hastalarda morbidite ve mortalitenin ana nedenidir. Artan serbest radikal üretimi ve antioksidan tükenmesi, bu hastalarda ateroskleroz (damar sertliği) riskinin artmasına neden olabilir. Glutasyon peroksidaz (GPX), plazma formu böbrekte sentezlenen önemli bir antioksidandır (Roxborough vd., 1999).

Hücreler içinde, en yüksek konsantrasyonlar karaciğerde bulunur, ancak glutasyon peroksidaz hemen hemen tüm dokulara yaygın olarak dağılır. Baskın hücre altı dağılımı sitozol ve mitokondrilerdedir, bu da glutasyon peroksidazın bu hücre altı kompartımanlardaki hidrojen peroksitin ana temizleyicisi olduğunu düşündürür. Enzimin aktivitesi, indirgenmiş glutasyonun sürekli mevcudiyetine bağlıdır (Holben ve Smith, 1999; Young ve Woodside, 2001).

Siyah çay, yeşil çay ve kahve dahil birçok yiyecek ve içecekte hidrojen peroksit üretilir. Hazır kahve özellikle H_2O_2 üretiminde etkilidir ve genellikle yüzlerce mikromolar aralıkta konsantrasyonlar oluşturur. Bu H_2O_2 , mevcut bazı fenollerin oksidasyonu ile ortaya çıkmaktadır (Hiramoto vd., 1998; Halliwell, 2001). Hidrojen peroksit, gıda endüstrisinde sterilize edici bir ajan olarak kullanılmıştır ve insan idrarında, çoğunlukla önemli miktarlarda tespit edilmiştir (Long vd., 1999).

NADPH kullanan (aldoz redüktaz yolu gibi) serbest radikaller ile mücadele eden herhangi bir enzim, indirgenmiş glutasyon eksikliğine yol açabilmektedir. Bu durum glutasyon peroksidazın etkisini bozabilir. Glutasyon redüktaz enzimi, flavin nükleotidine bağımlı olup, glutasyon peroksidaza benzer bir doku dağılımını bünyesinde bulundurmaktadır (Gibson vd., 1985; Young ve Woodside, 2001).

Katalaz, karakterize edilen ilk antioksidan enzimdir ve hidrojen peroksidin su ve oksijene iki aşamalı dönüşümünü katalize eder. Katalazın içinde olduğu bu reaksiyonların hız sabiti son derece yüksektir ($\sim 10^7$ M / sn). Katalaz, peroksizomlardaki hücrelerin içinde bulunur. Peroksizomlar hidrojen peroksit üreten enzimlerin çoğunu kendi bünyesinde bulundurur. En yüksek aktivite karaciğer ve eritrositlerde bulunuyor olsa da tüm dokularda bir miktar katalaz bulunur (Young ve Woodside, 2001). Katalaz, hem grubu içeren dört protein alt biriminden oluşur (Kirkman vd., 1987).

Süperoksit dismutazlar diye adlandırılan metalloenzimler, süperoksitin hidrojen perokside olan dismutasyonunu katalize eder. Hidrojen peroksit, katalaz veya glutasyon

peroksidazla uzaklaştırılır. Memeli dokularında her biri belirli bir hücre altı konuma ve farklı doku dağılımına sahip üç formda süperoksit dismutaz vardır:

a) bakır çinko süperoksit dismutaz

b) manganez süperoksit dismutaz

c) hücre dışı süperoksit dismutazdır (Young ve Woodside, 2001).

Bakır çinko süperoksit dismutaz (CuZn-SOD): Hemen hemen tüm memeli hücrelerinin sitoplazmasında ve organellerinde bulunur (Liou vd., 1993).

Manganez süperoksit dismutaz (MnSOD): Hemen hemen tüm hücrelerin mitokondrilerinde bulunur ve her biri tek bir manganez atomu içeren dört protein alt biriminden oluşur (Weisiger ve Fridovich, 1973).

Pro-oksidan, çeşitli patolojik olaylara veya hastalıklara neden olan, lipidlere, proteinlere ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olabilen toksik bir maddedir. Pro-oksidanlar, normal aerobik metabolik süreçlerin ürünleri olan reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) içerir. ROS ve RNS'nin hücelere zarar verebileceğine ve dolayısıyla hücresel işlev bozukluğuna ve hastalıklara sebep olabileceğine dair önemli kanıtlar vardır. Oksijen içeren bir ortamda hücrelerin varlığı ve gelişimi, enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri içeren karmaşık bir antioksidan savunma sistemi olmadan olamazdı. ROS ve RNS'yi doğrudan ve verimli bir şekilde söndürebilen çoğu düşük moleküler ağırlıklara sahip olan enzimatik olmayan antioksidanlar, vücudun antioksidan sisteminin önemli bir yönünü oluşturur (Prior ve Cao, 2001).

İnsan bedeninde oluşan endojen metabolik reaksiyonlar sonucunda yüksek derecede ROS oluşabilir. ROS vücudun solunum ve bazı hücre aracılı bağışıklık fonksiyonları gibi normal oksijen kullanımı ile sürekli olarak üretilirler. ROS, hidroksil radikalleri (OH[•]), süperoksit anyon radikalleri (O₂^{•-}) gibi serbest radikalleri ve tekli oksijen (¹O₂) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi serbest olmayan radikal türlerini içermektedir (Gülçin, 2006b; Ak ve Gülçin, 2008).

ROS, hücresel bileşenler tarafından etkili bir şekilde atılmazsa, hastalık koşullarına yol açar. ROS 100'den fazla hastalıkta rol oynamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Ak ve Gülçin, 2008). ROS doku hasarına yol açar, hücre ölümüne sebep olur ve

biyomolekülleri okside eder. ROS, oksijenli solunum yapan organizmaların tümünden oluşabilir ve lipitler, proteinler lipoproteinler hatta DNA dahil çok fazla biyomolekül ile kolay bir şekilde tepkimeye girebilir (Nordberg ve Arner, 2001; Gülçin, 2004). ROS'nin bir üyesi olan süperoksit radikali, dioksijenin azaltılmasında sık karşılaşılan bir ara maddedir ve H₂O₂ gibi canlı hücrelere bir tehdit oluşturur (Fridovich, 2006).

Alzheimer hastalığı, hafıza eksikliğine ve günlük yaşamda bazı davranış bozukluklarına yol açan nörodejeneratif bir hastalıktır (Lane ve He, 2013; Ekin vd., 2016). Beyin, dengesiz redoks durumlarından ve ROS'nin aşırı üretimi ile oksidatif hasardan etkilenen organlardan biridir. Bu oksidatif stres, Alzheimer patolojisinde kritik bir rol oynayan endojen antioksidan sistemin düzensiz çalışmasına sebep olmaktadır (Kim vd., 2015; Ekin vd., 2016).

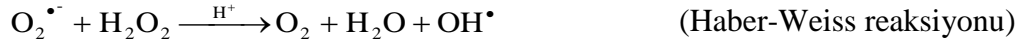
Diyet ve endojen antioksidanların, proteinlerin oksidatif modifikasyonuna karşı koruma sağladığına ve lens fonksiyonunun korunmasında rol oynadığına dair artan kanıtlar vardır. Oksidatif hasardan korunmak için birincil savunma askorbat, tokoferol, glutatyon ve karotenoidler gibi düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlardan oluşur; başlıca antioksidan enzimler süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz korumaya katkıda bulunur (Sies ve Stahl, 2001).

Hidroksil radikali (OH[•]) ile alakalı çalışmaların çoğu süperoksit dismutazın keşfinden önce radyasyon kimyagerleri tarafından yapılmıştır. Hidroksil radikalleri oldukça reaktif, oksijen merkezli bir radikaldir. Ayrıca tahmini ömrü sadece 10⁻⁹ saniyedir. Hidroksil radikalinin bir özelliği, başka bir radikal oluşturmasıdır, yani bir molekülle reaksiyona girdiğinde, bu reaksiyon sonucunda başka bir radikal türü oluşur. Elde edilen türler çok büyük oranda (OH[•])'dan daha düşük reaktiviteye sahiptir. Hidroksil radikalleri proteinlere, DNA'ya, membranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerine ve dokunduğu hemen hemen tüm biyolojik moleküllere saldırır (Aruoma, 1998).

Hidroksil radikalinin reaktivitesinden anlaşıldığı gibi, onu bir substrat olarak içeren hiçbir enzim sistemi mevcut değildir, ancak daha ziyade hücrenin tüm çabaları oluşumunu önlemeye yöneliktir. Hidrojen peroksit demir veya kuprik iyonlarla her temas ettiğinde "Fenton" reaksiyonunda hidroksil radikalleri oluşur (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Southorn, 1988).



Bu radikal ayrıca, hidroksil radikali, hidroksil iyonu oluşturmak için geçiş metali iyonlarının izleri varlığında hidrojen peroksit ve süperoksit anyon ve oksijen radikali arasındaki bir etkileşim olan demir-katalizli Haber-Weiss tipi bir reaksiyonla da oluşturulabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Southorn, 1988).



RNS, radikal olanlar ve olmayanlar şeklinde ikiye ayrılmıştır. Reaktif azot türleri toplam da on tanedir. İnorganik bileşik olan Nitrik oksit ve Azot dioksit dışındakiler radikal değildir. Ancak radikal olmayanlarında vücut içinde bazı zararları vardır. Bazı akut ve kronik iltihaplanma biçimlerinin, artmış nitrik oksit (NO \cdot) üretimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Nitrik oksit, spesifik membran reseptörleri gerektirmeyen, hızlı ve doğrudan hücre içi ortamlara yayılan kısa ömürlü, gazlı bir radikaldir (Schmidt ve Walter, 1994).

Çizelge 1.1. Reaktif azot türleri (Şerbetçi, 2007)

Radikaller	Formülü	Nonradikaller	Formülü
Azot dioksit	NO \cdot	Nitrozil katyonu	NO $^+$
Nitrik oksit	NO \cdot	Diazot tetraoksit	N $_2$ O $_4$
		Nitroksi anyonu	NO $^-$
		Peroksinitröz asit	ONOOH
		Peroksinitrit	ONOO $^-$
		Alkil peroksi nitritler	ROONO
		Nitröz asit	HNO $_2$
		Nitronyum katyonu	NO $_2^+$

Nitrik oksit, arginin'den enzimatik olarak oluşturulan bir hücre sinyal bileşiğidir ve kan damarı duvarlarındaki düz kasları gevşeterek kan basıncını düşürür. Birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer alan önemli bir hücre haberci molekülüdür. Ayrıca birincil bağışıklık savunmasına katkıda bulunan aktif makrofajlar tarafından üretilir. Aşırı NO \cdot sitotoksiktir. Doğrudan biyomoleküllerle reaksiyona girebilir veya peroksinitrit (ONOO $^-$) oluşturmak için O $_2^{\bullet-}$ ile birleşebilir (Hou vd., 1999; Gülçin, 2020).

Nitrik oksit (NO \cdot) serbest bir radikal olmasına rağmen, DNA'ya doğrudan saldırmak için muhtemelen yeterince reaktif değildir. Aksine, dinitrojen trioksit (N $_2$ O $_3$), nitröz asit

(HNO₂) ve peroksinitrit (ONOO⁻) DNA'nın deaminasyonuna ve nitrasyonuna yol açabilir (Halliwell, 2001).

Peroksinitrit (ONOO⁻), sadece lipoproteinlerde lipit peroksidasyonunu indüklemekle kalmaz, aynı zamanda proteinlerdeki tirozin kalıntılarını nitratlayarak hücrel sinyalleşmeyi de engelleyebilir (Packer, 1996; Gülçin, 2020). Oksitleyici özellikleri nedeniyle peroksinitrit; proteinler ve DNA da dahil olmak üzere hücrelerde çok çeşitli moleküllere zarar verebilir. Ayrıca, ONOO⁻ güçlü bir oksitleyicidir ve tirozin fosfatazlardaki sülfhidritler, çinko tiyolatlar, demir-sülfür merkezleri ve aktif bölge sülfhidril gibi elektronca zengin gruplarla doğrudan reaksiyona girebilir (Pacher vd., 2007; Gülçin, 2020).

Çizelge 1.2. Reaktif oksijen türleri (Şerbetçi, 2007)

Radikaller	Formül	Nonradikaller	Formül
Hidroperoksi	HOO [·]	Hipobromöz asit	HOBr
Alkoksi	RO [·]	Singlet oksijen	¹ O ₂
Süperoksit	O ₂ ^{-·}	Hipokloröz asit	HOCl
Peroksi	ROO [·]	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Hidroksi	OH [·]	Ozon	O ₃

Fotooksidatif reaksiyonlarda ışığa maruz kalan dokuların katarakt, sarı nokta hastalığı, cilt kanseri ve cilt yaşlanmasının oluşumu gibi çeşitli hastalıkların gelişimiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Sies ve Stahl, 2001). Katarakt, yaşa bağlı bir göz hastalığıdır. Lens proteinlerinin oksidasyonunun, kataraktlı lezyonların gelişiminde ve ilerlemesinde önemlidir. Lens içindeki fotokimyasal reaksiyonlarda oluşan ROS, zarar verici ajanlardır. Ek olarak, ROS önemli olan onarım enzimlerini modifiye edip, katarakt oluşumunu hızlandırabilir (Taylor ve Nowell, 1996).

ROS neredeyse iki tarafı keskin bir bıçak gibidir. ROS yüksek yoğunlukta olursa bu durumda oksidatif stres meydana gelmiş olur. Oksidatif stres bilindiği üzere hücre içinde zararlara yol açar. Şayet ROS düşük yoğunlukta olduğu zaman, stres tepkilerinde arabulucu olarak görev alır (Martin ve Barret, 2002; Gökpınar vd., 2006).

Süper oksit radikali diğer radikallere nazaran daha çok oluşmaktadır ve oluşumu daha kolaydır (Halliwell, 1989; Han, 2012). Buna karşın süperoksit dismutaz sayesinde hidrojen perokside dönüştürülmesiyle, vücut içinde daha az riskli bir radikaldir (Cadenas ve Packer, 1996; Han, 2012).

Bir reaktif oksijen olan hipokloröz asit (HOCl), bir enzim olan miyeloperoksidaz tarafından üretilir (Weiss, 1989; Aruoma, 1998). Bu Enzim, H₂O₂ varlığında, klorür iyonlarını (Cl⁻) okside eder (Kalyanaraman ve Sohnle,1985; Aruoma,1998). HOCl bir serbest radikal değildir, ancak güçlü bir klorlayıcı ve oksitleyici maddedir. Kolesterol klorohidrin oluşumu hücre zarlarını bozabilir. Bunun sonucunda hücre lizisine ve ölümüne yol açabilir. Bu gözlem temelinde, kolesterol klorohidrinlerin nötrofil/monosit aktivasyonu ile ilişkili oksidatif hasar için potansiyel biyobelirteçler olduğu ileri sürülmüştür (Carr vd., 1996; Aruoma, 1998). HOCl diğer birçok biyolojik moleküle saldırabilir (Travis ve Salvesen, 1983; Aruoma, 1998).

Singlet oksijen (¹O₂) radikal değil, yüksek oranda reaktif oksijendir ve ultraviyole ışınımın neden olduğu cilt hasarından ve fotodinamik tedavide sitotoksik anti-kanser etkisinden sorumludur. Fotodinamik terapi ve cilt fotoğrafisinde tümör hücrelerinde sitotoksik bir süreç neden olur. Önemli rollerine rağmen singlet oksijenin biyolojik etkileri tam olarak anlaşılammıştır (Homma vd., 2019; Gülçin, 2020). Yarı ömrünün, bulunduğu ortama bağlı olarak 10⁻⁶ s olduğu tahmin edilmektedir. Tekli oksijen, birden fazla hücrenel bileşenle reaksiyona girebilir, konjüge çift bağlarla reaksiyona girme tercihi çok fazladır ve bu nedenle hücrelerde DNA bazlarında çoklu doymamış yağ asitlerine veya guanine saldırır (Di Mascio vd., 2019; Gülçin, 2020).

ROS, hücre içi sinyal için büyük önem arz etmektedir. Bununla birlikte, aşırı ROS'nin üretimi oksidatif strese, hücre fonksiyon kaybına ve nihayetinde apoptoz veya nekroza yol açabilir. Bu nedenle, oksidan ve antioksidan hücre içi sistemler arasındaki bir denge, hücre fonksiyonu, regülasyonu ve çeşitli büyüme koşullarına adaptasyon için gereklidir (Nordberg ve Arner, 2001).

Hava kirliliğinin her geçen gün artmasıyla, havada bulunan ozon da belli oranda artmaktadır. Bu olay büyük bir risk oluşturmaktadır. Reaktif oksijen türü olan ozon, lipitleri oksitlemektedir (Diplock vd., 1998; Polat Köse vd., 2015; Gülçin, 2020).

ROS, tüm aerobik organizmalar tarafından oluşturulur ve bozular, bu da normal hücre fonksiyonu için gerekli fizyolojik konsantrasyonlara veya oksidatif stres adı verilen aşırı miktarlara yol açar. ROS terimi ima ettiği gibi, oksijen ara ürünlerinin hücre içi üretimi; proteinler de dahil olmak üzere çeşitli biyomoleküllerin bütünlüğünü tehdit etmektedir (Stadman ve Levine, 2000).

Peroksil radikali ($ROO\cdot$), biyolojik sistemlerde diğ er radikallere nispeten daha uzun ömürlüdür. Çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) bir H atomunun soyutlanmasıyla başlatılan lipit peroksidasyon iş leminde üretilebilir (Reaven ve Witzum, 1996; Gülç in, 2020). Lipit peroksidasyonunda üretilen diğ er ürünler, alkoksil radikalleri ($RO\cdot$) ve organik hidroperoksitlerdir (Diplock vd., 1998; Gülç in, 2020).

Travmatik beyin hasarı ve felç, demir iyonuna bağı lı serbest radikal reaksiyonlarının uyarılmasını iç erebilmektedir. Beynin arka tarafındaki “substantia nigra” diye adlandırılan kısımdaki hücrelerin ö lümü parkinson hastalığı na neden olur. Ö lü hücrelerin lizisi (parçalanması) demir iyonu salınımına neden olabilir. Bu nedenle, Parkinson hastalığı na sahip olan kişiler oksidatif stres altında olabilmektedir ve serbest radikal reaksiyonları muhtemelen substantia nigra'nın dejenerasyonuna katkı da bulunur (Aruoma, 1998).

Vücut iç inde serbest radikaller ve antioksidan enzimler arasında bir denge söz konusudur. Ş ayet bu denge bozulursa terazinin bir kesesi diğ er kesesine üstünlük sağı lar. Terazinin bir kesesinde serbest radikaller diğ er kesesinde antioksidanlar vardır. Serbest radikalleri etkisizleştiren glutatyon peroksidaz, sü per oksit dismutaz gibi endojen enzimler veya dış ardan alınan diğ er antioksidanlar (A, C, E vitaminleri, fenoller) artan serbest radikaller karş ısında nötralize etmede yetersiz kalırsa vücut iç inde ki denge oksidanlar yönünde bozulur. Dengenin bu şekilde bozulması oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu olay dokulara zarar verir. Bunun sonucunda vücut iç inde potansiyel biyolojik hasara sebep olur (Karakaş, 2019).

Lipit peroksidasyonu, araştırılacak ilk oksidatif hasar türüdür. Membran fosfolipitleri sürekli olarak oksidan zorluklara maruz kalırlar (Davies, 2000). Bunun sebebi yağ asitlerinin radikallerden hızlıca etkilenebilir özellikte olması ve ulaş ılması kolay olduğ undandır. Bu olayın sonucunda karbonil ve alken gibi hücreler iç in zararlı birç ok bileşik oluş masına yol açar (Kneepkens vd., 1994; De Zwart vd., 1999; Tozoğ lu, 2011). Lipit peroksidasyon iş lemi, doymamış bir yağ asidi zincirinde bir hidrojen atomunun (karbondan) soyutlanmasıyla başlatılan bir dizi zincir reaksiyonundan oluş ur (Davies, 2000).

Sü per oksit radikali, hidroksil radikali ve peroksil radikali lipit peroksidasyonunun başlam asına sebep olan radikallerdir (Kneepkens vd., 1994; De Zwart vd., 1999; Tozoğ lu,

2011). Serbest radikallerden kaynaklanmış olan lipit peroksidasyonu “enzimatik olmayan lipit peroksidasyonu” şeklinde ifade edilebilir (Şehitoğlu, 2012; Topal, 2014).

Lipit peroksit radikalleri ($LOO\cdot$) moleküler oksijenle (O_2) lipit radikalleri ($L\cdot$) arasında oluşan tepkimelerden meydana gelmektedir (Şehitoğlu, 2012; Topal, 2014). Lipit peroksidasyonu gıdaların, özellikle lipit bazlı ürünlerin hem duyu kalitesini hem de beslenmesini etkileyen başlıca bozulma süreci olarak sınıflandırılmıştır (Yanishlieva ve Marinova, 2001). Lipit peroksidasyonunun, çeşitli patolojik sonuçlara yol açabilecek toksikolojik bir fenomen olduğu uzun zamandır düşünülmektedir (Hochstein ve Atallah, 1988; Gülçin, 2020).

Lipit peroksit radikali ardı arkasına reaksiyon gerçekleştirerek birçok reaksiyonun başlamasının ilk ayağıdır, kaynağıdır. Lipit peroksit radikalleri çoklu doymamış yağ asitleri moleküllerinin içindeki hidrojenleri çıkartarak oluşacak yeni reaksiyonların sebebi olurlar. Reaksiyonların bitişinde lipit hidroperoksitleri yıkılır ve ondan daha reaktif olan radikal türleri ortaya çıkar (Kneepkens vd., 1994; De Zwart vd., 1999; Tozoğlu, 2011). Lipit peroksidasyonu ile üretilen reaktif aldehytler, proteinler ve DNA gibi diğer hücre sel hedeflere saldırabilir; böylelikle hücre sel zarlardaki ilk hasarı diğer makromoleküllere yayar (Dargel, 1992; Gülçin, 2020). Lipit peroksidasyonunun son ürünleri, hücrelerin çoğu için oldukça toksik olan 4-hidroksilnonenal ve malondialdehit gibi reaktif aldehytlerdir (Yu ve Yang, 1996; Gülçin, 2020).

1.2. Antioksidanlar ve Serbest Radikaller Üzerine Etkileri

Dünyadaki ilk canlı organizmalar atmosferdeki oksijen az olduğundan dolayı anaerobik mikro organizmalara dönüşerek ortaya çıkmışlardır. Günümüzde hala hayattadırlar. Ancak büyümeleri inhibe edilip çok büyük kısmı %21 olan atmosferik oksijene maruz bırakılırsa ölmektedir. Aeroblar, kendilerini sadece %21 O_2 'ye karşı korumak için antioksidan savunmalar geliştirdiler; daha yüksek seviyeler onlara zarar vermektedir (Halliwell, 1996).

Örnek olarak 1954 yılına kadar prematüre doğan çocuklara fazla oksijenin zararları bilinmediği için gereksiz O_2 verilmiştir. Bunun sonucunda bebeklerde körlük tehlikesi olan “Prematüre Retinopatisi” görülmüştür. Ancak 1954 yılından sonra fazla oksijenin zararları anlaşılıp gerekli konsantrasyonlarda O_2 verilmiştir (Hellström vd., 1991).

Antioksidanlar, serbest radikal bileşiklere karşı olarak tanımlanabilir. Hücreyi oksidasyon reaksiyonunu inhibe ederek savunurlar (Türkmen vd., 2005; Aydın, 2015). Potansiyeli yüksek olan antioksidan bileşik kaynakları, tahıl bitkileri, baharatlar, yağlı tohumlar, sebzeler, meyveler, yapraklar, ham bitki ilaçları, kabuklar, kökler, otlar gibi bitki materyallerinde araştırma yapılmıştır (Ramarathnam vd., 1997; Kähkönen vd., 1999).

Serbest radikaller, oksidasyon ve oksidatif stresin doğuracağı sonuçlar, hücrelere zararı sebep olacağı hastalıklar göz önüne alındığı zaman; antioksidanlar tüm canlılarda önemli bir göreve sahiptir. Bu önemli görevin yanı sıra antioksidanlar özel sektörde de büyük ilgi görmektedir. Endüstrinin birçok alanında antioksidanlar bozulmaların önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Kozmetik, gıda ve ilaç sektörlerinde yoğun şekilde gereksinim duyulmaktadır (Laitonjam, 2012; Aydın, 2015).

Antioksidan enzimler ve antioksidan bileşikler oksijenli solunum yapan tüm organizmalarda bulunur. Bu organizmalarda bulunma sebebi, hasar almış molekülleri organizmadan uzaklaştırmak ve tamir edilebiliyorsa molekülü tamir etmektir. Organizma içindeki hücreler etkili bir biçimde, etkileşimli bir antioksidan enzim ağı tarafından korunmaktadır (Davies, 1995; Gülçin, 2012). Bazı gıda uygulamalarında doğal antioksidanların yeni türü olarak enzimler ifade edilmiştir. Bunlar oksijen ve ROS'ni süpürmek için ayrıca lipit hidroperoksitleri yok etmek için etkili bir biçimde kullanılabilirler (Frankel vd., 1996; Gülçin, 2012).

Serbest radikaller ve antioksidanlar klinik ve beslenme üzerine yapılan araştırmalarda geniş ölçüde tartışılmaktadır. Genellikle serbest radikallerin kötü ve antioksidanların iyi olduğu düşüncesi üzerine yoğunlaşılsa bile, bazı durumlarda antioksidan, serbest radikal benzeri zararlı olabilmektedir. Örneğin son klinik çalışmalar sigara içenlere “antioksidan” olan β -karotenin verilmesinin akciğer kanseri gelişimini hızlandırdığını göstermektedir (Halliwell, 1996).

Canlıların vücudundaki serbest radikallere karşı bir asker gibi savaşan antioksidanlar onları etkisizleştirirken reaksiyonların devamında tekrar bir serbest radikal oluşumu içerisine girmemektedir (Prior ve Cao, 2000).

“Antioksidan kapasitesi” ve “Antioksidan aktivitesi” tayini kavramları bitkilerde, tahıllarda ve bunun gibi potansiyel antioksidan gıdaların antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Birbirleriyle aynı anlamlar içeriyor gibi görünse bile bu

kavramlar birbirinden farklı anlamlar içermektedir. Aktivite kavramı, antioksidan aktivitesi belirlenecek bir antioksidan ile reaksiyon hız basiti arasındaki ilişkiyi ifade eder. Kapasite, belirlenmiş bir antioksidanın radikal giderme becerisidir (Macdonald-Wicks vd., 2006).

Ayrıca bir numunenin antioksidan kapasitesinin, ölçüldüğü farklı oksidanlara göre değişeceği de bilinmektedir. Farklı antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki reaksiyonlar farklı oran sabitlerine sahiptir ve bu nedenle genel antioksidan kapasitesi değişir (Ghiselli vd., 2000).

Aerobik canlılarda antioksidan savunma sistemleri, dışarıdan diyetle alınan ve metabolizmada üretilen antioksidan savunma sistemleri olmak üzere iki temel gruba ayrılmıştır (Gülçin, 2007).

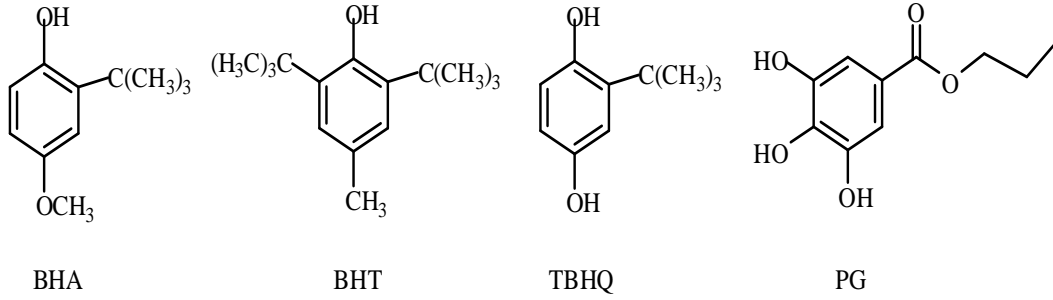
Çizelge 1.3. Bazı endojen ve ekzojen antioksidan kaynaklar (Topal, 2014).

Antioksidanlar			
Endojen antioksidanlar		Ekzojen antioksidanlar	
Enzimler	Küçük moleküller	Sentetik	Doğal
Katalaz	Glutasyon	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Melatonin	BHT	Karotenler
Süperoksit dismutaz	Serotonin	TBHQ	Fenoller
Glutasyon peroksidaz	Adrenalin	Propilgallat	Flavonitler
Glutasyon redüktaz	Noradrenalin	Troloks	C vitamini

Vücut içerisinde üretilen antioksidanlar, molekül yapısına sahip olan basit haldeki bileşikler (melatonin, serotonin ve adrenalin gibi) kompleks yapılar halinde olan enzimler gibi de olabilmektedir (Bursal, 2009; Han, 2012). Enzim yapısına sahip olan endojen antioksidanlar, radikal ve reaktifleri gidererek oksidatif hasarı önlemektedirler (Fridovich, 1999; Bursal, 2009).

Antioksidanlar serbest radikalleri önlemenin yanı sıra gıdaların raf ömrünü uzatmaktadır. Gıda kalitesini etkileyen oksidatif reaksiyonların ana hedefleri lipitler ve proteinlerdir (Elias vd., 2008; Demir, 2019). Gıdalar tüketilmeye hazır hale gelene kadar

geçirdiği birçok prosten sonra veya tüketilmesi sonucunda lipit serbest radikalleri meydana gelmektedir. Antioksidanlar lipit peroksidasyonuna engel olmaktadır. Bunun sonucunda endüstride raf ömrü göz önüne alınarak veya mevcut tadın korunması amacıyla sentetik antioksidanlar kullanılmıştır (Bardakçı, 2017).



Şekil 1.3. Bazı sentetik antioksidanların açık yapıları

Gıda içerisindeki antioksidanların depolama ve işleme esnasındaki değişimleri, gıdalara göre değişkenlik göstermektedir. Antioksidan olan askorbik asit örneğinden yola çıkacak olursak, askorbik asit çok uçucudur. Isıl işlemler veya depolama sırasında en fazla kayba uğrayan bileşiktir (Cemeroğlu, 2016). Açık havada depolanan çilek meyvesinde kapalı ortamda depolamaya göre %50 oranında daha fazla askorbik asit kaybı görülmüştür. Bu sebeple c vitamininin antioksidan özelliklerinden yararlanmak istiyorsak depolama şartlarına dikkat etmeliyiz (Nunes vd., 1998).

Canlıların serbest radikallerden etkilenmemesi veya kendi kendini yenilemesini sağlayan antioksidanlar, etkilerini temel olarak 2 safhada gerçekleştirir.

1. Radikal oluşumunun engellenmesi; kendi içinde 3 özellikte olan etki mekanizması şu şekilde gerçekleşir (Tural, 2006).

- a) Başlatıcı reaktif türlerinin uzaklaştırılması.
- b) Oksijenin ortamdaki uzaklaştırma veya oksijen yoğunluğunun azaltılması.
- c) Metal iyonlarının uzaklaştırılması.

2. Oluşan serbest radikallerin antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmesi 4 şekilde olmaktadır (Gökpınar vd., 2006, Gülçin, 2011).

a) Süpürme etkisi (Scavenging) etki; Oksidanları daha gücü azalmış çok daha az reaktif başka bir molekül haline getirmesiyle etkili olunmasıdır (enzimler ve mikro moleküller vb.).

b) Söndürme etkisi (Quenching): ROS oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktarılmasıyla inaktif edilmesi olayıdır (flavonoidler, vitaminler, timetazidin, mannitol bu etki mekanizmasıyla inaktive eder).

c) Tamir etme etkisi (Repair): Oksidatif sebep ile hasara uğrayan hücreler onarılır.

d) Zincir reaksiyonları kırma etkisi (Chain breaking): Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller radikalleri ve zincirleme reaksiyonları baslatacak başka maddeleri kendi bünyesine bağlayıp zincirlerini kırmasıyla inaktif hale getirilmesidir.

Kuvvetli bir antioksidan serbest radikalın zararlarını bu dört yolla ortamdanda yok eder. Protein ve mRNA üretimi üzerine yararlı etkide olup sıvı ortamlarda ve hücre membranlarında etkili rol almaktadır (Valko vd., 2006; Topal, 2014). Diyetle aldığımız gıdalardaki antioksidan miktarlarının daha yüksek olması için gıdanın tüketilmeye kadar olan kısımda geçirdiği süreçlere dikkat etmeliyiz. Özellikle meyve ve sebzelerde oksidasyon, filtrasyon, presleme gibi işlemlerde ilk taze haline göre antioksidanlarda kayıp meydana gelmektedir. Bu kayıptan en çok nasibini alan askorbik asit ve fenolik asitler olmuştur (Cemeroğlu, 2016).

E Vitamini, zincir kırıcı antioksidan aktiviteye sahip tokoferol ve tokotrienol ailesini içerir (Traber, 2001). E vitamini izoformları güçlü antioksidanlar olup, peroksil radikalini temizler (Burton ve Ingold, 1981). Tokotrienoller, tokoferoller arasında sadece yan zincir farklılığı vardır. Tokotrienoller, tokoferollerden daha yüksek bir radikal temizleme aktivitesine sahip olsalar da oral alımdan sonra biyolojik olarak daha az kullanılabilirler. Aynı doku düzeyleri elde edilirse, tokotrienollerin tokoferollerden daha etkili antioksidanlar olduğu varsayılmıştır. Sıçanlarda α -tokoferol ve α -tokotrienoln aynı doku konsantrasyonlarına ulaşılacak şekilde geereştirildiğinde, tokotrienol takviyeli kalp dokuları, tokoferol takviyeli muadillerine göre lipid peroksidasyonuna daha dirençli halde olduğu gözlemlendi (Serbinova ve Packer, 1994; Weber ve Rimbach, 2001).

2018). Oksidasyon sırasında azalan α -tokoferolün işlevini sürdürmesi ve rejenere olabilmesi C vitamini ve glutatyon gibi indirgeyici ajanlara gereklilik var olmaktadır (Morris vd., 2013).

Dokular, serbest radikallerin zarar görmesini önlemek için çeşitli enzimatik olmayan antioksidanlara sahiptir. E vitamini, tüm zarlara bölünen ve Superoksit anyonu, hidroksil ve lipit peroksil radikallerini daha az reaktif formlara dönüştüren bir lipit fazlı antioksidandır (Tappel, 1962). Tokoferollerin antioksidan özelliği, tokoferoldeki OH grubundan bir peroksil radikaline (LOO \cdot) hidrojen transferidir (Mukai vd., 1993).

E vitamini hücrel zarlarda ve yenilebilir otlarda var olup çoklu doymamış yağ asitlerini ve diğer lipitleri peroksidanlardan koruyarak bir antioksidan görevi görür. Singlet oksijen giderme kapasitesi sırasıyla $\delta > \gamma > \beta > \alpha$ -tokoferol şeklinde artmaktadır (Kazanç, 1997; Gökpınar vd., 2006).

Eğer vücut içerisindeki gereksiminden fazla miktarda α -tokoferol alınır, bu durum çoklu doymamış yağ asitlerinin lipit hidroperoksit otoksidasyonu sırasında proksidan görevi görmesine sebep olmaktadır. Bu proksidan etki konjuge dien yapısı ile hidroperoksitlerin artmasına neden olmaktadır (Terao ve Matsushita, 1986).

β -Karoten ve diğer karotenoidler, bazı koşullar altında α -tokoferolün antioksidan etkisinden daha yüksek olan mükemmel antioksidan aktiviteye sahiptir (Miller vd., 1986). Karotenoidler için singlet oksijen (1O_2) söndürme hızı sabitleri, tokoferollerden yaklaşık $10^{10} M^{-1} s^{-1}$ daha yüksektir (Kaiser vd., 1990).

Karotenoidlerin radikal süpürücü olarak işlev görme yeteneği uzun zamandır bilinmektedir (Krinsky, 1989). Karotenoidler, çözeltilerde, zarlarda ve hücre altı organellerde zinciri kıran antioksidanlar olarak işlev görebilir (Siems vd., 2001). β -karotenin etkileyici antioksidan etkileri ilk olarak Burton ve Ingold tarafından belirtilmiştir. Bu kişiler, β -karotenin, düşük oksijen kısmi basıncı altında zincir yayan peroksil radikallerini yakalayıp zinciri kıran bir antioksidan olduğunu ileri sürmüşlerdir (Burton ve Ingold, 1984).

Karotenoidler lipofilik, yani yağda çözünme özelliğine sahip olan doğal bileşiklerdir (Comstock vd., 1992). Antioksidan özellikleri nedeniyle, karotenoidler açısından zengin bir diyet; çeşitli kanser türleri, oftalmolojik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif

stresin neden olduğu çeşitli bozuklukların gelişme riskinin azaltmaktadır (Monego vd., 2017; Gülçin, 2020).

Doğal pigment sınıfından olan karoten, doğada yaygın olarak bulunur. Karotenoidler bitkiler ve birçok mikroorganizma tarafından sentezlenmektedir, bu sebeple hayvan sınıfındaki canlılar onları gıdalardan sindirmek zorundadır. Karotenoidler hakkında şimdiye kadar, doğal kaynaklardan 600'den fazla bileşik tanımlanmıştır (De Quirós ve Costa, 2006). Karotenoidlerin Yaklaşık 40 tanesi insanların tükettiği besinlerde bulunmaktadır (Ma ve Lin, 2010; Yılmaz, 2010). Bu 40 karotenoidin yarısı insan vücudundaki doku ve kanda görülmüştür. Görülen bu karotenoidlerin büyük çoğunluğu lutein, kriptoksantin, likopen, α ve β -karotenden oluşmuş olduğu labaratuvar çalışmalarıyla tespit edilmiştir (Rao ve Rao, 2007; Yılmaz, 2010).

Karotenoidler, ROS'nin, özellikle tek moleküler oksijen ve peroksil radikallerinin etkili temizleyicileridir. Karotenoidler bu süreçte tokoferol ile sinerjik olarak hareket edip radikal ile kimyasal olarak reaksiyona girer. Karotenoid karışımları tekli bileşiklerden daha etkilidir (Stahl vd., 1998).

Genişletilmiş bir konjuge çift bağ sisteminin varlığı nedeniyle, karotenoidler sarı, turuncu veya kırmızı olarak koyu renklidir (Sies ve Stahl, 2001). Bu konjüge çift bağ etkili antioksidan özellik göstermesine sebep olmaktadır. Karotenoidlerden olan β -karotenin mide ve kolon kanseriyle alakalı koruyucu özelliği vardır. Retinol ise hücre büyümesi ve gelişiminin düzenlenmesinde görev almaktadır (Comstock vd., 1992). Çok fazla A vitamini bir insan için toksiktir; diğer karotenoidlerden biraz daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olan astaksantin ise daha düşük toksisiteye sahiptir (Mortensen ve Skibsted, 1997; Gülçin, 2012).

İnsanlar üzerine yapılan çalışmalar β -karotenin kansere karşı bir savunmaya sahip olduğu belirlenmiştir (Comstock vd., 1992). Ancak sigara içenler için beta karoten tedavisi akciğer kanseri riskinin artmasına sebep olabilmektedir (Sies ve Stahl, 1995). Ayrıca β -karoten klorometilperoksil radikallerini çok etkili olarak azaltmaktadır (Burton ve Ingold, 1984; Sies ve Stahl, 1995).

Likopen: karpuz, domates, papaya ve greyfurt gibi meyvelerde çokça bulunan bir diyet karotenoididir (Giovannucci, 1999). Ayrıca karpuz, papaya, greyfurt, domateste ki kırmızı rengin sebebidir, bu rengi likopen sağlamaktadır (Yaping vd., 2002; Çöteli ve

Karataş, 2016). Likopen, bağırsaklarda emildikten sonra serumda birikmektedir. Yapılan çalışmalar likopen açısından zengin beslenmenin, prostat kanseri ve kalp hastalıkları gibi birçok kronik hastalık riskini azalttığını göstermektedir (Giovannucci, 1999).

Labaratuvar koşullarında yapılan incelemelerde karatoneidler içerisinde en kuvvetli antioksidan likopendir. Bu daha çok radikal süpürmesi ile ispat olunmuştur (Stahl ve Sies, 1992; Çöteli ve Karataş, 2016). Likopen karotenoidler arasında singlet oksijeni en etkili deaktive edendir. Ayrıca son zamanlarda likopenden daha yüksek söndürme becerilerine sahip sentetik antioksidan olan polienler tanımlanmıştır (Devasagayam vd., 1992).

C vitamini (askorbat) vücudun normal metabolik işleyişi için gerekli olan temel bir mikro besindir (Carr ve Frei, 2001). C vitamini veya başka bir ifade ile L-askorbik asit suda çözünen B ve C grubu vitaminleri arasında yer almaktadır. Fizyolojik koşulda protondan arındırılmış halde bulunur. Hücre dışı sıvılarda en önemli antioksidan olarak kabul edilir (Stocker, 1991; Sies ve Stahl, 1995).

Pek çok antioksidan, çeşitli hayvan modellerinde tümör oluşumunu inhibe eder. Bu savunmalar, antioksidanlar veya ROS temizleyicileri olarak işlev gören C vitamini gibi küçük molekülleri içerir. Bununla birlikte, antioksidan savunma sistemlerimiz tamamen verimli olmadığından, C vitamini gibi diyet antioksidanlarının alımını artırmanın, oksidatif hasarın uzun insan ömrü boyunca kümülatif etkilerini azaltmada önemli olabileceği ileri sürülmüştür (Enstrom, 2001).

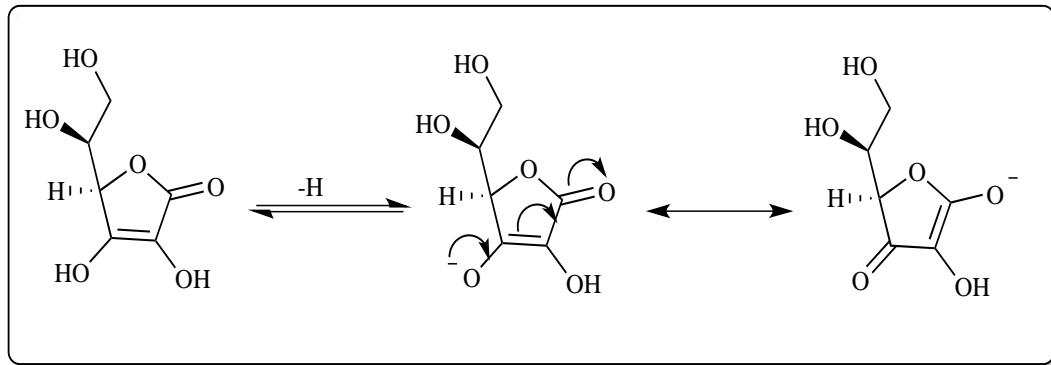
Diyet askorbik asidi, özellikle sigara içenler gibi düşük askorbik asitli kişilerde, sperm kalitesini etkileyebilmektedir. Ayrıca genetik problem riskini artırabilecek endojen oksidatif DNA hasarından koruduğunu göstermektedir (Fraga vd., 1991). Oksidatif DNA hasarı, kanser gelişimi için önemli bir risk faktörüdür, bu nedenle hasarı azaltabilen diyet antioksidanların bir antikanser etkisine sahip olması beklenir (Halliwell, 1999; Halliwell, 2001). C vitamininin α -tokoferoksil radikaliyle etkileşimi, radikalleri lipit fazından sulu faza taşır ve böylece lipoproteinlerde tokoferol aracılı peroksidasyon önlenir (Neuzil vd., 1997). Askorbik asit, kan plazmasındaki peroksil radikalinin neden olduğu lipit peroksidasyonuna karşı etkili bir savunmadır (Frei vd., 1988).

Yapılan labaratuvar çalışmalarında C vitamininin süperoksit, hipoklorit, hidroksil radikali, singlet oksijeni, hidrojen peroksit ve peroksil radikallerini etkili bir şekilde

temizlediği belirlenmiştir (Sies ve Stahl, 1995). C vitamini skorbüt hastalığıyla ilişkisi yüzünden çok öncelerden beri bilinen bir vitamindir. C vitaminin çok önemli antioksidan özelliğinden yola çıkarak zehirlenmeler ve enfeksiyonlara karşı vücut savunmasında yeri çok önemlidir (Baysal, 2016).

C vitamini; reaktif oksijen, nitrojen ve klor türlerini kolayca temizler, böylece diğer substratları oksidatif hasardan etkili bir şekilde korur. C vitamini tarafından atılan reaktif türler; süperoksit ve sulu peroksil radikalleri, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit ve hipokloröz asittir. Bu reaktif türleri temizlemenin yanı sıra, C vitamini, radikal türlerinden α tokoferol, glutatyon (GSH), ürat ve β -karoten gibi küçük molekülü antioksidanları yeniden oluşturabilir (Halliwell, 1996). C vitamini, artan oksidatif stres koşulları altında glutatyonu korur (Meister, 1994).

Halk arasında sadece C vitamini adıyla bilinse bile kimya dilindeki ismi askorbik asittir. Vücutta çok çeşitli işlevlere sahip olmasına rağmen, en can alıcı nokta serbest radikalleri parçalamasıdır. Bu birçok enzimin özelliğini korumasını sağlamaktadır (Cemeroğlu, 2016). Ayrıca kalp hastalıkları, katarakt, kanser riskini de azalttığı tespit edilmiştir (Baysal, 2016). Başka bir yönden bakarsak, nitrinler ile amid ve aminlerin arasına girip karsinojik özellik gösteren nitrozaminlerin oluşmasını engeller. Askorbik asit kesinlikle antikarsinojen özellik göstermektedir (Cemeroğlu, 2016).



Şekil 1.5. C vitaminin kimyasal yapısı ve enolat formu

Askorbik asit oksidasyon özelliği sebebiyle canlıların birçoğunda bulunur. Çeşitli izomerleri olsada, en bilinen ve en önemlisi L-askorbik asittir. Sebebi askorbik asidin biyolojik aktiviteye sahip olup, C vitamini fonksiyonunu bünyesinde bulundurmasıdır. D-askorbik asit C vitamini sayılmaz, böyle bir özelliğe sahip değildir. Diğer bir izomer olan

D-izoaskorbik asit C vitamini halinde bulunmasa bile önemli bir antioksidan olup, koruyucu olarak endüstride gıdalara katılmaktadır (Cemeroğlu, 2016).

C vitamini (askorbat), son yıllarda kanserin önlenmesi veya tedavisi için büyük ilgi gören bir antioksidandır. İnsan vücudu, normal biyokimyasal aktivitenin doğal bir sonucu olarak oluşan reaktif oksijen molekülleri tarafından sürekli saldırı altındadır. ROS, zar yapısını ve işlevini değiştirerek vücuda birçok şekilde zarar verebilir. Serbest radikallerin tümör oluşumunda yer alabileceği hipotezi, temel olarak birçok kanserojenin serbest radikal olduğu, serbest radikal reaksiyonlarının ürünü olduğu, serbest radikallerin üretimini uyardığı gözlemlerine dayanmaktadır. Ayrıca serbest radikaller, tümör başlangıcında veya ilerlemesinde önemli olabilmektedir (Enstrom, 2001).

Askorbik asit güneş ışınlarının oluşturduğu deri kanseri ve göğüs kanseri riskini azaltmaktadır (Samur, 2008). Askorbik asit lipit peroksidasyonunu başlatmadan önce peroksil radikallerini su evresindeyken engelleyerek biyolojik membranların peroksidatif hasar almaktan korumaktadır (Gökpınar vd., 2006). Demirin kana geçmesinde de önemli bir role sahiptir (Baysal, 2016). Askorbik asidin alfa tokoferolden daha etkili bir antioksidan olduğu belirlenmiştir (Frei vd., 1989).

1.3. Fenolik Bileşikler

Benzen halkasına bağlı olan en az bir hidroksil grubu içeren bileşiklere polifenoller veya fenolik bileşikler denmektedir (Cemeroğlu, 2016). Polifenoller çok çeşitli kimyasal yapılardan ve biyolojik fonksiyonlardan oluşmaktadır (Strack ve Sharma, 1985). Polifenoller, insan diyetindeki en zengin antioksidan gruptur (Tsao vd., 2006).

Bitki dokularında bulunan iki ana polifenolik bileşik sınıfı flavonoidler ve non-flavonoidler olmak üzere iki kısma ayrılmıştır. Flavonoid grubu, flavanonları, flavonları, dihidroflavonları, flavonları, antosiyanidinleri, izoflavonları ve proantosiyanidinleri içerir. Non-flavonoidler ise, fenolik asitler, benzoik asitler, fenoller, hidrolize edilebilir tanenler, benzofenonlar, stilbenler, sinamik asitler, fenilasetik asitler, asetofenonlar, kumarinler, ksantanlar, kalkonlar, lignanlar ve sekoiridoidlerdir (Laura vd., 2009; Abountiolas, 2016).

Flavonoidler $C_6-C_3-C_6$ yapısına sahiptir. Flavonoidlerin 5 çeşidinin arasındaki temel fark, orta kısımdaki piran halkasından kaynaklanmaktadır (Cemeroğlu, 2016).

Polifenollerin en büyük fizyolojik fonksiyonlarından biri, bitkileri oksidatif hasardan korumaktır, zira bu insan beslenmesi için de faydalı bir durumdur. Doğada bulunan en önemli polifenol grupları, gallik asit, lignanlar, stilbenler, kumarinler ve tanenler gibi benzoik asitler olan flavonoidlerdir (Ranabahu ve Harborne, 1993). Serbest hidroksil gruplarına sahip flavonoidler, serbest radikal temizleyicileri olarak işlev görür ve özellikle çoklu hidroksil grupları flavonoidlerin antioksidan aktivitelerini artırır. Hidroksil, oksidasyon zincirini kesintiye uğratan birincil aktif bölgedir (Jovanovic vd., 1994; Gülçin, 2020).

Meyve ve sebzelerin tüketilmesiyle bünyeye alınan fenolik asitler, koroner kalp hastalığı, felç ve kanser riskini azaltmaktadır (Gülçin vd., 2010a). Fenolik asitlerin bir kolu olan “sinamik asitler” kanser kaynağı olan nitrozaminleri engellemektedirler (Herman, 1992; Cemeroğlu, 2016). Fenolik bileşiklerin %70’lik kısmını flavonoidler oluşturmaktadır, geri kalan kısım fenolik asittir (Balasundram vd., 2006; Cemeroğlu, 2016). Sinamik asitler C₆-C₃ karbon yapısına sahiptir. Benzoik asitler ise C₆-C₁ temel yapısına sahip olmuştur. Doğada benzoik asit, sinamik aside oranla çok daha az bulunmaktadır (Herman, 1992; Cemeroğlu, 2016).

Sinamik asit türevleri, benzoik asit türevlerinden daha aktif antioksidanlar olarak ortaya çıkmaktadır (Chen ve Ho, 1997; Gülçin, 2020). Meyveler, sebzeler ve içeceklerde bulunan polifenolik bileşiklerin sağlık yararlarının, insan metabolizmasındaki doğrudan etkileri ile değil, ince bağırsak ve hepatik hücrelerde oluşan metabolitler olarak etkileri ile ilişkilidir (Manach vd., 2004). Diyetteki polifenollerin sadece yaklaşık yüzde beşinin kan dolaşımına kadar emilip, antioksidan olarak işlev görmektedir. Polifenoller bakteriyel mikrofloranın sağlığına fayda sağlamaktadır (Clifford, 2004). Flavonoidler güçlü bir antioksidan, serbest radikal temizleyicisi ve iyi bir metal şelatördür (Cook ve Samman, 1996). Başlıca diyet flavonoid kaynakları arasında: çay, soğan, elma ve kırmızı şarap bulunur. Bu kaynakların düşünülenden daha fazla besinsel faydaları olduğu düşünülmektedir (Cook ve Samman, 1996).

Kafeik asit, hücreleri BHT'den daha fazla koruma kabiliyetindedir (Papadopoulos ve Boskou, 1991; Gülçin, 2006a; Gülçin, 2020). Son zamanlarda, kafeik asidin antioksidan aktivitesi araştırılmıştır ve olası antioksidan mekanizması açıklığa kavuşturulmuştur (Gülçin, 2006a; Gülçin, 2020). Kafeik asidin şeker kısmı ile esterlenmesi, aktivitesini

azaltmıştır, klorojenik asit, kafeik asitten daha az etkilidir (Chen ve Ho, 1997; Gülçin, 2020).

Flavonoidler, flavan çekirdeğine dayanan düşük molekül ağırlıklı polifenolik maddelerdir (Cook ve Samman, 1996). Birçok flavonoid, doğal olarak flavonoid glikozitler olarak bulunur (Kuhnau, 1976; Cook ve Samman, 1996) Doğada en bol flavonoidler, flavonollerdir. Soğan, lahana ve brokolide çok yüksek miktarda flavonol kuarsetin tespit edilmiştir (Hertog vd., 1992). Flavonoller, canlı organizmalarda güçlü antioksidanlar olarak yer alıp, radikallere engel olmaktadır (Samsonowicz ve Regulska, 2017). Flavonoller şekerler ile glikozid olarak bağ kurmuş haldedir. En bilindik flavonol “kuarsetin” dir. Flavanonlar turunçgillerde bulunup greyfurtta ki acı ekşi tadın kaynağı bir flavanon glikozit olan “naringin”dir (Cemeroğlu, 2016).

Lipit peroksit oksidasyonu (LPO)’nun başlangıç aşamasında, serbest radikaller çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojeni soyutlayarak lipit radikalini oluşturur (Torel vd.,1986; Cook ve Samman,1996). Flavonoitler lipit peroksidasyonunu inhibe etmektedir (Bors vd.,1996). Flavonoitler, süperoksit anyonları ve hidroksil radikallerinin temizleyicileri olarak hareket ederek LPO’yu başlangıç aşamasında *in vitro* olarak önlemektedir (Torel vd., 1986; Cook ve Samman, 1996).

Epidemiyolojik çalışmalar, flavonoidler açısından zengin bir diyetin kansere, kalp hastalığına ve yaşa bağlı diğer hastalıklara karşı koruyabileceğini öne sürmüştür (Reddivari vd., 2007). Antioksidatif özelliklerine ek olarak, bazı flavonoidler metalikleştirme ajanları olarak işlev görür ve önemli bir aktif oksijen radikali kaynağı olan süperoksitle çalışan Fenton reaksiyonunu inhibe eder (Afanas'ev vd., 1989). Flavonoidler, vücutta alüminyum benzeri düşük miktarlarda bulunan metal iyonlarının biyoyararlanmasında ve Cr, Cd, Sn ve Pb gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda görev almaktadır. Şelatlama ajanları, vücuttan kolayca tahliye edilen toksik metal iyonlarına güçlü bir şekilde bağlanır (Dehghan ve Khoshkam, 2012; Ghosh vd., 2015).

Flavonoid polimerleri ayrıca proantosiyanidinler olarak da bilinir. Flavonoidler, pigmentasyon, antioksidanlar, antimikrobiyaller, antistresörler ve UV ışınlarla karşı koruma sağlayan bitki sekonder metabolitleri olarak ortaya çıkmaktadırlar (Vaya ve Aviram, 2001).

Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu ve azalmış trombosit agregabilitesinin inhibisyonu sonucunda koroner kalp hastalığı meydana gelmektedir. Beslenmede flavonoid alımı ile bu hastalık sonucunda ölüm oranının arasında ters bir ilişki vardır (Cook ve Samman,1996). Soğanda bulunan kuarsetin ve diğer flavonoidlerin, fare ve tavşanlarda kanserojen kaynaklı tümörleri inhibe ettiği gösterilmiştir (Hung, 2007). Meyvelerde bulunan fenoloksidaz enzim ile fenolik bileşikler farklı yerlerde bulunurlar. Fenoller vakuollerde bulunurken, fenoloksidaz ise kendine sitoplazmada yer bulmaktadır. Bu sayede bir bağ kuramazlar, yani temas olmaz. Ancak fabrikasyonda proseslerle bir arada bulunabilmektedir. Bu sebep ile maillard reaksiyonu oluşabilmektedir (Cemeroğlu, 2016).

Orta derecede kırmızı şarap tüketiminin ateroskleroz ve trombotik eğilime karşı koruyabileceğini düşünülmektedir (Cook ve Samman, 1996). Fenolik bileşikler fabrikatif işlemler sonucunda meyveye ve işleme bağlı olarak belli miktarlarda azalmaktadırlar. Elmalar elma şarabı haline getirilmek için durultma işleminden geçirilmektedir. Bunun sonucunda lezzeti etkileyen fenollerde %20 azalma olmaktadır (Lea ve Timberlake, 1974; Cemeroğlu, 2016).

1.4. Yayla Üvezi (*Sorbus subfusca*)

Yapılan incelemelerde *Sorbus* kelimesinin açık, net bir anlamına ulaşılmamışsa da *sorb* kelimesinin meyve anlamını taşıdığı bilinmektedir. Latince *sorbum* kelimesinden, *sorbus* halini almıştır. *Sorbus* cinsi Türkiye’de üvez adı ile bilinmektedir. Azerbaycan’da kuşların çok sevdiği ve tükettiği bir meyve olduğundan dolayı “kuşçu armudu” denmektedir (Gökşin, 1982).

Ülkemizde *Sorbus*’un 12 tür ve 17 taksonu doğal olarak yetişmektedir (Gültekin, 2007). *Sorbus* türleri birçok alanda kullanılmaktadır. Peyzaj düzenlemelerinde, yaprakları estetik olduğundan dolayı itinayla kullanılmaktadır. *Sorbus* farmakoloji sektöründe de kendisine yer bulmuştur. Bu özelliklerinin yanı sıra bazı hastalıklara karşı kullanılabilir (Gültekin, 2007).

Sorbus subfusca, haziran-temmuz aylarında çiçeklenen ve eylül-kasım aylarında meyve veren bir türdür. *Sorbus subfusca* çok yüksek rakımda yetiştiği için, yüksek dağ seviyelerinde erozyon kontrolü içinde önemlidir (Gültekin, 2007). *Sorbus subfusca*’nın bilimsel olarak sınıflandırılması aşağıda gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. *Sorbus subfusca* taksonomi (URL-1, 2020).

Alem	<i>Plantae</i>
Şube	<i>Magnoliophyta</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Rosales</i>
Aile	<i>Rosaceae</i>
Cins	<i>Sorbus</i>
Tür	<i>Sorbus subfusca</i> (Ledeb.) Boiss.

Sorbus subfusca: *Sorbus aria*'ya çok benzer bir türdür, çalışma yapılırken dikkat edilmesi gerekmektedir. İki özelliği ile sorbus subfusca, sorbus aria ile farklılaşır. Subfusca daha büyük tohumlara ve farklı çanak yapraklara sahiptir (Aldasoro vd., 2004). Özel bir tür olan *Sorbus subfusca*, dünya üzerinde kendine Kafkasya bölgesinde 4-5 ülkede yer bulmuştur. Ülkemizde sadece Doğu Karadeniz'deki 3 il (Trabzon, Rize, Artvin), bu popülasyona sahiptir (Tunçkol vd., 2018).



Şekil 1.6. *Sorbus subfusca*'nın dünya üzerindeki yayılışı (URL-2, 2020).

Sorbus subfusca çoğunlukla 1200- 2400 m arasındaki yüksekliklerde yetişmektedir (Tunçkol vd., 2018). *Sorbus subfusca* 2-6 m arasında boylanmaktadır ve sık dallı bir yapıya sahiptir. *Sorbus* cinsi içinde, *subfusca* türü en geç çiçek açan özelliktedir. Bu türün meyveleri, koyu kırmızı renkte olup elips şeklindedir. Elips şeklindeki bu meyveler, 10-13 mm uzunluğundadır (Gökşin, 1982).



Şekil 1.7. *Sorbus subfusca*'nın meyve görünümü (URL-3, 2020).



Şekil 1.8. *Sorbus subfusca*'nın çiçeklenme görünümü (URL-4, 2020).

1.5. Çalışmanın Amacı

Vücudumuzdaki antioksidan savunma sistemimiz uzun yıllardır incelenmiştir ve düşman bir oksijen ortamında var olmamızı sağlayan yenilenebilir enzimleri ve bileşikleri içerdiği bilinmektedir. Ancak bu antioksidan sistemlere, antioksidan bileşikler içeren diyetle destek verilmesi gerekmektedir (Davies, 2000).

ROS ve serbest radikallerin oksidatif stres sonucunda neden olduğu kanser, alzheimer gibi çeşitli hastalıklara karşı vücudu korumak için antioksidan olarak hizmet etme potansiyeline sahip doğal bitki ürünleri araştırılmıştır (Hou vd., 2003; Gülçin, 2020).

Son zamanlarda, sentetik antioksidanların olası toksisitesi ve istenmeyen etkileri dikkate alınmıştır (Shahidi ve Wanasundara, 1995; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Gülçin, 2020).

Katkı maddesi olarak kullanılan meyve, sebze ve baharatlar, gıdaların lezzet algısına önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır ve içeriğinde bulunan fenolik asit miktarıyla beraber, 21. yüzyılda hızlı bir şekilde önem kazanmıştır (Öztürk Sarıkaya, 2009). Doğal ürünler sentetik ürünlere göre daha cazip görmüştür. Bitkiler hem lezzet verici olduğundan hem de doğal olduğundan odak noktası haline gelmiştir (Yaylayan, 1991).

Böylelikle, doğal gıda katkı maddelerinin artan popülaritesi, gıda üreticilerinin doğal antioksidan bileşik içeren bileşenleri, vücut için zararlı olan sentetik antioksidanlara tercih etmesine sebep olabilmesi muhtemeldir. Ayrıca, tüketiciler üzerine herhangi bir sağlık riski oluşturmadıklarından, doğal katkı maddeleri üzerine yapılan çalışmalar kuvvetli bir şekilde hız kazanmıştır (Shahidi ve Wanasundara, 1995; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Gülçin, 2020).

Bitkiler ve diğer doğal kaynaklar, yapılan çalışmalar sonucunda; her zaman insanlığa tıbbi kaynak olarak hizmet etmiştir (Faggio vd., 2015). *Sorbus subfusca*'nın da üyesi olduğu *Rosaceae* familyası, tıbbi ilaçlarda kullanılmaktadır; ayrıca aromatik olduğu bilinmektedir. Bu sebeple ekonomik açıdan önemli bir yere sahiptir (Kalkman, 2004; Ekin vd., 2016)

Tüm bunlar göze alındığında potansiyel antioksidan bitkiler, meyveler ve sebzelerin incelenmesi, antioksidan özelliklerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Ülkemizde sadece bir bölgede bulunan, antioksidan kapasiteleri bakımından hiç araştırılmamış, araştırılmaya çok açık olan yayla üvezi meyvesinin (*Sorbus subfusca*) antioksidan kapasitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Literatür değerlendirildiğinde *Sorbus subfusca*'nın antioksidan kapasitelerine bakılarak, doğal antioksidan gıdalara destek verilebileceği düşünülmektedir.

Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, gıda ve tıbbi biyoaktif bileşenler için bir parametre olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tahlil, bir bileşiğin lipit peroksidasyonu gibi oksidatif bozunmayı önleme kabiliyeti olarak tanımlanır (Roginsky ve Lissi, 2005; Gülçin, 2020). *Sorbus subfusca* meyvesinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan 10 farklı yöntem ile elde edilen sonuçlar, sentetik

antioksidan olan BHA, BHT, Trolox ve α - tokoferol ve literatürdeki bazı çalışmalar ile karşılaştırılmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Doğal antioksidan kaynakları öncelikle meyveler, sebzeler, tohumlar, kabuklu yemişler, yapraklar ve kabuklar dahil olmak üzere bitkilerin tüm kısımlarında oluşabilecek bitki fenolikleridir. Bitkiler, normal metabolik yollarıyla; flavonoidler, uçucu yağlar, alkaloidler, lignanlar, terpenler, terpenoidler, tokoferoller, fenolik asitler, fenolikler, peptitler gibi ikincil metabolitlerin büyük bir kısmını üretir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Gülçin, 2020). Flavonoidler ve fenolik asitler, stilbenler, tanenler, lignanlar ve lignin gibi diğer bitki fenolikleri özellikle yapraklarda, çiçekli dokularda ve sap ve kabuk gibi odunsu kısımlarda yaygındır (Larson, 1988; Kähkönen vd, 1999).

Diyet antioksidanlarının en önemli temsilcileri C vitamini, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidlerdir (Sies ve Stahl, 1995; Gülçin, 2020). Diyetle, şu anda değerlendirilmesi zor olan bu çeşitli diyet bileşiklerinin sinerjistik etkileri olabilir (Diplock vd., 1998; Gülçin, 2020).

Çalışmalar incelendiğinde, C vitamini alımı ile kanser riski arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu çalışmaların çoğu, ağız boşluğu, yemek borusu ve akciğer kanseri gibi tütünle ilgili kanserler üzerine odaklanmıştır. Artan C vitamini alımının azalmış kanser riski ile ilişkili olduğuna dair önemli epidemiyolojik kanıtlar vardır (Enstrom, 2001).

Vücut içerisinde sentetik antioksidanların doğal antioksidanlar kadar etkili olmadığı görülmüştür. Ayrıca sentetik oksidanların kanser vb. gibi neden olacağı sonuçlar ve vücut içindeki zararları bilindiğinden mevcut üretimdeki ilaç ve gıdalara ilavesi sınırlandırılmıştır (Yavaş, 2011). Bu neden ile gıda uygulamaları için doğal ve emniyetli oksidanlara artan bir ilgi ve doğal antioksidanlara karşı tüketici tercihlerinde artan bir eğilim var olmaktadır ve bunların hepsi doğal antioksidanları keşfetme girişimlerine hız kazandırmıştır (Gülçin, 2006a).

1980 yılından sonraki dönemde, doğal antioksidanlar sentetik antioksidanlara alternatif olarak ortaya çıkmıştır (Gülçin, 2012). Bu sentetik antioksidanlar en yaygın olarak gıda ve farmakolojik uygulamalar için kullanılır. Sentetik antioksidanlar, katı ve sıvı yağlardaki çözünürlüklerini arttırmak için her zaman alkil ile ikame edilir (Hudson, 1990; Gülçin, 2012).

Antioksidan besinler ile katarakt riski arasındaki ilişki üzerine yapılan birçok epidemiyolojik çalışma, kanda C vitamini, E vitamini, A vitamini olan kişilerde daha düşük risk ortaya koymuştur (Sies ve Stahl, 2001).

Karotenoidler, ROS'nin etkili temizleyicileridir. Doğal polienlerin fotooksidatif hasara karşı korumada rol aldığına dair artan kanıtlar vardır. Yapılan çalışmalar, karotenoidlerle oral tedavinin eritem oluşumu üzerindeki önleyici etkilerine dair umut vericidir (Sies ve Stahl, 2001).

Yağda çözünen diğer vitaminlerle karşılaştırılacak olursak, E vitamini karaciğerde depolanmaz; bunun yerine yağ dokusunda depolanır. Yağ dokusundaki E vitaminin miktarı tüketilen miktara ve diyet yağın emilimine bağlıdır (Zawawi, 2018). Safra asidi E vitaminin emilmesi için şarttır (Samur, 2008).

Tokoferoller kuvvetli bir antioksidan olup, günlük ihtiyaç çocuklarda 3-8 mg, kadınlarda 8 mg, erkeklerde 10 mg seviyesindedir (Samur, 2008). Vücuda giren çoklu doymamış yağ asidi içeren yağlar çok tüketildiği takdirde bu miktar artmaktadır (Baysal, 2016).

Vücudumuza A vitamini 2 şekilde giriş yapmaktadır. Tereyağı, et, yumurta sarısı gibi hayvansal kaynaklar ile doğrudan veya sebze ve meyveler ile provitamin A olan karoten olarak vücuda girmektedir. Ancak diyet sebze ve meyvelerde bulunan karotenin maksimum %10'u A vitamini haline gelebilmektedir (Baysal, 2016). Karotenoidlerden yaklaşık 10 tanesi A vitamini haline geçebilme özelliğine sahiptir. Bunlardan en önemlileri β -karoten, α -karoten ve kriptoksantindir (Cemeroğlu, 2016).

Karotenoidler 2 kısımdan oluşmaktadır;

a) Hidrojen ve karbondan oluşmuş olan hidrokarbon karotenoidler;

b) Bünyesinde en az bir veya birkaç oksijen grubu bulundurmakta olan ksantofiller ve keto, metoksi, hidroksi, epoksi (De Quirós ve Costa, 2006).

En bilindik C vitamini kaynakları, portakal, greyfurt, mandalina olarak bilinse de maydanoz ve asma yaprağı nispeten 2-3 kata daha fazla C vitamini bulundurmaktadır. İnsanlarda vücut içerisinde sentezlenemeyen askorbik asit diyet ile alınmak zorundadır ve günlük 90 mg almak yeterlidir (Baysal, 2016).

Meyve ve sebzelerin fabrikasyonda işlenmesinin sonucunda, lezzet olarak ağızda acı bir tat hissettirebilmektedir. Diğer taraftan bazı fenolikler, örnek olarak antosiyoninler meyve ve sebzelere kendilerine has rengi veren kaynaklardır. Meyve ve sebzelerin neredeyse hepsinde bulunsa bile, meyvelerde sebzelere nispeten daha fazla bulunmaktadır (Cemeroğlu, 2016). Sebze ve meyveler sağlığa faydalı bileşenler içermektedir. Flavonoidler ve karotenoidler, insan sağlığına önemli katkıda bulunmaktadır (Cordell vd., 2007).

Karotenoidlerin antioksidan etkisi, esasen bunların serbest radikallerin başlattığı parçalanma ve karotenoid parçalanma ürünlerinin oluşumu ile bağlantılıdır. Araştırmaların ilk adımında, insan plazması ve dokularının başlıca karotenoidleri, radikal tarafından başlatılan otoksidasyon koşullarına maruz bırakıldı. Retinadaki tek karotenoid olan lutein ve zeaksantin ile plazmada singlet oksijenin en etkili söndürücüleri olan likopen ve β -karoten tüketimi karşılaştırıldı. İncelenen karotenoidlerin serbest radikal tarafından başlatılan tüm otoksidasyon koşulları altında, likopen ve β -karotenin parçalanması, lutein ve zeaksantinden çok daha hızlıydı (Siems vd., 2001).

1993 yılında, Çocuklarda Kanseri ve Antioksidan Mikrobisimler Fransız Çalışma Grubu'nun bir raporu, çocuklarda lösemi, lenfoma, kemik ve böbrek tümörleri gibi tümör insidansının β -karotenin plazma konsantrasyonu ile ters orantılı olduğunu gösterdi (Malvy vd., 1993).

Doğal antioksidanların öneminin artmasıyla birlikte gelişen süreçte antioksidanlar ile alakalı birçok çalışma yapılmıştır. Kızılcık (Gülçin vd., 2005b), hürmüzotu (Güzel ve Elmastaş, 2020), mayıs papatyası (Çinkılıç, 2009), ısırgan (Gülçin vd., 2004a), fesleğen (Gülçin vd., 2007a), zerdeçal (Ak ve Gülçin, 2008), keten tohumu ve altın çilek (Han, 2012), şahtere otu (Özenç, 2011), deve dikenini (Köksal vd., 2009), ışgın (Oktay vd., 2007), geyikotu (Taslimi vd., 2020), nar (Ergin, 2019), meyan (Şerbetçi, 2007), taze ve kuru incir (Arvaniti vd., 2019), çiriş otu (Bursal vd., 2013), şeftali, nektarin ve kayısı (Ersoy vd., 2011), kızılcık (Tural, 2006), şeker akçaağaç ve kırmızı akçaağaç (Bhatta vd., 2018), koca yayotu (Bursal vd., 2019), karnabahar (Köksal ve Gülçin, 2008), (*Actinidia arguta*) Sibirya kivi (Du vd., 2009), erik (Kim, 2003), kuşburnu (Koczka vd., 2018), kekik (Soares vd., 1997), kuş üvezi (*Sorbus aucuparia. L*) (Bayram vd., 2019), deli çivanperveri (*Achillea schischkinii Sosn*) (Türkan vd., 2020), yarpuz (Gülçin vd., 2020), *Picea orientalis* kozalağı (Topal, 2018), *Pinus sylvestris* kozalağı (Topal, 2020), rezene tohumu (Oktay vd., 2003),

bahçe nanesi (Dorman vd., 2009), böğürtlen (Reyes-Carmona vd., 2005), eşek pancarı (Zargoosh vd., 2019) ve kerkede (Zhen vd., 2016) gibi birçok meyve, sebze ve bitkinin antioksidan aktivitesi araştırılmıştır.

Ayrıca, çilek ve meyve sularından tanımlanan sentetik ve doğal polifenolik bileşiklerin (Abountiolas, 2016), Erzincan kirazının tohum ve sap bölgeleri (Tozoğlu, 2011), Polonya’da yetişen 22 elma çeşidi (Oszmiański vd., 2017), Malezya’daki tropikal balanas ve muz (Alothman vd., 2009), Tokat yöresinde yetişmekte olan bazı yabancı mantar türleri (Mısırlı vd., 2019) ve üzümü meyvelerin (Tosun ve Yüksel, 2003) antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

İzmir Gemlik zeytininden elde edilen doğal zeytin yağı (Kelebek vd., 2012), karabaş otundan elde edilen uçucu yağ asitleri (Öztürk vd., 2005), karanfil yağı (Gülçin vd., 2012) ve Tekirdağ’da yetişen yağ endüstrisinde büyük öneme sahip olan ayçiçeği bitkisinin (Afacan vd., 2014) antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

Meyve, sebze ve bitkilerin yanı sıra vücuda birçok yararı olan balın, antioksidan özellikleri üzerine yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu anlamda, arı poleni ve arı ekmeğinin (Mayda, 2020), karaçalı balı (Malkoç vd., 2019) ve Çorum iline ait 47 bal örneğinin (Güzel ve Bahçeci, 2019) antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

Yine bunların yanı sıra bazı bitki kaynaklı saflaştırılmış maddelerin antioksidan özellikleri merak edilip incelenme gereksinimi duyulmuştur. Bu doğrultuda zerdeçaldan sentezlenen kurkumin (Ak ve Gülçin, 2008), karanfil bitkisinin yağından sentezlenen eugenol (Gülçin, 2011), bambu bitkisinden sentezlenen klorojenik asit (Kweon vd., 2001), sarmaşık bitkisinden sentezlenen saponinlerin; hederakolşizit-F, hederakolşizit-E, hederasaponin-C, α -hederin (Gülçin vd., 2004b), biberiye bitkisinden sentezlenen; karnosik asit, rozmarinik asit (Frankel vd., 1996) gibi saflaştırılmış maddelerin radikal süpürme aktivitesi ve antioksidan özellikleri incelenmiştir.

Sorbus türlerinin birçoğu farklı alanlarda kullanılmaktadır. Avrupa’nın çok büyük bir kısmında mevcut olan *Sorbus aucuparia* bitkisinin yaprak ekstraktı, gümüş ve altın nanoparçacık sentezi için indirgeyici ajan olarak kullanmak için çalışma yapılmıştır (Dubey vd., 2010). *Sorbus domestica* üzerine yapılan bir çalışmada; olgunlaşmamış sarı meyveler, en güçlü antioksidanlar iken, iyi olgunlaşmış kahverengi meyveler en zayıf

olanlardır (Termentzi vd., 2006). *Sorbus*'un bir türü olan *sorbus domestica*, kabızlığa iyi gelir ve kan şekerini düşürücü etkisi de olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca içki üretiminde de kullanılmaktadır (Gültekin, 2007).



3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bitki materyali olarak Yayla Üvezi (*Sorbus subfusca*) meyveleri kullanılmış olup; meyve herbariumları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ali KANDEMİR tarafından belirlenmiştir. Herbarium kayıt numarası Kandemir 11307'dir.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar

1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikali, N,N-dimetil-p fenilendiamin (DMPD), 2,2-Azino-bis (3-etilbenztiyoazolin-6-sulfonik asit) (ABTS), neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), linoleik asit, α - tokoferol, gallik asit, folin-ciocalteu, kuersetin, metiyonin, trikloroasetik asit (TCA), riboflavin, 3-(2-piridil)- 5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (Ferozin), Sigma-Aldrich GmbH, (Sternheim Germany)'dan satın alındı.

Çalkalayıcı	(Wiseshake)
Hassas terazi	(OHAUS)
Evaporatör	(Heidolph)
Etüv	(Wisecube)
Blender	(Waring Commercial)
Liyafilizatör	(Alpha 1-2 LD plus)
pH metre	(İnoLab WTW)
Otomatik pipetler	(Eppendorf)
Spektrofotometre	(VWR)
Vortex	(WiseStir)
UV-Spektrofotometre küveti	(1 cm ³ 'lük Kuartz küvet)

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

3.1.3.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinin hazırlanması: 1 gram Na_2CO_3 40 mL destile suda çözüldü ve son hacmi saf suyla 50 mL'ye tamamlandı.
2. FCR satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

3.1.3.2. Total Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinin hazırlanması: 1 g Na_2CO_3 , 40 mL destile suda çözüldü ve son hacmi saf suyla 50 mL'ye tamamlandı.
2. Standart kuersetin çözeltisinin hazırlanması: 15 mg kuersetin 15 mL saf etanolda çözüldü.
3. 1 M'lik CH_3COOK çözeltisinin hazırlanması: 5.2 g CH_3COOK alındı 40 mL saf suda çözüldükten sonra total hacim 50 mL olacak şekilde tekrar saf su ilave edildi.
4. %10'luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ çözeltisinin hazırlanması: 5 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ alındı ve 45 mL destile suda çözüldü.

3.1.3.3. Cuprac Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. 1 M'lık CH_3COONa tamponunun hazırlanması (pH:6.5): 4 g CH_3COONa alınıp 40 mL destile suda çözüldürülüp, pH-metre kullanılarak pH'sı 6.5'e ayarlandı ve toplam hacim 50 mL'ye destile su ile tamamlandı.
2. 7.5×10^{-3} M'lık etil alkol içeren neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 0.035 g Neokuprin alınıp 25 mL etil alkolde çözüldürüldü.
3. 0.01 M CuCl_2 çözeltisinin hazırlanması: 0.033 g CuCl_2 (MA: 134.5 g mol^{-1}) alınıp 25 mL saf suda çözüldürüldü.

3.1.3.4. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. 0.2 M pH:6.6 fosfat tamponunun hazırlanması: 2.4 g Na_2HPO_4 90 mL saf suda çözüldürülüp, pH metre ile pH'sı 6.6 olacak şekilde ayarlandı. Son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
2. % 0.1'lik FeCl_3 çözeltisinin hazırlanması: 0.165 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ destile suda çözüldürülüp son hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

3. %10'luk TCA çözeltisinin hazırlanması: 10 g TCA destile suda çözündürülüp, son hacim 100 mL'ye saf suyla tamamlandı.

4. %1'lük $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin hazırlanması: 1 g $K_3Fe(CN)_6$ saf suda çözündürülüp son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.5. FRAP İndirgeme Metodu ile İlgili Çözeltiler

1. FRAP Reaktifinin Hazırlanması: 10 hacim 0.3 M'lük asetat tamponu, 1 hacim 20 mM'lük $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve 1 hacim 10 mM'lük TPTZ çözeltilerinden meydana gelmektedir.

2. 0.3 M'lük Asetat Tamponunun Hazırlanması: 2.46 g $NaCH_3COO$ alınıp, 80 mL saf suda çözündürüldü. pH metre yardımıyla pH: 3.6'ya ayarlandı. Son hacim saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.

3. 40 mM'lük HCl Çözeltisinin Hazırlanması: % 37 lik hidroklorik asit çözeltisinden 334 μL alınıp, saf su ile son hacim 100 mL'ye ayarlandı.

4. 20 mM'lük $FeCl_3$ Çözeltisinin Hazırlanması: 0,25 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ alınıp 50 mL saf suda çözündürüldü.

5. 10 mM'lük TPTZ Çözeltisinin Hazırlanması: 100 mL 40 mM'lük hidroklorik asit içerisinde 312 mg TPTZ çözündürüldü.

3.1.3.6. DPPH· Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler

1. 0,001 M'lük DPPH· çözeltisinin hazırlanması: 0.050 g DPPH· 200 mL etil alkolde tamamiyle çözülünceye 6 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılır. Karanlık olması için beherin etrafı alüminyum folyo ile kapatılmıştır.

3.1.3.7. DMPD⁺⁺ Giderme Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. 0.1 M'lük asetat tamponunun hazırlanması (pH: 5.3): 2.05 g CH_3COONa 230 mL destile suda çözüldükten sonra pH-metre yardımıyla pH: 5.3'e ayarlandı. Çözeltinin son hacmi destile su ile beraber 250 mL'ye ayarlandı.

2. 0.1 M'lük DMPD⁺⁺ çözeltisinin hazırlanması: 105 mg DMPD, 5 mL saf su ile beraber çözülerek hazır hale getirildi.

3. $5 \cdot 10^{-2}$ M'lük $FeCl_3$ çözeltisinin hazırlanması: 1.60 g $FeCl_3$ 200 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

4. 10^{-3} M'lık DMPD⁺ çözeltisinin hazırlanması: 0.1 M'lık DMPD çözeltisinden 1000 µL çekilip 0.1 L'lik ve 0,1 M'lık (pH:5.3) asetat tamponuna ilave edildi. Daha sonrasında üzerine 200 µL ve 0.05 M'lık FeCl₃ eklenerek hazır hale getirildi.

3.1.3.8. ABTS⁺ Giderme Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. ABTS⁺ çözeltisinin hazırlanması: 50 mL saf su içerisinde 0.075 g ABTS alınarak çözüldü.

2. Potasyum persülfat çözeltisinin hazırlanması: 0.02 g K₂O₈S₂,50 mL'lik ABTS⁺ çözeltisi içerisinde azar azar eklenildi. Yarım saat magnetik karıştırıcıda karıştırıldı.

3.1.3.9. Bipiridil Metal Şelatlama Metodu ile İlgili Çözeltiler

1. $2 \cdot 10^{-1}$ M'lık HCl Çözeltisinin Hazırlanması: % 37 lik hidroklorik asit çözeltisinden 1600 µL alınarak, son hacim 100 mL'ye saf su ile ayarlandı.

2. 2 mM'lık FeSO₄ Çözeltisinin Hazırlanması: 0.112 g FeSO₄.7H₂O tartılarak 200 mL saf suda çözüldürüldü.

3. % 0.2'lik Bipiridil Çözeltisinin Hazırlanması: 200 mg Bipiridil alınıp 100 mL'lik, 0.2 M'lık hidroklorik asit çözeltisinde çözüldürüldü.

4. 0.1 M'lık Tris-HCl Tamponunun Hazırlanması: 1.21 g Tris alınıp, 90 mL saf suda çözüldürüldü. pH metre yardımıyla pH:7.4'e getirildi. Saf su ile son hacim 100 mL'ye ayarlandı.

3.1.3.10. Total Antioksidan Aktivitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

1. % 3.5'luk HCl Çözeltisinin Hazırlanması: 9.46 mL % 37'lik Hidroklorik asit'ten alınıp saf su ile 100 mL'ye ayarlandı.

2. $4 \cdot 10^{-2}$ M pH:7.4 Fosfat Tamponunun Hazırlanması: 0.96 g NaH₂PO₄ alınıp 180 mL saf suda çözüldü, daha sonra pH metre yardımıyla pH 7.4'e ayarlanıp son hacmi saf su ile 200 mL'ye ayarlandı.

3. 20 mM FeCl₂ Çözeltisi Hazırlanması: % 3.5'luk Hidroklorik asit içinde 0.281 g FeCl₂.xH₂O çözüldürülerek, son hacmi 100 mL'ye aynı çözeltiyle ayarlandı.

4. 0.017 M Linoleik Asit Emülsiyonunun Hazırlanışı: pH'sı 7.4 olan 50 mL fosfat tamponuna 265 µL linoleik asit eklendi. Karışımın homojenize olması için emülgatör olarak Tween-20'den 175 µL eklendi.

5. % 30'luk NH₄SCN Çözeltisinin Hazırlanışı: 30 g NH₄SCN tartılarak bir miktar saf suda çözüldürüldü. Daha sonra hacim 100 mL'ye saf suyla tamamlandı.

3.2. Metot

3.2.1. Yayla üvezi (*Sorbus subfusca*) Meyvesinin Liyofilize Edilmiş Su ve Evaporate Edilmiş Etil Alkol Ekstrelerinin Hazırlanması

100 gram yayla üvezi blendırda parçalandı. Karışım iki kısma ayrıldı ve birinci kısmına 100 mL su ilave edildi, bir gece boyunca oda sıcaklığında ekstrakte edildi ve daha sonra karışım tülbent bezinden süzüldü. Süzüntü balon içine alınarak derin dondurucuda bekletildi. Daha sonra liyofilizatörde kuruluğa kadar liyofilize edildi. İkinci kısmına % 99.99' luk etil alkol ilave edilip 12 saat karıştırıldı ve tülbentten süzülmesi beklenmiştir, süzüldükten sonra evaporatör ile çözücüsü uzaklaştırılmıştır.

3.2.2. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Hazırlanan ekstrelerde bulunan fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile total olarak Singleton vd. (1999)'nin yöntemine göre belirlendi. Gallik asit, standart fenolik bileşik olarak kullanıldı. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstrilerinin fenolik bileşik miktarını belirlemek için ilk olarak gallik asitten bir standart grafik çizildi. Yayla üvezi ekstrilerinin mevcut fenolik bileşik miktarını belirlemek için hazırlanmış olan stok çözelti kullanıldı. Stok çözeltiden 750 µL ekstre alınarak bir vezin kabına konuldu ve hacim 23 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Karışıma 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra da %2'lik Na₂CO₃'den 1.5 mL ilave edildi. Numuneler oda sıcaklığında çalkalayıcıda 2 saat karıştırıldıktan sonra numunelerin absorbansı 760 nm ölçüldü, destile sudan oluşan köre karşı okundu. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit ekvalen (GAE) miktarı, hazırlanmış olan standart grafikteki denklemden oluşturuldu. Sonuçlar, gallik asit ekvalen olarak verildi (Han, 2012).

3.2.3. Total Flavonoit Miktarı Tayini

Hazırlanan ekstralarında bulunan total flavonoid miktarı, Park vd. (1997)'nin metoduna göre yapıldı. Bunun için bir vezin kabına 750 µL yayla üvezi ekstre ilave edildi. Daha sonra deney tüpüne aktarılan ekstre, 100 µL (1 M) suda hazırlanmış CH₃COOK ve 100 µL (%10) Al(NO₃)₃ çözeltilerini içeren 4550 µL etanol çözeltisi ile seyreltilerek vortekste karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorpsanları kaydedildi. Toplam flavonoid konsantrasyonu tayini için kuersetin standart olarak kullanıldı ve standart kuersetin grafiğinden elde edilen denklemden toplam flavonoid konsantrasyonu mikrogram kuersetin ekivalen (KE) olarak belirlendi.

3.2.4. Cu²⁺-Cu⁺ İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC Metodu)

Hazırlanan ekstralarda, CUPRAC metodunun (Apak vd., 2006), küçük bir modifikasyonu (Ak ve Gülçin, 2008) yapıldı. 10, 20 ve 30 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarda hazırlanan yayla üvezi su ve etil alkol ekstraları içeren tüplere sıra ile 0.01 M'lık 250 µL CuCl₂ çözeltisi, (7.5x10⁻³ M) etanolik neokuprin çözeltisinden 250 µL ve 1 M'lık CH₃COONH₄ tampon çözeltisinden 250 µL eklendi. Yarım saat sonra 450 nm'de köre karşı absorpsan değerleri ölçüldü. Kör olarak destile su kullanılmıştır.

3.2.5. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi

Toplam indirgeme tayini Oyaizu yönteminin (1986) küçük bir modifikasyonuna (Gülçin, 2012) göre yapıldı. İlk olarak 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti hazır hale getirildi. Deney tüplerine bu çözeltilerden farklı konsantrasyonlarda aktarılıp, hacim saf su ile 750 µL'ye tamamlandı. Ardından her tüpe 0.2 M'lık fosfat tamponundan (pH:6.6) 1000 µL ve %1'lik potasyumferrisiyanür K₃Fe(CN)₆'den 1000 µL eklendi. Çözelti 50 °C'de 20 dakika etüvde bekletildi. Daha sonra karışıma % 10'luk TCA'dan 1000 µL eklendi. Son olarak %0.1'lik FeCl₃ 250 µL ilave edilerek, köre karşı absorpsan (700 nm) okundu. Kör olarak saf su kullanıldı. Kontrol için ise numunenin yerine destile su kullanıldı.

3.2.6. FRAP İndirgeme Kapasitesi

FRAP metodu, (Benzie ve Strain 1996, 1999) yöntemine göre yapıldı. İlk olarak deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) olacak şekilde yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstraları ile standart çözeltiler ilave edildi. Bu çözeltilerin hacimleri tampon çözelti ile 500 µL'ye ayarlandı. Sonrasın da

tüplere sırasıyla 20 mM'lık FeCl₃ çözeltisinden 2.25 mL ve FRAP reaktifinden de 2.25 mL eklenerek son hacim 5000 µL olması sağlandı. Hazırlanmış olan bu tüpler vortex'de karıştırıldı. 10 dk bekletilerek absorbansları 593 nm'de okutuldu. Bu deneyde asetat tamponu kör olarak kullanıldı.

3.2.7. DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre yapıldı (1958). Deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 30 µg µL⁻¹) olacak şekilde yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstreleri ile standart çözeltiler ilave edildi. Deney tüplerinin toplam hacimleri 2 mL olacak şekilde etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir deney tüpüne, önceden hazırlanmış olan stok DPPH' çözeltisinden 0.5 mL ilave edilerek, deney tüpleri vortex'de karıştırılarak oda sıcaklığı ve karanlıkta yarım saat bekletildikten sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları okundu. Azalan absorbans değeri geriye kalan DPPH serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

3.2.8. DMPD⁺ Radikali Giderme Aktivitesi

DMPD radikali giderme aktivitesi deneyi, Fogliano ve arkadaşlarının (1999) yöntemine göre yapıldı. İlk önce renkli radikal katyon (DMPD⁺) elde edildi. DMPD⁺ radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 505 nm'de optik 0.900±0.100 nm'ye ayarlandı. Yayla üvezi su ve etil alkol ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri (10, 20 ve 30 µg/mL) deney tüplerine eklenerek hacimleri saf su ile 500 µL'ye ayarlandı. Deney tüplerinin üzerlerine 1000 µL DMPD⁺ çözeltisi ilave edildi. Karanlıkta 50 dk inkübasyonun ardından 505 nm'de absorbansları ölçüldü. Tampon çözelti, kör olarak kullanıldı.

3.2.9. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının yapmış oldukları metoda göre belirlendi (Re vd., 1999). Bunun için ilk önce 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiye 2.45 nM'lık persülfat çözeltisi ilave edilerek ABTS radikalleri elde edildi. Hazırlanan bu radikal çözeltiyle ilk önce kontrol çözeltisinin 734 nm'de absorbansı 0.700±0.025 nm'ye ayarlandı. Yayla üvezi su ve etil alkol ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) deney tüplerine eklenerek hacimleri etanolle 1.5 mL'ye tamamlanmıştır. Ardından 0.5 mL

ABTS radikal çözeltisi ilave edilerek karanlıkta yarım saat inkübe edildi. Kör olarak etanol kullanıldı ve absorbanlar 734 nm'de ölçüldü.

3.2.10. Bipiridil Metal Şelatlama Aktivitesi

Fe²⁺ şelatlama aktivitesi, belirlenen metoda göre yapıldı (Re vd., 1999). İlk olarak deney tüplerine 2 mM'lık FeSO₄ çözeltisinden 125 µL eklendi. Daha sonra yayla üvezi su ve etil alkol ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) deney tüplerine eklendi. Ardından sırasıyla pH'sı 7.4 olan 500 µL Tris-HCl tamponu eklenerek 30 dk karanlıkta bekletildi. Sonra ve 0.2 M HCl içerisinde çözülmüş 500 µL % 0.2'lik bipiridil çözeltisi eklendi. 1250 µL etanol ve 625 µL destile su içeren numunenin 522 nm'de absorbanları ölçüldü. Kontrolde numune yerine Tris-HCl tamponu kullanıldı. Kör olarak etanol kullanılmıştır.

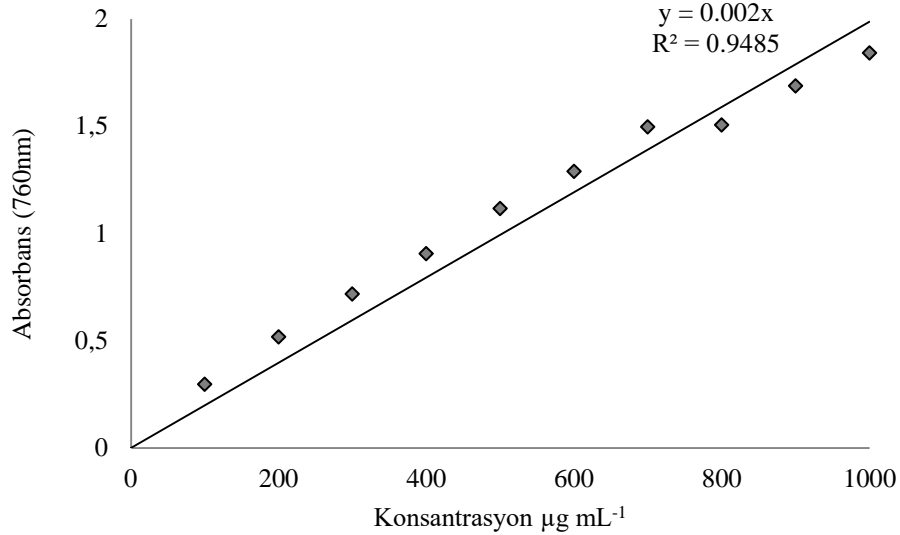
3.2.11. Total Antioksidan Aktivitesi

Hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivitesi tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Yen ve Chen, 1995). Bunun için önceden hazırlanan yayla üvezi su ve etil alkol ekstrelerinin stok çözeltileri kullanıldı. İstenilen miktarlara karşılık gelen hacimde stok çözelti vezin kaplarına ilave edilerek tampon çözeltiyle (0.01 M'lık pH: 7.4) 2.5 mL'ye tamamlanıp her bir vezin kabına 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu eklendi. Kontrol olarak ise 2.5 mL tampon çözelti ve 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. İnkübasyon ise karanlıkta ve 37°C'de gerçekleştirilmiş olup; her 12 saatte bir 100'er µL vezin kaplarından alınarak 4.7 mL etil alkol bulunan deney tüplerine ilave edildi. Bunun üzerine sırasıyla 100 µL Fe²⁺ çözeltisi ve 100 µL SCN⁻ çözeltisi ilave edildi. Kör numune ise 4.8 mL etanole Fe²⁺ çözeltisinden 100 µL ve NH₄SCN çözeltisinden de 100 µL eklenerek hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbanları köre karşı okunup; inkübasyon işlemine kontrol maksimum absorbanı ulaştığı noktadan sonra son verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Bulgular

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında (750 $\mu\text{g mL}^{-1}$) bulunan total fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit standart fenolik bileşik olarak kullanıldı. Standart grafik çizildi ve çıkarılan denklem yardımıyla yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşik miktarı gallik asit ekvivalenti (GAE) olarak hesaplandı (r^2 : 0.9485). Bu amaçla hazırlanmış olan standart gallik asit grafiği (Şekil 4.1)'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Total fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

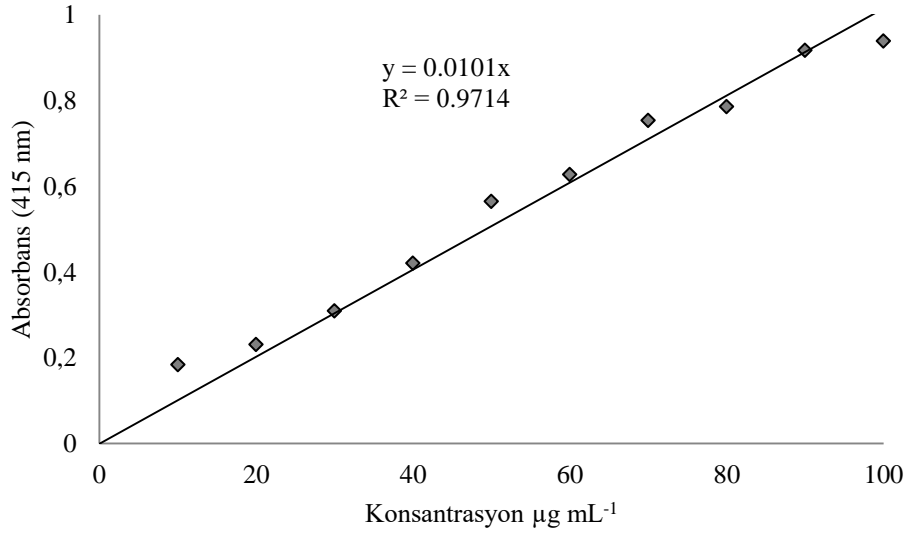
Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstresinde bulunan total fenolik bileşik miktarını hesaplamak için standart grafikten hesaplanan eşitlikten yararlanıldı.

$$\text{Absorbans } \lambda_{760 \text{ nm}} = 0.002 \times (\text{GA}), r^2: 0.9485$$

Total fenolik bileşik miktarı tayininde yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ekstresi ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında bulunan total fenolik bileşik miktarı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

4.2. Total Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini ile İlgili Bulgular

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında (750 $\mu\text{g mL}^{-1}$) bulunan total flavonoid bileşik miktarı tayini için kuersetin standart flavonoid bileşik olarak kullanıldı. Standart grafik çizildi ve çıkarılan denklem yardımıyla yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında bulunan total flavonoid bileşik miktarı kuersetin ekivalen (KE) olarak hesaplandı (r^2 : 0.9714). Bu amaçla hazırlanan standart grafik (Şekil 4.2)'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Total flavonoid miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart grafik

Hesaplamalar standart grafikten bulunan aşağıdaki formül ile yapıldı.

$$\text{Absorbans} = 0.0101 \times (\text{KE})$$

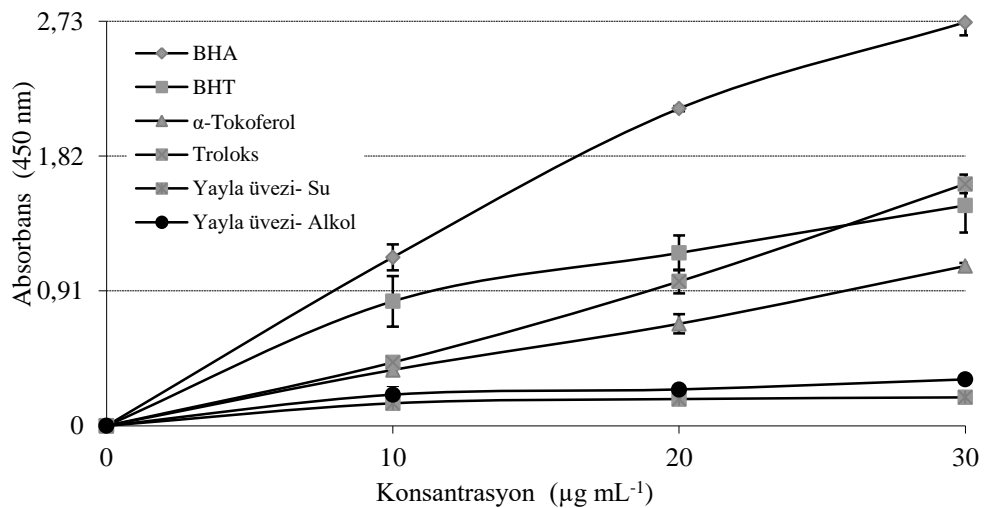
Total flavonoid bileşik miktarı tayininde yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ekstresi ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında bulunan total flavonoid bileşik miktarı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 750 µg mL⁻¹ konsantrasyonunda bulunan total flavonoit bileşiklerinin kuersetin ekivalen (KE) ve total fenolik bileşiklerinin gallik asit ekivalen (GAE) olarak miktarları

Ekstre	Total Fenolik Bileşik (µg GAE/ mg ekstre)	Total Flavonoit Bileşik (µg KE/ mg ekstre)
Yayla üvezi-su	43.5	5.64
Yayla üvezi-alkol	43.0	10.69

4.3. Cu²⁺-Cu⁺ İndirgeme Kuvveti (CUPRAC Metodu) Bulguları

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artışı gözlemlendi. Yayla üvezinin su ve etanol ekstralarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlendi. Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme grafiği çizildikten sonra (Şekil 4.3) kullanılan standartlar ve yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 20 µg mL⁻¹'ye karşılık gelen absorbans değerleri Çizelge 4.2'de verilip kendi aralarında karşılaştırma yapıldı.

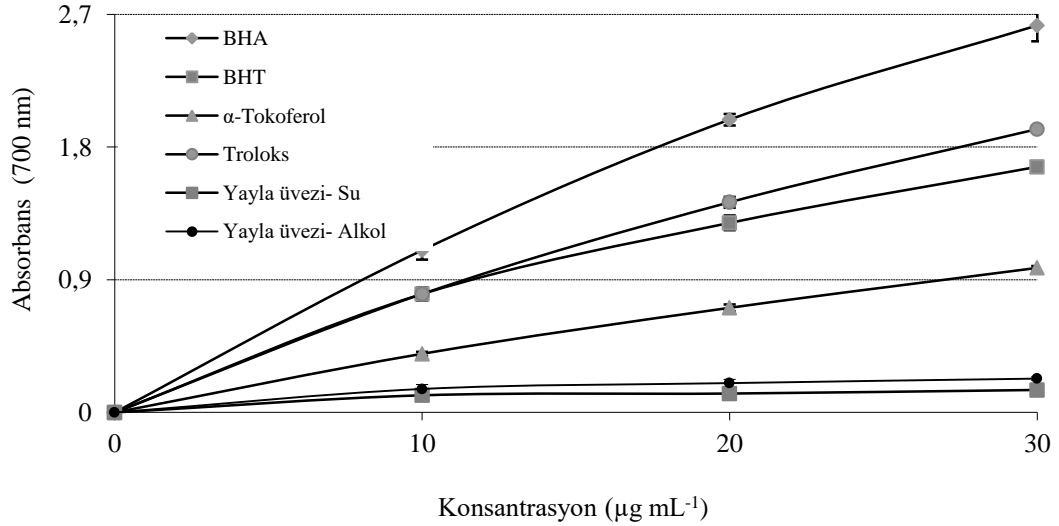


Şekil 4.3. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme aktivitelerinin standart antioksidanlarla olan BHT, BHA, Troloks ve α-tokoferol ile karşılaştırması

Bu konsantrasyonda yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktiviteleri birbirleri arasında mukayese edildiğinde: BHA> BHT> Troloks > α -Tokoferol> Yayla üvezi-alkol> Yayla üvezi-su olarak artan bir sıralama gözlemlenmiştir.

4.4. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kuvveti Bulguları

Bu testte, test solüsyonunun sarı rengi, antioksidan numunelerin indirgeme gücüne bağlı olarak çeşitli yeşil ve mavi tonlarına dönüşür. Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olabilir (Gülçin vd., 2010b; Gülçin, 2020). Çalışmada kullanılan yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının indirgeme kapasitesi artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbanları ölçülerek indirgeme kapasiteleri belirlendi (Şekil 4.4).



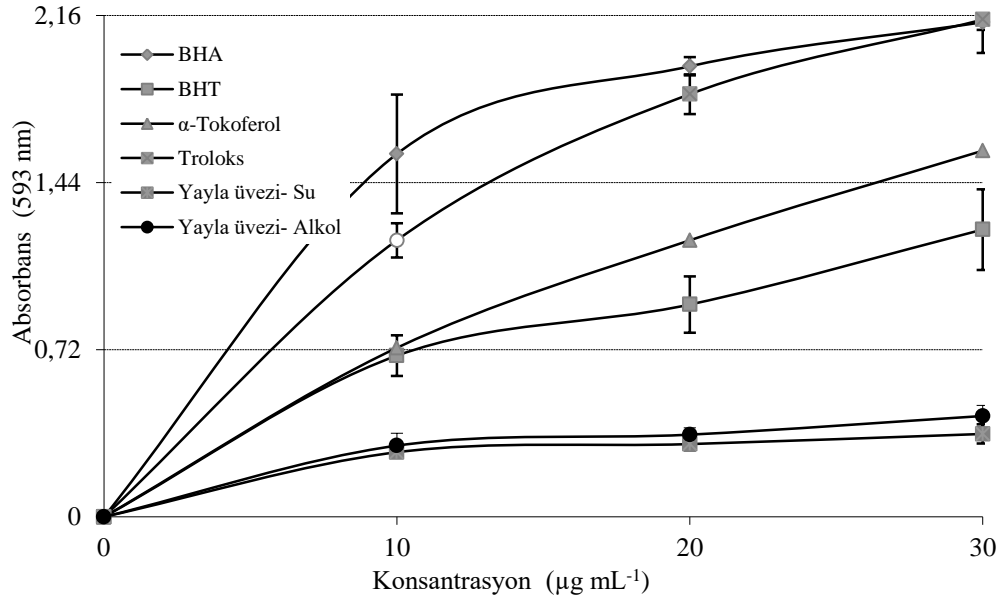
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks) ile karşılaştırması

Her bir standart antioksidan ve yayla üvezi su ve etil alkol ekstraları için aynı konsantrasyona (20 $\mu\text{g mL}^{-1}$) karşılık gelen absorban değerleri arasında karşılaştırma

yapıldı (Çizelge 4.2). Karşılaştırma sonucunda yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstraları ve standart antioksidanların ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvvetlerinin birbirleriyle karşılaştırılmaları: BHA> Trolox> BHT> α -Tokoferol> Yayla üvezi-alkol> Yayla üvezi-su şeklinde sonuçlanmıştır.

4.5. Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) Bulguları

Ferrik iyonları (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgendiği bu metottur. Oluşan sonra ferröz (Fe^{2+}) iyonları ise Tripiridil triazin (TPTZ) ile mavi renkli bir kompleks gösterir. Oluşan mavi renkli kompleks ise, maksimum absorbans değeri 593 nm’de gösterir. Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının FRAP deneyine göre Fe^{3+} ’ün Fe^{2+} ’ye indirgeme kapasitesi ve standart antioksidanların konsantrasyonu ile doğru orantılı şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.5). Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının standart antioksidanlarla FRAP metoduna göre indirgeme aktivitesinin karşılaştırılması yapıldı: BHA >Trolox > α -Tokoferol >BHT >Yayla üvezi-alkol >Yayla üvezi-su, şeklinde bir sıralama gözlemlendi (Çizelge 4.2).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstraksiyonlarının, FRAP metoduna göre indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve Troloks ile karşılaştırması

Çizelge 4.2. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 20 µg mL⁻¹ konsantrasyonda sırasıyla kuprik (Cu²⁺) iyonlarını, ferrik iyonlarını (Fe³⁺) indirgeme kapasitelerinin ve FRAP metoduna göre ferrik iyonlarını (Fe³⁺) indirgeme kapasitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve Troloks ile karşılaştırılması

Antioksidanlar	CUPRAC Metodu (450nm)	Fe ³⁺ İndirgeme (700nm)	FRAP Metodu (593nm)
BHA	2.141	1.986	1.941
BHT	1.166	1.286	0.915
α-Tokoferol	0.688	0.710	1.191
Trolox	0.974	1.426	1.821
Yayla üvezi-su	0.180	0.128	0.313
Yayla üvezi-alkol	0.245	0.199	0.354

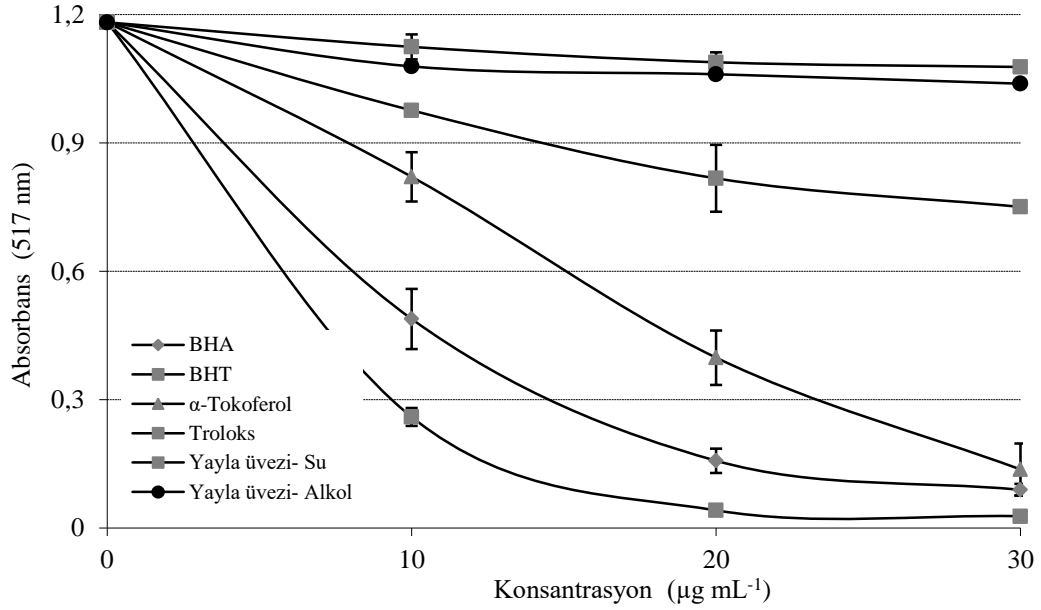
4.6. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

DPPH serbest radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki denkleme göre yapılmıştır.

$$\text{DPPH giderme aktivitesi (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\lambda_{517-N}}{\lambda_{517-K}} \right\} \times 100$$

Yukarıdaki formülde λ_{517-N} , DPPH serbest radikal çözeltisine numune eklenmesiyle belirlenen absorbans değerini; λ_{517-K} ise, yalnızca DPPH serbest radikal çözeltisini içermekte olan kontrolün absorbans değerini göstermektedir. Araştırmada pozitif kontrol olarak BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks standart antioksidanları kullanılmıştır.

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının DPPH giderme aktivitesi (Şekil 4.6) da görüldüğü üzere konsantrasyon ile doğru orantılı şekilde arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve Troloks ile karşılaştırması

Yayla üvezi su ve etil alkol ekstraları ve kullanılanılmış sentetik antioksidanlar sırasıyla şu şekilde DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sergilediler: Trolox > BHA > α-tokoferol > BHT > Yayla üvezi-alkol > Yayla üvezi-su. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstresinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi çizilip (Şekil 4.6) her bir standart ve yayla üvezi su ve etil alkol ekstraları için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Yayla üvezininin su ve etil alkol ekstralarının DPPH·, ABTS⁺, DMPD⁺ ve radikali giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerinin sentetik antioksidan olan BHT, BHA, Troloks ve α-tokoferol ile mukayese edilmesi

Antioksidanlar	DPPH· Giderme	ABTS ⁺ Giderme	DMPD ⁺ Giderme
BHA	7.70	2.74	24.75
BHT	43.31	3.61	-
α-Tokoferol	10.83	4.95	-
Troloks	4.98	3.14	9.90
Yayla üvezi-su	173.25	36.47	49.14
Yayla üvezi-alkol	138.60	33.00	46.20

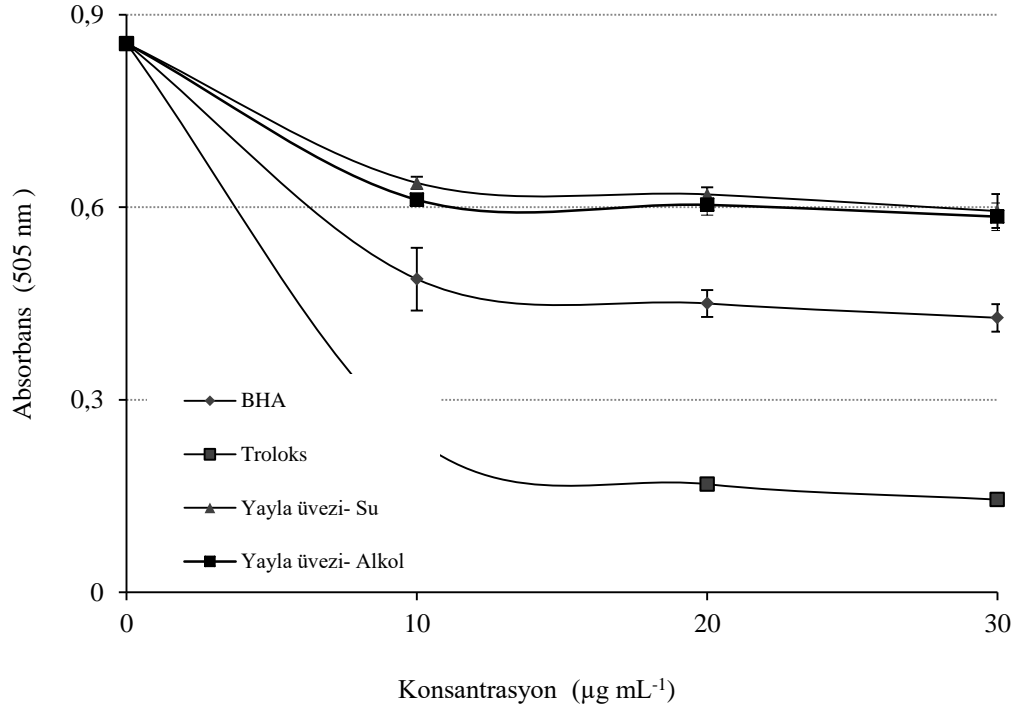
*DMPD⁺ giderme metodunda aktivite göstermeyen iki antioksidan bileşik bu deneyde kullanılmamıştır (Gülçin, 2008).

4.7. DMPD Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

DMPD⁺ miktarındaki azalma, yüzde olarak aşağıda verilen denklemden elde edildi.

$$\text{DMPD giderme aktivitesi (\%)} = \left[1 - \frac{\lambda_{505-N}}{\lambda_{505-K}} \right] \times 100$$

Standart antioksidan olarak ise BHA ve Troloks kullanılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 30 µg mL⁻¹) DMPD⁺ giderme aktivitelerinin sentetik antioksidan olan Troloks ve BHA ile mukayese edilmesi

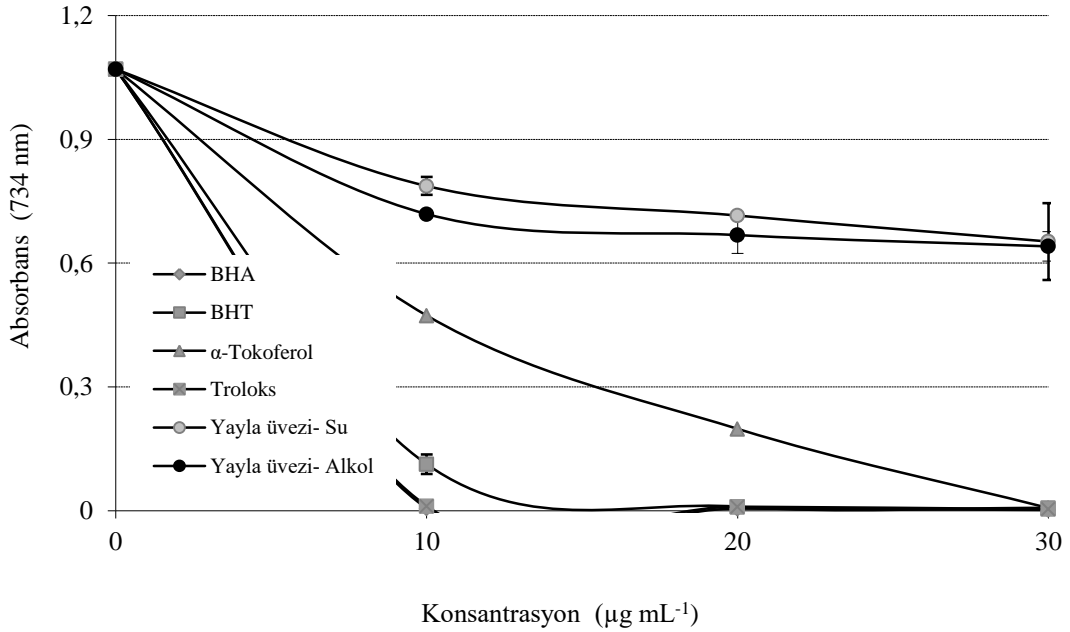
Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstresinin DMPD radikali giderme aktivitelerinin grafiği çizildikten sonra (Şekil 4.7) BHA, Trolox ve su ve etil alkol ekstraları için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı (Çizelge 4.3). Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının ve standart antioksidan olan BHA ve trolox'un DMPD giderme aktiviteleri sırasıyla, Trolox>BHA>Yayla üvezi -alkol>Yayla üvezi-su, şeklinde belirlenmiştir.

4.8. ABTS⁺⁺ Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi de içeceklerin, ekstrelerin, saf maddelerin veya sulu karışımların radikal giderme aktiveleri için sık kullanılmaktadır (Miller vd., 1996; Gülçin vd., 2007b). ABTS⁺⁺ giderme ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki denkleme göre yapıldı.

$$\text{ABTS}^{++} \text{ Giderme (\%)} = \left[1 - \frac{\lambda_{734-N}}{\lambda_{734-K}} \right] \times 100$$

Standart antioksidan olarak BHT, BHA, troloks ve α -tokoferol kullanıldı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki yayla üvezinin liyofiiize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstrlerinin 10, 20 ve 30 (µg mL⁻¹) ABTS⁺⁺ giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve Troloks ile karşılaştırması

Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstrlerinin ABST giderme aktiviteleri belirlendikten sonra (Şekil 4.8), standart antioksidanlar ve yayla üvezî ekstrlerinin ayrı ayrı IC₅₀ değerleri belirtilmiştir (Çizelge 4.3).

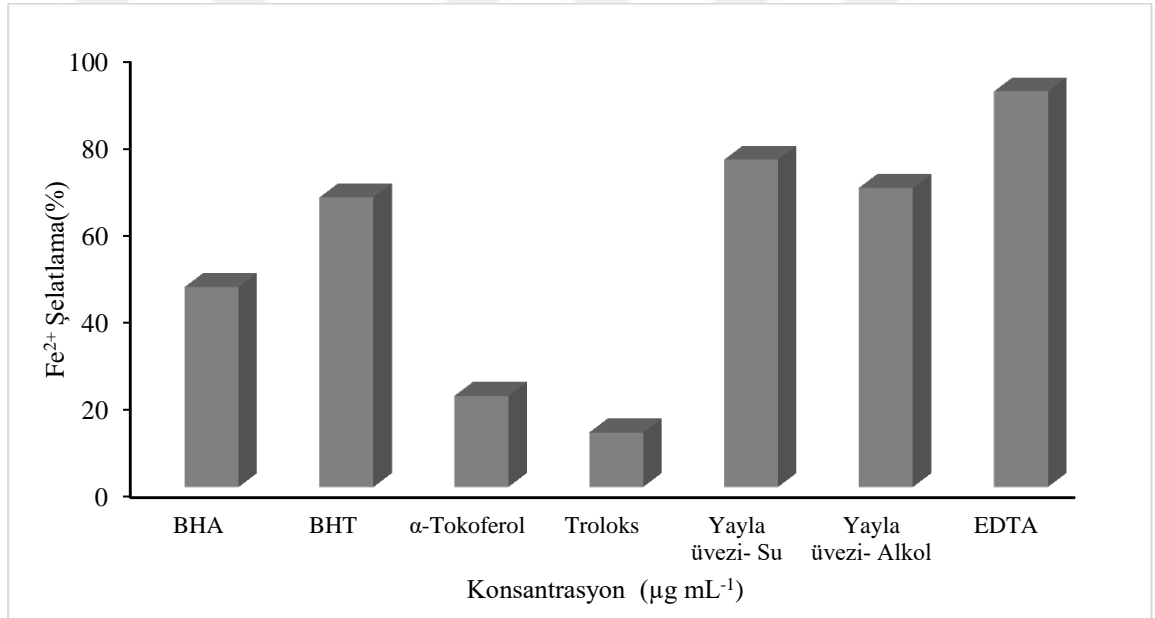
Bunlarla beraber yayla üvezinin su ve etil alkol ekstrlerinin ve standart antioksidanların ABTS giderme aktiviteleri birleriyle mukayese edildiğinde büyükten

küçüğe sıralanışının şu şekilde olduğu gözlemlenmiştir; BHA>Trolox>BHT> α -Tokoferol>Yayla üvezi-alkol> Yayla üvezi-su.

4.9. Bipiridil Metal Şelatlama Aktivitesi Bulguları

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ve standart antioksidanların metal şelatlama aktiviteleri bipiridil kullanılarak belirtildi. Bu tayinde konsantrasyona bağlı olarak artış izlenmiştir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklem ile yüzde olarak hesaplandı (Şekil 4.9).

$$\text{Bipiridil metal şelatlama aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\lambda_{522-N}}{\lambda_{522-K}}\right) \times 100$$



Şekil 4.9. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ekstresi ile evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının, BHA, BHT, α -tokoferol ve Troloksun 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdeleri

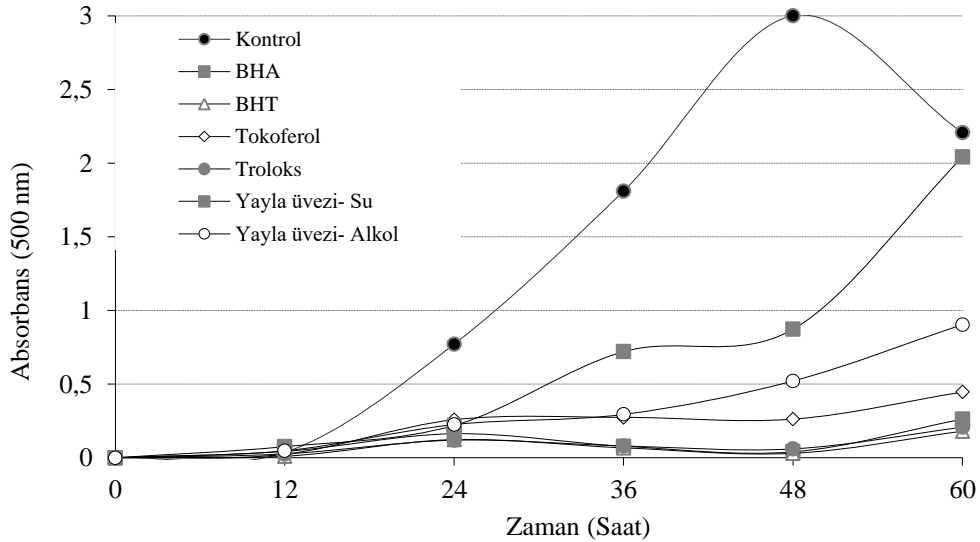
Aynı konsantrasyondaki (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) yayla üvezinin su ve etil alkol ekstraksiyonlarının ve standart antioksidanların metal iyonlarını şelatlama aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında EDTA> Yayla üvezi-su> Yayla üvezi-alkol> BHT> BHA> α -tokoferol>Trolox şeklinde olduğu gözlemlendi.

4.10. Total Antioksidan Aktivitesi Tayini ile İlgili Bulgular

Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının total antioksidan aktivitesi, “Tiosiyanat Metoduna” göre belirlendi. Linoleik asit emülsiyonunun oto-oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) ferik iyonlarına (Fe^{3+}) yükseltir. Daha sonra Ferik iyonları da (Fe^{3+}) tiosiyanat (SCN^-) ile $Fe(SCN)^{2+}$ kompleksi oluşur. Bu yapı ise spektrofotometrik olarak 500 nm’de maksimum absorbans gösterir. Yüksek absorbans, peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Uygulanan bu metotta pozitif kontrol olarak α -tokoferol ve troloks kullanıldı. Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme miktarı yüzde olarak aşağıda verilen eşitlikten hesaplandı. Hesaplanan bu değerler kendi aralarında mukayese edildi (Çizelge 4.4).

$$\text{Lipit peroksidasyonunun inhibisyonu (\%)} = \left[1 - \frac{\lambda_{500-N}}{\lambda_{500-K}} \right] \times 100$$

Burada λ_{500-N} , numune veya standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbans değeri, λ_{500-K} ise linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbans değeri ifade eder. Pozitif kontrol olarak α -tokoferol, BHA, BHT, Trolox değerlendirilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki ($20 \mu g mL^{-1}$) standart antioksidan olan α -tokoferol, Troloks, BHT ve BHA ile karşılaştırması

Çizelge 4.4. Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının ve standart antioksidan bileşiklerin linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme yüzde miktarları

Antioksidanlar	Lipit peroksidasyonu inhibasyonu (%)
BHA	98.67
BHT	99.00
α -Tokoferol	91.26
Trolox	98.00
Yayla üzezi-su	70.93
Yayla üzezi-alkol	82.63

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Son zamanlarda, organizmaların, dokuların ve cansız sistemlerin oksidatif strese karşı korunmasında antioksidanların önemi ortaya çıkmıştır. Bu ifade; beslenme, fizyoloji, farmakoloji ve hatta gıda işleme gibi çeşitli alanlarda yapılan çalışmalarla desteklenmektedir (Magalhães vd., 2009; Gülçin, 2020).

Antioksidan, direkt olarak ROS'ni temizleyen veya dolaylı yolla antioksidan savunmaları düzenleyen veya ROS'nin üretimini engel olan bir madde olarak sınıflandırılmaktadır. Antioksidan bileşikler, depolama veya proses aşamalarında gıda ve farmasötik ürünlerin bozulmasının ana kaynaklarından olan lipit peroksidasyon aşamasını geciktirerek serbest radikalleri yok edip raf ömrünü uzatabilmektedir (Halliwell, 1996; Gülçin, 2020).

Gıdalardaki antioksidanlar gıdanın bileşenlerini oksidatif hasara karşı koruyabilir. Örneğin, antioksidanlar açısından zengin baharatlar, saklama veya pişirme sırasında gıdaların oksidatif bozulmasını özellikle lipit peroksidasyonu ve bunun sonucunda kötü tat ve ekşimenin gelişmesini geciktirmesi amacıyla gıda endüstrisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır (Liu vd., 1995; Halliwell, 2001).

Antioksidanlar, temel olarak gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatırken duyuşal veya besleyici özelliklerinde herhangi bir olumsuz etki bırakmadığından dolayı vazgeçilemez bir gıda katkı maddesi grubu haline gelmiştir. Gıda sisteminde kullanılan antioksidanlar, ucuz, etkili ve düşük konsantrasyonlarda toksik olmamalıdır. Bu antioksidanlar kararlı bir yapıya sahip olmalıdır. Ayrıca baskın bir kokusu veya tadı olmamalıdır. Ürüne dahil edilmesi kolay ve iyi çözünürlüğe sahip olması da büyük bir avantaj sağlamaktadır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Gülçin, 2020).

Antioksidanlar ayrıca insan vücudunu serbest radikallerden ve ROS'nin etkilerinden koruyabilir. Pek çok kronik hastalığın ilerlemesini geciktirirler. Son zamanlarda doğal ve güvenli antioksidan kaynakları arayışları artmıştır. Burada araştırmalarda kendine çok fazla yer bulan bitki kökenli doğal antioksidanlardır. Oksidasyonun radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için gıdalara sıklıkla antioksidanlar eklenir (Shahidi vd., 1992; Gülçin, 2006a).

Ticari antioksidanların, gıda maddelerinin, tıbbi ürünlerin ve biyolojik örneklerin antioksidan özelliğini ve kapasitesini ölçmek ve araştırmak için farklı antioksidan

yöntemler geliştirilmiştir (Floegel vd., 2011). Literatürde hakkında çok fazla bilgi bulunmayan yayla üvezinin, liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için birçok metot kullanılmıştır.

Sorbus türleri arasında en az bilgiye sahip olunan tür *Sorbus subfusca*'dır. Yapılan literatür taramasında, *Sorbus subfusca* meyvesi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sadece bir çalışmada *Sorbus subfusca* bitkisinin yaprakları üzerine antioksidan aktivite belirleme çalışması yapılmıştır. *Rosaceae* ailesine ait 34 türün etil alkol ekstralarının 2000 µg mL⁻¹ konsantrasyonda antioksidan kapasitesini belirleme çalışmasında, test edilen yaprak ekstraları arasında *S. subfusca* en yüksek FRAP (700 nm'de ölçülen absorbas değeri 1.618 ± 0.09) ve DMPD radikal giderme aktivitesini (%31.05 ± 0.01) göstermiştir, ayrıca metal şelatlama kapasitesi (%11.98 ± 0.64) olarak belirlenmiştir (Ekin vd., 2016).

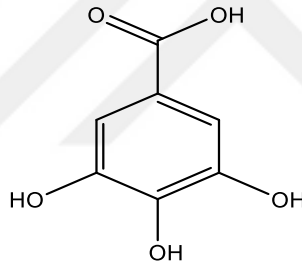
Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sırasıyla; CUPRAC metoduna göre Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kapasitesi, Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre Fe³⁺-TPTZ indirgeme kapasitesi, bipiridil kullanarak ferröz iyonlarını Fe²⁺ şelatlama aktivitesi, ABTS⁺ serbest radikal giderme aktivitesi, DMPD⁺ serbest radikal giderme aktivitesi, toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik bileşik miktarı ve toplam flavonoid bileşik miktarı şeklindedir. Antioksidan aktivite değerlerini mukayese etmek üzere BHT, BHA, α-tokoferol ve troloks gibi standart antioksidanlar kullanıldı.

Doğal antioksidan olan fenolik bileşikler, bitkilerden elde edilen maddeler arasında büyük yapısal zenginliğe ve kimyasal bileşimde çeşitliliğe sahiptir. Fenolik bileşikler hemen hemen tüm bitki, meyve, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve canlı dokularında bulunan (Pokorny, 1999; Gülçin, 2020) ikincil bitki metabolitleridir (Gülçin vd., 2006). Ayrıca insan ve hayvan beslenmesinde önemsenemeyecek kadar kendine yer bulmaktadır (Gülçin, 2006a).

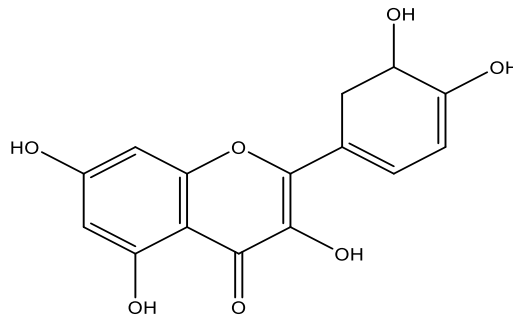
Çok amaçlı biyoaktif bileşikler olarak görev yapan fenolik bileşikler, ilaç endüstrisinde yoğun şekilde kullanılmaktadır. Fenolik bileşiklerin antioksidan, antikarsinojenik, antimikrobiyal ve benzeri biyolojik özellikleriyle sağlığı koruyucu etkileri bulunmaktadır (Naczki ve Shahidi, 2006; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Gülçin,

2020). Doğal antioksidanların çoğu fenolik bileşiklerdir ve en önemli doğal antioksidan grupları tokoferoller, fenolik asitler ve flavonoidlerdir (Gülçin, 2020).

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında bulunan flavonoid bileşik miktarı ve total fenolik bileşik miktarı kalitatif olarak gallik asit ve kuersetin ekivalen olarak belirlendi. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 750 µg'ı kullanılarak 760 nm'de absorbans ölçüldü. Standart fenolik bileşik olarak kullanılan gallik asitten standart grafik hazırlandı ve ardından elde edilen doğrusal denklemden ($\text{Absorbans } (\lambda_{760} \text{ nm}) = 0.002 \times (\text{GAE})$), ekstralarda bulunan total fenolik bileşik miktarı eşdeğer gallik asit ekivaleni (GAE) olarak hesaplandı. Fenolik bileşik miktarına bakıldığında yayla üvezinin su (43.5 µg GAE/ mg ekstre) ve etil alkol ekstresi (43.0 µg GAE/ mg ekstre) arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bilakis birbiriyle neredeyse aynı fenolik bileşik miktarı tespit edildi.



Şekil 5.1. Gallik asitin açık yapısı



Şekil 5.2. Kuersetinin açık yapısı

Flavonoidler, doğal olarak oluşan büyük bir bitki fenolikleri grubunu oluşturur (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Flavonoidler, bitki bazlı gıdalarda yaygın olarak bulunan büyük bir polifenolik doğal bileşik grubudur (Ghosh vd., 2015). Polifenolik

bileşikler kronik hastalıklara karşı çok etkilidir (Baxter vd., 1999; Gülçin,2020). Flavonoidler genellikle gıdalardan zayıf bir şekilde emilir (Formica ve Regelson, 1995).

Flavonoidler çok etkili antioksidanlardır ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu azaltarak kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma sağlamaktadırlar. Diyetimizin temel antioksidan bileşenleri arasında bulunan flavonoidler çoğunlukla meyveler, sebzeler ve bitki çaylarında bulunmaktadır. Günlük flavonoid alımı günde birkaç yüz miligramdır. Şimdiye kadar 4000'den fazla, doğal olarak oluşan flavonoid tanımlanmıştır (Ghosh vd., 2015, Gülçin, 2020).

Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarında bulunan flavonoit bileşik miktarı için ise standart flavonoit bileşik olarak kullanılan kuersetinden standart grafik çizilmiştir ve bu grafikten elde edilen doğrusal denklemden (Absorbans (λ_{415} nm) =0.0101x[KE]), kuersetin ekivalen (KE) olarak hesaplandı. Yayla üzezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının 750 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda bulunan total flavonoit miktarı kuersetin ekivalen (KE) olarak verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde yayla üzezi alkol ekstresinin, (10.69 $\mu\text{g KE/ mg}$ ekstre) yayla üzezi su ekstresinden (5.64 $\mu\text{g KE/ mg}$ ekstre) genel itibariyle daha fazla flavonoit bileşik miktarı içerdiği tespit edilmiştir.

İndirgeme çalışmaları ile ilk olarak CUPRAC metoduna göre Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi uygulanmıştır. Bu metod ilk olarak Apak ve grubu tarafından (2006) geliştirilip kullanılmıştır. Bu metod uygun maliyetli, hızlı, kararlı ve çeşitli antioksidanlar için uygun olmasıyla fark yaratmaktadır (Gülçin ve Daştan, 2007). Ayrıca CUPRAC reaktifi seçici olmasıyla bilinir. Gerçek antioksidan olarak adlandırılmayan basit şeker ve sitrik asit CUPRAC reaktifi ile oksitlenmemektedir, ancak fenolik antioksidanların kolayca oksitlenir. (Apak vd., 2005). Hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlar içeren çeşitli matrislere uygulanmıştır (Gülçin, 2008; Gülçin, 2020). Bu metod, kromojenik oksitleyici ajan olarak Cu^{2+} - neokuprin reaktifi tarafından gıda bileşeninin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için kullanılabilir. Cu^{2+} 'nin neokuprin varlığında bir indirgeme ajanı ile indirgenmesi, 450 nm'de maksimum absorpsiyon zirvesi olan bir Cu^+ kompleksi verir (Tutem vd., 1991; Gülçin, 2020). 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'deki konsantrasyonda yayla üzezinin evapore edilmiş su ve etil alkol ekstralarına karşılık gelen absorbans değerleri Çizelge 4.2'de

verilip kendi aralarında karşılaştırma yapıldı, yüksek absorbans değerleri yüksek indirgeme kapasitesini göstermektedir.

Başka bir yöntem olarak, Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi öne çıkmaktadır. Antioksidan etkiye sahip biyoaktif bileşikler, indirgeyici olabilir ve oksidanları inaktive edebilmektedir (Köksal ve Gülçin, 2008; Gülçin, 2020). Biyoaktif bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, $Fe[(CN)_6]^{3+}$ 'ün $Fe[(CN)_6]^{2+}$ 'ye direkt olarak indirgenmesiyle ölçülebilmektedir. İndirgenmiş ürüne ferrik iyonlarının Fe^{3+} eklenmesi, 700 nm'de güçlü bir emiciliğe sahip olan Prusyan mavisi kompleksi $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ 'nün oluşumuna yol açar (Bursal ve Gülçin, 2011; Gülçin, 2020). 20 $\mu g mL^{-1}$ 'deki konsantrasyonda yayla üvezi ve standart antioksidanların Fe^{3+} indirgemeleri Çizelge 4.2'de verilip kendi aralarında karşılaştırma yapıldı, yüksek absorbans değerleri yüksek indirgeme kapasitesini göstermektedir.

Pro-oksidan olması gerekmeyen, oksidanların kullanıldığı yöntemler arasında olan FRAP deneyi başlangıçta plazmanın ferrik azaltma yeteneği olarak tanımlanmıştır. Fe^{2+} -TPTZ yoğun mavi renge sahiptir ve 593 nm'de izlenebilir. Bu yöntemin gerçekte ölçtüğü şey, bir bileşiğin veya bileşiklerin Fe^{3+} (deney sistemindeki oksidan) Fe^{2+} üretmek için indirgeme yeteneğidir (Prior ve Cao, 2001).

İndirgeme çalışmalarından bir diğer çalışma olan FRAP metodu, tipik elektron transfer bazlı bir metottur (Benzie ve Strain, 1999). FRAP yöntemi, demir çözünürlüğünü korumak için pH: 3.6'da gerçekleştirilir. Düşük pH'daki reaksiyon, elektron transferini harekete geçiren iyonlaşma potansiyelini azaltır ve redoks potansiyelini artırarak baskın reaksiyon mekanizmasında bir kaymaya neden olur (Hagerman vd., 1998; Gülçin, 2020).

Uygulanan bu yöntem de yapılan diğer indirgeme kapasitesi tayinlerine benzer olarak hızlı, ekonomik, kolay ve özel aletlere ihtiyaç duymayan sadece spektrofotometrenin yeterli olduğu bir metottur. Antioksidanların varlığında düşük pH'da ve Fe^{3+} -TPTZ kompleksi Fe^{2+} -TPTZ kompleksine indirgenmesiyle gerçekleşmektedir. Renkli Fe^{2+} -TPTZ kompleksinin oluşması düşük pH'da Fe^{3+} 'ün Fe^{2+} 'ye indirgenmesi ile olmaktadır. Bu renkli demir kompleksi oksidan şeklinde kullanılır (Benzie ve Strain, 1996; Han, 2012). ABTS⁺ radikal giderme tayini ve FRAP indirgeme kapasitesi bir noktada birbirinden ayrılmaktadır, FRAP daha asidik ortamda gerçekleşmektedir (Huang vd., 2005; Han, 2012).

Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş alkol ekstralarının cuprac metoduna göre Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi, Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, FRAP metoduna göre Fe^{3+} -TPTZ indirgeme kapasitesi tayinlerinin hepsinde konsantrasyon ile indirgeme kapasiteleri arasında doğru orantılı bir ilişki gözlemlendiğinden dolayı 3 metodun birbirleriyle ilişki içerisinde olduğu söylenebilir.

Birbirinden ayrı ayrı üç metotta değerlendirildiği zaman, kullanılmış olan yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş alkol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin standart antioksidanlardan daha düşük olduğu belirlendi (Çizelge 4.2).

DPPH, ABTS⁺ ve DMPD⁺ radikallerinin kullanımını içeren radikal giderme metotları, bitki sap ve gövdelerinin, meyvelerin, yiyecek ve içeceklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için basit, seçici ve tekrarlanabilir prosedürler olmalarından dolayı araştırmacı çevreler tarafından sık sık kullanılan metotlardır (Özçelik vd., 2003; Şerbetçi, 2007). Bir antioksidan madde, bu radikal çözeltilerinden birine eklendiğinde; DPPH, ABTS⁺ ve DMPD⁺ oluşumunu tersine çevirir ve bu reaktif türleri indirgeyerek bir renksizleşme oluşur. Yüksek hassasiyete sahip olan; Menekşe renkli DPPH, pembe renkli DMPD⁺ ve yeşil-mavi renginde olan ABTS⁺ kromojenlerinin kullanımı kolaydır. Ayrıca saf maddelerden, bitkilere kadar birçok numune için uygulababilir metotlardır (Awika vd., 2003).

Bu metotlardan ilki DPPH radikal giderme yöntemi, antioksidan aktiviteyi ölçmek ve enzimatik olmayan antioksidanların radikal giderme aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan basit, kolay, ekonomik ve hızlı ve verimli bir yöntemdir. İlk olarak fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini belirlemek üzere yapılan DPPH radikal giderme yöntemi, antioksidan aktivitenin belirlenmesinde kullanılan en eski yöntemdir (Roginsky ve Lissi 2005; Gülçin,2020). En sık kullanılan yöntemlerden biri olan DPPH radikal giderme testi, antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için ilk yaklaşımlardandır. Bu radikal temizleme testi, dimerizasyon geçiremediği için uzun ömürlü olan bir nitrojen radikal türüdür (Gülçin vd., 2002).

Diğer serbest radikallerin çoğunda olduğu gibi molekülün dimerleşmemesi için bir bütün olarak molekül üzerinde yedek elektronun yer değiştirmesi sayesinde kararlı bir serbest radikal olarak karakterize edilir. Bu nedenle, elektronun yer değiştirmesi, yaklaşık 517 nm'de merkezlenmiş organik çözelti içinde bir soğurma bandı ile karakterize edilen

koyu mor renge yol açar (Alam vd., 2013; Gülçin, 2020). DPPH radikallerinin giderme mekanizmasının esası hidrojen veren grupları bulunan antioksidan maddelerin varlığında, etil alkol içerisindeki DPPH radikallerinin indirgemesi esasına dayanmaktadır. İndirgeme sonucunda radikal olmayan DPPH-H molekülü meydana gelmektedir. DPPH-H molekülü spektrofotometre de 517 nm’de bir absorbans göstermediğinden, DPPH serbest radikali miktarındaki azalma 517 nm’de ölçülerek aktivite tayinleri yapılabilmektedir (Topal, 2014).

DPPH serbest radikal giderme tayini değerlendirildiğinde; Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi için IC₅₀ değerleri; BHA (7.7µg mL⁻¹), BHT (43.31 µg mL⁻¹), α-tokoferol (10.83 µg mL⁻¹), trolox (4.98 µg mL⁻¹), yayla üvezi-su (173.25 µg mL⁻¹), yayla üvezi-alkol (138.6 µg mL⁻¹) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Elde edilen sonuçlar yapılan bazı araştırmalar (Han, 2012) ile karşılaştırıldığında, yayla üvezi ekstralarının yüksek IC₅₀ değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek IC₅₀ değerleri, düşük antioksidan aktiviteye işaret etmektedir. Altın çilek meyve ve yapraklarının liyofilize edilmiş su ekstralarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ile alakalı IC₅₀ değerleri altın çilek meyve için (36.47 µg mL⁻¹) ve altın çilek yaprakları için (38.50 µg mL⁻¹) olduğu tespit edilmiştir. Yine keten tohumunun liyofilize su ve alkol ekstralarının IC₅₀ değerleri: keten tohumu su için (53.30 µg mL⁻¹), keten tohumu alkol için (49.50 µg mL⁻¹) olarak bulunmuştur (Han, 2012).

Yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının IC₅₀ değerleri standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, BHA, α-tokoferol ve trolox’un yüksek etkiye sahip olduğu ancak BHT ve yayla üvezi su ve etil alkol ekstralarının daha düşük etkileşim içinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yayla üvezi-alkol ekstresi, yayla üvezi-su ekstresine göre biraz daha yüksek etki göstermiştir.

Başka bir radikal indirgeme tayini DMPD’dir. Ferrik iyonlarının (Fe³⁺) varlığında N, N-dimetil-p-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD), stabil ve renkli DMPD radikal kationuna (DMPD⁺) dönüştürülür. Test numunelerinde bulunan antioksidan moleküller, DMPD radikallerini kolaylıkla süpürerek DMPD⁺ testinin prensibini oluşturur (Gülçin, 2020). Bir hidrojen atomunu (veya bir elektronu) DMPD⁺’ya transfer edebilen antioksidan moleküller, çözeltinin hızlı renksizleşmesine neden olur ve 505 nm’de kararlı bir son nokta

ile soğurma azalması ile ölçülür (Fogliano vd., 1999). Bu reaksiyon 10 dakikadan daha kısa bir zamanda gerçekleşmektedir. Radikal katyonunun oluşumu yavaş olması sebebiyle en iyi sonuç için son konsantrasyonu 0.1 mM olan, aynı zamanda kararlı renk solüsyonu veren FeCl₃ ile tespit edilebilmektedir (Şerbetçi, 2007).

DMPD deneyi, ABTS⁺ deneyine çok benzemektedir. Fogliano vd. (1999) ve Schlesier vd. (2002), bu yöntemin geleneksel ABTS testine göre daha basit, daha verimli, daha kısa ve daha ekonomik olduğunu bildirmişlerdir (Gülçin, 2020). Eksik yönü ise DMPD'nin yalnızca suda çözünür olması ve hidrofobik antioksidanlarla kullanılamamasıdır (Fogliano vd., 1999).

ABTS prosedürünün aksine, DMPD⁺ yöntemi stabil bir son noktayı garanti etmektedir. Bu, özellikle büyük ölçekli bir tarama gerek olduğunda önemli bir noktadır. DMPD⁺ yönteminin ana dezavantajı, α -tokoferol veya BHT gibi hidrofobik antioksidanlar kullanıldığında duyarlılığının ve tekrarlanabilirliğinin dikkate değer bir şekilde azalmasıdır (Sanchez-Mareno, 2002; Gülçin, 2020). Bu sebeple bu iki standart antioksidan (BHT, α -tokoferol) bu radikal giderme deneyinde kullanılmamıştır.

DMPD⁺ giderme aktivitesi değerlendirildiğinde; yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının DMPD⁺ radikal giderme aktivitesi ile ilgili IC₅₀ değerleri standart antioksidanlar ile mukayese edildiğinde troloks en yüksek etkiyi göstermektedir. Yayla üzezi-su, yayla üzezi-alkol birbirine yakın değerler göstermiş, BHA ise Troloks'tan düşük, yayla üzezi-su, yayla üzezi-alkol den daha yüksek antioksidan etki göstermiştir. Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir.

Bir başka radikal giderme metodu ise Miller ve arkadaşları tarafından ortaya çıkarılmış olan ve günümüzde yaygın çevrelerce kullanılan ABTS yöntemidir (Miller vd., 1993). Aslında bu yöntem, ABTS⁺ radikal katyonunu oluşturmak için ABTS ile reaksiyona giren ferrilmiyoglobin radikalini oluşturmak için peroksidaz gibi davranan metmiyoglobinin H₂O₂ ile aktivasyonuna dayanıyordu (Gülçin, 2020). ABTS deneyi bir bileşiğin ABTS radikalini azaltma kabiliyetini ölçmekle birlikte, analiz edilen bileşik ferrilmiyoglobin radikallerini de azaltabilir (Prior ve Cao, 2001).

Radikal giderme deneyleri için daha uygun bir format olan ABTS, radikalın, varsayılan antioksidanlar ile reaksiyondan önce doğrudan kararlı bir biçimde üretildiği bir

renk giderme tekniğidir. ABTS⁺, etanolik ortamda (414, 730 ve 873nm) ve sulu ortamda (414, 734 ve 815 nm) maksimum absorpsiyona sahiptir (Gülçin, 2020). ABTS⁺ gıda bileşenlerindeki antioksidanlarla tipik olarak maksimum 30 dakika içinde hızla reaksiyona girmiş olur. Diğer metotların aksine çok geniş bir pH aralığında kullanılabilen ABTS metodu, pH'ın antioksidan mekanizmalar üzerine etkisini gözlemlemek için bir araç olarak görülebilir (Awika vd., 2003).

ABTS⁺ radikalleri DPPH radikallerinden daha reaktiftir ve hidrojen atomu transfer temeli (HAT) içeren DPPH yönteminin aksine, ABTS yöntemi hem HAT hem de elektron transfer temeli (SET) içerir. ABTS radikal giderme yöntemi saf maddelerin, bitkilerin, sulu karışımların ve içeceklerin antioksidan aktivitesini ölçmek için uygulanan spektrofotometrik yöntemlerden biridir. Hem hidrofilik hem de lipofilik bileşiklere uygulanabilen bu metot da öncelikle ABTS radikali oluşur. ABTS ve potasyum persülfat (K₂S₂O₈) arasındaki redoks reaksiyonu sonucu mavi-yeşil ABTS kromoforunun meydana gelmesiyle radikal katyon (ABTS^{•+}) oluşur. Bu radikal katyonun spektrofotometrik olarak 734 nm'de maksimum absorbans göstermesi prensibine dayanmaktadır. ABTS radikali ile oluşan renk reaksiyonunu azaltma yeteneği ile ekstrelerin antioksidan kapasitesi tespit edilmektedir (Gülçin, 2009; Topal, 2014).

Tez kapsamındaki yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstrelerinin ABTS radikallerini giderme kapasitesine ait olan veriler göz önüne alındığında IC₅₀ değerlerinin azalandan artana doğru sıralanması; BHA (2.74 µg mL⁻¹), trolox (3.14 µg mL⁻¹), BHT (3.61 µg mL⁻¹), α-tokoferol (4.95 µg mL⁻¹), yayla üvezi-alkol (33 µg mL⁻¹), yayla üvezi-su (36.47 µg mL⁻¹) şeklinde belirlenmiştir. Kullanılmış olan 4 standart antioksidan da birbirine çok yakın sonuçlar vermiş olup, yüksek antioksidan aktiviteye işaret etmiştir. Kullanılmış olan yayla üvezi ekstrelerinin standartlara göre düşük antioksidan aktivite gösterdiği söylenebilmektedir.

ABTS radikalinin reaksiyonları DPPH radikalinin reaksiyonlarına benzemez. DPPH yönteminin sahip olduğu hidrojen transferinin gerekliliğinin aksine ABTS de bir elektron transferi gerekir (Kaviarasan vd., 2007; Topal, 2014).

Metal iyonları kendi aralarında mukayese edildiği zaman en mühim prooksidan iyon, ferrik iyonlarından (Fe³⁺) yaklaşık on kat daha fazla reaktif olabilen ferröz iyonları (Fe²⁺)'dır (Miller, 1996; Gülçin, 2007; Topal, 2014). Bipiridil metal şelatlama aktivitesinde

522 nm'de absorbansta meydana gelen azalma metal şelasyonunun bir göstergesidir. Ferröz iyonları (Fe^{2+}) şelatlama kapasitesi ferröz iyonları (Fe^{2+}) konsantrasyonunu minimize ederek, oksidatif hasara sebebiyet veren serbest radikallerin gelişimini engellemektedir (Gülçin, 2007; Topal, 2014).

Vücut içerisinde OH radikalinin oluşumu çoğunlukla Fenton reaksiyonuydur. Labaratuvar ortamında da aynı şekilde fenton reaksiyonu ile OH radikali üretilir ve hemen antioksidanın bu radikali giderme gücü ile alakalı ölçüm yapılır. Ne yazık ki antioksidanların bir bazıları, hatta büyük bir çoğunluğu metal şelatörü olduğundan dolayı Fe^{2+} 'nin aktivitesini değiştirebilir. Sonuç olarak değerlendirilme aşamasında antioksidanın OH radikali giderici mi yoksa iyi denilebilecek bir metal şelatlama özelliğinin var olup olmaması net şekilde tespit edilmemektedir (Becker vd., 2004; Topal, 2014).

Mevcut fonksiyonel grupların yardımıyla ($-H_2PO_3$, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-NR_2$, $C=O$, $-S-$, $-O-$) iki veya daha fazlasına bünyesinde bulunduran moleküllerin metalleri kolaylıkla şelatlayabilme yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (Gülçin, 2012; Öztürk Sarıkaya, 2009). DNA'da demirin neden olduğu serbest radikal hasarı, kanserin gelişimi için önemlidir ve kanser hücrelerinin demire cevap olarak hızla büyüdüğü belirlenmiştir (Valko vd., 2006; Gülçin, 2020). En önemli demir depolayan protein olarak kabul edilen ferritin, hücreleri serbest demir iyonlarının toksik etkilerinden korur. Ferritinin molekülünün yaklaşık 4500 demir atomunu tutabildiği tahmin edilmektedir (Arosio vd., 2009; Gülçin, 2020).

EDTA genellikle gıda ve ilaç uygulamalarında standart bir metal şelatör olarak kullanılır. Çoğu durumda, antioksidan bileşiklerin veya bitki ekstraktlarının metal şelasyon kabiliyeti, EDTA eşdeğerleri olarak ifade edilir (Özbey vd., 2016).

Bipiridil metal şelatlama aktivitesine ait yayla üzezinin liyofilize edilen su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının $10 \mu g mL^{-1}$ 'de hesaplanan % giderme değerleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde yayla üzezinin su ve etil alkol ekstralarının % giderme aktiviteleri BHA, BHT, trolox ve α -Tokoferol gibi standart antioksidanlardan çok daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek aktivite EDTA' da gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.1. Yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının bipiridil reaktifi ile metal şelatlama aktivite yüzdelerinin standart antioksidanlar ile mukayese edilmesi

Antioksidanlar	% Giderme
BHA	45.96
BHT	66.54
α -Tokoferol	20.92
Troloks	12.53
Yayla üvezi- Su	75.18
Yayla üvezi- Alkol	68.73
EDTA	90.88

Lipit peroksidasyonu, gıdanın hasadı, depolanması ve işlenmesi sırasında meydana gelir ve kimyasal bozulmaya neden olarak süt ve süt ürünlerin, et ve et ürünlerinin, meyve, sebze gibi gıdaların veya farmasötik ürünlerin besin değeri, aroması, güvenliği ve dokusunda ekşime ve bozulmaya sebeptir. Ürün kalitesinin korunması amacıyla gıda üreticileri, gıda lipitlerini stabil halde tutmak için bazı antioksidanlar kullanmaktadır. Antioksidan kullanmak, lipit oksidasyonunu kontrol altına almak için en etkili yoldur (Shahidi ve Zhong, 2015; Gülçin, 2020). Bu nedenle antioksidanlar, lipit peroksidasyonunun inhibisyonunda veya serbest radikallerin hücrel hasarına karşı korumada hayati bir rol oynarlar (Inatani vd., 1983).

Gıdalarda kötü tat ve ekşime gibi özellikler, enzim olmayan peroksidasyon veya bitkideki lipoksijenaz enzimlerinin etkisiyle başlatılan lipit peroksidasyonu ile ilgilidir. Bu nedenle, gıda bilimcileri genellikle antioksidanları “lipit peroksidasyonu inhibitörleri ve bunun sonucunda gıda bozulması” ile eş tutarlar (Halliwell, 1999; Halliwell, 2001). Yapılan bir çalışmada, gönüllü insanlar tarafından siyah frenk üzümü ve elma suyu tüketiminin lipid peroksidasyonunu azalttığı, ancak oksidatif protein hasarını artırdığı görülmüştür (Young vd., 1999).

Lipit peroksidasyonu, bir metilen karbondan bir hidrojen atomu çıkarmak için bir radikal tarafından bir yağ asidinin yan zincirine yönelik bir saldırı ile başlatılır. Yağ asidinde ne kadar çok çift bağ varsa, hidrojen atomlarını ayırmak ve dolayısıyla bir radikal oluşturmak o kadar kolay olur, bu sebeple tekli doymamış ve doymuş yağ asitlerini çoklu doymamış yağ asitlerine göre radikallere karşı daha dirençli hale getirir (Carocho ve Ferreira, 2013; Gülçin, 2020).

Bitki özlerinin, gıdaların veya vücut sıvılarının “toplam antioksidan aktivitesini” değerlendirmek için, mevcut her bir antioksidanı özel olarak tanımlama zahmetine girmek yerine, çeşitli girişimlerde bulunulmuştur (Halliwell, 2001). Tez çalışmasında yapılan total antioksidan aktivitesi “Ferrik Tiyosiyanat Metoduna” göre tespit edilmiştir. Tiyosiyanat yöntemi, lipit peroksidasyonunun ilk aşamasında peroksit miktarını ölçmek için kullanılır. Linoleik asit oksidasyonu sırasında oluşan peroksitler, Fe^{2+} ile reaksiyona girerek Fe^{3+} oluşturur. Son iyonlar tiyosiyanat (SCN^-) ile bir kompleks oluşturur ve bu kompleks 500 nm'de maksimum absorbansa sahiptir. Peroksidasyon sonucundaki çok yoğun peroksit miktarı yüksek absorbans değeri göstermektedir. Antioksidanların varlığında, linoleik asidin oksidasyonu yavaşladığından dolayı tiyosiyanat oluşumuna bağlı olarak renk gelişimi yavaş olmaktadır (Gülçin, 2020).

Yayla üvezini liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının total antioksidan aktivite tayini ölçümleri 12 saat arayla yapılmıştır ve toplam olarak 60 saatte son bulmuştur. Deney $20 \mu g mL^{-1}$ konsantrasyonda gerçekleşmiştir. Lipit peroksidasyonu inhibasyon yüzdeleri (Çizelge 4.4) te verilmiştir. Sonuç olarak ekstraların lipit peroksidasyon inhibe etme yüzdeleri standart antioksidanların hepsinden daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan kapasitesini belirlemek için yapılan deneyler değerlendirildiğinde, yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının indirgeme kapasiteleri sonuçlarında artan konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca su ve etil alkol ekstralarının standart antioksidanlara göre çok düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Yine yayla üvezinin liyofilize edilmiş su ve evaporate edilmiş etil alkol ekstralarının serbest radikal giderme aktiviteleri ($DPPH^+$, $DMPD^+$, $ABTS^+$) değerlendirildiğinde, standart antioksidanlara göre çok düşük antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Giderme kapasitesi tayinlerinde olduğu gibi burada da artan konsantrasyona bağlı olarak yüksek aktivite gözlemlenmiştir. Hem radikal giderme metotlarında hem de indirgeme kapasitesiyöntemlerinde yayla üvezinin evaporate edilmiş etil alkol ekstresinin liyofilize edilmiş su ekstresine göre daha yüksek antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Ayrıca yayla üvezinin su ve etil alkol ekstralarının bipiridil metal şelatlama aktivitelerinin standart antioksidanlardan çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Son yıllarda birçok meyve, bitki ve saflaştırılmış maddenin antioksidan özellikleri farklı deneyler yapılarak incelenmiştir. Antioksidan gıdalara destek vermek amacıyla yapılan bu çalışmada yayla üvezi'nin ortalama bir antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Mevcut durumda çok daha iyi antioksidan özellikli bitki ve meyve bulunmakla birlikte eğer tercih edilirse gıda endüstrisinde kullanılabilmesi uygun görülmüştür. Hafif ekşi tadı ve kırmızı rengi ile vişne gibi kırmızı meyve sularında kullanımı cazip gelmiştir. Ancak tüm antioksidanlar gibi gıda içerisinde sinerjik veya antisinerjik özellik gösterebilme ihtimaline karşın test edilmesi gerekmektedir. Hakkında çok fazla bilgi bulunmayan yayla üvezinin antioksidan kapasitesi özellikleri açıklığa kavuşturulmuş olsa da vitamin mineral ve başka özelliklerinin incelenmesi önem arz etmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Aboutiolas, M., 2016. *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidant Capacity of Synthetic and Natural Polyphenolic Compounds Identified from Strawberry and Fruit Juices, Master Thesis. University of South Florida,168p.
- Afacan, A., Adilođlu, S. ve Hasanghasemi, A., 2014. Tekirdağ İli Hayrabolu İlçesinde Yetişen Ayçiçeği Bitkisinin Antioksidan Aktivitesi Tayini, Tekirdağ Ziraat Fakóltesi Dergisi, 11(2), 21-26.
- Afanas'ev, I.B., Dcrozhko, A.I., Brodskii, A.V., Kostyuk, V.A. ve Potapovitch, A.I., 1989. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation, Biochemical Pharmacology, 38(11), 1763-1769.
- Ak, T. ve Gülçin, İ., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin, Chemico-Biological Interactions, 174(1), 27-37.
- Alam, M. N., Bristi, N.J. ve Rafiquzzaman, M. 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity, Saudi Pharmaceutical Journal, 21(2), 143-152.
- Aldasoro, J.J., Aedo, C., Garmendia, F.M., De la Hoz, F.P. ve Navarro, C., 2004. Revision of Sorbus subgenera Aria and Torminaria (Rosaceae-Maloideae), Systematic Botany Monographs, 69, 1-148.
- Alothman, M., Bhat, R. ve Karim, A. A., 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents, Food Chemistry, 115(3), 785-788.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Altun, M., 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method, Free Radical Research, 39(9), 949-961.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Erça, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, International Journal of Food Science and Nutrition, 57, 292-304.
- Arosio, P., Ingrassia, R. ve Cavadini, P., 2009. Ferritins: a family of molecules for iron storage, antioxidation and more, Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1790 (7), 589-599.
- Aruoma, O.I., 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, Journal of The American Oil Chemists' Society, 75(2), 199-212.
- Arvaniti, O.S., Samaras, Y., Gatidou, G., Thomaidis, N.S. ve Stasinakis, A.S., 2019. Review on fresh and dried figs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects, Food Research International,119, 244-267.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L. ve Cisneros-Zevallos, L., 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum product, Journal of Agricultural and Food Chemistry, (51), 6657-6662.

- Aydın, İ., 2015. Antioxidant Capacity and Flavonoid Diversity of *Drosopis farcta*. Master thesis, İstanbul Technical University, Graduate school of science engineering and technology, İstanbul, 68p.
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, Food Chemistry, 99(1), 191-203.
- Bardakçı, Ö., 2017. Bazı Sentetik Antioksidanların Radikal Süpürme (DPPH) Yöntemi ile Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 58s.
- Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C. ve Baptista, P., 2007. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, Food Chemistry, 103(2), 413-419.
- Baxter, H., Harborne, J.B. ve Moss, G.P., 1999. Phytochemical dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. 2nd ed. Taylor and Francis LTD: London, UK.
- Bayram, Y., Torlak, Y. ve Sağdıç, O., 2019. Üvez Meyvesinin Antioksidan Aktivitesi, Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 16, 933-939.
- Baysal, A., 2016. Genel Beslenme, Hatiboğlu Basım ve Yayım San Tic Ltd Şti., Ankara, 1-278.
- Becker, E.M., Nissen, L.R. ve Skibsted, L.H., 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, European Food Research and Technology, 219, 561-571.
- Benzie, I.F. ve Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J.J., 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, Methods in Enzymology, 299, 15-27.
- Bhatta, S., Ratti, C., Poubelle, P. E. ve Stevanovic, T., 2018. Nutrients, Antioxidant Capacity and Safety of Hot Water Extract from Sugar Maple (*Acer saccharum M.*) and Red Maple (*Acer rubrum L.*) Bark, Plant Foods for Human Nutrition, 73(1), 25-33.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 26, 1199-1200.
- Bors, W., Heller, W., Michael, C. ve Stettmaier, K., 1996. Flavonoids and polyphenols: chemistry and biology, Cadenas, E. and Packer, L. (eds), Handbook of antioxidants. New York, Marcel Dekker, pp. 409-466.
- Bursal, E. ve Gülçin, İ., 2011. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), Food Research International, 44(5), 1482-1489.
- Bursal, E., 2009. Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve

karakterizasyonu, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 122s.

- Bursal, E., Aras, A. ve Kılıç, Ö., 2019. Evaluation of antioxidant capacity of endemic plant *Marrubium astracanicum subsp. macrodon*: Identification of its phenolic contents by using HPLC-MS/MS, Natural Product Research, 33(13), 1975-1979.
- Bursal, E., Güzel, E. ve Remzi, B., 2013. Çiriş Otuunun (*Asphodelus aestivus*) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1(1), 17-25.
- Burton, G.W. ve Ingold, K.U., 1981. Autoxidation of biological molecules, The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro, Journal of the American Chemical Society, 103, 6472–6477.
- Burton, G.W. ve Ingold, K.U., 1984. Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant, Science, 224(4649), 569-573.
- Büyükokuroğlu, M.E., Gülçin, I., Oktay, M. ve Küfrevioğlu, O.I., 2001. *In vitro* antioxidant properties of dantrolene sodium, Pharmacological Research, 44(6), 491-494.
- Byers, T. ve Bowman, B., 1993. Vitamin E supplements and coronary heart disease, Nutrition Reviews, 51(11), 333-336.
- Cadenas, E. ve Packer, L., 1996. Handbook of antioxidants. Marcel and Dekker Inc, 23-25, New York.
- Carocho, M. ve Ferreira, I.C., 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Food and Chemical Toxicology, 51, 15-25.
- Carr, A.C. ve Frei, B., 2001. Vitamin C and cardiovascular diseases. Handbook of Antioxidants. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Carr, A.C., Van den Berg, J.J. ve Winterbourn, C.C., 1996. Chlorination of cholesterol in cell membranes by hypochlorous acid, Archives of Biochemistry and Biophysics, 332(1), 63-69.
- Cemeroğlu, B., 2016. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Bizim Grup Basımevi, Ankara, 1. Cilt, 1-707.
- Chaves, M.M., Rocha-Vieira, E., Dos Reis, A.P., Silva, R.D.L., Gerzstein, N.C. ve Nogueira-Machado, J.A., 2000. Increase of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species generated by phagocytosing granulocytes related to age, Mechanisms of Ageing and Development, 119(1-2), 1-8.
- Cheeseman, K.H. ve Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry, British Medical Bulletin, 49(3), 481–493.
- Chen, J.H. ve Ho, C.T., 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2374–2378.

- Clifford, M.N., 2004. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health, Planta Medica, 70, 1103–1114.
- Comstock, G.W., Bush, T.L. ve Helzlsouer, K., 1992. Serum Retinol, Beta-Carotene, Vitamin E, and Selenium As Related to Subsequent Cancer of Specific Sites, American Journal of Epidemiology, 135(2), 115–121.
- Cook, N.C. ve Samman, S., 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, Nutritional Biochemistry, 7, 66-76.
- Cordell, G.A., Lemos, T.L., Monte, F.J. ve De Mattos, M.C., 2007. Vegetables as chemical reagents. Journal of Natural Products, 70(3), 478-492.
- Çinkılıç, S., 2009. Mayıs papatyasının (*Matricaria chamomilla*) Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi ve Fenolik Bileşik Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 63s.
- Çöteli, E. ve Karataş, F., 2016. Kırmızı ve Koyu Kırmızı Bazı Meyvelerdeki A, E Vitamini, Beta Karoten ve Likopen Miktarlarının Araştırılması, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(2), 61-66.
- Dargel, R., 1992. Lipid peroxidation-a common pathogenetic mechanism, Experimental and Toxicologic Pathology, 44(4), 169-181.
- Davies, K.J.A., 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life, Biochemical Society Symposia, 61, 1-31.
- Davies, K.J.A., 2000. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems, International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life, 50, 279-289.
- De Quirós, A.R.B. ve Costa, H.S., 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review, Journal of Food Composition and Analysis, 19(2-3), 97-111.
- De Zwart, L.L., Meerman, J.H., Commandeur, J.N. ve Vermeulen, N.P., 1999. Biomarkers of free radical damage-markers for atherosclerosis, Free Radical Biology and Medicine, 1(26), 202-226.
- Dehghan, G. ve Khoshkam, Z., 2012. Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity, Food Chemistry, 131(2), 422-426.
- Demir, H., 2019. *Bryoria capillaris* Liken Türünün Antioksidan, Antibakteriyel ve Mineral İçeriğinin Araştırılması. Yüksel lisans tezi, Gümüşhane üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane, 139s.
- Devasagayam, T.P., Werner, T., Ippendorf, H., Martin, H.D. ve Sies, H., 1992. Synthetic carotenoids, novel polyene polyketones and new capsorubin isomers as efficient quenchers of singlet molecular oxygen, Photochemistry and Photobiology, 55(4), 511-514.
- Di Mascio, P., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Ronsein, G.E., Medeiros, M.H.G. ve Cadet, J., 2019. Singlet molecular oxygen reactions with nucleic acids, lipids, and proteins, Chemical Reviews, 119, 2043–2086.

- Diplock, A., 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients, ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 61p.
- Diplock, A.T., Charuleux, J.L., Crozier-Willi, G., Kok, F.J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M. ve Vina-Ribes, J., 1998. Functional food science and defence against reactive oxidative species, British Journal of Nutrition, 80, 77-112.
- Diplock, A.T., Landvick, S.V. ve Packer, L., 2001. Efficacy of vitamin E in human health and disease. Handbook of Antioxidants. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Dorman, H.D., Koşar, M., Başer, K. H.C. ve Hiltunen, R., 2009. Phenolic profile and antioxidant evaluation of *Mentha x piperita* L.(peppermint) extracts, Natural Product Communications, 4(4), 535-542.
- Du, G., Li, M., Ma, F. ve Liang, D., 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits, Food Chemistry, 113(2), 557-562.
- Dubey, S.P., Lahtinen, M., Särkkä, H. ve Sillanpää, M., 2010. Bioprospective of Sorbus aucuparia leaf extract in development of silver and gold nanocolloids, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 80(1), 26-33.
- Ekin, H.N., Gokbulut, A., Aydin, Z.U., Donmez, A.A. ve Orhan, I.E., 2016. Insight into anticholinesterase and antioxidant potential of thirty-four Rosaceae samples and phenolic characterization of the active extracts by HPLC, Industrial Crops and Products, 91, 104-113.
- Elias, R.J., Kellerby, S.S. ve Decker E.A., 2008. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48(5), 439-441.
- Enstrom, J.E., 2001. Epidemiological and Clinical Aspects of Ascorbate and Cancer. Handbook of Antioxidants. Packer, L. Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Ergin, S.Ö., 2019. Nar Meyvesi (*Punica granatum* L.) ile Farklı Nar Ürünlerinin Antioksidan Özellikleri, Akademik Gıda, 17(2), 243-251.
- Ersoy, N., Bağcı, Y., Aşkın, M.A. ve Kazaz, S., 2011. Erkenci nektarın, şeftali ve kayısı çeşitlerinin bazı fiziko-kimyasal özellikleri ve antioksidan kapasiteleri, Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi, 25(2), 64-69.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H. ve Jürgens, G., 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, Free Radical Biology and Medicine, 13(4), 341-390.
- Faggio, C., Morabito, M., Minicante, S.A., Piano, G.L., Pagano, M. ve Genovese, G., 2015. Potential use of polysaccharides from the brown alga *Undaria pinnatifida* as anticoagulants, Brazilian Archives of Biology and Technology, 58(5), 798-804.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I. ve Chun, O.K., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, Journal of Food Composition and Analysis, 24(7), 1043-1048.

- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. ve Ritiene, A., 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 1035-1040.
- Formica, J.V. ve Regelson, W., 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food and Chemical Toxicology, 33(12), 1061-1080.
- Fraga, C.G., Motchnik, P.A., Shigenaga, M.K., Helbock, H. J., Jacob, R. A. ve Ames, B. N., 1991. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm, Proceedings of the National Academy of Sciences, 88(24), 11003-11006
- Frankel, E.N., Huang, S.W., Aeschbach, R. ve Prior, E., 1996. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(1), 131-135.
- Frei, B., England, L. ve Ames, B.N., 1989. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma, Proceedings of the National Academy of Sciences, 86(16), 6377-6381.
- Frei, B., Stocker, R. ve Ames, B.N., 1988. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma, Proceedings of the National Academy of Sciences, 85(24), 9748-9752.
- Fridovich, I., 2006. Superoxide Dismutases, Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology, 58, 61-97.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. ve Scaccini, C., 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data, Free Radical Biology and Medicine, 29(11), 1106-1114.
- Ghosh, N., Chakraborty, T., Mallick, S., Mana, S., Singha, D., Ghosh, B. ve Roy, S., 2015. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin-magnesium complex, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 151, 807-813.
- Gibson, D.D., Hawrylko, J. ve McCay, P.B., 1985. GSH-dependent inhibition of lipid peroxidation: properties of a potent cytosolic system which protects cell membranes, Lipids, 20(10), 704-711.
- Giovannucci, E., 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature, Journal of The National Cancer Institute, 91(4), 317-331.
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar, Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 23, 85-89.
- Gökşin, A., 1982. Türkiye’de Doğal Olarak Yetişen Üvez (Sorbus L.) Taksonlarının Yayılışları ile Önemli Bazı Morfolojik ve Anatomik Özellikleri Üzerine Araştırmalar, Ormacılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Şafak Matbası, Ankara, 84s.
- Gülçin, İ. ve Beydemir, S. 2013. Fenolic compounds as antioxidants: Carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 13, 408-430.

- Gülçin, İ. ve Daştan, A., 2007. Synthesis of dimeric phenol derivatives and determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 22(6), 685-695.
- Gülçin, İ., 2004. *In vitro* antioxidant properties of morphine, Pharmacological Research, 49(1), 59-66.
- Gülçin, İ., 2006a. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid), Toxicology, 217(2-3), 213-220.
- Gülçin, İ., 2006b. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine, Life Sciences, 78(8), 803-811.
- Gülçin, İ., 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa, Amino Acids, 32(3), 431-438
- Gülçin, İ., 2008. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 23(6), 871-876.
- Gülçin, İ., 2009. Antioxidant activity of L-Adrenaline: An activity-structure insight, Chemico-Biological Interaction, (179), 71-80.
- Gülçin, İ., 2011. Antioxidant activity of eugenol: A structure-activity relationship study, Journal of medicinal food, 14(9), 975-985.
- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview, Archives of Toxicology, 86, 345-391.
- Gülçin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, Archives of Toxicology, 94, 651-715.
- Gülçin, İ., Alici, H.A. ve Cesur, M., 2005a. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 53(3), 281-285.
- Gülçin, İ., Beydemir, S., Sat, G. ve Küfrevioğlu, Ö., 2005b. Evaluation of Antioxidant Activity of Cornelian Cherry (*Cornus Mas L.*), Acta Alimentaria, 34(2), 193-202.
- Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, H.M., Bilsel, M. ve Gören A.C., 2010a. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey, Food Chem Toxicol, 48, 2227-2238.
- Gülçin, İ., Buyukokuroglu, M.E., Oktay, M. ve Kufrevioğlu, O.I., 2002. On the in vitro antioxidative properties of melatonin, Journal of Pineal Research, 33(3), 167-171.
- Gülçin, İ., Elmastas, M. ve Aboul-Enein, H.Y., 2007a. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum*) assayed by different methodologies, Phytotherapy Research, 21, 354-361.
- Gülçin, İ., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H.Y., 2012. Antioxidant activity of clove oil-A powerful antioxidant source, Arabian Journal of chemistry, 5(4), 489-499.
- Gülçin, İ., Gören, A.C., Taslimi, P., Alwasel, S.H., Kılıc, O. ve Bursal, E., 2020. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of Anatolian pennyroyal

- (*Mentha pulegium*)-analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, (23), 101-441.
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H. Y. 2010b. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. Arabian Journal of Chemistry, 3(1), 43-53.
- Gülçin, İ., Köksal, E., Elmastas, M. ve Aboul-Enein, H.Y., 2007b. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. Koch var. *joannis*, Research Journal of Biological Sciences, (2), 372-382.
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M. ve Büyükokuroğlu, M.E., 2004a. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), Journal of Ethnopharmacology, (90), 205-215.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. ve Elias, R., 2004b. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: α -hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F, Planta Medica, 70(06), 561-563.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. ve Elias, R., 2006. The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -D-glucopyranosyl)-hederagenin, Phytotherapy Research, 20(2), 130-134.
- Gültekin, H.C., 2007. Üvez Türlerimiz ve Fidan Üretim Tekniklerimiz, Çevre ve Orman Bakanlığı, Ankara, 28s.
- Güzel, A. ve Elmastaş, M., 2020. Antioxidant Activity, Isolation and Identification of Some Chemical Constituents of *Sphaerophysa kotschyana*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 23(2), 289-296.
- Güzel, N. ve Bahçeci, K.S., 2019. Çorum yöresi ballarının fenolik madde içerikleri ile renk ve antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişki, Gıda, 44(6), 1148-1160.
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W. ve Riechel, T.L., 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(5), 1887-1892.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, Biochemical Journal, 219(1), 1-14.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, Methods in Enzymology, 186, 1-85.
- Halliwell, B., 1989. Oxidants and the central nervous system: Some fundamental questions, Acta Neurologica Scandinavica, 126, 23-33.
- Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease, Annual Review of Nutrition, 16(1), 33-50.
- Halliwell, B., 1996. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant *in vivo*, Free Radical Research, 25, 439-454.
- Halliwell, B., 1999. Food-derived antioxidants, Evaluating their importance in food and in vivo, Food Science and Agricultural Chemistry, 1, 67-109.

- Halliwell, B., 2001. Mathematical models for the interpretation of environmental radioisotopes in groundwater systems. Handbook of Antioxidants. Packer, L. Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Han, H., 2012. Altın çilek (*physalis peruviana*) ve keten (*linum usitatissimum*) tohumunun antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve fenolik içeriklerinin aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 133s.
- Hellström, A., Smith, L.E. ve Damman, O., 1991. Retinopathy of prematurity, Lancet, 337, 83-84.
- Hermann, H., 1992. Contents of principle plant phenols in fruits, Flüssiges Obst, 59, 66-70.
- Herrmann, K., 1993. Zur quantitativen Veränderung phenolischer Inhaltsstoffe bei der Gewinnung von Apfel-und Birnensäften, Flüssiges Obst, 60(1), 1-7.
- Hertog, M., Hollman, P. ve Katan, M., 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40(12), 2379-2383.
- Hiramoto, K., Li, X., Makimoto, M., Kato, T. ve Kikugawa, K., 1998. Identification of hydroxyhydroquinone in coffee as a generator of reactive oxygen species that break DNA single strands, Mutation Research, 419, 43-51.
- Hochstein, P. ve Atallah, A. S., 1988. The nature of oxidants and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 202(2), 363-375.
- Holben, D.H. ve Smith, A.M., 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review, Journal of the American Dietetic Association, 99(7), 836-843.
- Homma, T., Kobayashi, S. ve Fujii, J., 2019. Induction of ferroptosis by singlet oxygen generated from naphthalene endoperoxide, Biochem Biophys Res Commun, 518, 519-525.
- Hou, W.C., Janczuk, A. ve Wang, P.G., 1999. Current trends in the development of nitric oxide donors, Current Pharmaceutical Design, 5, 417-441.
- Hou, W.C., Lin, R.D., Cheng, K.T., Hung, Y.T., Cho, C.H., Chen, C.H. ve Lee, M.H., 2003. Free radical-scavenging activity of Taiwanese native plants, Phytomedicine, 10(2-3), 170-175.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1841-1856.
- Hudson, J.F., 1990. Food antioxidants, Elsevier Applied Science, London, 99-170.
- Hung, H., 2007. Dietary quercetin inhibits proliferation of lung carcinoma cells, In Nutrigenomics-Opportunities in Asia, 60, 146-157.
- Inatani, R., Nakatani, N. ve Fuwa, H., 1983. Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives, Agricultural and Biological Chemistry, 47(3), 521-528.

- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B. ve Simic, M.G., 1994. Flavonoids as antioxidants, Journal of the American Chemical Society, 116, 4846-4851.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. ve Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(10), 3954-3962.
- Kaiser, S., Di Mascio, P., Murphy, M.E. ve Sies, H., 1990. Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols, Archives of Biochemistry and Biophysics, 277(1), 101-108.
- Kalkman, C., 2004. Rosaceae, Flowering Plant Dicotyledons: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales, Kubitzki, K. (Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 978-3-540-06512-8, Berlin, 343-386.
- Kalyanaraman, B. ve Sohnle, P. G., 1985. Generation of free radical intermediates from foreign compounds by neutrophil-derived oxidants, The Journal of Clinical Investigation, 75(5), 1618-1622.
- Kanbur, H., 2012. *Teucrium chamaedrys* L. ve *Achillea biebersteinii* Afan. Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin Mukayesesi. Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan, 68s.
- Karakaş, Ö., 2019. Çeşitli Deniz Alglerinin Antioksidan Bileşenlerinin ve Toplam Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul, 82s.
- Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabagirathi, R., Anuradha, C.V. ve Priyadarsini, K.I.2007. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds, Food Chemistry, 103, 31-37.
- Kazanç, M.B., 1997. Antioksidan Vitaminler, Sendrom, Temmuz, 14-22.
- Kelebek, H., Kesen, S. ve Selli, Ç.S.S., 2012. Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen natürel zeytinyağında fenol bileşiklerinin ve antioksidan kapasitenin belirlenmesi, Gıda, 37(3), 133-140.
- Kim, D., 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums, Food Chemistry, 81(3), 321-326.
- Kim, G.H., Kim, J.E., Rhie, S.J. ve Yoon, S., 2015. The role of oxidative stress inneurodegenerative diseases. Exp, Neurobiol, (24), 325-340.
- Kirkman, H.N., Galiano, S. ve Gaetani, G.F., 1987. The function of catalase-bound NADPH, Journal of Biological Chemistry, 262(2), 660-666.
- Kneepkens, C.M., Lepage, G. ve Roy, C.C., 1994. The optential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation, Free Radical Biology and Medicine, 17, 127-160.
- Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É. ve Ombódi, A., 2018. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Rosehips of Some Rosa Species, Medicines, 5(3), 84.
- Köksal, E. ve Gülçin, İ. 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.), Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32(1), 65-78.

- Köksal, E., Gülçin, İ., Öztürk Sarıkaya, S.B. ve Bursal, E., 2009. *In vitro* antioxidant activity of silymarin, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 24(2), 395-405.
- Krinsky, N.I., 1989. Antioxidant functions of carotenoids, Free Radical Biology and Medicine, 7, 617-635.
- Kuhnau, J., 1976. Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition, World Review of Nutrition and Dietetics, 24, 117-191.
- Küçükçoban, Ç., 2009. Türkiye’de yetiştirilen bazı erik çeşitlerinin Antioksidan Kapasitelerinin ve Başlıca Antioksidan Bileşenlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 99s.
- Kweon, M.H., Hwang, H.J. ve Sung, H.C., 2001. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(10), 4646-4655.
- Laitonjam, W.S., 2012. Natural antioxidants of plants acting as scavengers of free radicals, Natural Products Chemistry, (37), 259-275.
- Lane, R.M. ve He, Y., 2013. Butyrylcholinesterase genotype and gender influence Alzheimer’s disease phenotype, Alzheimers Dement, 9, 1-73.
- Larson, R.A., 1988. The antioxidants of higher plants, Phytochemistry, (27), 969-978.
- Laura, A., Alvarez-Parrilla, E. ve Gonzalez-Aguilar, G.A., 2009. Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability. Ames, Iowa. and Wiley-Blackwell (eds), USA, 89-101.
- Lea, A.G. ve Timberlake, C. F., 1974. The phenolics of ciders. 1. Procyanidins, Journal of the Science of Food and Agriculture, 25(12), 1537-1545.
- Liou, W., Chang, L. Y., Geuze, H.J., Strous, G.J., Crapo, J.D. ve Slot, J.W., 1993. Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver, Free Radical Biology and Medicine, 14(2), 201-207.
- Liu, Q., Lanari, M.C. ve Schaefer, D.M., 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality, Journal of Animal Science, 73, 3131-3140.
- Long, L.H., Evans, P.J. ve Halliwell, B., 1999. Hydrogen peroxide in human urine: implications for antioxidant defense and redox regulation, Biochemical and Biophysical Research Communications, 262, 605-609.
- Ma, L. ve Lin, X.M., 2010. Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health, Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(1), 2-12.
- Macdonald-Wicks, L.K., Wood, L.G. ve Garg, M.L., 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(13), 2046-2056.
- Magalhães, L.M., Santos, M., Segundo, M.A., Reis, S. ve Lima, J.L., 2009. Flow injection based methods for fast screening of antioxidant capacity, Talanta, 77(5), 1559-1566.

- Malkoç, M., Kara, Y., Özkök, A., Ertürk, Ö. ve Kolaylı, S., 2019. Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) balının karakteristik özellikleri, Uludağ Arıcılık Dergisi, 19(1), 69-81.
- Malvy, D.J., Burtschy, B., Arnaud, J., Sommelet, D., Leverger, G., Dostalova, L., Drucker, J. ve Amedee, M.O., 1993. Serum beta-carotene and antioxidant micronutrients in children with cancer, International Journal of Epidemiology, 22,761-771.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability, The American Journal of Clinical Nutrition, 79(5), 727-747
- Martin, K.R. ve Barret, J.C., 2002. Reaktif oksijen türleri as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity, Human and Experimental Toxicology, 21,71-75.
- Mates, J.M. ve Sanchez-Jimenez, F.M., 2000. Role of oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy, International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 32, 157-170.
- Mayda, N., 2020. Arı Poleni ve Arı Ekmeğinin Palinolojik, Kimyasal ve Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 149s.
- Meister, A., 1994. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals, Journal of Biological Chemistry, 269, 9397-9400.
- Mısırlı, D., Elmastaş, M. ve Türkekul, İ., 2019. Determination of Antioxidant Activities of Some Wild Mushroom Species in Tokat Region, Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1), 24-32.
- Miller, D.D., 1996. Minerals. In "Food Chemistry". O.R. Fennema (Ed), Marcel Dekker, New York. pp. 617-649.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V. ve Milner, A., 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clinical Science, 84(4), 407-412.
- Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M. ve Rice-Evans, C.A., 1996. Antioxidant activities of carotenoids and xanthophylls, FEBS Letters, 384(3), 240-242.
- Monego, D.L., Barcellos da Rosa, M. ve Cícero do Nascimento, P., 2017. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: a review, Food Chemistry, 217, 37-44.
- Morris, D., Khurasany, M., Nguyen, T., Kim, J., Guilford, F., Mehta, R., Gray, D., Saviola, B. ve Venketaraman, V., 2013. Glutathione and infection, Biochimica et Biophysica Acta, 1830(5), 3329-3349.
- Mortensen, A. ve Skibsted, L.H., 1997. Importance of carotenoid structure in radical scavenging reactions, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2970-2977.
- Mukai, K., Morimoto, H., Okauchi, Y. ve Nagaoka, S.I., 1993. Kinetic study of reactions between tocopheroxyl radicals and fatty acids, Lipids, 28(8), 753-756.

- Naczki, M. ve Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(5), 1523-1542.
- Nakane, T., Asayama, K., Kodera, K., Hayashibe, H., Uchida, N. ve Nakazawa, S., 1998. Effect of selenium deficiency on cellular and extracellular glutathione peroxidases: immunochemical detection and mRNA analysis in rat kidney and serum, Free Radical Biology and Medicine, 25(4-5), 504-511.
- Neuzil, J., Thomas, S. R. ve Stocker, R., 1997. Requirement for, promotion, or inhibition by α -tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation, Free Radical Biology and Medicine, 22 (1-2), 57-71.
- Nordberg, J. ve Arner E.S.J., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system, Free Radical Biology and Medicine, (31), 1287-1312.
- Nunes, M.C.N., Brecht, J.K., Morais, A.M.M.B. ve Sargent, S.A., 1998. Controlling temperature and water loss to maintain ascorbic acid levels in strawberries during postharvest handling, Journal of Food Science, 63(6), 1033-1036.
- Oktaç, M., Gülçin, İ. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts, LWT-Food Science and Technology, 36(2), 263-271.
- Oktaç, M., Yıldırım, A., Bilaloğlu, V. ve Gülçin, İ., 2007. Antioxidant activity of different parts of isgın (*Rheum ribes* L.), Asian Journal of Chemistry, 19, 3047-3055.
- Omoni, A.O. ve Aluko, R.E., 2005. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. Trends in Food Science & Technology, 16(8), 344-350.
- Oszmiański, J., Lachowicz, S., Gławdel, E., Cebulak, T. ve Ochmian, I., 2017. Determination of phytochemical composition and antioxidant capacity of 22 old apple cultivars grown in Poland, European Food Research and Technology, 244(4), 647-662.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine, Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-314.
- Özbey, F., Taslimi, P., Gülçin, İ., Maraş, A., Göksu, S. ve Supuran, C.T., 2016. Synthesis of diaryl ethers with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 31, 79-85
- Özçelik, B., Lee, J.H. ve Min, D.B., 2003. Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Journal of Food Science, 68(2), 487-490.
- Özenç, B., 2011. *Fumaria officinalis*'un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 75s.
- Öztürk Sarıkaya, S.B., 2009. Bazı Fenolik Asitlerin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi ve İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) Üzerine

Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum,185s.

- Öztürk, B., Konyalıoğlu, S., Kantarcı, G. ve Çetinkol, D., 2005. İzmir yöresindeki yabancı *lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* taksonundan elde edilen uçucu yağın bileşimi, Antibakteriyel, Antifungal ve Antioksidan kapasitesi, Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 15(1), 61-72.
- Pacher, P., Beckman, J.S. ve Liaudet, L., 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease, Physiological Reviews, 87, 315-424.
- Packer, L., 1996. Nitric oxide. Part A: sources and detection of NO; NO synthase, Methods in Enzymology, 268, 331-340.
- Papadopoulos, G. ve Boskou, D., 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil, Journal of the American Oil Chemists' Society, 68, 669-671.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M. ve Contado, J.L., 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil, Arquivos de Biologia e Tecnologia, 40, 97-106.
- Pokorny, J., 1999. Antioxidants in food preservation'. Handbook of food preservation. Rahman, M.S (ed), Marcel Dekker, New York. pp. 309-337.
- Polat Köse L, Gulçin, İ., Gören, A.C., Namiesnik, J., Martinez-Ayala, A.L. ve Gorinstein, S., 2015. LC-MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes, Industrial Crops and Products, 74, 712-721.
- Pourzand, C., Watkin, R.D., Brown, J.E. ve Tyrrell, R.M., 1999. Ultraviolet A radiation induces immediate release of iron in human primary skin fibroblasts: the role of ferritin, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96, 6751-6756.
- Prior, R.L. ve Cao, G., 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review, Journal of AOAC International, 83(4), 950-956.
- Prior, R.L. ve Cao, G., 2001. Measurement of Total Antioxidant Capacity in Nutritional and Clinical Studies. Handbook of Antioxidants. Packer, L. Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Ramarathnam, N., Ochi, H. ve Takeuchi, M., 1997. Antioxidant defense system in vegetable extracts. In Natural Antioxidants Chemistry. Shahidi, F. (ed), AOCS Press, Canada. pp.76-87.
- Ranabahu, P. ve Harborne, J.B., 1993. The flavonoids of the genus Lathyrus and a comparison of flavonoid patterns within the tribe Viciaeae, Biochemical Systematics and Ecology, 21(6-7), 715-722.
- Rao, A.V. ve Rao, L.G., 2007. Carotenoids and human health, Pharmacological Research, 55(3), 207-216.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237.

- Reaven, P.D. ve Witztum J.L., 1996. Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification, Annual Review of Nutrition, 16, 51-71.
- Reddivari, L., Hale, A.L. ve Miller, J.C., 2007. Genotype, location, and year influence antioxidant activity, carotenoid content, phenolic content, and composition in specialty potatoes, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(20), 8073-8079.
- Reyes-Carmona, J., Yousef, G.G., Martínez-Peniche, R.A. ve Lila, M.A., 2005. Antioxidant Capacity of Fruit Extracts of Blackberry (*Rubus sp.*) Produced in Different Climatic Regions, Journal of Food Science, 70(7), 497-503.
- Roginsky, V. ve Lissi, E.A., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, Food chemistry, 92(2), 235-254.
- Roxborough, H.E., Mercer, C., McMaster, D., Maxwell, A.P. ve Young, I.S., 1999. Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients, Nephron, 81(3), 278-283.
- Samsonowicz, M. ve Regulska, E., 2017. Spectroscopic study of molecular structure, antioxidant activity and biological effects of metal hydroxyflavonol complexes, Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy, 173, 757-771.
- Samur, G., 2008. Vitaminler Mineraller ve Sağlığımız, Klasmat Matbaacılık, ISBN: 978-975-590-243-2, Ankara, 32s.
- Sanchez-Moreno, C., 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, Food Science and Technology International, 8(3), 121-137.
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V. ve Bitsch, R., 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, Free Radical Research, 36(2), 177-187.
- Schmidt, H.H. ve Walter, U., 1994. NO at work, Cell, 78(6), 919-925.
- Serbinova, E.A. ve Packer, L., 1994. Antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol, Methods Enzymol, 234, 354-366.
- Shahidi, F. ve Ambigaipalan, P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review, Journal of Functional Foods, 18, 820-897.
- Shahidi, F. ve Wanasundara, U., 1995. Effect of natural antioxidants on the stability of canola oil, Developments in Food Science, 37, 469-479.
- Shahidi, F. ve Zhong, Y., 2015. Measurement of antioxidant activity, Journal of Functional Foods, 18, 757-781.
- Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D., 1992. Phenolic antioxidants, Critical Reviews Food Science and Nutrition, 32, 67-103.
- Siems, W.G., Sommerburg, O. ve Van Kuljk, F.J.G.M., 2001. Oxidative Breakdown of Carotenoids and Biological Effects of Their Metabolites. Handbook of Antioxidants. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.

- Sies, H. ve Stahl, W., 1995. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants, The American Journal of Clinical Nutrition, 62(6), 1315-1321.
- Sies, H. ve Stahl, W., 2001. Antioxidant Effects of Carotenoids: Implication İn Photoprotection in Humans. Handbook of Antioxidants. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, Methods in Enzymology, 299, 152-178.
- Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. ve Ameida, L.M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, Free Radical Research, 26(5), 469-478.
- Southorn, PA., 1988. Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biological reactions, Mayo Clinic Proceedings, 53, 381-389.
- Stadman, E.R. ve Levine, R.L., 2000. Protein oxidation, Annals of the New York Academy of Sciences, 899(1), 191-208.
- Stahl, W. ve Sies, H., 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans, The Journal of nutrition, 122(11), 2161-2166.
- Stahl, W., Junghans, A., De Boer, B., Driomina, E.S., Briviba, K. ve Sies, H., 1998. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein, FEBS Letters, 427(2), 305-308.
- Stocker, R., 1991. Endogenous antioxidant defences in human blood plasma, Oxidative Stress, 213-243.
- Strack, D. ve Sharma, V., 1985. Vacuolar localization of the enzymatic synthesis of hydroxycinnamic acid esters of malic acid in protoplasts from *Raphanus sativus* leaves, Physiologia Plantarum, 65(1), 45-50.
- Şehitoğlu, M.H., 2012. Bazı fenolik doğal bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 190s.
- Şerbetçi, H., 2007. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 108s.
- Tappel, A.L., 1962. Vitamin E as the biological lipid antioxidant, In Vitamins and Hormones, 20, 493-510.
- Taslimi, P., Köksal, E., Gören, A.C., Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö. ve Gülçin, İ., 2020. Anti-Alzheimer, Antidiabetic and antioxidant potential of *Satureja cuneifolia* and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS, Arabian Journal of Chemistry, 13(3), 4528-4537.
- Taylor, A. ve Nowell, T., 1996. Oxidative stress and antioxidant function in relation to risk for cataract, Advances in Pharmacology, 38, 515-536.

- Terao, J. ve Matsushita, S., 1986. The peroxidizing effect of α -tocopherol on autoxidation of methyl linoleate in bulk phase, Lipids, 21(4), 255-260.
- Termentzi, A., Kefalas, P. ve Kokkalou, E., 2006. Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages, Food Chemistry, 98(4), 599-608.
- Topal, F., 2014. Bazı Eugenol Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 172s.
- Topal, M., 2014. Bazı kinizarin türevleri: Antioksidan kapasiteleri ve karbonik anhidraz I ve II izoenzimleri üzerine inhibisyon etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 153s.
- Topal, M., 2018. Determination of antioxidant and antiradical properties of *Picea orientalis* cone, Anadolu Journal of Agricultural Sciences, 33, 232-236.
- Topal, M., 2020. Secondary Metabolites of Ethanol Extracts of *Pinus sylvestris* Cones from Eastern Anatolia and Their Antioxidant, Cholinesterase and α -Glucosidase Activities, Records of Natural Products, 14:2, 129-138.
- Torel, J., Cillard, J. ve Cillard, P., 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical, Phytochemistry, 25(2), 383-385.
- Tosun, İ. ve Yüksel, S., 2003. Üzümsü meyvelerin antioksidan kapasitesi, Gıda, 28(3), 305-311.
- Tozoğlu, F., 2011. Erzincan Kirazı (*Ceresus erzincanica*; Ş. Yıldırım) Sap ve Tohum Kısımlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan, 63s.
- Traber, M.G., 2001. Vitamin E Bioavailability, Biokinetics, and Metabolism. Handbook of Antioxidants. Packer, L. Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Travis, J. ve Salvesen, G.S., 1983. Human plasma proteinase inhibitors, Annual Review of Biochemistry, 52(1), 655-709.
- Tsao, R., Khanizadeh, S. ve Dale, A., 2006. Designer fruits and vegetables with enriched phytochemicals for human health, Canadian of Journal of Plant Science, 86(3), 773-786.
- Tunçkol, B., Aksoy, N. ve Eminağaoğlu, Ö., 2018. Sorbus L. Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları. Akkemik, Ü. (Ed), Orman Genel Müdürlüğü Yayınları. Ankara. 552-560.
- Tural, S., 2006. Samsun ve Çevresinde Doğal Olarak Yetişen Kızılcıkların Antioksidan kapasitesi, Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun, 59s.
- Tutem, E., Apak, R., ve Baykut, F., 1991. Spectrophotometric determination of trace amounts of copper (I) and reducing agents with neocuproine in the presence of copper (II), Analyst, 116(1), 89-94.

- Türkan, F., Atalar, M.N., Aras, A., Gülçin, İ. ve Bursal, E., 2020. ICP-MS and HPLC analyses, enzyme inhibition and antioxidant potential of *Achillea schischkinii* Sosn, Bioorganic Chemistry, 94, 1-17.
- Türkmen, N., Sari, F. ve Velioglu, S., 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables, Food Chemistry, 93, 713-718.
- URL-1, http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=3807. 20 Temmuz 2020.
- URL-2, <https://www.gbif.org/species/3012292>. 25 Temmuz 2020.
- URL-3, <https://www.inaturalist.org/observations/2042>. 25 Temmuz 2020.
- URL-4, <https://www.biolib.cz/en/image/id201848/>. 25 Temmuz 2020.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, Chemico- Biological Interactions, 160, 1-40.
- Vaya, J. ve Aviram, M., 2001. Nutritional antioxidants mechanisms of action, analyses of activities and medical applications, Current Medicine Chemistry, 1(1), 99-117.
- Weber, S.U. ve Rimbach, G., 2001. Biological activity of Tocotrienols. Handbook of Antioxidants. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California. pp. 1-732.
- Weisiger, R.A. ve Fridovich, I., 1973. Mitochondrial superoxide dismutase site of synthesis and intramitochondrial localization, Journal of Biological Chemistry, 248(13), 4793-4796.
- Weiss, S.J., 1989. Tissue destruction by neutrophils, New England Journal of Medicine, 320(6), 365-376.
- Yanishlieva, N.V. ve Marinova, E.M., 2001. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants, European Journal of Lipid Science and Technology, 103(11), 752-767.
- Yaping, Z., Suping, Q., Wenli, Y., Zheng, X., Hong, S., Side, Y. ve Dapu, W., 2002. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl_3O_2 , Food Chemistry, 77(2), 209-212.
- Yavaşer, R., 2011. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Aydın, 124s.
- Yaylayan, V.A., 1991. Flavour technology: Recent trends and future perspectives, Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 24, 2-5.
- Yen, G.C. ve Chen, H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their mutagenicity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 27-32.
- Yılmaz, İ., 2010. Karotenoidler, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17(3), 223-231.
- Young, I.S. ve Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease, Journal of Clinical Pathology, 54(3), 176-186.

- Young, J.F., Nielsen, S.E. ve Haraldsdottir, J., 1999. Effect of fruit juice on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status, American Journal of Clinical Nutrition, 69, 87–94.
- Yu, B.P. ve Yang, R., 1996. Critical Evaluation of the Free Radical Theory of Aging: A Proposal for the Oxidative Stress Hypothesis a, Annals of the New York Academy of Sciences, 786(1), 1-11.
- Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G. ve Tavili, A., 2019. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss, Scientific Reports, 9(1), 1-15.
- Zawawi, H., 2018. The Antioxidant Status of Breast Milk in Women with and Without Gestational Diabetes Mellitus. Doctoral dissertation, Department of Nutritional Sciences Universty of Toronto, Toronto, 77p.
- Zhen, J., Villani, T.S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.H. ve Wu, Q., 2016. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves, Food Chemistry, 190, 673-680.

ÖZ GEÇMİŞ

İlk, orta öğrenimi İstanbul'da, lise öğrenimini İstanbul Çengelköy Lisesinde tamamladı. 2014 yılında kazandığı Gümüşhane Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü 2018 yılında bitirdi. 2018-2019 Eğitim öğretim yılında Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.



