



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**GIDA MADDELERİNDE TOPLAM
ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYİNİN
ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLERLE
TAYİNİ**

NESRİN ÇAKIR ARICAN

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Fizikokimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa Lütfü BERKEM

İSTANBUL, 2013



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**GIDA MADDELERİNDE TOPLAM
ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYİNİN
ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLERLE
TAYİNİ**

NESRİN ÇAKIR ARICAN
(141201520030016)

DOKTORA TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Fizikokimya Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa Lütfü BERKEM

İSTANBUL, 2013

ÖNSÖZ

Bu çalışmada insan sağlığı üzerine yararlı etkilerde bulunan antioksidanlarca zengin çeşitli meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasitesinin elektroanalitik yöntemlerle tayini araştırılmış ve sonuçları Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne doktora tezi olarak sunulmuştur.

Doktora eğitimim süresince bilgisi ve birikimiyle çalışmalarımı yönlendiren, her zaman destekleyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Mustafa Lütfü BERKEM'e,

Bu tez çalışmasının ilerleme sürecine değerli fikirleriyle katkıda bulunan tez izleme komite üyelerim Prof. Dr. Süleyman AKMAN'a ve Prof. Dr. Yurdun FIRAT'a,

Analitik hesaplamalarda değerli fikirleriyle büyük destek olan Prof. Dr. İnci SÖNMEZOĞLU'na,

Polarografi çalışmalarında verdiği fikirler ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Gülten ATUN'a ve Dr. Sinem ORTABOY'a,

Laboratuvar çalışmalarım süresince yardımları ve bilgileriyle destek olan, Doç. Dr. Hasan KILIÇ ve Yrd. Doç. Dr. Seyfullah MADAKBAŞA'a, spektrofotometrik ölçümlerde verdiği fikirler ve yardımlarından dolayı Dr. Soner ÇUBUK'a,

Tez yazımında emeği geçen arkadaşım Berrin KAYAN'a,

Bu tez çalışmasına sağladığı FEN-C-DRP-181208-0279 no'lu proje desteği için Marmara Üniversitesi BAPKO'ya,

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve birikimleriyle beni yönlendiren değerli hocam Dr. Osman DUR'a,

Tez çalışmam sırasında ve hayatım boyunca maddi manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme,

Beni her zaman içtenlikle destekleyen eşim Mehmet Akif'e ve tez çalışmam süresince kendisine yeterince zaman ayıramadığım sevgili oğlum Ahmet Emir'e teşekkür ediyorum.

Mayıs,2013

Nesrin ÇAKIR ARICAN

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
YENİLİK BEYANI	vii
SEMBOLLER	viii
KISALTMALAR	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serbest Radikaller	3
2.2. Antioksidanlar	5
2.2.1. Antioksidan Türleri	7
2.2.1.1. Doğal Antioksidanlar	7
2.2.1.2. Sentetik Antioksidanlar	13
2.2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	14
2.3. Elektroanalitik Yöntemler	18
2.3.1. Voltametrik Yöntemler	18
2.3.1.1. Voltametrde uyarma sinyalleri	19
2.3.1.2. Voltametrde kullanılan elektrotlar	21
2.3.1.3. Dönüşümlü Voltametri (CV)	25
2.3.2. Polarografi	28
2.3.2.1. Polarografik Yöntemler	32
2.3.2.2. Diferansiyel puls polarografisi	35
2.3.3. Voltametrde Oluşan Akım Türleri	36
2.4. Spektrofotometri	38
2.4.1. UV-Görünür Bölge Moleküler Spektroskopisi	39
2.5. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar	42

3. MATERYAL VE YÖNTEM	51
3.1. Kullanılan Cihazlar	51
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	51
3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması	51
3.3. Yöntemler	52
3.3.1. Polarografik Çalışmalar	53
3.3.1.1. Kalousek hücresi	54
3.3.1.2. Elektrot sistemleri	55
3.3.1.3. Civanın Temizlenmesi	57
3.3.1.4. Ortamdan Oksijenin Giderilmesi	57
3.3.2. Voltametri Çalışmaları	58
3.3.2.1. Elektrotların Hazırlanması	59
3.3.2.2. Yardımcı Elektrotun Temizlenmesi	59
3.3.2.3. Ortamdan Oksijenin Giderilmesi	59
3.3.3. UV-Görünür Bölge Spektrofotometrisi Çalışmaları	60
3.4. Deneysel Kısım	60
3.4.1. Askorbik Asit'e uygulanan yöntemler	61
3.4.1.1. Diferansiyel Puls Polarografisi	61
3.4.1.2. Dönüşümlü Voltametri	61
3.4.1.3. UV-Görünür Bölge Alan Spektrofotometrisi	62
3.4.2. Bazı Meyve ve Sebzelerin Toplam Antioksidan Kapasitesini Tayin Etmek İçin Kullanılan Yöntemler	63
3.4.2.1. Diferansiyel Puls Polarografisi	63
3.4.2.2. Dönüşümlü Voltametri	63
3.4.2.3. UV-Görünür Bölge Alan Spektrofotometrisi	63
4. BULGULAR VE SONUÇLAR	65
4.1. Metal İyonu- Askorbik Asit İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	65
4.1.1. Fe^{3+} - ASC İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	66
4.1.2. Cu^{2+} -ASC İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	69
4.1.3. $Fe(CN)_6^{3-}$ -ASC'le Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	73

4.1.3.1.	Fe(CN) ₆ ³⁻ -ASC Etkileşiminin CV Tekniği İle İnceleme Bulguları	73
4.1.3.2.	Fe(CN) ₆ ³⁻ -ASC Etkileşiminin UV Tekniği İle İnceleme Bulguları	75
4.2.	Bazı Gıda Maddelerinde TAC Tayini İçin Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	82
4.2.1.	Fe ³⁺ /Fe ²⁺ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar	82
4.2.1.1.	DPP Tekniği İle Elde Edilen Bulgular	82
4.2.1.2.	CV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular	83
4.2.2.	Cu ²⁺ /Cu ⁺ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar	85
4.2.3.	Fe(CN) ₆ ³⁻ / Fe(CN) ₆ ⁴⁻ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar	90
4.2.3.1.	CV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular	90
4.2.3.2.	UV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular	95
5.	SONUÇ VE TARTIŞMA	104
	KAYNAKLAR	108
	ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

GIDA MADDELERİNDE TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYİNİN ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLERLE TAYİNİ

Antioksidanların canlı organizmalar için çok önemli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle günlük diyetle tüketilen gıda maddelerinin antioksidan değerinin bilinmesi sağlık açısından önemlidir. Toplam antioksidan kapasite tayini için çeşitli spektrofotometrik, kromatografik ve elektroanalitik analiz yöntemleri kullanılmaktadır.

Antioksidanların toplu miktar tayinine ilişkin yöntemler farklı sonuçlar verdiğinden ve bütünleştirilemediğinden, bu çalışmada toplam antioksidan kapasite tayini elektroanalitik yöntemler kullanılarak indirek tayini yapılmıştır. Yeni bir yöntem olarak, ilk olarak ferri siyanür/ ferro siyanür, demir (III)/ demir (II), bakır (II)/ bakır (I) gibi redoks çiftleri seçilmiştir. Oksidan tür olan redoks çifti antioksidanla tepkimeye sokularak, oksidanın miktarı elektroanalitik (dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls polarografisi) ve spektrofotometrik tekniklerle tayini yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda en uygun iyon çiftinin ferri siyanür/ ferro siyanür, olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamız, öncelikle doğal antioksidan olan saf askorbik asit bileşiğine başarıyla uygulanmıştır. ferri siyanür/ ferro siyanür, iyon çifti kullanılarak yapılan deneylerde elektroanalitik yöntem ile spektrofotometrik yöntemden elde edilen sonuçlar arasında paralellik gözlenmiştir. Geliştirilen elektroanalitik yöntemle, çeşitli meyve, sebze ve ticari meyve sularının toplam antioksidan kapasitesi (% inhibisyon) tayin edilmiştir. Bulunan sonuçlar spektrofotometrik yöntemden bulunan sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Elektroanalitik yöntemlerin kolaylığı, ucuz oluşu ve pratikliği dikkat çekmiştir.

Ayrıca bu çalışma da saklama sırasında meyve ve sebzelerin antioksidan içeriğindeki değişim araştırılmıştır. 4°C de buzdolabında hava almayacak şekilde bir hafta bekletilen meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasitesinde fazla bir değer kaybı olmadığı, sonuçlar arasında bir paralellik olduğu gözlenmiştir.

Mayıs, 2013

Nesrin ÇAKIR ARICAN

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY IN FOOD PRODUCT BY USING ELECTROANALYTICAL METHODS

Antioxidants are known to be very important to living organisms. For this reason, the antioxidant value of foodstuffs consumed daily diet is important in terms of health knowledge. For the determination of the total antioxidant capacity of various spectrophotometric, chromatographic and electroanalytical methods of analysis are used.

Since methods for determination total amount of antioxidants have different result in terms and cannot be unified, in this study the indirect determination methods of antioxidants have been investigated using electroanalytical techniques.

As a new way of testing, redox pairs like ferric cyanide/ ferrous cyanide, iron (III)/ iron (II), copper (II)/copper (I).were chosen. Oxidant type redox pair were put in reaction with antioxidant, and the amount of the oxidant is assayed with electroanalytical (cyclic voltammetry and differential pulse polarography) and spectrophotometric methods. In tests, ferric cyanide/ ferrous cyanide found out to be most suitable ion pair.

Our experiment is successfully applied to pure ascorbic acid compound, a natural antioxidant. In experiments using ferric cyanide/ ferrous cyanide ion pair, results of electroanalytical method were in line with results of spectrophotometric method. Using the developed electroanalytical method, antioxidant capacity (inhibition %) of various fruit, vegetable and commercial fruit juices were assayed. Results were compared to the results of spectrophotometric method. Electroanalytical methods stood out with their ease of application, cheaper costs and practicality.

Furthermore in this study, change in antioxidant content of fruits and vegetables were also investigated. It has observed that there is not much reduction in fruits and vegetables antioxidant content which have contained in refrigerator at 4°C without any air loss for one week.

May, 2013

Nesrin ÇAKIR ARICAN

YENİLİK BEYANI

GIDA MADDELERİNDE TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYİNİN ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLERLE TAYİNİ

Antioksidanların çeşitliliği, sebze, meyve ve gıda örneklerinden ekstraksiyonlarını ve nicel tayinlerini güçleştirir. Antioksidanların sağlığa yararlı etkilerinin bunların sinerjik kombinasyonlarıyla da sağlandığını göz önüne alarak her ortama uygulanabilen toplu bir antioksidan kapasite tayin yöntemine ihtiyaç vardır. Bu yüzden bu çalışmada birden fazla oksidasyon kademesi olan metal iyonlarından faydalanılmıştır. $\text{Fe(CN)}_6^{3-}/\text{Fe(CN)}_6^{4-}$, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ gibi iyon çiftleri kullanılarak yüksek oksidasyon kademesindeki metalin antioksidanla indirgenmesi sağlanarak bunun elektroanalitik yöntemlerden voltametrik yöntem ve polarografik yöntem kullanılarak indirekt olarak nicel tayini yapılmıştır. Buradan toplamsal antioksidan kapasitesi hesaplanmıştır. Bulunan sonuçlar, spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Mayıs, 2013

Prof. Dr. Mustafa Lütfü BERKEM

Nesrin ÇAKIR ARICAN

SEMBOLLER

Cu	: Bakır
E	: Elektrot potansiyeli
E°	: Standart elektrot potansiyeli
E_{1/2}	: Yarı dalga potansiyeli
E_b	: Bozunma potansiyeli
E_{pa}	: Anodik pik potansiyeli
E_{pk}	: Katodik pik potansiyeli
e⁻	: Elektron
F	: Faraday Sabiti
Fe	: Demir
i	: Akım
i_{pk}	: Katodik pik akımı
i_{pa}	: Anodik pik akımı
i_k	: Katodik akım
i_a	: Anodik akım
i_a	:Artık akım
i_d	: Difüzyon akımı
i_f	: Faradayik akım
i_k	: Kapasitif akım
i_s	: Sınır akımı
n	: Alınan Verilen Elektron Sayısı
h	: Planck sabiti
ν	: Frekans

KISALTMALAR

AO	: Atomik orbital
ASC	: Askorbik asit
BHA	: Butillendirilmiş hidroksianisol
BTA	: Butillendirilmiş hidroksitoluen
Cu(NO)₃.6H₂O	: Bakır (II) nitrat hekza hidrat
CUPRAC	: Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi
CV	: Dönüşümlü voltametri
DC	: Doğru akım
DKE	: Doymuş kalomel elektrot
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPP	: Diferansiyel puls polarografi
DPPH	: 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil
ET	: Elektron transferi
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FeCl₃	: Demir (III) klorür
FRAP	: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
GB	: Görünür bölge
HAT	: Hidrojen atomu transferi
HPLC	: Yüksek performans sıvı kromatografi
K₃[Fe(CN)₆]	: Potasyum hekza siyona ferrat (III)
K₄[Fe(CN)₆]	: Potasyum hekza siyona ferrat (II)
KNO₃	: Potasyum nitrat
NDGA	: Nordihidroguayaretik asit
ORAC	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAC	: Toplam antioksidan kapasite
TBHQ	: Tersiyer butil hidrokinon
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TRAP	: Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi
UV	: Ultra viyole

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 2.1.	Askorbik asidin redoks reaksiyonu ile dehidroaskorbik aside dönüşmesi 12
Şekil 2.2.	Doğru akımın zamana karşı grafiği 19
Şekil 2.3.	Üçgen dalga uyarma sinyali 19
Şekil 2.4.	Pulslu uyarma sinyali 20
Şekil 2.5.	Diferansiyel puls uyarma sinyali 20
Şekil 2.6.	Kare dalga uyarma sinyali 21
Şekil 2.7.	Pt, Hg, C gibi elektrotların çeşitli elektrolitlerdeki potansiyel aralıkları 22
Şekil 2.8.	Bazı mikroeletrotlar a) Disk elektrot b) Asılı civa damlası elektrodu c) Damlayan civa elektrot (DCE) 23
Şekil 2.9.	Dönüşümlü voltametrinde potansiyel-akım eğrisi 26
Şekil 2.10.	Polarografide kullanılan üç elektrotlu sistem (DCE damlayan civa elektrot, RE referans elektrot, SE sekonder elektrot) 28
Şekil 2.11.	Normal polarografi için akım-potansiyel eğrisi 29
Şekil 2.12.	Oksijenin indirgenme polarogramı 31
Şekil 2.13.	1 M NaNO ₃ ortamında 1x10 ⁻⁴ M Cu (II) iyonlarının a) Doğru akım polarogramı b) Akım örnekleme (tast) polarogramı 33
Şekil 2.14.	Kare dalga voltametrisinde akım-potansiyel grafiği 34
Şekil 2.15.	Normal puls polarogramı 35
Şekil 2.16.	Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen potansiyel akım eğrisi 36
Şekil 2.17.	Bir organik moleküldeki elektronik geçişler 40
Şekil 3.1.	Polarografik deneylerin gerçekleştirildiği Entek 2016 model Polarographic Analyser sistemi 54
Şekil 3.2.	Polarografide kullanılan analiz sistemi 54
Şekil 3.3.	DPP’de kullanılan kalousek tipi hücre sistemi 55
Şekil 3.4.	Voltametrik deneylerin gerçekleştirildiği Voltalab80 PGZ 401 Potansiyotat/Galvanostat sistemi 58
Şekil 3.5.	Spektrofotometrik deneylerin gerçekleştirildiği Shimadzu UV-1800 model spektrofotometre 60

Şekil 4.1.	0.10 M KNO ₃ çözeltisinin diferansiyel puls polarografisi (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV)	66
Şekil 4.2.	1.00x10 ⁻³ M FeCl ₃ çözeltisinin polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV, pH=3.35)	67
Şekil 4.3.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ - ASC polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği:100 mV, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ +1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	68
Şekil 4.4.	ASC eklenmesi ile Fe ³⁺ pikindeki azalma	68
Şekil 4.5.	0.10 M KNO ₃ çözeltisinin dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 20 mV/s)	69
Şekil 4.6.	a) 1.00x10 ⁻³ M Cu ²⁺ çözeltisinin dönüşümlü voltamogramı b) VoltaMaster 4 programı ile yapılan pik analizi (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.18)	70
Şekil 4.7.	Standart Cu ²⁺ çözelti serisinin kalibrasyon grafiği (n=3)	71
Şekil 4.8.	2x10 ⁻³ M Cu ²⁺ -ASC etkileşmesinin voltamogramı ((Tarama hızı 50 mV/s pH=5.19, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 0.04 M Cu ²⁺).	71
Şekil 4.9.	2.00x10 ⁻³ M Fe(CN) ₆ ³⁻ çözeltisine 6.00x10 ⁻³ M ASC dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.07, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 0.04 M Fe(CN) ₆ ³⁻)	74
Şekil 4.10.	Eklenen ASC miktarına bağlı olarak Fe(CN) ₆ ³⁻ pikinde meydana gelen azalma (n=3)	74
Şekil 4.11.	5.00x10 ⁻⁴ M Fe(CN) ₆ ³⁻ çözeltisinin spektrumu (pH=5,56)	76
Şekil 4.12.	Farklı derişimlerde Fe(CN) ₆ ³⁻ spektrumları	76
Şekil 4.13.	Fe(CN) ₆ ³⁻ kalibrasyon grafiği (λ _{max} =420 nm)	77
Şekil 4.14.	Farklı derişimlerde Fe(CN) ₆ ⁴⁻ spektrumları (λ _{max} =218 nm)	77
Şekil 4.15.	Fe(CN) ₆ ⁴⁻ kalibrasyon grafiği (λ _{max} =218 nm)	78
Şekil 4.16.	2.50x10 ⁻⁴ M Fe(CN) ₆ ⁴⁻ çözeltisine artan miktarlarda 1.00 x10 ⁻⁴ M ASC ilave edilmesi ile elde edilen spektrumlar (x:1 mL 5.00x10 ⁻⁴ M Fe(CN) ₆ ⁴⁻)	78
Şekil 4.17.	2.50x10 ⁻⁴ M Fe(SCN) ₆ ³⁻ çözeltisine artan miktarlarda 1.00 x10 ⁻⁴ M ASC ilave edilmesi ile elde edilen spektrumlar (x:1 mL 500x10 ⁻⁴ M Fe(CN) ₆ ⁴⁻)	79

Şekil 4.18.	2.50x10 ⁻⁵ M Fe(CN) ₆ ³⁻ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile Fe(CN) ₆ ³⁻ absorbansındaki azalma ($\lambda_{\max}$ =420 nm)	80
Şekil 4.19.	2.50x10 ⁻⁵ M Fe(CN) ₆ ⁴⁻ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile Fe(CN) ₆ ⁴⁻ absorbansındaki artma ($\lambda_{\max}$ =218 nm)	80
Şekil 4.20.	Askorbik asidin Fe(CN) ₆ ³⁻ iyonunu indirgeme kapasitesinin spektroskopik ve voltametrik ölçümleri arasındaki korelasyon	81
Şekil 4.21.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ - armut suyu polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	82
Şekil 4.22.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye nektari suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.10, nektari suyu eklendikten sonra pH=3.50, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	83
Şekil 4.23.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye şeftali suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH= 3.40, şeftali suyu eklendikten sonra pH= 3.30, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	84
Şekil 4.24.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye limon suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.20, limon suyu eklendikten sonra pH=3.05, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	84
Şekil 4.25.	1.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye domates suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.10, domates suyu eklendikten sonra pH=3.15, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Fe ³⁺)	85
Şekil 4.26.	1.00x10 ⁻³ M Cu ²⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye şeftali suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=5.18, şeftali suyu eklendikten sonra pH=3.87, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Cu ²⁺)	86
Şekil 4.27.	1.00x10 ⁻³ M Cu ²⁺ çözeltisinin ve bu çözeltiye kiraz suyu ilavesi ile elde edilen çözeltinin voltamogramları (20 mV/s, pH=5.32, x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 2.00x10 ⁻³ M Cu ²⁺)	86

Şekil 4.28.	1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine kayısı suyu ilavesi ile elde edilen voltamogram (20 mV/s, pH=5.33, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})	87
Şekil 4.29.	1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine artan miktarlarda taze sıkılmış domates suyu ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim (Tarama hızı 20 mV/s, pH=4.19, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})	88
Şekil 4.30.	1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine artan miktarlarda taze sıkılmış domates suyu ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim.	88
Şekil 4.31.	5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine taze sıkılmış ısırgan otu suyundan ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.96, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	90
Şekil 4.32.	5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine taze sıkılmış kereviz suyundan ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.85, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	91
Şekil 4.33.	5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine aynı miktarlarda taze sıkılmış beyaz, kara ve mor lahana sularından ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	92
Şekil 4.34.	5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine aynı miktarlarda taze sıkılmış beyaz, kara ve mor lahana sularından ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim.	92
Şekil 4.35.	Taze hazırlanan meyve-sebze suları ile bir hafta bekletilerek hazırlanan meyve-sebze sularının CV yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasiteleri arasındaki korelasyon ($r=0.86$)	95
Şekil 4.36.	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 'ün kalibrasyon grafiği	96
Şekil 4.37.	5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 mL kivi suyu ilave edilmesiyle elde edilen UV- görünür bölge spektrumu (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	96
Şekil 4.38.	1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda armut suyu ilavesi ile elde edilen spektrum (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	97
Şekil 4.39.	1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda armut suyu ilavesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde meydana gelen küçülme (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)	97
Şekil 4.40.	1×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine soyulmuş ve soyulmamış armutlardan	

	elde edilen armut sularının ilavesi ile elde edilen spektrum(x:10 mL 0.20 M KNO ₃ + 1 mL 1.00x10 ⁻³ M Fe(CN) ₆ ³⁻)	98
Şekil 4.41.	1x10 ⁻³ M Fe(CN) ₆ ³⁻ çözeltisine soyulmuş ve soyulmamış armutlardan elde edilen armut sularının ilavesi ile Fe(CN) ₆ ³⁻ pikiinde meydana gelen küçülme	99
Şekil 4.42.	Taze meye-sebzelerden hazırlanan besin suları ile bir hafta buzdolabında bekletilen meyve-sebzelerden hazırlanan besin sularının UV yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasiteleri arasındaki korelasyon (r=0,80)	102
Şekil 4.43.	CV ve UV ile elde edilen meyve-sebze sularının Fe(CN) ₆ ³⁻ iyonu indirgeme kapasiteleri arasındaki ilişki	103
Şekil 4.44.	CV ve UV ile elde edilen meyve-sebze sularının Fe(CN) ₆ ³⁻ iyonu indirgeme kapasiteleri arasındaki korelasyon	103

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 2.1. Flavonoid sınıfına ait bileşiklerin yaygın olarak bulundukları besin kaynakları	11
Tablo 2.2. Antioksidan kapasite tayininde kullanılan çeşitli analitik yöntemlerin karşılaştırılması	16
Tablo 4.1. 2.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları (n=3)	75
Tablo 4.2. 2.50×10^{-5} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları	81
Tablo 4.3. 1.00×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine 1 mL meyve suyu eklendikten sonra çözeltide kalan Cu^{2+} derişimi ve meyvelerin % inhibisyon oranları	89
Tablo 4.4. 5×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 mL taze sıkılmış meyve ve sebze suyu eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları (n=3)	93
Tablo 4.5. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve ve sebze sularından 1 mL eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ konsantrasyonları ve % inhibisyon oranları (n=3)	94
Tablo 4.6. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 mL taze sıkılmış meyve ve sebze suyu eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları ($\lambda_{\text{max}}=420$ nm, n=3)	100
Tablo 4.7. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve ve sebze sularından 1 mL eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları ($\lambda_{\text{max}}=420$ nm, n=3)	101

1. GİRİŞ

İnsanların sağlıklı ve uzun bir yaşam sürmesi üzerine beslenmenin etkisinin kesin bir şekilde ortaya konulmasından sonra gelişmiş ülkelerde özellikle son yıllarda doğal antioksidan tüketimi üzerinde çok durulmaya başlanmıştır. İnsanların doğal metabolizmasında enerji kaynağı olan karbonun oksijen ile yanması sonucunda açığa çıkan karbondioksitin yanı sıra, bir kısım oksijenin tam olarak reaksiyona girmemesi sonucu oluşan ve serbest radikal olarak adlandırılan bileşikler ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin en önemli özelliği son derece reaktif olmalarıdır. Bu bileşikler karşılaştıkları her madde ile reaksiyona girebilmektedirler. Dolayısıyla radikaller hücre yapısında bulunan lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar verebilmekte ve sonuçta başta kanser olmak üzere pek çok hastalığa yol açmaktadırlar (Bermond, 1990; Thomas, 1995; Thurnham, 1993). Serbest radikallerden kaynaklanan hasarlara karşı vücudun geliştirdiği bazı savunma mekanizmaları vardır. Bunlar, enzim sistemleri, vitaminler, antioksidan mineraller ve gıdaların bileşiminde bulunan diğer bileşiklerdir (Velioglu, 2000). Kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklara karşı meyve sebzelerin sağladığı koruma, onların içerdiği çeşitli antioksidanlarla ilgilidir. Nükleik asit, protein ve lipitlerin oksidatif zararlanmalarına serbest radikallerin neden olduğunu gösteren güçlü kanıtlar vardır. Bu yüzden serbest radikalleri nötralize edebilen antioksidanların bu hastalıklardan korumadaki esas önemi ortaya çıkmaktadır. Meyve ve sebzeler, birçok farklı antioksidan bileşenleri içerir. Bu meyve ve sebzelerin antioksidan kapasitesinin çoğunluğu vitamin-C, vitamin-E ya da betakarotenin dışındaki başka bileşiklerden olabilir. Örneğin güçlü oksidan aktivite gösteren ve insan diyetinin bileşenleri olan bazı flavonoidler, flavonlar, antosiyaninler bunlardan bazılarıdır. Bu yüzden bir meyve ve sebzenin toplam antioksidan kapasitesini ölçmek önemlidir (Wang ve ark., 1996).

Oksidatif strese karşı güncel tıp biliminde büyük ölçüde sına-yanımla yöntemiyle bazı tedaviler önerilmekte ise de aslında tedavi yaklaşımlarının moleküler mekanizmalara (yani moleküler tıbbı ve biyokimyaya) dayandırılması gittikçe önem kazanmaktadır. Bu da gerek hastaların ve gerekse sağlıklı insanların diyetlerinin koruyucu ve tedavi edici hekimlik bağlamında doğal ve yapay antioksidanlarla takviye edilmesini gerekli kılmaktadır. Doğal antioksidanların en önemli kaynağı bitkiler olup

özellikle insan beslenmesinde bitkisel kaynaklı besinlerin kullanılması özendirilmekte ve giderek artmaktadır. Moleküler düzeyde çok büyük çeşitlilik gösteren antioksidan maddelerin bitkilerdeki miktarları ve dağılımları araştırma konusudur. Bu araştırmalar yüksek antioksidan aktivite gösteren molekülleri içeren bitkisel kaynaklı besinlerin önerilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle de antioksidan aktiviteyi ölçmek üzere kullanılan çeşitli tayin yöntemlerinin geliştirilmesi ve karşılaştırılması son zamanlarda en önemli araştırma konularından biridir (Ardağ, 2008).

İnsan sağlığı açısından önemli olan bu antioksidan bileşiklerin biyolojik sıvı, gıda ve saf bileşiklerde antioksidan kapasitelerini ölçmek amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir (Yıldız, 2007). Bu çalışma da çeşitli meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasitesi elektroanalitik yöntemlerle ve ayrıca spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, çiftleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça aktiftirler. Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yıkılması sonucu, bağı oluşturan iki elektronun her birinin ayrı atomlar üzerinde kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



2. Bir molekülün elektron kaybetmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır.



3. Bir moleküle elektron transferi: Bir molekül yapısına elektron eklenmesi sonucu reaktif özellik taşıyan yapılar oluşmaktadır.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en önemli radikaller, serbest oksijen radikalleri olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metalleri iyonları ve hidroksil radikalleridir.

Süperoksit radikali

Süperoksit radikali oksijene bir elektron eklenmesi (Günaydın ve Çelebi, 2003) ya da aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu

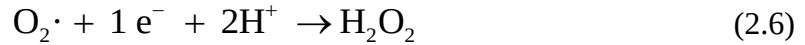
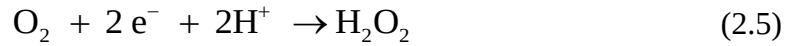
oluşur. Serbest radikal olsa da özellikle hasar oluşturacak bir tür değildir. Bunun nedeni yarı ömrünün uzun olmasına karşın bulunduğu yerden uzaklaşma yeteneğinin az olmasıdır. Süperoksidin asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem de indirgeyici özelliğe sahiptir (Lee ve ark., 2004).



Hidrojen Peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit radikaline bir elektron ilave edilmesiyle hidrojen peroksit oluşur (Akkuş, 1995). Membrandan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Zayıf bir indirgeyici ajandır.

Yapısında eşlenmemiş elektron içermediğinden radikal özellik taşımaz.



Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebi, demir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü gibi davranmasıdır.

Hidrojen peroksit membran lipoproteinleri ve doymamış yağ asitlerine karşı gösterdiği etkiler sonucunda hücrel hasara yol açar (Oğuz, 2008).

Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksit bir elektron eklenirse hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve hidroksil anyonu (OH^-) oluşur.



Serbest radikaller içerisinde hidroksil radikali en reaktif molekül olup, diğer kimyasal türlerle sıklıkla reaksiyona girmektedir. Hidroksil radikali daima tehlikeli ve çok toksik kabul edilir. Çünkü insan vücudundaki her molekülü okside edebilmektedir (Günaydın ve Çelebi, 2003). Hidroksil radikali amino asitler, nükleik asitler, organik

asitler, fosfolipitler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır (Memişoğulları, 2005).

Singlet Oksijen

Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur. Eşlenmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür (Min ve Boff, 2002; Lee ve ark., 2004). Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelebildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olmaktadır (Alem, 2007).

Peroksil Radikali

Karbon merkezli radikaller lipit, nükleik asit, karbonhidrat veya protein gibi biyolojik moleküllerle okside edici hidroksil radikalının reaksiyonu ile oluşur. Bunlar çok hızlı bir şekilde peroksil radikalini ($ROO\cdot$) oluşturur. Peroksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatır. Bu peroksil radikalinden alkoksil ($RO\cdot$) radikalleri de oluşabilir. Sülfür atomu serbest radikal merkezinde olursa tiyil radikali ($RS\cdot$) olarak adlandırılır (Alem, 2007).

2.2. ANTİOKSİDANLAR

Oksidasyon; canlı hücrelerinde veya lipit içeren gıdaların renk, tat ve kokularında oksijenin etkisi ile meydana gelen ve çoğunlukla istenmeyen değişimlerdir. **Oksidan** ise; bulunduğu ortamdaki diğer biyo/kimyasal bileşenleri oksitleyen maddelere verilen isimdir. Gıdalarda ve canlı hücrelerinde oluşan oksidasyon reaksiyonlarını engelleyen veya yavaşlatan bileşenlere ise genel olarak **antioksidan** adı verilmektedir (Sizer ve Whitney, 1997; Gür ve Altuğ, 2001).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyen veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini önleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve ark., 1999; Nagai ve ark., 2005). Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao, 1999). Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Vücutta doğal olarak bulunan antioksidan savunma sistemleri serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarına karşı koymaya çalışırlar. Normal fizyolojik şartlarda bir denge halinde olan bu durum, antioksidan tüketimi veya serbest radikal oluşumunun artması durumunda birçok hastalığın oluşumundan sorumlu tutulan oksidatif strese yol açar (Günaydın ve Çelebi, 2003).

Serbest radikal oluşturan kaynaklar arasında radyasyon, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, fosil kökenli yakıtların bazı yanma ürünleri, sigara dumanı, virüsler, enfeksiyon, iltihap, stres, yağ metabolizmasının bazı toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, zirai mücadele ilaç kalıntıları, mitokondrilerde elektron transport zincirinde oksijenin tam olmayan redüksiyonu, bakır ve demir gibi geçiş metallerinin aracılık ettiği bazı kimyasal reaksiyonlar, iskemik dokuların reperfüzyonu ve cerrahi müdahale sonrası gözlenen organ hasarları yer almaktadır (Gök ve Serteser, 2003; Günaydın ve Çelebi, 2003; Lee ve ark., 2004).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:

- Başlatıcı reaktif türleri uzaklaştırıcı etki,
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

- Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve moleküller bu yolla etki eder.
- Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki eder.
- Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
- Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Gökpınar ve ark., 2006).

2.2.1. Antioksidan Türleri

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çoğu sentetik antioksidan fenolik yapıdadır. Antioksidan aktivitesi arasındaki farklılık kimyasal yapı ile alakalıdır.

2.2.1.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen ya da gıdanın işlenmesi sırasında açığa çıkan bileşenlerdir. En önemli doğal antioksidanlar, tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur. Son zamanlarda gıda kimyası ve koruyucu tıbbın bitki kaynaklı doğal antioksidanlara karşı ilgisi artmaktadır. Bunu nedeni sentetik antioksidanların (BHA, BHT, gibi) kanserojen olduklarının düşünülmesidir (Madhavi, 1996).

➤ **Tokoferoller**

α , β , δ , γ tokoferoller ve tokotrienoller içeren grubu kapsamaktadır. Özellikle α -tokoferol, yüksek biyolojik aktivite göstermektedir. α -tokoferol vitaminlerin en güçlüsü ve yiyeceklerde en geniş şekilde yayılmış olanıdır. Antioksidan etkisi en fazla olanı da γ -tokoferoldür (Özyürek, 2005).

E vitamini dokularda önemli zincir kırıcı bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı savunma etkisinin olduğu, hücre membranlarını serbest radikal saldırısına karşı koruduğu düşünülmektedir.

Yağca zengin bitkiler, E vitaminin temel doğal kaynaklarıdır. Tokotrienoller, palm yağında ve pirinç kepeğinde yüksek miktarda, hindistan cevizi yağı, kakao yağı, soya fasülyesi, arpa, buğday, kırmızı et ve yumurtada bulunmaktadır. Ayçiçeği, yer fıstığı, ceviz, susam ve zeytinyağı ise sadece tokoferol içermektedir (Yıldız, 2007).

➤ **Karotenoidler**

Bitkilerde yaygın şekilde bulunan doğal renk pigmentleridir. Fotooksidatif proseslere karşı bitkileri korur. En bilineni A vitamini öncüsü olan β -karotendir. Karotenoidler özellikle singlet oksijeni ($^1O_2$) ve peroksil radikallerini gideren etkili

antioksidanlardır. Karotenoidler arasında en etkin $^1\text{O}_2$ tutucu; β -karotenin açık zincirli analogu olan likopendir (Stahl ve Sies, 1999). LDL (low density lipoprotein) 'yi oksidatif hasara karşı koruyarak ateroskleroz ve diğer koroner hastalıkların gelişmesini de engeller (Seven ve Candan, 1996).

Doğal pigmentler olan karotenoidler bitkilerde ve çoğu mikroorganizmalarda sentezlenir. Şimdiye kadar doğal kaynaklardan 600'ü aşkın karotenoid izole edilmiştir. Çoğu çiçek ve meyvelerin renkleri gibi birçok kuş, böcek ve deniz hayvanlarının renklerinden de sorumludurlar.

➤ **Polifenolik Bileşikler**

Polifenoller, fitokimyasalların en geniş sınıflarından biri olup bitki âleminde geniş çapta yer almaktadırlar. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır (Rice-Evans ve ark. , 1995; 1996). Bitki polifenolleri çok fonksiyonlu olup hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici olarak davranır. Bazı polifenoller ise antioksidan özelliklerini metal iyonlarını kelatlama özelliklerine borçludurlar (Brown ve ark. , 1998).

Besin fenolikleri; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik polimerler (tanenler) olmak üzere üç sınıfa ayrılır.

• **Flavonoidler**

Bitki fenollerinin en geniş sınıfını difenilpropan ($\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$) iskeletine sahip flavonoidler oluşturmaktadır.

Flavon ismi Latince flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Bitkilerden elde edilen ve genellikle sarı renkli olan bu bileşikler “flavonoid” olarak isimlendirilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonucunda bitkilerden 4000'den fazla flavonoid izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Hepsi antioksidan aktivite göstermekte ve bunlardan yaklaşık 50 tanesi gıdalarda bulunmaktadır.

Çoğu flavonoid polifenolik bitki pigmentidir ve meyve ve sebzelere kırmızı, turuncu, sarı, mavi ve mor renk verirler. Bilinen flavonoidlerden yeşil çayda bulunan epigallokateşin gallat (EGCG) en umut vaad edici antikansorejen maddelerden biridir (Naczki ve Shahidi, 2004).

Flavonoidler; antosiyaninler ve antoksantrinler şeklinde sınıflandırılır.

Antoksantrinler, renksiz veya beyazdan sarıya dönük renkte olurlar ve flavonol, flavanol, flavon, flavanon ve izoflavonlar olarak sınıflandırılırlar. (Cadenas ve Parker, 2002). Flavanonlar ve flavonlar çoğunlukla birlikte bulunur ve belirli enzimlerle bağlıdırlar. Çoğu bitki familyasında, flavonlar ve flavonoller arasında karşılıklı bir dışlama vardır ve flavanonca zengin bitkilerde antosiyaninler neredeyse hiç yoktur (Harborne, 1967).

Flavonoller, flavonoidlerin en yaygın sınıfıdır ve en önemli bileşikler kuersetin, kuersetin glikoziti rutin, kamferol, mirisetin, izoramnetin'dir. Kuersetin bitkilerin en temel flavonollerindendir ve soğan, elma, lahana ve çayda yüksek miktarda bulunmaktadır.

Flavon sınıfına ait temel bileşikler apigenin, luteolin ve krisin'dir. Maydanoz, kereviz ve zeytinde bol miktarda bulunmaktadır.

Flavanoller ise flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil çay, kırmızı şarap, şeftalide fazla miktarda, ayrıca beyaz şarap ve elmada bulunurlar.

Flavanonlar, flavonların dihidro türevleridir. En önemlileri eriodiktol, naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetin'dir. Naringin naringenin'in, hesperidin hesperetin'in glikozitidir. Greyfurt ve portakalda bol miktarda bulunurlar.

İzoflavonlar, flavonların izomeridir, en bilinen bileşikler genistein ve daidzein olup baklagil ve soya fasülyesinde fazla miktarda bulunmaktadır.

Flavonoid sınıfına ait bileşiklerin yaygın olarak bulundukları besin kaynakları Tablo 2.1'de özetlenmiştir (Yıldız, 2007).

Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozidleri olup çiçeklere ve meyvelere kırmızı, mavi ve mor renkleri veren, suda çözünebilen en önemli bitki pigment sınıfıdır. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delphinidin'dir.

En önemli antosiyanin kaynakları, üzüm suyu ve şarap yapımında atık olarak ele geçen posalar, bazı üzüm çeşitleri, kuşburnu,(0.6-0.8 mg/g meyve) mürver ağacı

meyvesi (2-10 mg/g meyve) kiraz (43,6 mg/100 g) ve vişne (35-82 mg/100 g meyve) şeklinde belirtilmiştir.

Genel olarak antosiyaninler doğal renklendirici olarak kullanılmaktadırlar. Üzümden elde edilen antosiyanin ticari amaçlı mor ve kırmızı renklendiriciler olarak alkolsüz içecekler, meyve şurupları, konserve meyveler, şarap, alkollü içecekler, tatlı ve yoğurtlarda kullanılmaktadır (Çalıklı, 2003).

- ***Fenolik Asitler***

Fenolik asitler hidroksi benzoik asit ve hidroksi sinamik asit olarak adlandırılan farklı iki sınıftan oluşmaktadır (Cadenas ve Parker, 2002). Fenolik asitlerin ve esterlerinin antioksidan aktiviteleri, sterik engelleme ile güçlenen moleküldeki hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır (Dziedzic ve Hudson, 1983).

Hidroksi sinamik asitler, meyve, sebze, çiçek, tohum ve şarap, çay, kahve, zeytinyağı gibi bitki türevli ürünlerde bulunmaktadır (Herrmann, 1989). Kafeik asit, onun kuinik ester türevi klorojenik asit, p-kumarik asit bitkilerde en fazla bulunan hidroksi sinamik asitlerdir.

Hidroksi benzoik asitler içinde ise gallik asit, üç hidroksil grubuna sahip olmasından dolayı en fazla aktivite gösterir.

- ***Fenolik Polimerler (Tanenler)***

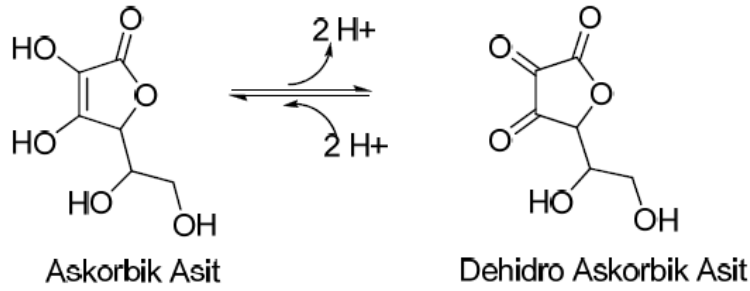
Polimerik yapıdaki yüksek molekül tartısına sahip tanenler kondanse ve hidrolizlenebilir olmak üzere iki alt sınıfa ayrılır. Kondanse tanenler polimerik flavonoidlerdir. Hidrolizlenebilir tanenler, gallik asit ve benzer bileşiklerin karbonhidratlara esterlenmiş yapılarıdır (Brune ve ark., 1989). Bu bileşikler çay, kırmızı şarap, meyve, baklagil ve tahıllarda bol miktarda bulunmaktadır (Cadenas ve Parker, 2002).

Tablo 2.1. Flavonoid sınıfına ait bileşiklerin yaygın olarak bulundukları besin kaynakları

Sınıfı	Adı	Süstitüsyon Konumları	Besin Kaynakları
Flavanol	(+)-Katesin	3,5,7,3',4'-OH	Çay
	(-)-Epikatesin	3,5,7,3',4'-OH	Çay
	Epigallokatesin gallat	3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallat	Çay
Flavon	Krisin	5,7-OH	Meyve kabuğu
	Apigenin	5,7,4'-OH	Maydonoz, kereviz
	Luteolin	5,7,3',4'-OH	Kırmızı biber
Flavonol	Kamferol	3,5,7,4'-OH	Pırasa, brokoli, hindiba, greyfurt, siyah çay
	Kuersetin	3,5,7,3',4'-OH	Soğan, marul, brokoli, çay, k.sarap, mor meyveler, zeytinyağı, elma kabuğu
	Mirisetin	3,5,7,3',4',5'-OH	Yaban mersini, üzüm, k. şarap
	Rutin	5,7,3',4'-OH, 3-rutinoz	K.şarap, k. buğday, domates kabuğu, turunçgiller
Flavanon	Naringin	5,4'-OH, 7-ramnoglukoz	Turunçgiller, greyfurt
	Naringenin	5,7,4'-OH	Turunçgiller
	Taksifolin	3,5,7,3',4'-OH	Turunçgiller
	Hesperidin	3,5,3'-OH,4'-OMe,7-rutinoz	Portakal
	Eriodiktol	5,7,3',4'-OH	Limon
İzoflavon	Genistin	5,4'-OH,7-glukoz	Soya fasulyesi
	Genistein	5,7,4'-OH	Soya fasulyesi
	Daidzin	4'-OH, 7-glukoz	Soya fasulyesi
	Daidzein	7,4'-OH	Soya fasulyesi
Antosiyanidin	Apigenidin	5,7,4'-OH	Renkli meyveler
	Siyanidin	3,5,7,3',4'-OH	Kiraz, ahududu, çilek
	Malvidin	3,5,7,4'-OH,3,5-OMe	Kırmızı üzüm, şarap

➤ Askorbik Asit

Askorbik asit (C vitamini, askorbat) vücutta sentezlenemeyen ve suda çözünebilen bir vitamindir. Çok kolay bir şekilde serbest radikal şekli olan dehidroaskorbik aside okside olabilir ve bu nispeten kararlı bir formdur. Daha ileriki oksidasyon basamaklarında hiçbir biyolojik fonksiyonu olmayan diketogulonik aside dönüşür (Gök ve Serteser, 2003; Anıl, 2006).



Şekil 2.1. Askorbik asidin redoks reaksiyonu ile dehidroaskorbik aside dönüşmesi

Hem askorbik asit hem de bunun bir elektron yükseltgenmiş hali olan askorbil radikali düşük redüksiyon potansiyeline sahiptir. Böylece ilgili radikal ve oksidanlarla reaksiyona girebilir. Askorbil radikali, eşleşmemiş elektronun rezonans kararlılığı nedeniyle düşük redüksiyon potansiyeli gösterir ve kolayca askorbat ve dehidroaskorbik asite dönüşür. Bununla birlikte, askorbik asit, hem askorbil radikalinden hem de dehidroaskorbik asitten enzimatik veya enzimatik olmayan yollarla kolaylıkla üretilir. Bu özelliklerinden dolayı askorbik asit etkili bir antioksidandır. Reaktif oksijen (süperoksit, peroksil radikalleri, singlet oksijen, ozon), reaktif azot (peroksinitrit, azot dioksit) ve reaktif klor (hipoklorik asit) türlerini kolayca süpürür ve bu suretle diğer substratları oksidatif hasardan korur. (Yıldız, 2007).

Ayrıca, sigara dumanında bulunan reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlar, sigara içenlerde ve pasif içicilerde plazma C vitamini düzeyleri sigara içmeyenlere göre düşük bulunmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda bazı gıdalarda ve sigara dumanında bulunan nitrozaminleri inaktive ederek, antitümörjenik rolü olduğu gösterilmiştir.

Askorbik asidin yüksek derişimlerde antioksidan aktivitesinin yanında, düşük derişimlerde prooksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Geçiş metalleri varlığında demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonu ile $\cdot OH$ radikali oluşumuna katkı sağlar. Sağlıklı

organizmada geçiş metal iyonları proteinlere bağlı bulunduklarından, bu durum in vivo koşullarda çok sınırlıdır ve askorbik asidin antioksidan özelliği prooksidan özelliğinden daha baskındır (İşbilir, 2008).

C vitaminin en iyi kaynakları taze meyve ve sebzelerdir. Turunil meyveleri, kuşburnu, kivi, papaya, mango, kavun, ilek, kızcılık, brtlen gibi meyveler; kabak, brokoli, kırmızı ve yeşil biber, domates, lifli yeşil sebzeler, patates, karnabahar ve lahanagiller gibi sebzeler en iyi askorbik asit kaynakları arasındadır. Maydanoz C vitamini bakımından çok zengin olmakla birlikte az miktarda tüketildiğinden günlük diyeteye katkısı azdır. Yağlı tohumlar, tahıllar ve kuru baklagillerin C vitamini içerikleri ise oldukça düşüktür (Saldamlı ve Sağlam, 1998; Anıl, 2006).

2.2.1.2. Sentetik Antioksidanlar

Besinlerdeki sıvı ve katı yağların oksitlenerek bozunması, istenmeyen koku ve tatların oluşmasını takiben sekonder olarak besin kalitesinde ve güvenliğinde azalmaya neden olan toksik potansiyel taşıyan bileşiklerin oluşmasına neden olur. Besinlerin tat, renk ve vitamin değerlerinin korunması için antioksidan ilavesi gerekir. Besinlere doğal antioksidanlar (baharat veya diğer katkı maddeleri) da ilave edilebilirse de endüstride daha çok aşağıda açıklanan sentetik antioksidanlar kullanılır. Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanlardan daha ucuz olarak temin edilebilmektedir.

➤ BHA (Butillenmiş hidroksi anizol)

Yağlarda çok kolay çözünmesine karşın suda znmez. Daha çok hayvansal yağlar ve bu yağlarla yapılan gıdalarda antioksidan olarak kullanılır. Katıldığı hiçbir maddeye koku vermez. BHT, propil gallat, sitrik asit ve fosfat asitleri ile sinerjik etki oluşturur. Bitkisel yağlar fazla miktarda tokoferol içerdiği için BHA'nın etkisi bitkisel yağlara oranla hayvansal yağlarda daha fazladır. Gıdalarla kullanımı % 0.02 olarak kısıtlanmıştır (Keskin ve Erkmen, 1987).

➤ BHT (Butillenmiş hidroksi toluen)

Daha çok hayvansal yağlarda kullanılan BHT, BHA ile aynı özellikleri göstermektedir. BHT % 0.01 oranında kullanılmaktadır (Keskin ve Erkmen, 1987).

➤ **TBHQ (Tersiyer butil hidrokinon)**

Yüksek sıcaklıklara dayanıklı olup BHA'den daha uçucudur. Bitkisel yağlar için en etkili antioksidandır (Duve Ve White, 1991).

➤ **NDGA(Nordihidroguayaretik asit)**

Meksika'da yetişen bir sahra bitkisi olan *larrea divaricata* ' dan özütleme ile elde edilir. Yüksek derişimlerde sağlıya zararlı bir antioksidandır. NDGA besinlerde % 0.01 oranında kullanılmaktadır (Keskin ve Erkmen, 1987).

2.2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili bilimsel makaleler incelendiğinde farklı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi tanımlamak için farklı terimlerin kullanıldığı görülür. Karşılaşılabilecek terimler total antioksidan “kapasite” veya “etkinlik”, “güç”, “parametre”, “potansiyel”, “potens” ve “aktivite” dir. Bir kimyasalın “aktivitesi” basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı, diğer reaktifler gibi spesifik reaksiyon koşulları belirtilmedikçe anlamsızdır. Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcıdır. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir. Ya da “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemini daha spesifik olarak belirten terimlerin kullanılması da önerilmektedir.

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

- Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
- Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT ve ET esaslı yöntemler bir örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye dönüktür.

HAT reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğu azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanır. HAT analiz yöntemleri:

- ✓ İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- ✓ Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC)
- ✓ Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)
- ✓ Krosin beyazlatma deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılandırılır. ET esaslı analiz yöntemleri:

- ✓ Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- ✓ Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- ✓ Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP)ölçümü
- ✓ Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- ✓ DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- ✓ CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi olarak sıralanabilir.

Bu yöntemlerden FCR’ın antioksidanın indirgeme kapasitesinin belirlenmesinde ve ORAC’ın ise antioksidan radikal süpürücü kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması önerilmektedir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2005).

Yukarıda bahsedilen tüm yöntemlerin bir bitkinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması mümkün olmakla birlikte, örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği bu yöntemler arasında her zaman doğrusal ilişki oluşmasını engelleyebilir. Bu nedenle tek bir yöntem kullanarak bitkinin antioksidan kapasitesi hakkında karar vermek uygun olmayabilir.

Tablo 2.2. Antioksidan kapasite tayininde kullanılan çeşitli analitik yöntemlerin karşılaştırılması (Pisoschi ve Negulescu, 2011; Apak ve ark.,2007)

Antioksidan Kapasite Ölçme Metodu	Metodun Prensibi	Son-ürün Tanımlama
Spektrometri		
DPPH	DPPH içeren çözelti ile hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekülün (antioksidan) çözeltisinin karıştırılması sonucu DPPH radikalının indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolması.	Kolorimetri
ABTS	ABST radikal katyonunun absorbansının antioksidan tarafından inhibisyonu.	Kolorimetri
FRAP	Fe(III) tripiridiltriazin (TPTZ) kompleksinin antioksidanlar varlığında renkli Fe(II) şelatına indirgenmesi.	Kolorimetri
CUPRAC	Antioksidanlar tarafından Cu (II)'nin Cu (I)'e indirgenmesi.	Kolorimetri
HORAC	Fenton benzeri bir reaksiyonla hidrojen peroksit ile kobalt(II) tuzundan hidroksil radikalının üretilmesi ve floressein (FL) kullanılarak hidroksil radikalini önleme kapasitesinin belirlenmesi.	Floresein (FL) floresans yoğunluğundaki azalma
ORAC	2,2-azobis-(2-amidinopropan) (AAPH) gibi azo-bileşiklerin sıcaklıkla bozulması sonucu oluşan peroksil radikalının neden olduğu oksidasyonun antioksidan tarafından inhibisyonu.	Floresein (FL) flüoresans yoğunluğundaki azalma.
TRAP	Bir azo bileşiğin sıcaklıkla bozulması ile oluşturulan kontrollü lipid peroksidasyonu boyunca oksijen tüketiminin ölçülmesi.	Kemilünesans söndürme
Fluometri	Plazmaya AAPH eklendikten sonra okside olabilen materyalin oksidasyonunun reaksiyon süresince tüketilen oksijen yoluyla izlenmesi.	Floresan uyarma/emisyon spektrumunun kaydedilmesi.

Elektrokimyasal Teknikler		
Dönüşümlü Voltametri	Belirlenen iki potansiyel arasında potansiyel taramasının birbirini takip eden anaodik ve katodik tarama şeklinde yapılması.	Anodik/katodik pik akımının şiddetinin ölçülmesi.
Amperometri	Çalışma elektrotunun potansiyelinin, referans elektrota göre sabit bir değere ayarlanması.	Elektroaktif bir analitin oksidasyonu/redüksiyonu ile oluşan akım şiddetinin ölçülmesi.
Biamperometri	Tersinirlik gösteren bir redoks çiftinin analit (antioksidan) ile oksidasyonu.	Analit ve tersinir redoks çifti içeren çözeltiye daldırılmış küçük potansiyel farklı benzer iki çalışma elektrotu arasındaki mevcut akımın ölçümü.
Kromatografi		
Gaz Kromatografisi	Bir karışımdaki bileşiklerin sabit sıvı faz ile hareketli gaz faz arasında yeniden bölümlendirilerek ayrılması esasına dayanır.	Alev iyonizasyonu veya termal ısı deteksiyonu.
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	Bir karışımdaki bileşiklerin sabit katı faz ile hareketli sıvı faz arasında yeniden bölümlendirilerek ayrılması esasına dayanır. Mobil fazın basıncı, yüksek akış hızı, polaritesi ayırmayı etkileyici faktörlerdir.	UV-Görünür deteksiyon, flüoresans, kütle spektrometresi veya elektrokimyasal deteksiyon.

2.3. ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLER

Genellikle elektrokimyasal yöntemlerin çoğunda akım, zaman ve potansiyel parametrelerinin değişimleri incelenir. Bu yöntemler, değişimi incelenen parametrelere göre isimlendirilir. Örneğin, voltametri (potansiyel-akım), kronoamperometri (zaman-akım), kronokulometri (zaman-yük) gibi isimler alır.

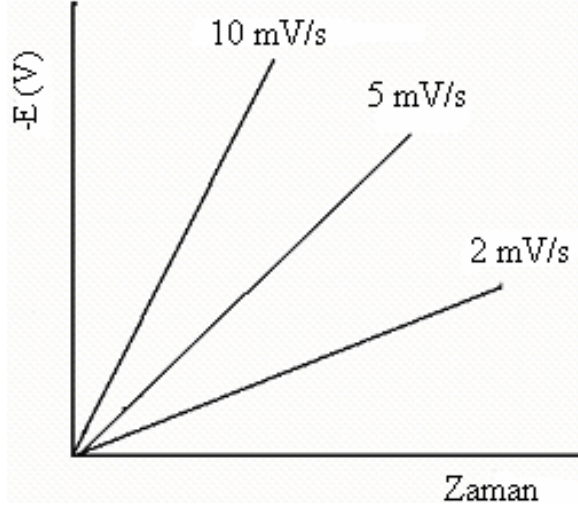
Elektrokimyasal yöntemlerin diğer analitik yöntemlere göre bazı avantajları vardır. Bu yöntemlerle direkt, indirekt analitik tayinler yapılabilir, çok düşük tayin sınırına ulaşılabilir. Elde edilen verilerden analitik tayinin yanında bazı kinetik miktarlar (kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri, elektron transfer katsayısı, elektrokimyasal tepkimenin tersinir veya tersinmezliği, tepkimelerde alınan verilen elektron sayısı, bazı termodinamik fonksiyonlar v.s.) hesaplanabilir. Ayrıca elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan cihazların ucuz olması da önemli bir avantajdır.

2.3.1. Voltametrik Yöntemler

Voltametrik yöntemin esası, elektrotlara uygulanan potansiyelin sabit bir hızla değiştirilerek elektrotlardaki akım değişikliğinin incelenmesine dayanır. Taşıyıcılığı belirli bir elektrolit ortamında iyonların elektrolarda indirgenmesi ve yükseltgenmesi belirli bir potansiyelde meydana gelir. Bu potansiyele pik potansiyeli denir ve iyonların karakteristik bir özelliğidir. İyonların, indirgenme ve yükseltgenmesi sırasında elde edilen pik akımı ise onların çözeltideki konsantrasyonu ile orantılıdır. Elektrotlardaki potansiyel ve akım değişiminin çizildiği grafiğe **voltamogram** denir.

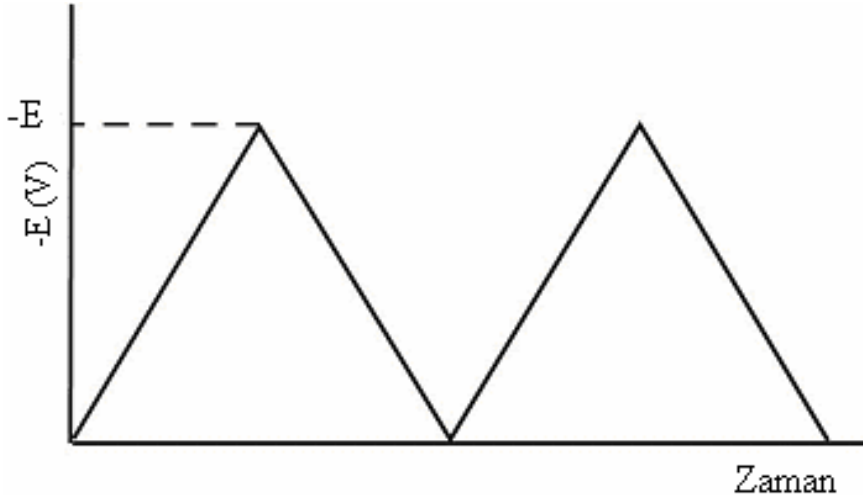
Voltametrik çalışmalarda ya doğrusal tarama ya da dönüşümlü tarama yapılır. Ayrıca, bu tarama metotlarına değişik sinyaller uygulayarak yöntemin hassasiyeti arttırılır.

Doğrusal taramada, belirlenen iki potansiyel arasında ya anodik ya da katodik yönde potansiyel taraması yapılır. İndirgenen veya yükseltgenen tür var ise bir pik elde edilerek türün çözeltideki konsantrasyonu hakkında bilgi edinilir. Farklı tarama hızlarında potansiyelin zamanla değişim eğrisi Şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.2. Doğru akımın zamana karşı grafiği

Dönüşümlü voltametrde ise belirlenen iki potansiyel arasında potansiyel taraması birbirini takip eden anodik ve katodik tarama şeklinde yapılır. Bu yöntemde potansiyelin zamanla değişim eğrisi Şekil 2.3’ de görülmektedir.



Şekil 2.3. Üçgen dalga uyarma sinyali

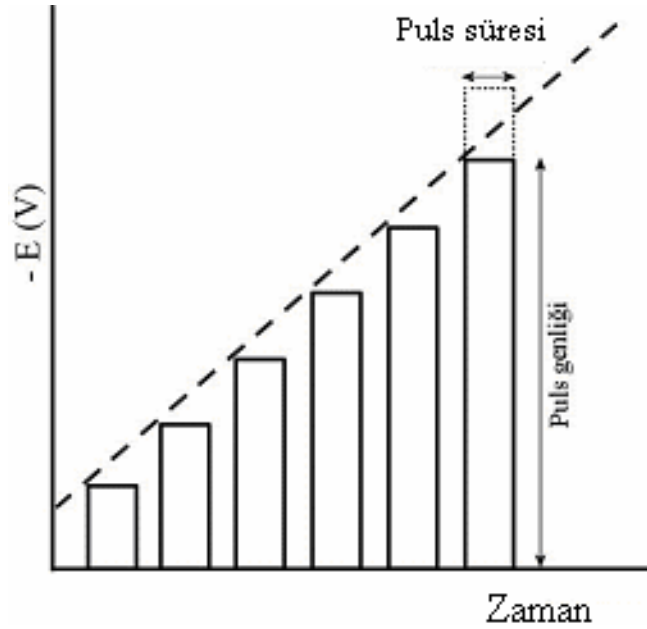
2.3.1.1. Voltametrde uyarma sinyalleri

Voltametrde, bir mikroelettrot içeren elektrokimyasal hücreye değiştirilen potansiyele çeşitli uyarma sinyalleri uygulanır. Bu sinyaller;

- Normal puls
- Diferansiyel puls
- Kare dalgadır.

➤ **Normal puls**

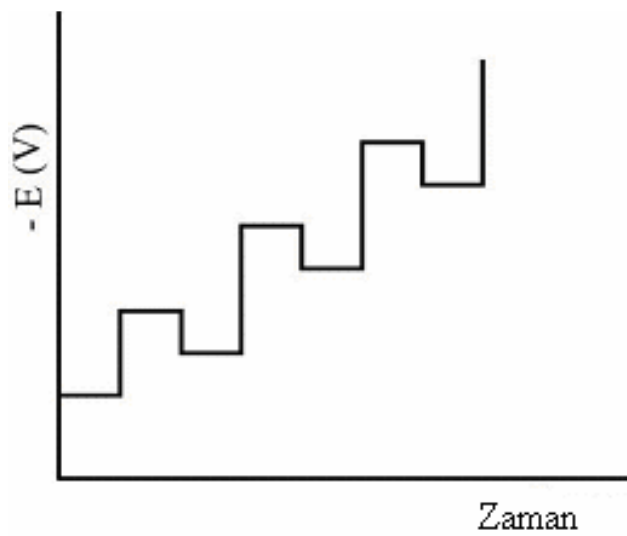
Belli zaman aralıklarında hücreye artan genliklerde potansiyeller uygulanır. Akımlar bu pulsların ömrü süresince, çeşitli zamanlarda ölçülür.



Şekil 2.4. Pulslu uyarma sinyali

➤ **Diferansiyel puls**

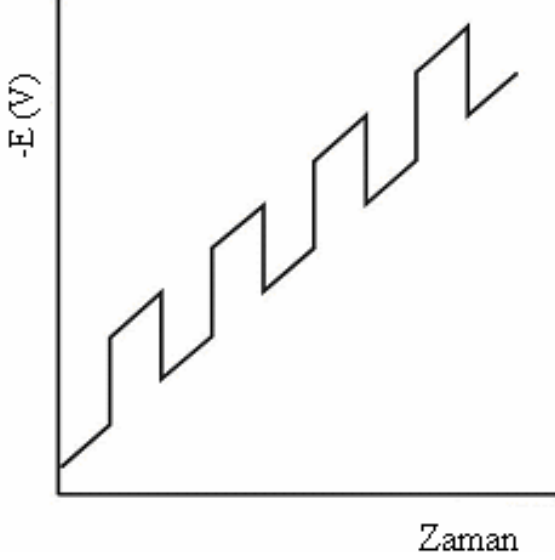
Doğru akım üzerine belli aralıklarla küçük genliklerde (50, 100 mV) potansiyeller uygulanır.



Şekil 2.5. Diferansiyel puls uyarma sinyali

➤ **Kare dalga**

Kademeli artan potansiyel üzerine belli aralıklarda potansiyeller uygulanır.



Şekil 2.6. Kare dalga uyarma sinyali

2.3.1.2. Voltametrinde kullanılan elektrotlar

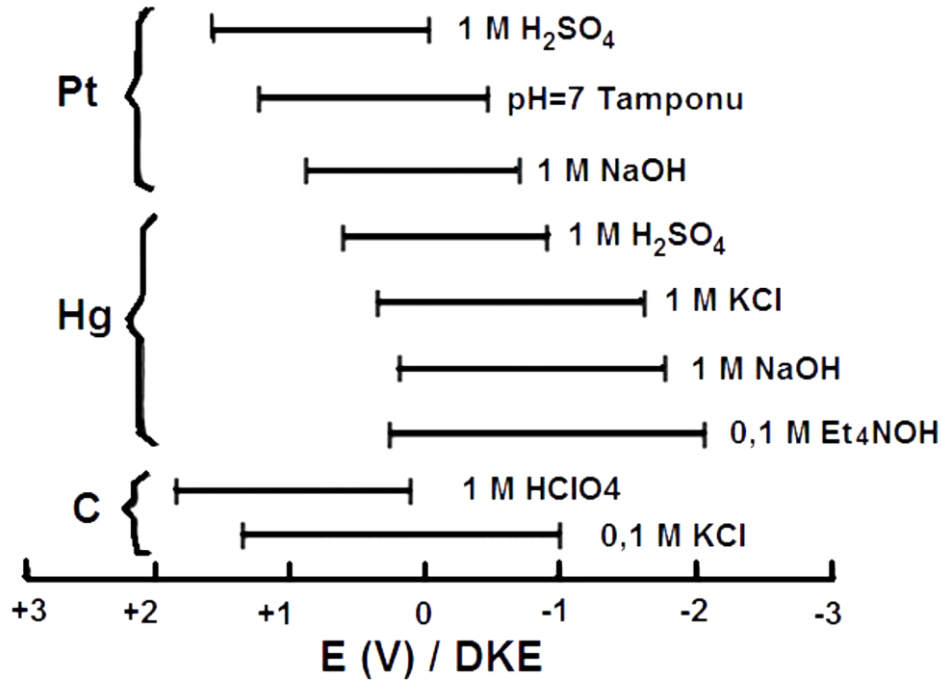
Voltametri sisteminde hücre, destek elektrolit ve analiti içeren bir çözelti içine daldırılmış üç elektrottan oluşmuştur. Bu elektrotlar;

- Çalışma elektrotu (mikroelektrot)
- Referans elektrot
- Yardımcı elektrottur.

➤ **Çalışma elektrotları**

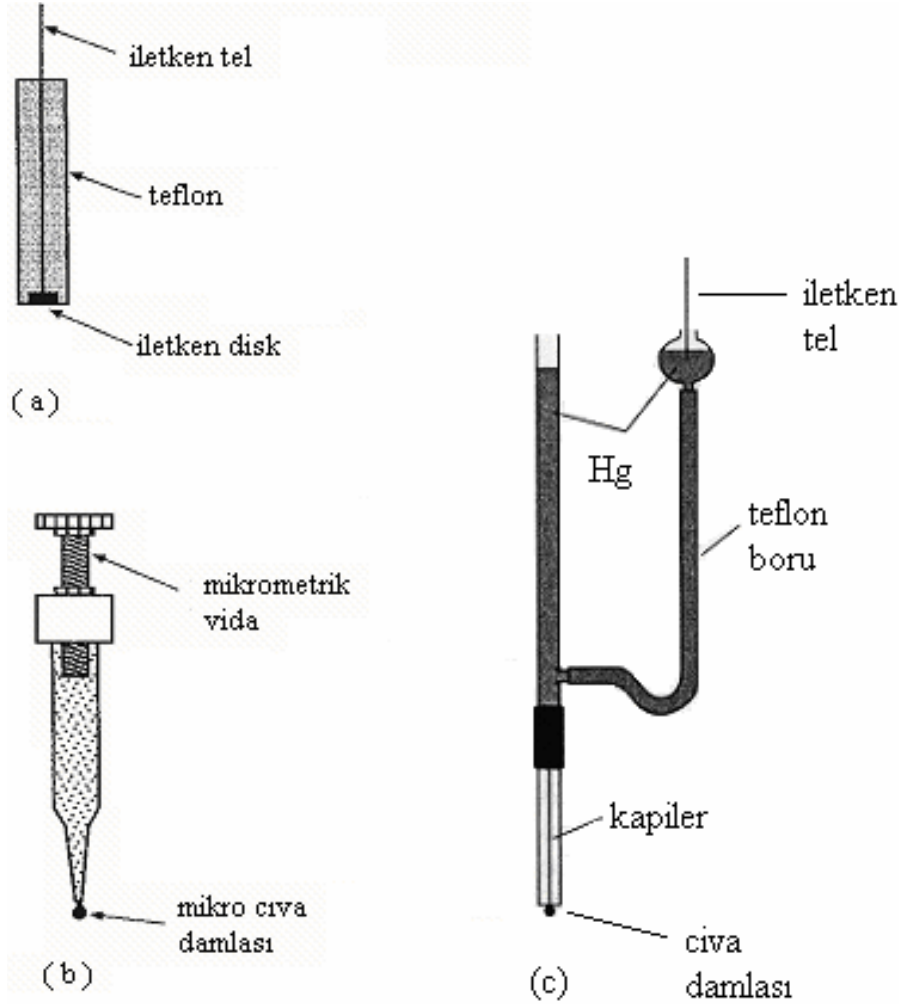
Voltametrinde çalışma elektrotu olarak mikroelektrotlar kullanılır. Her elektrot belli bir potansiyel aralığında çalışır. Çalışma potansiyel aralığı elektrot malzemesine ve bu elektrotların daldırıldığı çözeltinin bileşimine bağlıdır. Elektrotlar için sulu ortamlardaki pozitif potansiyel sınır, suyun yükseltgenmesi ile moleküler oksijenin ayrılmaya başladığı; negatif sınır ise suyun indirgenmesi ile hidrojenin oluşmaya başladığı potansiyellerdir. Civa elektrot üzerinde hidrojenin aşırı geriliminden dolayı H_2 çıkışı oldukça büyük negatif potansiyellerde gerçekleşmektedir. Bu durum civa elektrotların daha geniş ve negatif potansiyel aralığında kullanımını sağlar. Şekil 2.7' de

Pt, Hg ve C elektrotların farklı elektrolit ortamlarda potansiyel çalışma aralıkları gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Pt, Hg, C gibi elektrotların çeşitli elektrolitlerdeki potansiyel aralıkları

Mikroelektrotlar genel olarak; teflon, Kel-F (poliklorotrifloroetilen), gibi inert maddeden yapılmış çok küçük disklerdir. Bu diskler Teflon veya Kel-F çubuğun ortasından geçen iletken bir tele lehimlidirler. Diskler genellikle, altın, platin, prolitik grafit, kurşun, camsı karbon, kalay oksit, indiyum oksit veya civayla kaplanmış bir metalden yapılırlar (Şekil 2.8.a).



Şekil 2.8. Bazı mikroelettrotlar a) Disk elektrot b) Asılı cıva damlası elektrotu c) Damlayan cıva elektrot

Cıva mikroelettrotlar, negatif potansiyel sınırının yüksek olması ve cıva damlaları oluşturarak sürekli taze elektrot yüzeyi kullanılması gibi avantajları nedeniyle voltametrde yaygın olarak kullanılan elektrotlardır. Bunlardan en basit olanı Şekil 2.7 (a)'da görülen bir disk üzerine cıva biriktirilerek oluşan bir cıva film elektrotudur. Şekil 2.7 (b)'de verilen asılı cıva damla elektrotudur. Elektrot cıva haznesine bağlı kapiler bir borudan ibarettir. Bir piston yardımıyla tekrarlanabilirliği yüksek yüzey alanlarına sahip cıva damlaları elde edilmektedir. Şekil 2.7 (c)'de verilen elektrot karakteristik bir damlayan cıva elektrotudur. Kapiler bir boru cıva haznesine yaklaşık 50 cm uzunluğunda bir boru ile bağlıdır. Tekrarlanabilirliği oldukça iyi olan damlalar cıvanın hidrostatik basıncı ile oluşur.

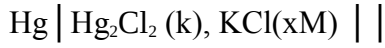
➤ Referans elektrotlar

Elektrot potansiyeli tam olarak bilinen bir yarı hücredir ve potansiyeli, incelenen çözeltide bulunan analitin veya diğer iyonların konsantrasyonundan bağımsızdır. İdeal bir referans elektrot kolay hazırlanabilmeli, gerilimin sıcaklıkla değişim katsayısı küçük olmalı ve belirli akım aralığında tersinir davranmalı yani içinden küçük akımlar geçtiğinde bile gerilimi sabit kalmalıdır.

En çok bilenen referans elektrot Standart Hidrojen Elektrot (SHE) dur. Fakat potansiyometrik ölçümlerde pek kullanılmaz. Referans elektrotlar genellikle bir metal ve metalin az çözünen tuzundan oluşur. En çok kullanılan referans elektrotlar Kalomel elektrot ($\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}$) ve Ag/AgCl elektrotlardır.

Kalomel Referans Elektrot

Kalomel elektrot voltametrde sık kullanılan bir referans elektrottur. Kalomel elektrot şematik olarak aşağıdaki gibi gösterilir.



Bu elektrot, Hg bulunan bir tüp içerisine KCl çözeltisi doldurulup bir tuz köprüsü ile analit çözeltisine bağlanacak şekilde laboratuvarında kolaylıkla hazırlanabilir. KCl çözeltisi doymuş hazırlırsa bu elektroda doymuş kalomel elektrot denir. İletkenlik, tüpün altına yerleştirilmiş civayla temas halinde bulunan bir Pt tel ile sağlanır. Piyasadan ticari olarak hazırlanmış kalomel elektrotları temin etmek mümkündür.

Bu elektrotun potansiyelinin sabit kalması şu şekilde açıklanabilir, kalomel yarı hücresinde elektrot reaksiyonu aşağıdaki gibidir:



Bu reaksiyon için Nernst eşitliği yazılırsa,

$$E = E^0_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2 / \text{Hg}} - \frac{0,0592}{2} \log [\text{Cl}^-]^2 \quad (2.9)$$

E : Elektrot potansiyeli

E^0 : Standart elektrot potansiyeli

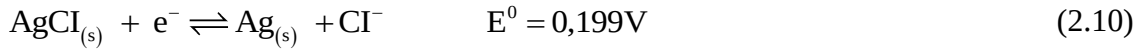
Potansiyelin Cl^- derişimine bağlı olduğu görülür, Cl^- derişimi sabit tutulursa E sabit kalır. Hazırlanan KCl  z ltisi doğun olursa Cl^- derişimi pratikte değişmez ve elektrot potansiyeli sabit kalır.

Ag /AgCl referans elektrot

Voltametri sisteminde kullanılan diğer bir referans elektrot Ag /AgCl elektrotudur.



Ag /AgCl elektrotu hem gümüş klorür yönünden doğun hem de potasyum klorür yönünden doğun bir  z ltiye daldırılmış bir gümüş telden meydana gelir. Ag /AgCl h ccresindeki yarı reaksiyon;



$$E = E^0 - 0,0592 \log [Cl^-] \quad (2.11)$$

şeklindedir.

Burada Cl^- derişimi sabit tutulduğunda h ccre potansiyeli (E) sabit kalmış olur.  z ltideki diğer maddeler yani formüldeki diğer seçeneklerin hepsi sabittir.

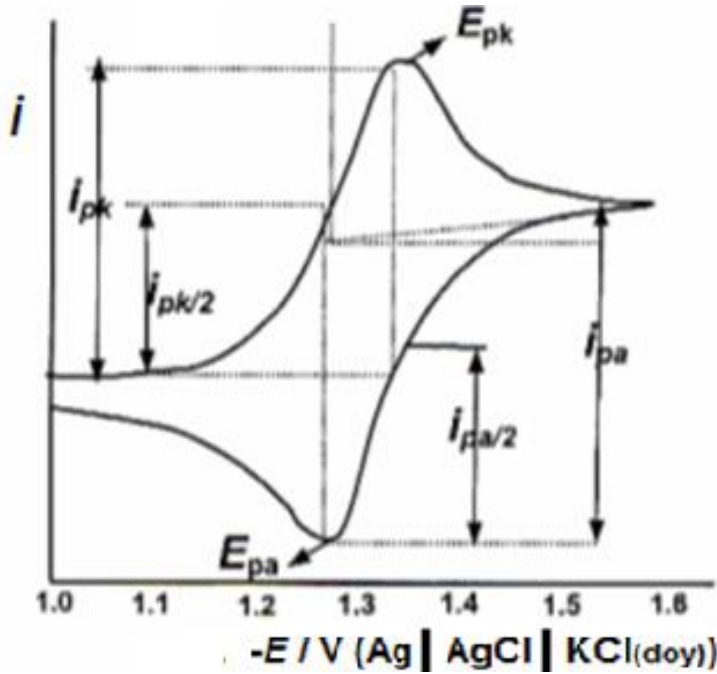
➤ Yardımcı elektrotlar

Voltametrde en sık kullanılan yardımcı elektrot platin elektrottur. Yardımcı elektrotlar çalışma elektrotunu elektronlarla besler ama çalışma elektrotunda oluşan reaksiyona etkisi yoktur. Elektriğin kaynaktan çözülti içine ve mikroelektrota aktarılmasını sağlar.

2.3.1.3. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri tekniği, elektrokimyasal sistemlerin incelenmesinde en fazla kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu metot genellikle bir bileşiğin, bir biyolojik materyalin veya bir elektrot yüzeyinin elektrokimyasal çalışmasında ilk uygulanan metottur. Dönüşümlü voltametri, çözültide ve çözülti elektrot ara yüzeyinde elektroaktif türlerin incelenmesi açısından en uygun elektroanalitik tekniklerden birisidir.

Dönüşümlü voltametrde gerilim taraması ileri yönde belli bir potansiyel değere ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilir. Negatif potansiyeller yönündeki tarama ileri tarama, zıt yöndeki tarama ise ters tarama olarak adlandırılır. Dönüşümlü voltametrde ileri ve geri yöndeki gerilim tarama hızları aynı tutulabildiği gibi istendiğinde farklı tarama hızları da kullanılabilir. Ayrıca ileri ve geri yöndeki tarama bir kez yapılabildiği gibi, birçok kez de yapılabilir. Çalışma elektroduna (damlayan civa veya asılı civa) ileri ve geri yönde bir potansiyel taraması uygulandığında elde edilen akım-potansiyel eğrisi bir dönüşümlü voltamogramdır. Dönüşümlü voltametrde elde edilen tipik voltamogramlar Şekil 2.8 'de görülmektedir.



Şekil 2.9. Dönüşümlü voltametrde potansiyel-akım eğrisi.

Dönüşümlü voltametri sonuçlarının geçerliliği, geniş bir potansiyel aralığında indirgenme yükseltgenme olaylarının hızlı bir şekilde gözlenebilmesine dayanır.

Bu teknik prensip olarak redoks tepkimelerinin mekanizmalarını incelemek ve bileşiklerin redoks özelliklerini karakterize etmek için kullanılır. Ayrıca; biyosentetik reaksiyonların incelenmesinde ve elektrokimyasal olarak sentezlenen serbest radikallerle ilgili çalışmalarda, çeşitli komplekslerde ve organo metalik bileşiklerde ligandın veya metal iyonunun özelliklerini aydınlatmak için kullanılmaktadır.

Dönüşümlü voltametri, rutin nicel analizlerde kullanılmadığı halde, özellikle organik ve metal organik sistemlerde yükseltgenme/indirgenme işlemlerinin mekanizma ve hız çalışmaları için önemli bir araçtır. Bu yöntem, elektrokimyasal olarak belirtilebilen bir sistemin araştırılması için seçilen ilk tekniktir. Genellikle, dönüşümlü voltamogramlar yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarında ara ürünlerin varlığı ile ilgilidir. Çoğunlukla, bu teknikte kullanılan mikroeletrotların üretimi için platin kullanılır.

Bir dönüşümlü voltamogramın önemli parametreleri, katodik pik potansiyeli E_{pk} , anodik pik potansiyeli E_{pa} , katodik pik akımı i_{pk} ve anodik pik akımı i_{pa} 'dır. Tersinir bir elektrot tepkimesi için anodik pik potansiyeli E_{pa} , ile katodik pik potansiyeli E_{pk} , arasında $(0.0592/n)$ V'lik bir potansiyel farkı olmalıdır. Buradaki n aktarılan elektron sayısıdır.

Doğrusal taramalı voltametrde olduğu gibi dönüşümlü voltametrik yöntemde de Randles-Sevcik (2.12) eşitliği kullanılabilir. Tarama hızı sabit tutulduğunda pik akımı i_p madde derişimi C ile doğru orantılıdır ($i_p \propto C$). Bunun sonucu olarak bu yöntem ile maddelerin nicel analizleri yapılabilir. Fakat dönüşümlü voltametri yöntemi nicel analiz için pratik bir yöntem değildir. Nitel analiz ise pik gerilimlerinden faydalanılarak yapılır. Bu yöntem daha çok elektrokimyasal tepkimelerin mekanizmalarının belirlenmesinde kullanılır.

$$i_p = 2.69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (2.12)$$

şeklindedir. Burada;

i_p : Pik akımı (Amper)

C : Derişim ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$)

A : Elektrot alanı (cm^2)

D : Difüzyon sabiti ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

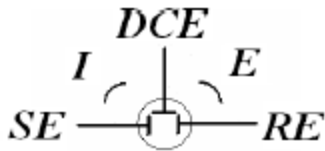
v : Gerilim tarama hızı ($\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$)

2.3.2. Polarografi

Polarografi, voltametrimin civa damla elektroduna uygulandığı özel bir yöntemdir. Polarografi, 1920'li yılların başında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilmiştir.

Polarografik analiz yöntemi, iki elektroddan birinin (referans elektrod) potansiyelini sabit tutup elektroliz voltajını değiştirerek öteki elektrodun (çalışma elektrodu) polarizasyon eğrisini çizmek esasına dayanır. Akım şiddeti-potansiyel eğrisinde difüzyon düzlüğü yüksekliğinden **iyonun konsantrasyonu**, yarı dalga potansiyelinden de **iyonun türü** tayin edilir. Akım şiddeti-potansiyel eğrisini otomatik olarak çizmeye yarayan cihazlara **polarograf**, bu cihazlarla elde edilen eğrilere **polarogram** denir.

Polarografik yöntemde çalışma, referans ve yardımcı elektrotları içeren üç elektrotlu sistemler kullanılır. Çalışma elektrodu olarak **damlayan veya asılı civa elektrodu**, yardımcı elektrot olarak genel de Pt ve referans elektrodu olarak da doymuş kalomel elektrot kullanılır. Polarografide; elektroaktif bir madde içeren çözeltide çalışma ve referans elektrotları arasına zamanla doğrusal olarak değişen bir gerilim uygulanırken çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasından akım ölçülür (Şekil 2.9).

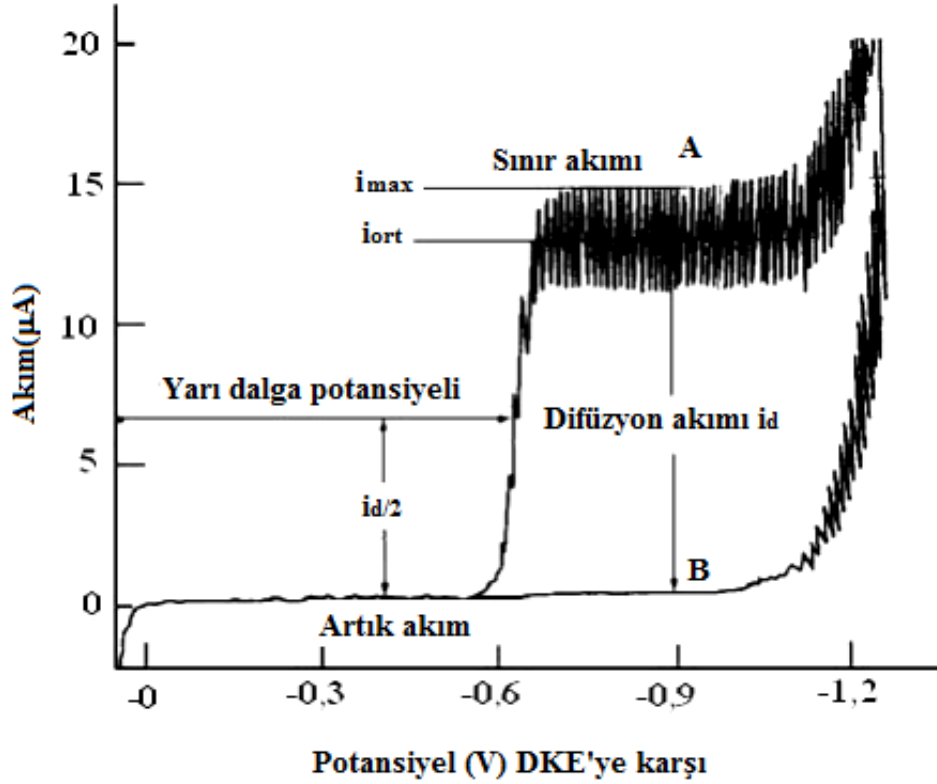


Şekil 2.10. Polarografide kullanılan üç elektrotlu sistem (DCE damlayan civa elektrot, RE referans elektrot, SE sekonder (yardımcı) elektrot)

Polarografide çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, sabit bir hızla negatif veya pozitif potansiyel yönünde uygulanır. Potansiyel taraması sonucu oluşan akım elektroaktif türün indirgenmesinden veya yükseltgenmesinden kaynaklanır. Yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma **anodik akım**, indirgenmeden dolayı oluşan akıma **katodik akım** denir.

Bir polarogramda, X eksen potansiyel Y eksen ise akım olarak verilir (Şekil 2.11). Polarogramda akımın artmaya başladığı noktaya **bozunma potansiyeli** (E_b)

denir. Elektroaktif madde indirgenmeye (veya yükseltgenmeye) başlar ve bu esnada sistemden akım geçer. Akım belirli bir değere kadar artar ve daha sonra sabit kalır. Bu noktaya **sınır akımı (i_s)** ve bozunma gerilimi ile sınır akımı arasındaki akım aralığına ise **difüzyon akımı (i_d)** denir. Difüzyon akım büyüklüğünün yarısına denk gelen potansiyel **yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$)** olarak adlandırılır. Polarografik yöntemde difüzyon akımı nicel analizlerde, yarı dalga potansiyeli nitel analizlerde kullanılır.



Şekil 2.11. Normal polarografi için akım-potansiyel eğrisi

Yarı dalga potansiyeli her maddeye özgü olup nitel analiz amaçlı kullanılır. Çözeltide birden fazla elektroaktif madde var ise nitel analiz yapabilmek için $E_{1/2}$ değerleri arasında 100 mV'dan daha fazla bir farkın olması gerekir. Damlayan civa elektrodunun kullanıldığı polarografik yöntemde gözlenen difüzyon akımının analit derişimine bağıllığı İlkovic eşitliği (2.13) ile verilir:

$$i_d = 708, 2.n.D^{1/2}.m^{2/3}.t_d^{1/6}.C \quad (2.13)$$

i_d : Difüzyon akımı (mA)

n: Aktarılan elektron sayısı

D: Difüzyon katsayısı (cm^2s^{-1})

m: Civanın kapilerden akış hızı (mg s^{-1})

t_d : Civanın damlama süresi (s)

C: Çözelti derişimi (mol.L^{-1})

Eğer polarografi sisteminde kolon yüksekliğı sabit tutularak civa akış hızı (m) ve damla ömrü (t) de sabit kalırsa, deney sabit sıcaklıkta yapıldığında diffüzyon katsayısı da sabit kalacağından,

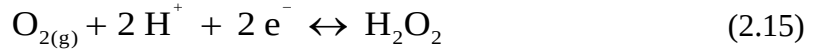
$$i_d = k.C \quad (2.14)$$

olur.

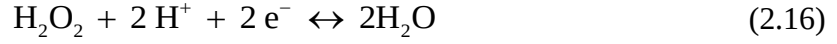
C, ana çözeltideki elektroaktif türün derişimi olduğundan ve bu derişimle difüzyon akımı doğru orantılı olarak arttığından polarografi nicel analizlerde kullanılabilir.

Eşitlik 2.14'den de görüldüğü gibi difüzyon akımı analit derişimi ile doğru orantılıdır. Akım değişiminin izlenmesi ile madde derişimi kolaylıkla bulunabildiğinden polarografi nicel analiz için oldukça uygun bir yöntemdir. Polarografik yöntemde kalibrasyon doğrusu veya standart ekleme yöntemi kullanılarak yaklaşık 10^{-5} M derişimdeki maddelerin tayinleri yapılabilir. Çözelti derişimi azaldıkça istenmeyen akım (yük veya kapasitif akım) artar ve belirli bir derişimden sonra kapasitif akım (i_k) faradayik akım (i_f) değerine ulaşır. Kapasitif akımın etkisini ortadan kaldırmak ve daha seyreltik maddelerin nicel analizini yapabilmek için *Puls Polarografi* yöntemleri uygulanır.

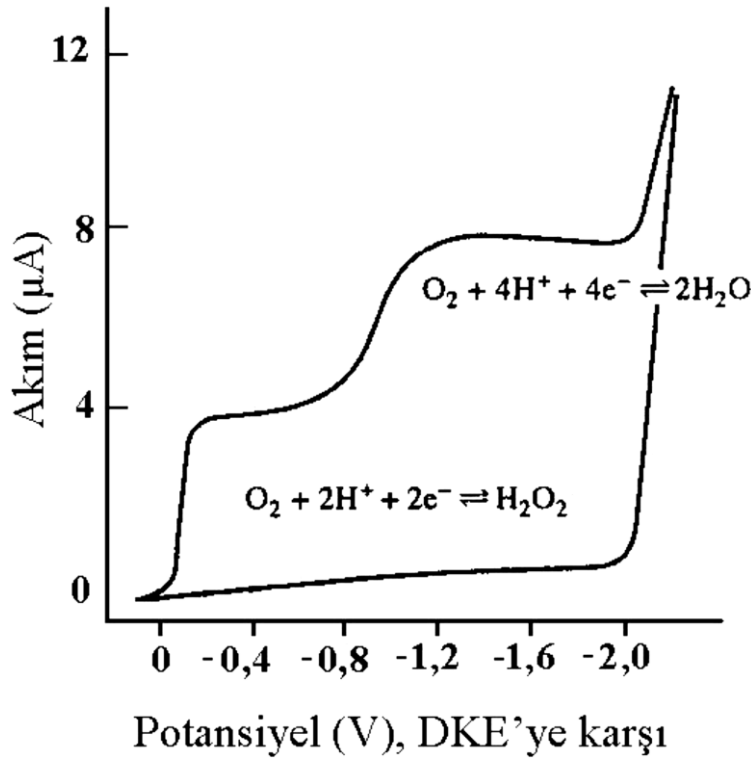
Polarografik çalışmalarda çözünmüş oksijen molekülünün ortamdan azot veya argon gazı geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. Çünkü çözünmüş oksijen molekülü elektroaktiftir ve bir mikro elektrotta kolaylıkla indirgenir. Bu olay iki adımlı bir indirgenmedir. Bunlardan birincisi oksijenin hidrojen peroksit'e indirgenmesinden oluşur.



İkinci indirgenme ise hidrojen peroksit'in suya indirgenmesidir.



Oksijenin hidrojen peroksit'e indirgenmesi -0,1 V'da ve peroksit'in suya indirgenmesi -0,9 V'da (DKE'ye karşı) gerçekleşir (Şekil 2.12). Eğer çözünmüş oksijen sulu çözeltiden uzaklaştırılmaz ise oluşan indirgenme dalgaları analiz edilecek olan maddenin dalgalarını örter. Ayrıca hem O_2 hem de bunun birinci indirgenme ürünü olan H_2O_2 incelenen madde veya bunun elektroliz ürünü ile tepkimeye girebilir.



Şekil 2.12. Oksijenin indirgenme polarogramı

Çalışma elektrotu olarak kullanılan damlayan civa elektrot polarize olabilen bir elektrottur. Polarografide çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel negatif yönde arttırılırsa elektrottaki indirgenme tepkimesi hızlanır. Genelde çalışma elektrotu katot olarak kullanılır ve indirgenme ile katodik akım (i_k) oluşur. Eğer çalışma elektrotunun potansiyeli pozitif yönde arttırılırsa, bu kez elektrot anot olarak davranır ve anodik akım (i_a) oluşur. Çalışma elektrotunun hangi potansiyel değerlerinde katot, hangi potansiyel

değerlerinde anot olarak davranacağını, elektroaktif maddenin, ortamın ve elektrotun türleri belirler. Çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrot kullanıldığında anodik sınır yaklaşık $+ 0.25 \text{ V}$ tur. Çünkü bu potansiyelde elektrot olarak görev yapan civanın kendisi yükseltgenmeye başlar. Katodik sınırı ise suyun indirgenmesinden oluşan hidrojen belirler. Eğer ortam asidik ise yaklaşık -1.50 V da, bazik ise -2.30 V da suyun indirgenerek H_2 gazı oluşturması sonucu şiddetli bir akım oluşur ve bundan daha negatif potansiyelerde indirgenebilen türler polarografi yöntemi ile çalışılmaz.

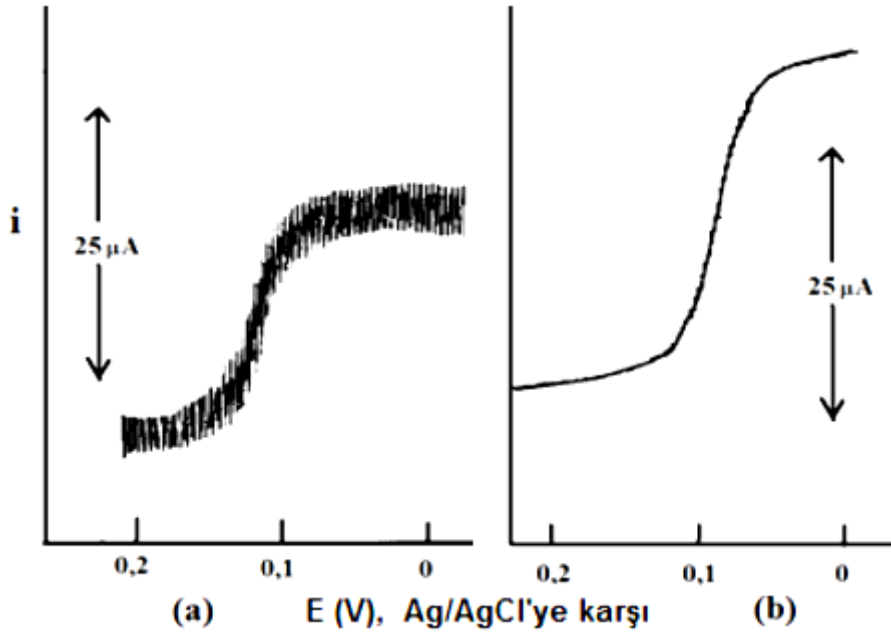
Polarogramlar çizilirken, potansiyelin negatif yönde değişmesi x ekseninin pozitif tarafına doğru, potansiyelin pozitif yönde değişmesi ise x ekseninin negatif tarafına doğru olması ilkesi benimsenmiştir.

Polarografi çalışmalarında ortamın iletkenliği ve elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyonla aktarımını sağlamak için destek elektrolit kullanılır. Destek elektrolit bu göreve ek olarak bazı uygulamalarda ortamın pH'ını ayarlayan bir tampon ya da ortamda bazı iyonları kompleksleştiren bir ligand görevi de görebilir. Polarografide destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen bir tuzdur. En yaygın tuzlar, analit tayininde kullanılan potansiyelde mikro elektrotla reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır, susuz ortamlarda ise tetraalkil amonyum tuzlarıdır.

2.3.2.1. Polarografik Yöntemler

➤ Akım-örnekleme (Tast) polarografi

Klasik polarografik tekniğin basit bir modifikasyonu ve onun modern voltametrik cihazlarla birlikte kullanılması, sadece her damlanın ömrünün sonuna doğru akım ölçülmesini içerir. Burada, oldukça tekrarlanabilir zaman aralığından (genellikle $0,5 - 5 \text{ s}$) sonra damlayı koparmak için genellikle mekanik bir vurucu kullanılır. Bu özelliğinden dolayı, bu yöntem bazen tast polarografi (temasın almancası olan tasten'den dolayı) olarak adlandırılır. Akım örneklemesinin en büyük üstünlüğü, damlayan elektrottaki damlanın sürekli büyümesi ve düşmesi sebebiyle meydana gelen büyük akım dalgalanmalarının azalmasıdır (Şekil 2.14).

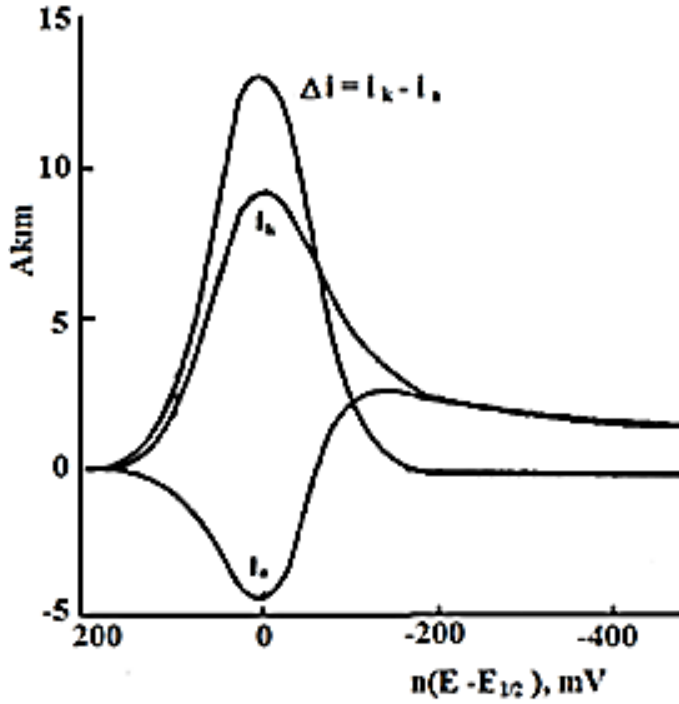


Şekil 2.13: 1 M NaNO₃ ortamında 1.10⁻⁴ M Cu (II) iyonlarının a) Doğru akım polarogramı b) Akım örnekleme (tast) polarogramı

Tast polarografisinde akım sürekli ölçülmeyip damlanın kopmasından az önce, yani faradayik akımın maksimum, kapasitif akımın minimum olduğu anda ölçülmektedir. Bu yöntemde gözlenebilme sınırı 1.10⁻⁶ M kadardır.

➤ **Kare dalga polarografisi**

Doğru akım (DC) potansiyeline sinüzoidal bir dalga yerine kare dalga bindirilmesi halinde, kapasitif ve faradayik akım değişimleri daha kolay gözlenebilmektedir. Bu prensibin uygulandığı polarografiye kare dalga polarografisi adı verilir. Bu teknik son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografisi tekniğidir. Damlayan civa elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken yapılır. Kare dalga polarografisi asılı civa damla elektrodu ve kromatografik detektörlerle kullanılmaktadır.



Şekil 2.14. Kare dalga voltametrisinde akım-potansiyel grafiği

➤ Puls polarografisi

Puls polarografisi yöntemleri Barker (Barker, 1960) tarafından geliştirilmiştir. DC polarografide hücreye sabit bir potansiyel uygulayıp oluşan akım ölçülürken puls polarografisinde potansiyel periyodik olarak kısa zaman aralıklarında uygulanmaktadır. İki tür puls polarografisi vardır.

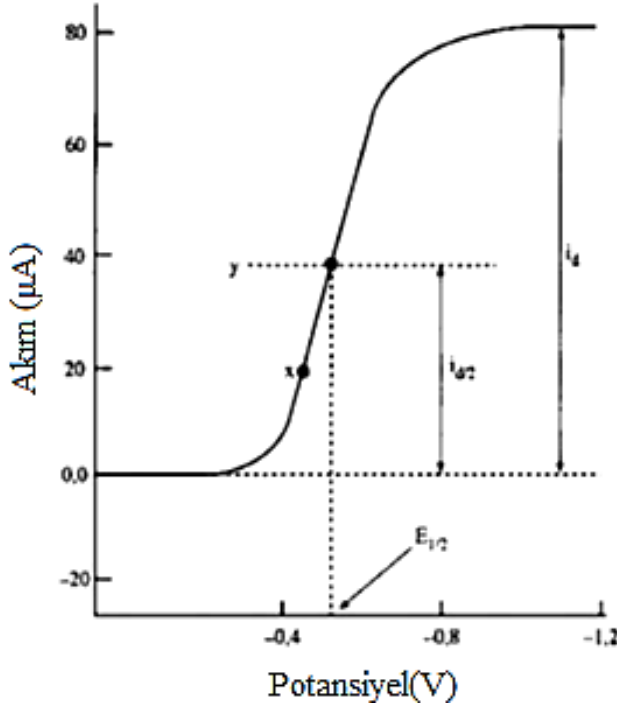
- Normal puls polarografisi
- Diferansiyel puls polarografisi

• *Normal puls polarografisi*

Normal puls polarografisinde zamanla genliği artan pulslar uygulanır. (Şekil 2.14,a). Uygulanan potansiyel pulsları yaklaşık 40-60 s süreyle sınırlıdır. Fakat pulslar arasındaki potansiyel daima başlangıç değerine döner. Damlayan civa elektrodunda elektrot yüzeyi damlama süresinde değişmesine rağmen pulslar daima damla sonunda uygulandığından sabit elektrot yüzeyi korunmuş olur. Akım ölçümü her puls süresinin sonuna doğru yapıldığından kapasitif akımın etkisi minimumdur.

Burada elde edilen polarogram normal polarografideki gibi dalga şeklindedir (Şekil 2.14, b). Bunun sebebi ise plato bölgesindeki akımın $i=0$ ile $i=i_d$ arasında

değişmesi yani alternatif akımın sabit değerler almasıdır. Potansiyel bu bölgede DC potansiyeli ile pulsla verilen potansiyel arasında değiştiğinden ve uygulanan DC potansiyelinde indirgenme olmadığından akım sıfır ile i_d değeri arasında değişir.

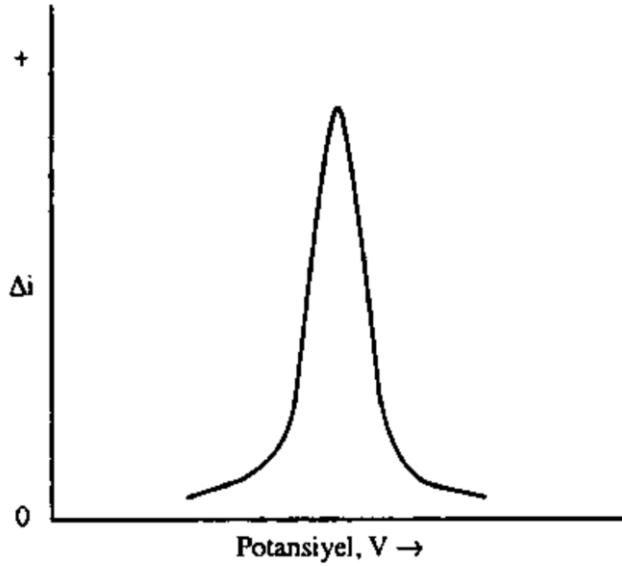


Şekil 2.15. Normal puls polarogramı

2.3.2.3. Diferansiyel puls polarografisi

Puls teknikleri arasında en çok kullanılan ve en önemlisi olanıdır. Damlayan civa elektroduna uygulanan pulsların genlikleri sabit tutulur ve bu pulslar her damlada daha da negatifleştirilerek artırılan bir gerilim üzerine uygulanılarak bir gerilim programı oluşturulur (Şekil 2.16). Bu programda pulslar damlanın alanının yaklaşık olarak sabit kaldığı damlama süresinin sonuna doğru uygulanır. Akım ölçümü ise bir kere pulsun uygulandığı andan hemen önce ve bir kere pulsun uygulanmasının sonuna doğru yapılır ve bu iki ölçüm arasındaki fark alınır. Bu yüzden bu teknikte elde edilen polarogramlar sigmaoidal yani S şekilli değil pik şeklindedir (Şekil 2.17). Pik yüksekliği derişimle doğru orantılıdır. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı dalga potansiyeline yaklaşık olarak eşittir.

Damlayan civa elektrota uygulanan pulslar, genlikleri 5-100 mV arasında bir değerde sabit tutularak ve her damlada daha büyük bir gerilim değerin üstüne bindirilerek uygulanır. Diferansiyel puls polarografisinde Şekil 2.17’de görülmektedir.



Şekil 2.16: Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen potansiyel akım eğrisi.

Diferansiyel puls polarografisinde yarı dalga potansiyelleri 0.04 ile 0.05 V kadar farklı olan maddelerin pikleri birbirlerinden ayrılır ve rahatlıkla gözlenebilir. Oysa klasik polarografi ve normal polarografide dalga potansiyelleri arasındaki farkın en az 0.20 V olması gerekmektedir. Çünkü dalgaların ayrılması ve gözlenmesi oldukça zorlaşmaktadır. Ayrıca diferansiyel puls polarografisinde tayin sınırı çoğu zaman 1.00×10^{-8} M’a kadar inebilmektedir.

2.3.3. Voltametrinde Oluşan Akım Türleri

Polarografide pek çok akım türü oluşmaktadır. Elektroliz olayı Faraday kanunlarıyla açıklandığından dolayı elektrokimyasal türlerin elektroliziyle oluşan tüm akımlar için Faradaik akım terimi kullanılır. Difüzyon akımı, kinetik akım, göç akımı gibi akımlar Faradaik akım türleridir.

1. Artık Akım: Polarogramda bozunma potansiyelinden önce az da olsa bir akım gözlenir. Artık akım (i_a) olarak bilinen bu akımın başlıca iki nedeni vardır. Birincisi elektrolit içerisindeki safsızlıklardır. Bu safsızlıkların indirgenme ve yükseltgenmesiyle

faradaik akım (i_f) oluşur. İkincisi civa damlasının çözeltiye göre daha pozitif veya daha negatif yüklenmesinden dolayı elektrot yüzeyi ile çözelti arasında oluşan çift tabakanın kapasitör gibi davranmasından dolayı oluşan akımdır. Bu akıma "**kapasitif akım**" adı verilir (i_c). **Artık akım** (i_a) ise bu iki akımın toplamıdır.

$$i_a = i_f + i_c \quad (2.17)$$

2. Göç Akımı: Çalışma elektroduyla yardımcı elektrot arasına potansiyel uygulanmasıyla oluşan elektriksel alan sebebiyle elektroaktif türlerin elektrotlara yönelmesiyle akım oluşur. Derişimle doğrudan ilişkilidir. Hücrede oluşacak göç akımını yok etmek için destek elektrolitin aşırısını eklemek gerekir.

3. Kapasitif Akım: Elektrot yüzeyi ile çözelti arasında oluşan çift tabakanın kapasitör gibi davranmasıyla oluşan akımdır. Elektrokimyasal reaksiyon olmayışı sebebiyle Faradaik akım türleri arasında yer almaz. Kapasitif akım kendine ait dalga oluşturmaz. Artık akım oluşumunun temel sebebidir. Doğrudan civa üzerindeki yük yoğunluğuna bağlı olup damla ömrü $t^{-1/3}$ ile orantılı olarak azalır.

4. Difüzyon Akımı: Difüzyon, elektrot yüzeyi ile çözelti arasındaki derişim farkından kaynaklanır. Çalışma elektrodu etrafındaki madde bozunma potansiyeline geldiğinde tüketilmeye başladığında çözeltideki elektroaktif tür hızla difüzenerek elektrot yüzeyine taşınmaya başlar, akım oluşur ve belirli bir süre sonra elektrot yüzeyi etrafında difüzyon tabakası oluşur. Bu noktadan itibaren elektrot yüzeyi etrafında oluşan türler ancak difüzyonla taşınacağından akım difüzyon kontrollü olacak ve sabit kalacaktır (**sınır akımı**). Sınır akımı ile artık akım arasındaki fark **difüzyon akımı** olarak adlandırılır.

5. Kinetik Akım: Elektroaktif madde kimyasal reaksiyon sonucu oluşuyorsa ve elektron transferi yeteri kadar hızlıysa akım kimyasal reaksiyonun hızı tarafından kontrol edilir ve bu akıma **kinetik akım** denir.

Kinetik akım civa kolonu yüksekliğinden bağımsızdır. Sıcaklık, pH, reaksiyon hız sabiti ve çözeltinin iyon şiddetine bağlıdır.

6. Adsorpsiyon Akımı: Elektrot yüzeyine madde adsorplanması sonucu oluşan akımdır.

Adsorpsiyon akımı derişimden bağımsızdır ve civa kolonu yüksekliğiyle orantılıdır.

7. Katalitik Akım: Elektrokimyasal reaksiyonu izleyen ikinci bir reaksiyonla elektroaktif maddenin katalizör yardımı ile tekrar oluşmasıyla ortaya çıkan akıma **katalitik akım** denir (Kounaves, 1997; Skoog ve ark., 1998; Patnaik, 2004; Gündüz, 2005).

2.4. SPEKTROFOTOMETRİ

Elektromanyetik spektrumdaki ışınların madde ile etkileşmesinin incelenmesine spektroskopi denir. Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve değerlendirilmesi şeklinde de sınıflandırılmaktadır.

Belli bir potansiyel enerji düzeyinde bulunan atomlar $h\nu$ enerjili ışını absorpladıklarında dış elektronları belirli enerji düzeylerine geçiş yaparlar. Temel düzeydeki bir atomun ışık absorplayarak veya yüksek enerjili elektron, iyon veya moleküllerle çarpışarak yüksek enerjili uyarılmış düzeylere ulaşmasına ait geçişler atomun adsorpsiyon spektrumunu oluşturur. Atomun yüksek enerjili düzeylerden daha düşük enerjili düzeylere geçişlerinden dolayı emisyon spektrumu gözlenir.

Elektromanyetik ışıma ile madde arasındaki farklı etkileşmelere dayanılarak geliştirilen spektroskopilerden bazıları; Kızılötesi spektroskopisi (IR), Mor ötesi ve Görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS), Raman spektroskopisi (RS), Mössbauer spektroskopisi (MS), Nükleer Magnetik Rezonans spektroskopisi (NMR), Elektron Spin Rezonans spektroskopisi (ESR) dir.

Bir atomun veya molekülün uyarılması için gerekli enerji elektromanyetik spektrumun UV-Görünür Bölgesine karşılık gelir.

2.4.1. UV-Görünür Bölge Moleküler Spektrootometresi

Lambert-Beer eşitliğine göre moleküllerin monokromatik ışınları absorplamasına dayanır.

UV/GB Bölgesindeki Geçişler;

- σ , π ve n orbitalleri arasındaki geçişler (organik moleküllerde)
- d ve f orbitalleri arasındaki geçişler (koordinasyon komplekslerinde)
- Yük aktarım geçişleri (hem organik moleküller ve hem de komplekslerde)
- **σ , π ve n orbitalleri arasındaki geçişler**

Organik bileşiklerde 185 nm den daha düşük dalga boylu ışınları absorplayan geçişleri incelemek zordur, çünkü vakum UV bölgesine düşer. Bir organik molekülde absorpsiyona neden olan elektronlar şunlardır; bağ elektronları (σ ve π bağ orbitallerindeki elektronlar), oksijen, kükürt, azot, halojenler gibi atomların çevresinde bulunan ortaklanmamış elektron çiftleri (n bağ yapmayan orbitaldeki elektronlar).

İki atom orbitalinin doğrusal bileşimi ile iki tane molekül orbitali meydana gelir; AO(Atomik Orbital)’lerinden daha düşük enerjili bağ molekül orbitali ve daha yüksek enerjili antibağ (veya karşı bağ) molekül orbitali.

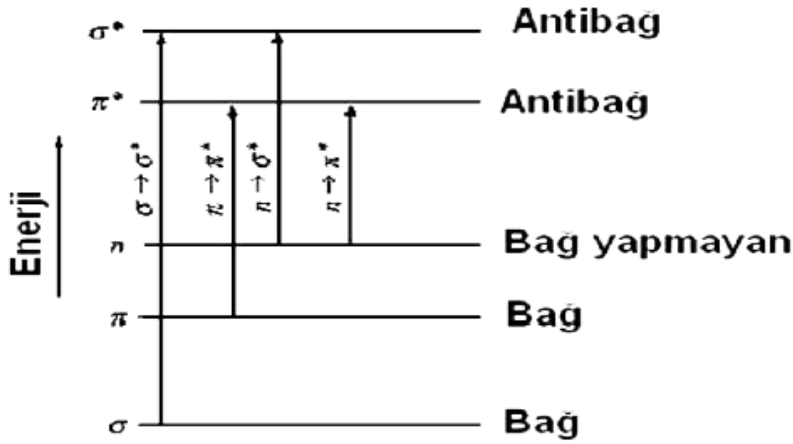
Orbital türleri şunlardır:

Sigma orbitalleri (σ): AO’lerinin “uç uca” örtüşmesi, diğer bir değişle tek lop örtüşmesi ile oluşur. Organik moleküllerde daha çok s-s, p-p veya s-p orbitalleri arasında meydana gelir.

Pi (π) orbitalleri: İki tane p AO’lerinin “yan yana” örtüşmesi ile oluşurlar. İki lop örtüşmesi ile meydana gelirler.

Bağ yapmayan orbitaller (n): s orbitali p orbitalinin iki lobu ile örtüşürse toplam örtüşme sıfır olur.

Çoğu kez, bağ yapmayan orbitalin enerji seviyesi, bağ ve antibağ orbitallerinin enerji düzeylerinin arasında yer alır. Şekilde gösterildiği gibi, organik moleküllerde dört tür elektronik geçiş olasıdır: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$



Şekil 2.17. Bir organik moleküldeki elektronik geçişler

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ Geçişleri

Bir molekülde σ bağ orbitalindeki bir elektron, Vakum UV bölgesindeki bir ışını absorplayarak antibağ orbitaline uyarılır, bu durumda $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi meydana gelmiş olur. Diğer elektronik geçişlere kıyasla $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişleri için gereken enerji oldukça yüksektir.

$n \rightarrow \sigma^*$ Geçişleri

Bu geçişler ortaklanmamış elektron çiftleri içeren bileşiklerde (bağ yapmayan orbitalde bulunan elektronlar) gözlenir. Genelde bu geçişler $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişlerinden daha az enerji gerektirir ve absorpsiyon piklerinin çoğu 150-250 nm aralığındaki bölgede yer alır.

Bu tip absorpsiyona özgü molar absorptivite düşük veya orta şiddetlidir ve çoğunlukla 100-3000 L.cm⁻¹.mol⁻¹ aralığında yer alır. $n \rightarrow \sigma^*$ geçişlerine ait absorpsiyon maksimumları, su ve etanol gibi polar çözücüler varlığında daha düşük dalga boylarına kayma eğilimindedir. Ultraviyole bölgede yer alan $n \rightarrow \sigma^*$ pikleri veren organik fonksiyonel grupların sayısı nispeten azdır.

$n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ Geçişleri

200-700 nm arasındaki spektral bölgede absorpsiyon yaptıklarından UV/GB spektroskopisinde en çok karşılaşılan geçişlerdir. Bu geçişlerin her ikisi de, π^* orbitallerini içerdiğinden doymamış fonksiyonel grup içeren organik bileşiklerde

gözlenir. Diğer bir deyişle, bu doymamış absorplayıcı merkezler kromofor olarak adlandırılır.

$n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinin molar absorptiviteyi çoğu kez düşük olup, genellikle 10-100 L.cm⁻¹.mol⁻¹ aralığında yer alırlar; buna karşılık $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine ait değerler normal olarak 1000-10000 L.cm⁻¹.mol⁻¹ arasına rastlar.

Bu iki absorpsiyon tipi arasındaki diğer bir karakteristik fark, çözücünün, piklerin dalga boyu üzerindeki etkisidir. $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerine ilişkin pikler, genellikle çözücünün artan polarlığıyla daha düşük dalga boylarına kayar (hipsokromik veya maviye kayma). Her zaman olmasa bile çoğu kez $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri için karşıt eğilim (bathokromik veya kırmızıya kayma) geçerlidir.

➤ d ve f elektronları arasındaki geçişler

Çoğu geçiş metali iyonları, spektrumun UV veya görünür bölgede absorpsiyon gösterirler, geçiş metallerinin spektral özellikleri, 3d ve 4d elektronlarının çeşitli enerji seviyeleri arasındaki elektronik geçişlerinden kaynaklanır. Lantanit ve aktinit serileri için absorpsiyon bandları 4f ve 5f elektronlarının elektronik geçişlerinden kaynaklanır.

İlk iki geçiş metalleri serisindeki 18 elementin iyon ve kompleksleri, bu elementlerin tüm yükseltgenme basamaklarında olmasa bile birinde görünür ışığı absorplama eğilimindedirler. Ancak, lantanit ve aktinit elementlerinin tersine, bunlarda absorpsiyon bantları genellikle geniştir ve kimyasal çevre faktörlerinden kuvvetle etkilenir. Örneğin, su ile kompleks yapan bakır(II) iyonu soluk mavi rengine karşılık, amonyak ile kompleks yapan bakır(II) iyonu koyu mavi renktedir.

➤ Yük aktarım geçişleri

Analitik amaçlar doğrultusunda yük-aktarım absorpsiyonu gösteren türler özel bir öneme sahiptir. Çünkü bunların molar absorptiviteyi çok yüksektir (maks> 10000 L.cm⁻¹.mol⁻¹). Bir inorganik kompleks, yük-aktarım absorpsiyonu gösterir Bu tür komplekslerin bilinen örnekleri; demir(III)'in tiosiyanat ve fenolatları, demir(II)'in o-fenantrolinle verdiği kompleks, moleküler iyodun iyodür kompleksi (I₃⁻) ve prusya mavisi (Fe(CN)₆⁻⁴/ Fe(CN)₆⁻³)'dir. Bir kompleksin yük aktarım absorpsiyonu olabilmesi için bileşenlerinden birinin elektron verici diğerinin ise elektron alıcı olması gerekir. Bu

durumda ışın absorpsiyonu elektron vericiden elektron alıcının orbitaline geçişine ilişkindir.

Bir maddenin absorpsiyon spektrumunu etkileyen başlıca değişkenler çözücünün cinsi, çözelti pH'ı sıcaklık, elektrolit derişimi ve bozucu maddelerin varlığıdır. Bu değişkenlerin etkileri bilinmeli ve analiz koşulları ona göre seçilmelidir.

2.5. KONUYLA İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR

Antioksidanlar; oksidasyonu önemli düzeyde geciktiren ya da engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Huang ve ark. 2005). Meyve ve sebzelerde bulunan ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler, vitaminler (C ve E) ve karotenoidler, oksidatif stresle ilişkili hastalıklardan korunmada etkili bileşikler olarak öne çıkmaktadırlar. Bu nedenle, özellikle diyetle alınan gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi üzerine büyük bir ilgi oluşmuştur. Ancak, bu konudaki en büyük eksiklik, gıdaların antioksidan kapasitesini güvenilir bir şekilde ölçebilen, geçerliliği kabul edilmiş bir yöntemin bulunmamasıdır (Huang ve ark. 2005; Cemeroğlu, 2007). Antioksidan etkinliğinin belirlenmesi amacıyla geliştirilen, birçok farklı substrat ve değişik kompozisyonda sistemlerin kullanıldığı çeşitli analitik metotlar bulunmakla birlikte, bunların çoğunluğu hala gelişme aşamasındadır (Sağlam, 2007).

Antioksidan kapasitenin ölçümü için literatürde verilen yirmiden fazla yöntem vardır. Bitkilerin antioksidan kapasitelerinin tayini söz konusu olduğunda literatürdeki sonuçlar açıkça göstermektedir ki antioksidan aktivite seçilen tayin yöntemine son derece bağımlıdır ve gözlenen antioksidan aktivite (veya kapasite) ile bitki ekstratlarının total fenolik içeriği arasında tam bir korelasyon gözlenmeyebilir (Ardağ, 2008).

Meyve suları, sebze çorbaları, çeşitli şifalı bitki özütleri (ekstraktları), başta şarap olmak üzere alkollü içecekler ve alkolsüz içecekler gibi sıvı gıdalarda toplam antioksidan kapasite (TAC) tayini doğrudan yapılmaktadır. TAC tayini için geçerli yöntemler esas olarak; UV-görünür alan spektrofotometri, floresans ve kemilüminesans yöntemleri, yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ve dönüşümlü voltametridir (Prior ve Cao, 1999).

Spektrofotometrik antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerin içecek, şifalı bitkiler, besin ekstratları ve serum gibi farklı ortamlara uygulandığı birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bazıları şunlardır:

Zhishen ve arkadaşları, 19 dut varyetesinin flavanoit içeriğini spektrofotometrik olarak rutin eşdeğeri cinsinden belirlemişlerdir. Meyvelerde en az 4 flavanoit bulunduğunu bunun ise ikisinin rutin ve kersetinin oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Flavanoit içeriğinin 9.84-29.6 mg/ g (kuru ağırlık) olarak değiştiği görülmüştür (Zhishen ve ark., 1999)

Karadeniz ve arkadaşları, farklı meyve (elma, ayva, üzüm, armut ve nar) ve sebzelerin (patates, soğan, taze soğan, kırmızı turp ve kırmızı lahana) antioksidan aktivitesini, toplam fenolik ve flavanoid içeriklerini belirlemişlerdir. Meyveler arasında nar % 62.7 ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olup bunu ayva (%60.4), üzüm (% 26.6), elma (% 25.7) ve armut (% 13.7) izlemiştir. Sebzelerin antioksidan aktivitesi % 40.8 ile % 12.5 arasında değişmektedir. Meyvelerde fenolik madde içeriği 326- 4306 mg kateşin/kg, flavanoid içeriği ise 282-2115 mg kateşin /kg iken sebzelerin fenolik madde içeriği 536-2166 mg kateşin/kg, flavanoid içeriği ise 153-842 mg kateşin / kg olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriğinin meyve ve sebzelerin antioksidan içeriğine önemli etkisinin olduğu gözlenmiştir (Karadeniz ve ark., 2004)

Apak ve arkadaşlarının, yaptığı çalışmada, demlenerek hazırlanan bazı endemik bitki örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi, bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite tayini olarak kısaltılan CUPRAC yöntemiyle belirlenmiştir. Türkiye'nin yerel marketlerinden temin edilen bitkilerden siyah çay dışındaki en yüksek antioksidan kapasite, fare kulağı-çuha çiçeği (*Anagallis arvensis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), yeşil çay (*Camellia sinensis*) ve oğulotu (*Melissa officinalis*) bitkilerinde sırasıyla; 1.63, 1.18, 1.07, ve 0.99 mmol Troloks esdeğeri (TR)/g kapasite ile belirlenmiştir. Demlenerek hazırlanan, hazır poşet çay örneklerinde en yüksek CUPRAC değerleri, Ceylon harmanlanmış klasik çay (4.41), limonlu yeşil çay (1.61), klasik İngiliz çayı (1.26) ve yeşil çay (0.94) saptanmıştır. Adaçayı, kekik, kişniş, öksürük otu, böğürtlen ve altın otunun kapasite değerleri ise 0.5 mmol TR/g civarında belirlenmiştir. Bitkisel çayların Folin yöntemiyle bulunan toplam fenolik içerikleri, CUPRAC ve ABTS toplam

antioksidan kapasite yöntemleri ile sırasıyla 0.966 ve 0.936 korelasyon katsayıları ile doğrusallık göstermektedir (Apak ve ark., 2006).

Justesen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bazı meyve, sebze ve içeceklerdeki flavonol, flavon, ve flavononları miktarlandırmak ve belirlemek için, foto diyot array ve kütle spektrometrik dedeksiyonlu yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ayırma yöntemi geliştirilmiştir. Dondurularak kurutulmuş gıdaların asit hidrolizinden sonra, bileşikler aglikon olarak analizlenmiştir. Gıda bileşimindeki flavonoidler, ticari standartların alıkonma zamanları, UV ve kütle spektrumları ile karşılaştırılmış ve flavonoid içerikleri pik alanları ile hesaplanmıştır. Çalışmada analizlenen kereviz yaprağında apigenin ve luteolin; ıhlamurda hesperetin, naringenin ve kuersetin; maydanozda apigenin, kamferol ve luteolin belirlenmiş ve miktarlandırılmıştır (Justesen, 1998).

Areias ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, nanede 10 fenolik bileşiği (eriodiktol-7-O-rutinozid, eriodiktol-7-O-glikozid, luteolin-7-O-rutinozid, luteolin-7-O-glikozid, hesperetin-7-O-rutinozid, apigenin-7-O-rutinozid, rozmarinik asit, 5,6-dihidroksi-7,8,3',4'-tetrametoksiflavon, pebrellin ve gardenin B) belirlemek için bir ters-faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi geliştirmişlerdir. Ekstraksiyon için farklı organik çözücüler denenmiş, etanolün nitel ve nicel değerlendirme için en uygun çözücü olduğuna karar verilmiştir. HPLC'de en iyi ayırım, su-fosforik asit (999:1) ve asetonitril ikili çözücü sisteminin gradienti ile elde edilmiştir. Geliştirilen yöntem 14 nane örneğine uygulanmıştır (Areias, 2001).

Karakaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ısırgan (*Urtica* sp.), kuşburnu (*Rosacannina*), adaçayı (*Salvia officinalis*), ıhlamur çiçeği (*Tilia platyphyllos*), siyah çay, salgam suyu (*Daucus carota* L. spp *sativus*), üzüm pekmezi, bal ve tarhana örneklerinin kuersetin, luteolin, apigenin ve kamferol içerikleri HPLC ile belirlenmiştir. Siyah çay ve ıhlamur çiçeğinde kuersetin ve kamferol; adaçayında kuersetin ve luteolin, kuşburnu, şalgam suyu, tarhana ve üzüm pekmezinde kuersetin; balda apigenin ve kamferol; ısırganda kuersetin ve apigenin temel bileşenler olarak belirlenmiştir. (Karakaya ve El 1999).

Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, petroselinum crispus (maydonoz), anethum graveolens (dereotu), erica sativa (roka)'nın kurutulmuş toprak üstü

kısımlarından hazırlanan ekstraktların antioksidan etkileri incelenmiştir. Maydanoz, dereotu ve roka soksilet cihazında petrol eteri ile ekstrakte edilerek yağlarından arındırılmış, daha sonra yağları alınmış bitkiler %70 MeOH, %70 MeOH+EtOAc ve 1,2 N HCl (%50 MeOH içinde) + EtOAc kullanılarak ekstrakte edilmişlerdir. Elde edilen her bir ekstraktın antioksidan etkisi *in vitro* olarak incelenmiş, lipit peroksidasyonları Ransimat testi (yağlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek suyun iletkenliğinin değişmesi prensibine göre çalışan Ransimat cihazı ile yapılan test) ile, serbest radikal süpürücü etkileri ise DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kontrol edilerek kullanılan BHT' nin antioksidan etkileri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca elde edilen fraksiyonların total fenol miktarları Folin-Ciocalteu'nun Fenol Reaksiyonuna göre tayin edilmiş ve fenolik bileşikler ise HPLC-DAD (Diode Array Detektör) sisteminde incelemiştir (Öztürk ve ark., 2002).

Elmastaş ve arkadaşları, bazı üzüksü meyve türlerinin Ahududu (*Rubus idaeus* cv. *Heritage*,), Geleboru (*Viburnum* spp.), Mürver (*Sambucus* spp.) ve Kuşburnunun (*Rosa canina* var. *canina*) antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Analizde kullanılan meyve türleri etanol ekstraksiyonu yapılarak elde edilen ham ekstraktelerde total antioksidan aktivite, serbest radikal giderme aktivite, metal şelatlama aktivite analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, standart antioksidan olarak bilinen α -tokoferol, (BHT) ve (BHA) gibi standartların sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan her bir meyvenin total fenolik bileşik miktarı ve askorbik asit miktarı da ölçülmüştür. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan üzüksü meyvelerden antioksidan aktivitesi en yüksek olan geleboru meyvesinin total fenolik bileşik miktarının en yüksek olduğu görülmüştür. Askorbik asit miktarı kuşburnunda fazla olmasına rağmen antioksidan kapasite bakımından daha düşük bir aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Elmastaş ve Gerçekçioğlu, 2006).

Türkiye bitkilerinin antioksidan etkileri açısından taranması amacıyla yapılan çalışmada Tunalier ve ark., halk arasında çay olarak yaygın olarak kullanılan bitkilerin başında gelen *Sideritis* türlerini materyal olarak kullanmıştır. Sekiz tanesi endemik olan toplam on *Sideritis* türünden (*S. amasiaca* Bornm., *S. germanicopolitana* ssp. *germanicopolitana* Bornm., *S. vulcanica* Hub.-Mor., *S. dichotoma* Huter, *S. armeniaca* Bornm., *S. cilicica* Boiss.&Bal., *S. phlomoides* Boiss.& Bal., *S. scardica*

Griseb., *S. galatica* Bornm., *S. taurica*) hazırlanan ekstratların antioksidan etkileri incelenmiştir. Türkiye'nin farklı yörelerinden toplanan droglar soksilet cihazında petrol eteri ile ekstrakte edilerek yağlarından arındırılmıştır. Yağı alınmış droglardan 40 °C'lik karıştırmalı su banyosunda %70'lik sulu metanol kullanılarak hazırlanan ekstraktlar aktivite tayinlerinde kullanılmıştır. Ekstraktların antioksidan etkileri *in vitro* olarak lipit peroksidasyonları *Ransimat* testi ile ve serbest radikal süpürücü etkileri ise DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kontrol olarak kullanılan BHT'nin antioksidan etkileri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca elde edilen ekstraktların Folin-Ciocalteu's Fenol Reaksiyonuna göre toplam fenol miktarları tayin edilmiş ve fenolik bileşikler HPLC-DAD sisteminde incelenerek belirlenmiştir (Tunalıer ve ark., 2002).

Tekeli ve ark., yaptığı çalışmada, Konya Tuz Gölü civarından toplanan *Centaurea Pterocaula*'nın antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Centaurea Pterocaula* 'u yağından uzaklaştırılmak için soksilet cihazı ile petrol eterinde ekstrakte edilmiştir. Toplam fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocalteu metoduna, serbest radikal süpürme etkisi DPPH metoduna göre ve indirgeme gücü ise Oyaizu metoduna göre yapılmıştır. Bitkinin fenolik yapısı HPLC ile belirlenmiştir. Sonuçlar sentetik antioksidan olan BHT ve BHA ile kıyaslanmıştır (Tekeli ve ark., 2008).

Rosaceae (Gülgiller) familyasının Armeniaca cinsine ait olan kayısı (*Prunus armeniaca* L.) serbest radikal kaynaklı hastalıkları engelleyen antioksidanlarca zengin bir meyvedir. Altun ve ark. yaptığı çalışmada Malatya yöresinde yetiştirilen kayısı çeşitlerinin Hacıhaliloğlu, Kabaaşı, Soğancı, Hasanbey, Çataloğlu ve Zerdali yaş, güneşte kurutulmuş ve kükürtlenip kurutulmuş olarak 3 kısma ayrıldıktan sonra bu kayısı çeşitlerinin metanollü ekstraktlarında toplam antioksidan miktarı CUPRAC, ABTS-Persülfat ve Folin yöntemleri ile tayin edilmiştir. Tüm kayısı ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle elde edilen TEAC değerleri, ABTS ve Folin yöntemleriyle elde edilen toplam kapasite değerleriyle karşılaştırılmış ve iyi bir korrelasyon görülmüştür ($r=0.93$) (Altun ve ark., 2007).

Firuzi ve arkadaşları tarafından flavonoidlerin antioksidan özellikleri çalışılmıştır. Flavonoidlerin farklı serbest radikallere karşı yapı-antioksidan aktivite ilişkisi araştırılmıştır, ancak bileşiğin indirgenme kapasitesini direkt olarak tanımlayan FRAP analizi bu amaçla kullanılmamıştır. Bu çalışmada modifiye edilen FRAP analizi ile on

sekiz farklı flavonoidin antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Ayrıca oksidasyon potansiyelleri +0.3 V (mirisetin) ile +1.2 V(5-hidroksi flavon) aralığında ölçülmüş ve FRAP analizi sonuçları ile uyumlu olduğu bulunmuştur (Firuzi ve ark., 2005).

Wang ve arkadaşları, 12 taze meyve 5 ticari meyve suyunun TAC'sını ORAC yöntemi ile tayin etmişlerdir. Hem kuru hem de yaş ağırlık üzerinden en yüksek antioksidan aktivite gösteren meyve çilek olarak bulunmuştur. Meyvelerin antioksidan kapasitelerinin büyük bir kısmı sulu kısımdan ileri gelmektedir. Meyvelerin et kısmının antioksidan aktivitesinin TAC'ya katkısı %10'dan azdır. Ticari meyve suları içerisinde üzüm suyu en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Diğerleri ise greyfurt suyu > domates suyu > portakal suyu > elma suyu şeklinde sıralanmıştır (Wang ve ark.) .

Güçlü ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Malatya'nın 5 farklı bölgesinden temin edilen taze, güneşte ve süflitlenerek kurutulmuş kayısı örneklerinin antioksidan kapasitesi, CUPRAC, ABTS ve toplam polifenol ölçümleri Folin yöntemleri ile yapılmıştır. CUPRAC yöntemi ile renk veren süflit, kuvvetli bazik anyon değıştirici reçinede pH 3'te HSO_3^- formunda toplanarak ayrılmıştır. CUPRAC yönteminin ABTS ve Folin yöntemleri ile korelasyonu (0.93) uygun bulunmuştur. Saf flavonoidlerin ve standart katkı yapılmış kayısı ekstraktlarının kalibrasyon doğruları paralellik göstermektedir. CUPRAC yöntemi ile yapılan bu çalışma, hem toplam antioksidan kapasite hem de çeşitli kayısı örneklerinin süflit miktarını belirlemektedir (Güçlü ve ark., 2006).

Günlük beslenmede en az bir kaçı tüketilen üzüm, nar, elma, üzümsü meyveler, adaçayı, biberiye, kekik, brokoli, domates, soğan, sarımsak, havuç, ıspanak, karnabahar, lahana, kereviz, çay, yeşilçay, şarap, siyah üzüm suyu (Opara ve Rockway, 2006; Özcan ve ark., 2007) gibi çeşitli meyve, sebze ve içeceklerle yapılan araştırmalarda, özellikle flavonoid ağırlıklı olmak üzere, içerdikleri fitorutrientlerin yüksek antioksidan aktiviteler gösterdiği bildirilmektedir. Bu nedenle vücudun endojen savunma sisteminin diyetle alınacak antioksidan bileşikler ile desteklenmesi gerektiği bildirilmektedir.

Park ve arkadaşları tarafından, etilenle ve açık havayla muamele edilmiş kivi meyvesi örneklerine ABTS/TEAC, DPPH, CUPRAC yöntemleri uygulanmıştır. Etilenle muamele edilmiş kivilerde total polifenolik bileşik miktarı ile ABTS/TEAC, DPPH, CUPRAC yöntemleri ile ölçülen antioksidan kapasitelerinin korelasyon katsayıları

sırasıyla, 0.74; 0.93; 0.98 olarak bulunmuş olup hava ile muamele edilmiş kivi örnekleri için ise bu değerlerin 0.72; 0.88; 0.97 olduğu gözlenmiştir (Park ve ark., 2008).

Gill ve arkadaşları, nar sularını antioksidan aktivitesini dört farklı yöntemle (ABTS, DPPH, DMPD ve FRAP) tayin edip kırmızı şarap ve yeşil çay ile karşılaştırmışlardır. Ticari nar suları kırmızı şarap ve yeşil çaya nazaran 3 kat daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (Gill ve ark., 2000).

Yapılan bir başka çalışmada ise, çayın fenolik madde içeriği, antioksidan özelliği ve çaydaki fenolik maddelerin sağlık üzerine etkisi tartışılmıştır. Çay, içerdiği flavanoller nedeniyle güçlü antioksidan aktiviteye sahip olup birçok hastalığın oluşum ve gelişimini önlemektedir. Yapılan çalışma, çay tipine bağlı olarak fenolik madde miktar ve kompozisyonunun dolayısıyla antioksidan aktivitesinin değiştiğini, yeşil çay içerdiği yüksek flavanoller nedeniyle, siyah çay ise flavanol içeriği yanında enzimatik oksidasyon aşamasında oluşan sekonder fenolik maddeler nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Tosun ve Karadeniz, 2005)

Gülçin ve arkadaşları, kızılığın sudaki ekstratının antioksidan kapasitesini belirlemişlerdir. Örneklerin antioksidan özelliğini belirlemede farklı yöntemler (serbest radikal toplama, indirgeme gücü, süperoksit radikalini toplama, hidrojen peroksit toplama ve metal şelatlama kapasitesi) kullanmışlardır. Örneklerin antioksidan özelliklerinin lipid peroksidasyonunu inhibe etmede önemli derecede etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Kızılığın antioksidan özelliğini standart antioksidanlarla (BHA, BHT ve α - tokoferol) karşılaştırmışlardır (Gülçin ve ark., 2005).

Lee ve arkadaşları, elmadaki başlıca flavonoidleri ve bunların toplam antioksidan kapasitesine olan etkilerini araştırmışlardır. Altı farklı elma çeşidinin antioksidan kapasitelerini ABTS yöntemi ile C vitamini eşdeğeri cinsinden hesaplamışlardır. En önemli flavonoidler; kuarsetin ve glikozidleri, prosiyanidin, klorojenik asit, epikateşin ve C vitaminidir. Fenolik bileşiklerle C vitamini arasında toplam antioksidan kapasiteleri ve konsantrasyonları bakımından yüksek bir lineer ilişki saptamışlardır. C vitamini eşdeğeri cinsinden fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri, kuarsetin için 3.06; epikateşin için 2.67; prosiyanidin için 2.36; C vitamini için 1.00 ve klorojenik asit için 0.97 olarak elde edilmiştir (Lee ve ark. 2003).

Gıdaların yapısında doğal olarak bulunan antioksidanların depolama sırasında parçalanması halinde antioksidan aktivite de azalır. Meyve sularında depolama sırasında antioksidan kaybı gözlenir (Polydera ve ark. 2005).

Del Caro ve ark., depolama sırasında portakal, greyfurt ve mandarin sularının flavanoid, C vitamini ve antioksidan içeriğindeki değişimini araştırmıştır. 4°C de 15 gün depolanan turuncgil sularının tümünün flavanoid içeriğinde azalma gözlenmiştir. Mandarin ve greyfurt suyunun antioksidan içeriğinde artış, portakal suyunun antioksidan içeriğinde ise azalış tespit etmişlerdir. Sadece portakal suyunun C vitamini içeriğinde azalma gerçekleşmiştir (Del Caro ve ark., 2004).

Literatürde bulunan antioksidan kapasite ölçüm yöntemlerinden biri de voltametrik yöntemlerdir (Berker, 2005).

Antioksidan özelliklerin ve aktivitelerinin tanımlanması için voltametri duyarlı ve etkili bir yöntemdir. Antioksidanlar organik ve inorganik moleküllerde radikal-zincir oksidasyon ilerlemesini durduran maddelerdir. Korotkova ve ark. iyi bilinen antioksidanlardan askorbik asit, sitrik asit, glikoz ve bu bileşiklerin çözeltileri, bazı gıda ürünleri (yeşil çay ekstratı, elma sirkesi) ve bazı ilaçlar (haemodesum, polyglucinum, Ringer çözeltisi) üzerinde çalışmışlardır. Oksijenin elektrokimyasal indirgenmesinde antioksidanın karakterinin etkisi araştırılmıştır. Sonuçta da bu materyallerin hastalıktan koruyucu olarak kullanılması tavsiye edilmiştir (Korotkova ve ark., 2002) .

Feroci ve Fini, sülfür içeren aminoasitlerin bir grubunu analiz etmiştir. Bu aminoasitler ya tioller ya da disülfid ve sülfidlerden oluşmuştur. Bu analiz, sözü edilen aminoasitlerin protik ve aprotik ortamda süperoksit iyonu ile etkileşimini kapsar. Bu çalışmada elektrokimyasal tekniklerden dönüşümlü voltametri ve doğrusal tarama voltametrisi kullanılmıştır (Feroci ve Fini,2007).

Korotkova ve ark., suda çözünebilen bir E vitamini türevi olan tokoferol monoglikoside (TMG) 'in antioksidan özelliklerini diferansiyel puls voltametri ile çalışmışlardır. TMG'in antioksidan özelliklerinde pH etkisi araştırılmıştır. TMG ve reaktif oksijen türleri arasındaki reaksiyonlar incelenmiştir. Vitamin E dahil bazı standart antioksidanların antioksidan aktivitesi karşılaştırma için verilmiştir. Sonuçlar TMG'in nötral çözeltilerde etkin bir antioksidan olduğunu göstermiştir (Korotkova ve ark., 2004).

Barros ve ark., beş *Agaricus* sp. mantarının antioksidan aktivitesini kimyasal, biyokimyasal ve elektrokimyasal tekniklerle incelemiştir. Kimyasal analiz ile mantar türlerinin indirgeme gücü ve radikal süpürme aktivitesi tayin edilmiştir. Beyin hücreleri ve eritrositler kullanılarak biyokimyasal analiz ile lipit peroksidasyon inhibisyon kapasitesi ölçülmüştür. Bu beş mantar türünün ekstratlarının elektrokimyasal karakterizasyonu için dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri teknikleri kullanılmıştır (Barros ve ark., 2008).

Diaz ve ark., zeytinyağında E vitaminin voltametrik davranışı, hekzan-etanol ortamında camı karbon elektrotta, sampled DC, diferansiyel puls ve kare daga voltametri ile çalışılmıştır. Hekzan-etanol oranı, sülfürik asit konsantrasyonu ve enstrumental parametrelerin etkileri incelenmiştir. α -tokoferol ve δ -tokoferol için ayrı voltametrik pikler elde edilmiştir. Fakat β -tokoferol ve γ -tokoferol pikleri üst üste çıkmıştır. DPV(Diferansiyel puls voltametri) voltaqramları en iyi bilgi serisi olarak bulunmuştur. Amaçlanan metot farklı sebze yağı örneklerinde tokoferollerin tanımlanması için uygulanmıştır (Diaz ve ark., 2004).

Diopan ve ark. pomiferin, isopomiferin, osajin ve catalposide'in antioksidan özelliklerini karbon pasta elektrot ile kare dalga voltametri kullanılarak araştırılmıştır. Yükseltgenme sinyalleri, optimum frekanslar ve uygun asetat tamponu şartları belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin antioksidan aktivitesi spektrofotometrik olarak DPPH testi ile ölçülmüştür. Sonuç olarak en yüksek antioksidan aktivitesine sahip olan bileşik pomiferin olup bunu aktivite derecesi açısından isopomiferin, osajin, catalposide takip eder (Diopan ve ark. , 2008).

Sousa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kafeik, klorojenik, sinapik, ferulik, p-kumarik asitlerin elektrokimyasal oksidasyonunu asetat tamponunda (pH=5.6) camı karbon elektrot ve modifiye camı karbon elektrotta dönüşümlü voltametri ile araştırmışlardır. Sonuçlar DPPH testiyle doğrulanmıştır. Metot portakal suyuna uygulanmıştır (Sousa ve ark., 2004).

Bu tez kapsamında da çeşitli meyve ve sebzelerin in vitro koşullarda antioksidan aktiviteleri çeşitli metodlarla belirlenmiştir. Yüksek antioksidan aktivite gösteren bitki ve ekstraktlarının doğal antioksidan olarak bu alanda değerlendirilmesi düşünülmektedir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

- Voltalab80 PGZ 401 Potansiyotat/Galvanostat
- Entek Polarographic Analyzer
- Shimadzu UV- 1800 Spektrofotometre
- Precisa Terazî
- HANNA pH-metre
- ELGA Purelab Ultra Saf Su Cihazı
- Etüv
- Philips Katı Meyve Sıkacağı

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

- KNO_3 (Merck)
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
- $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
- $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
- Askorbik asit (Sigma)

3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması

- **Potasyum Nitrat Çözeltisi:**

5.056 g KNO_3 tartılarak, ölçülü balon jofede toplam hacim 100 mL olacak şekilde ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.50 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır.

- **Bakır Nitrat Çözeltisi:**

0.297 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, ölçülü balon jodede toplam hacim 100 mL olacak şekilde ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.10 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır.

- **Demir (III) Klorür Çözeltisi:**

0.270 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, ölçülü balon jodede toplam hacim 100 mL olacak şekilde asidik ortamda ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.01 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır. Her gün için taze olarak hazırlanmıştır.

- **Potasyum Hekza Siyano Ferrat (III) Çözeltisi:**

0.329 g $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, ölçülü balon jodede toplam hacim 100 mL olacak şekilde ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.01 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır. Her gün için taze olarak hazırlanmıştır.

- **Potasyum Hekza Siyano Ferrat (II) Çözeltisi:**

0.290 g $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, ölçülü balon jodede toplam hacim 100 mL olacak şekilde ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.01 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır. Her gün için taze olarak hazırlanmıştır.

- **Askorbik Asit Çözeltisi:**

0.088 g askorbik asit tartılarak, ölçülü balon jodede toplam hacim 50 mL olacak şekilde ultra saf su ile hazırlanmıştır. 0.01 M derişimdeki bu stok çözeltiden belli miktarlarda alınarak deneylerde kullanılmıştır. Her gün için taze olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti deneyler sırasında ısı ve ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir.

3.3. YÖNTEMLER

Deneysel çalışmalar iki ana başlıkta gerçekleştirilmiştir:

1. Oksidan'ın askorbik asit ile etkileşiminin incelenmesi: Askorbik asit'e uygulanan yöntemler;
 - Diferansiyel Puls Polarografisi
 - Dönüşümlü Voltametri
 - UV-Görünür Bölge Spektroskopisi
2. Oksidan'ın antioksidan etkisi olduğu düşünülen çeşitli gıda maddeleri ile etkileşiminin incelenmesi. Bu bölümde de bazı meyve ve sebzelerde toplam antioksidan kapasitesi üç yöntem kullanılarak tayin edilmiştir.
 - Diferansiyel Puls Polarografisi ile TAC tayini
 - Dönüşümlü Voltametri ile TAC tayini
 - UV Görünür Bölge Spektroskopisi ile TAC tayini

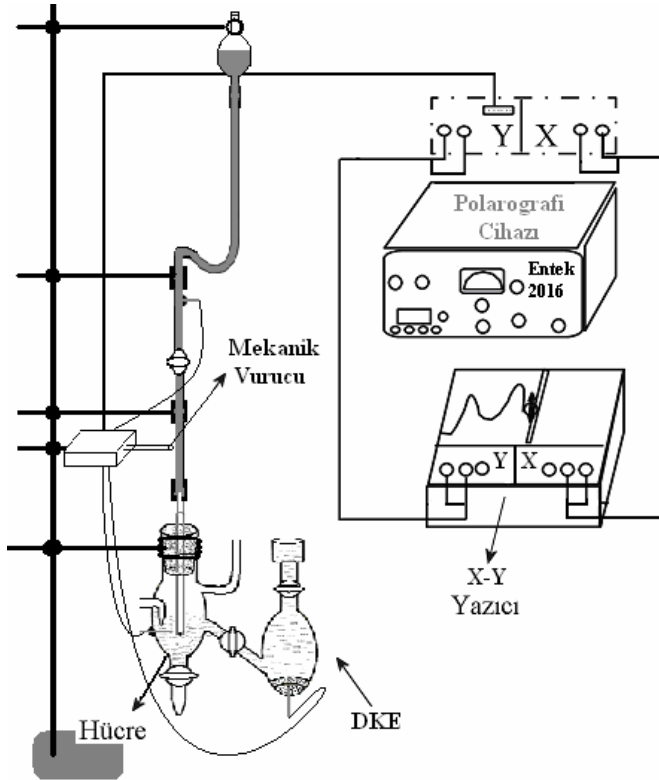
Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında yapılmıştır

3.3.1. Polarografik Çalışmalar

Polarografik çalışmalar, PAR 174-A model polarografik analizör sistemi esas alınarak üretilen Türk malı Entek 2016 model Polarographic Analyser cihazı ile Picolog Recorder, Picolog Player ve PicoScope yazılım programları eşliğinde yapılmıştır. Çalışma elektrodu olarak civa damla elektrot, yardımcı elektrot olarak platin elektrot ve referans elektrot olarak da doymuş kalomel elektrot kullanılmıştır. Tüm çalışmalar Kaolusek hücresi içinde gerçekleştirilmiştir. Destek elektrolit olarak potasyum nitrat çözeltisi kullanılmıştır. Sistemin genel görünümü Şekil 3.2'de şematize edilmiştir.



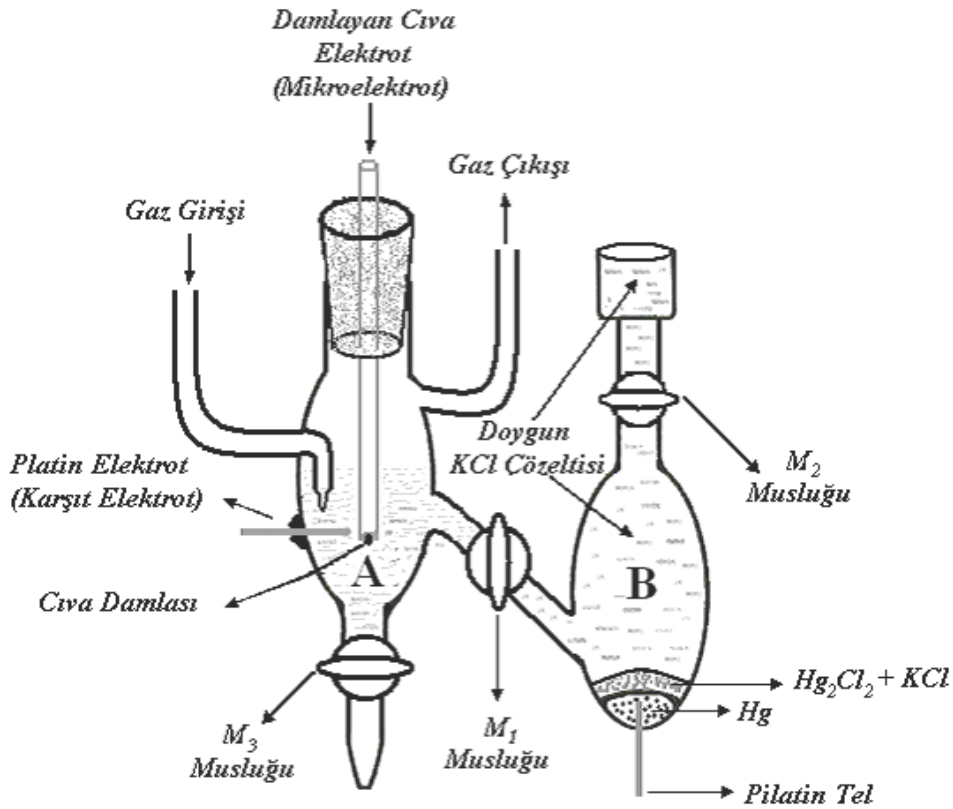
Şekil 3.1. Polarografik deneylerin gerçekleştirildiği Entek 2016 model Polarographic Analyser sistemi



Şekil 3.2. Polarografide kullanılan analiz sistemi.

3.3.1.1. Kalousek hücresi

Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan kalousek tipi cam hücre sisteminin genel görünüşü ve önemli parçaları Şekil 3.3’de gösterilmiştir. Hücre temel olarak iki ana bölüme ayrılmaktadır. A bölümü, analizi yapılacak numunenin, destek elektrolitinin, yardımcı elektrotun ve çalışma elektrotunun bulunduğu hücre kısmıdır. B bölümü, bir platin tel, telin üzerinde civa ve doymuş KCl çözeltisinden oluşan referans elektrotun bulunduğu kısımdır.



Şekil 3.3. DPP’de kullanılan kalousek tipi hücre sistemi.

3.3.1.2. Elektrot sistemleri

Çalışmalarda kullanılan diferansiyel puls polarografisi sisteminde referans elektrot, yardımcı elektrot ve çalışma elektrotu olmak üzere üç tip elektrot sistemi bulunmaktadır.

Referans elektrot

Laboratuvarda hazırlanan doymuş kalomel elektrot (DKE) referans elektrot olarak kullanılmıştır. Şekil 3.4’de görülen kalousek hücresinin B bölmesi doymuş kalomel elektrot yapımında kullanılmıştır.

Kalousek hücresinin M_1 ve M_2 muslukları açılır. Hücredeki B bölümüne M_2 musluğundan, tabanındaki platin teli örtecek kadar temiz civa konur. Platin tel sistemdeki diğer elektrotlarla temasın sağlanması için civaya batırılmıştır. KCl’ün sıcak saf suyla hazırlanmış ve oda sıcaklığına kadar kendiliğinden soğutulmuş doymuş çözeltisi hazırlanır ve B bölümü içindeki civa üzerine, bölmeyi tam olarak dolduracak şekilde doldurulur. Dolum sırasında M_1 bağlantı musluğu açık tutulmalıdır. Bu işlem yapılırken bölme içerisinde, özellikle çalışma hücresiyle bağlantıyı sağlayan musluk civarında herhangi bir şekilde hava kabarcığının oluşmamasına dikkat edilmelidir. Bölme doldurulduktan sonra her iki musluk kapatılır. Oluşan bu bölmede, civa (I) klorür (Hg_2Cl_2 , kalomel) ile doyurulmuş bir doymuş KCl çözeltisine değen bir miktar civa vardır. Bu şekilde oluşturulan elektroda Doymuş Kalomel Elektrot denir.

Doymuş kalomel elektrotun hacmi yaklaşık 20-30 mL arasındadır. Bu miktarın analit çözeltisinin seviyesinin altına inmemesine dikkat edilmelidir. Böylece hem civa(I) iyonları ile analit arasında oluşabilecek reaksiyonlar sonucunda M_1 musluğunun tıkanması önlenmiş olur, hem de bağlantıyı kesecek hava kabarcıklarının önüne geçilir. Bu durumda da analit çözeltisinden kalomele türlerin geçmesi muhtemeldir. Bu yüzden kalomelin kirlenmemesine dikkat edilmelidir. Eğer kalomel kirlenirse temiz olarak yeniden hazırlanmalıdır.

Yardımcı elektrot

Yardımcı elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Bu elektrot elektriğin, sinyal kaynağından gelip çözeltinin içinden geçerek çalışma elektrotuna (deneyler süresince kullanılan çalışma elektrotu, DCE veya DME) gelmesini sağlar. Bu nedenle çalışmalar sırasında kullanılan çözeltinin, hücredeki platin tele temas etmesine dikkat etmelidir.

Çalışma elektrotu

Çalışma elektrotu olarak Damlayan Civa Elektrot (DCE veya DME) kullanılmıştır. Bu elektrotlarda damlanın büyüklüğü kullanılan kapiler cam borunun çapına ve civa haznesinin hücreden yüksekliğine bağlıdır. Damlama hızı zaman ayarlı, damla düşürücü adı verilen bir mekanik vurucu ile 0.5, 1.0 veya 2.0 saniyede bir oluşacak şekilde ayarlanabilir. Çalışmalar sırasında civa haznesindeki civa seviyesi deney süresince mümkün olduğunca aynı olmalıdır.

3.3.1.3. Civanın Temizlenmesi

Damlayan civa elektrotta kullanılan civa Merck marka olup proanaliz tipi civadır. Diferansiyel puls polarografisi tekniği ile 1.10^{-6} – 1.10^{-7} M madde tayininin yapılabilmesi için kullanılan civanın yüksek saflıkta olması gerekmektedir. Bu sebepten dolayı proanaliz tipi civa kullanılmış ve kirlenen civa aşağıda açıklandığı gibi temizlenmiştir.

Kirli civa bir behere alınır. Üzerinden bir süre çeşme suyu geçirilerek bagetle karıştırılır. Sudan ayrılarak alınan civa, bir litrelik uzun cam mezürdeki çeşme suyu içerisine, mezürün üst kısmında tutulan ince plastik süzgeçten geçirilerek yıkanır. Mezürdeki çeşme suyu uzaklaştırılıp, süzülen civa bir behere aktarılır. Bu işlem aynı şekilde en az beş defa tekrarlanır. Daha sonra aynı mezür, 15 M'lık derişik HNO_3 çözeltisinden ve saf sudan, 1:5 (HNO_3 : H_2O) oranında hazırlanan HNO_3 çözeltisi ile doldurulur ve civa süzgeçten mezür boyunca zerrecikler halinde süzülür. Bu yıkama işlemi en az beş defa tekrarlanır. Temizlenen civa, süzgeçten geçerek içine saf su konmuş olan mezür boyunca zerrecikler halinde süzülür. Bu işlem civanın asitliği giderilinceye kadar tekrarlanır. Asitliği giderilen temiz civa bir behere alınır ve süzgeç kağıdıyla iyice kurutulur. Kurutulan civa, civa haznesine alındıktan sonra herhangi bir safsızlık içerip içermediği alınan polarogramlar incelenerek kontrol edilir.

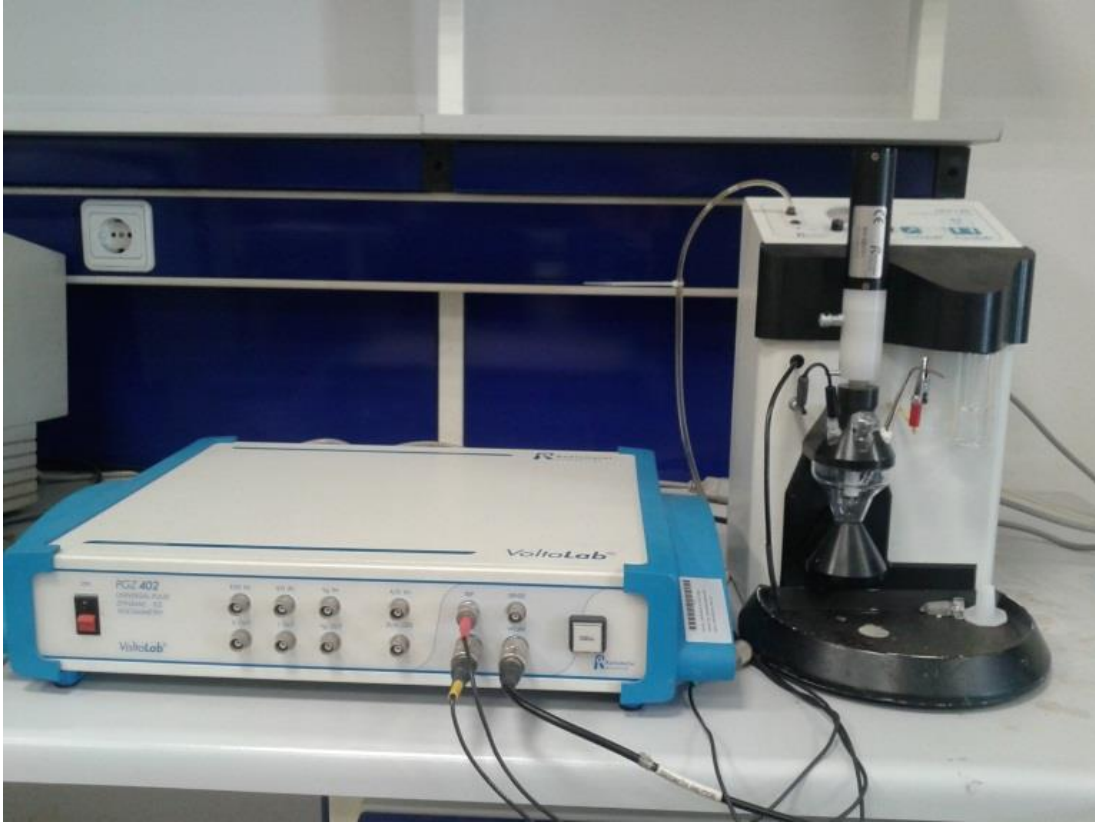
3.3.1.4. Ortamdan Oksijenin Giderilmesi

Analit çözeltisinin hazırlandığı saf suda veya standart çözeltielerde bulunabilecek serbest oksijenin giderilmesi için ve bu çözeltilerin polarografi hücresine konması sırasında, hücreye giren havanın uzaklaştırılması için ortamdan bir süre azot veya argon

gibi analitle veya elektrolit çözeltiyle reaksiyon vermeyen inert bir gaz geçirilmelidir. Aksi takdirde oksijenin bozucu etkisi oluşur. Kullanılacak gaz, tüpteki regülatörden uygun basınçta çıktıktan sonra bir su tuzağına gelmeli ve daha sonra hücreye gitmelidir. Hücreden çıkan gaz başka bir su tuzağına gönderilmelidir. Aksi halde hücreye gaz geçişi sırasında yeniden havanın oksijeni karışabilir.

3.3.2. Voltametri Çalışmaları

Voltametrik çalışmalar, üç elektrotlu PC-kontrollü Voltalab80 PGZ 401 Potansiyotat/Galvanostat cihazı ile yapılmıştır. Cihaz VoltaMaster 4 yazılım programı eşliğinde kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak camı karbon elektrot, yardımcı elektrot olarak platin elektrot kullanılmıştır. Tüm potansiyeller Ag/AgCl/KCl *doygun* referans elektrotuna karşı ölçülmüştür. Çalışmalar voltametrik hücre içinde gerçekleştirilmiştir. Destek elektrolit olarak potasyum nitrat çözeltisi kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Voltametrik deneylerin gerçekleştirildiği Voltalab80 PGZ 401 Potansiyotat/Galvanostat sistemi

Elde edilen deneysel verilerden grafiklerin çiziminde ve hesaplamalarında Microsoft Excell 2010 programı kullanılmıştır.

3.3.2.1. Elektrotların Hazırlanması

Çalışmalarımızda kullandığımız camısı karbon elektrot Voltalab80 PGZ 401 markalı ticari bir üründür. Voltalab80 potansiyostat/galvanostat cihazı ile birlikte temin edilmiştir. 3 mm çapında aktif yüzeye sahip bir disk şeklindedir.

Camsı karbon elektrot ile çalışırken, her denemeden önce bir mikron alümina (Al_2O_3) ve Metron parlatma bezi kullanılarak elektrot yüzeyi parlatılarak saf su ile yıkanmış ve elektrot yüzeyine temas etmeden kurulanmıştır.

Yardımcı elektrot (Platin) ve referans elektrot ($Ag-AgCl$, KCl) her deney sonrasında, deney hücresinden çıkarılarak saf suyla yıkanıp, kurutularak deney hücresine konmuştur.

3.3.2.2. Yardımcı Elektrotun Temizlenmesi

Tekrarlanabilir hassas sonuçların alınabilmesi için platin elektrotun temiz olması gerekir. Platin elektrot kullanılmadığında 1M HNO_3 içerisinde bekletilmiştir. Platin elektrot kullanılmadan önce saf su ile temizlenerek elektrokimyasal çalışmalara geçilmiştir. Böylece platin yüzeyine tutunmuş hidrojen ve oksitlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.3.2.3. Ortamdan Oksijenin Giderilmesi

Destek elektrolit olarak potasyum nitrat kullanılmıştır. İncelenen maddelerin çözeltileri ELGA Purelab Ultra saf su cihazından elde edilen 10^{-6} siemens iletkenliğindeki saf su ile hazırlanmıştır. Deneylerden önce her seferinde, çözeltideki çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için azot gazı 300 s geçirildikten sonra destek elektrolitiğe ait voltamogram kaydedilmiştir. Ayrıca deney süresince de azot gazı devamlı olarak çözelti yüzeyine gönderilerek ortamın oksijenlenmesi önlenmiştir. Daha sonra hücreye incelenen maddelerin çözeltileri belirli miktarlarda mikro pipet yardımıyla ilave edilmiştir ve her madde ilavesinde de çözelti içinden 120 s boyunca azot gazı geçirilmiştir.

3.3.3. UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi Çalışmaları

Spektrofotometrik çalışmalarda çift ışın yollu PC kontrollü Shimadzu 1800 model UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi UV-Probe yazılım programı eşliğinde kullanılmıştır. Çözeltinin absorbansı HELLMA marka kuvarz, 10 mm ışın yollu küvetlerde ölçülmüştür. Işık kaynağı olarak Tungsten ve Döteryum lambaları mevcuttur.



Şekil 3.5. Spektrofotometrik deneylerin gerçekleştirildiği Shimadzu UV-1800 model spektrofotometre

3.4. DENEYSEL KISIM

Bu tez çalışmasında çeşitli gıda maddelerinin toplam antioksidan kapasiteleri araştırılacaktır. Bunun için, birden fazla oksidasyon kademesi olan metal iyonlarından faydalanılacaktır. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4+}$, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ gibi iyon çiftleri kullanılarak yüksek oksidasyon kademesindeki metalin antioksidanla indirgenmesi sağlanarak bunun elektroanalitik yöntemlerden voltametrik yöntem ve polarografik yöntem kullanılarak nicel tayini yapılacaktır. Buradan toplamsal antioksidan kapasitesi (% inhibisyon)

hesaplanacaktır. Bulunan sonuçlar, spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılacaktır.

3.4.1. Askorbik Asit'e uygulanan yöntemler

3.4.1.2. Diferansiyel Puls Polarografisi

Oksidan-askorbik asit etkileşiminin polarografik davranışı diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle incelenmiştir. Bunun için öncelikle çalışılan metal iyonlarının kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.

Kalibrasyon grafikleri şu şekilde çizilmiştir: Yüksek oksidasyon basamağındaki metal iyonunun taze hazırlanan ana çözeltisinden seyreltilerek çeşitli derişimlerde standart çözelti serisi hazırlanmıştır.

Önce 10 mL destek elektrolit çözeltisi, 9 mL ultra saf su kalousek hücreğine konularak içinden 10 dakika yüksek saflıkta azot gazı geçirilerek polarogramı alınmıştır. Daha sonra sırasıyla standart çözelti serilerinden 1'er mL ilave edilerek polarogramları alınmıştır. Hücreye her madde ilavesinden sonra 2 dakika tekrar azot gazı geçirilmiştir (Hücre kabında her zaman toplam hacim 20 mL olacak şekilde saf su ile hacim ayarlaması yapılmıştır).

Daha sonra askorbik asit ile yapılan deneylere geçilmiştir. Taze olarak hazırlanan askorbik asit çözeltisi kullanılmıştır. Önce 10 mL destek elektrolit, yeterli miktarda (ortama katılan askorbik asit miktarına göre toplam hacim 20 ml olacak şekilde saf su ile hacim ayarlaması yapılmıştır) ultra saf su eklenerek hücreden 10 dakika azot gazı geçirilmiştir. Bu işlemin ardından metal iyonu çözeltisinden 1 mL ilave edilerek tekrar 2 dakika azot gazı geçirilmiştir. Son olarak da artan hacimlerde askorbik asit çözeltisinden ilave edilerek 2 dakika daha azot gazı geçirildikten sonra voltamogramları alınmıştır. Alınan polarogramlardan pik akımları hesaplanmıştır.

3.4.1.2. Dönüşümlü Voltametri

Deneyisel çalışmalarımızda oksidan-askorbik asit etkileşiminin voltametrik davranışı dönüşümlü voltametri yöntemiyle incelenmiştir. Bunun için öncelikle çalışılan metal iyonlarının kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.

Kalibrasyon grafikleri şu şekilde çizilmiştir: Yüksek oksidasyon basamağındaki metal iyonunun taze hazırlanan ana çözeltisinden seyreltilerek çeşitli derişimlerde standart çözelti serisi hazırlanmıştır.

Önce 10 mL destek elektrolit çözeltisi, 9 mL ultra saf su voltametrik hücre içerisine konularak içinden 10 dakika yüksek saflıkta azot gazı geçirilerek voltamogramı alınmıştır. Daha sonra sırasıyla standart çözelti serilerinden 1'er mL ilave edilerek voltamogramları alınmıştır. Hücreye her madde ilavesinden sonra 2 dakika tekrar azot gazı geçirilmiştir (Hücre kabında her zaman toplam hacim 20 mL olacak şekilde saf su ile hacim ayarlaması yapılmıştır).

Daha sonra askorbik asit ile yapılan deneylere geçilmiştir. Taze olarak hazırlanan askorbik asit çözeltisi kullanılmıştır. Önce 10 mL destek elektrolit, ultra saf su (ortama katılan askorbik asit miktarına göre toplam hacim 20 ml olacak şekilde saf su ile hacim ayarlaması yapılmıştır) eklenerek hücreden 10 dakika azot gazı geçirilmiştir. Bu işlemin ardından metal iyonu çözeltisinden 1 mL ilave edilerek tekrar 2 dakika azot gazı geçirilmiştir. Son olarak da artan hacimlerde askorbik asit çözeltisinden ilave edilerek 2 dakika daha azot gazı geçirildikten sonra voltamogramları alınmıştır. Alınan voltamogramlardan pik akımları hesaplanmıştır.

3.4.1.3. UV-Görünür Bölge Alan Spektrofotometrisi

Bu bölümde, oksidan-askorbik asit etkileşiminin spektrofotometrik davranışı incelenmiştir. Spektrumlar şahit çözeltisine karşı 190-1100 nm dalga boyu aralığında 1 nm bant genişliğinde ve orta tarama hızı ile alınmıştır.

Ana metal iyonu çözeltisi ve metal iyonu içermeyen şahit çözeltisi ve standart çözelti serisi hazırlanmıştır. Şahit çözelti ile cihazın “0 ayarı” yapılmıştır. Şahit çözeltisinin suya karşı ve metal iyonu çözeltisinin şahit çözeltiye karşı 190-1100 nm arasında spektrum taraması yapılmıştır (10 mL 0.20 M KNO₃ + 1mL metal iyonu +9 mL saf su çözeltisinden 1 mL alınarak kuvartz küvete konmuştur). Tarama sonucunda metal iyonunun maksimum absorbans verdiği dalga boyu tespit edilerek, bu dalga boyu için kalibrasyon grafiğı çizilmiştir.

Daha sonra askorbik asit ile yapılan deneylere geçilmiştir. Taze olarak hazırlanan askorbik asit çözeltisi kullanılmıştır. 10 mL 0.20 M KNO₃ + 1mL metal

iyonu çözeltisine artan miktarlarda askorbik asit ilave edilmiş ve son hacim saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 1 mL alınarak spektrum taraması yapılmıştır.

Spektrumlarda elde edilen piklerin analizi UVProbe programı yardımıyla yapılmıştır.

3.4.2. Bazı Meyve ve Sebzelerin Toplam Antioksidan Kapasitesini Tayin Etmek İçin Kullanılan Yöntemler

3.4.2.1.Diferansiyel Puls Polarografisi

Tartılarak alınan meyve ve sebzeler, yıkanıp, saf su ile durulandıktan sonra kurulanmış ve Philips marka katı meyve sıkacağına sıkılarak suyu elde edilmiştir. Partiküllü olan bu sıvı süzgeç kâğıdından süzülerek homojen bir sıvı elde edilmiştir. Daha sonra 10 mL destek elektrolit, 8 mL saf su polarografik hücreye konularak 10 dakika azot gazı geçirilmiş, devamında metal iyonu ve 1 mL meyve (veya sebze) suyu ilave edilerek polarogramı alınmıştır. Her madde ilavesinden sonra 2 dakika azot gazı geçirilmiştir. Alınan polarogramlardan pik akımları hesaplanmıştır.

3.4.2.2.Dönüşümlü Voltametri

Tartılarak alınan meyve ve sebzeler, yıkanıp, saf su ile durulandıktan sonra kurulanmış ve Philips marka katı meyve sıkacağına sıkılarak suyu elde edilmiştir. Partiküllü olan bu sıvı süzgeç kâğıdından süzülerek homojen bir sıvı elde edilmiştir. Daha sonra 10 mL destek elektrolit, 8 mL saf su voltametrik hücreye konularak 10 dakika azot gazı geçirilmiş, devamında metal iyonu ve 1 mL meyve (veya sebze) suyu ilave edilerek voltamogramı alınmıştır. Her madde ilavesinden sonra 2 dakika azot gazı geçirilmiştir. Alınan voltamogramlardan pik akımları hesaplanmıştır.

3.4.2.3.UV-Görünür Bölge Alan Spektrofotometrisi

Semt marketlerinden alınan taze meyve ve sebzeler kullanılarak bunların toplam antioksidan kapasitesi tayin edilmiştir. Bunun için alınan meyve ve sebzeler, yıkanıp, saf su ile durulandıktan sonra kurulanmıştır. Daha sonra Philips marka katı meyve sıkacağına sıkılmış ve süzgeç kâğıdından süzülerek homojen bir sıvı elde edilmiştir. Metal iyonu içermeyen, fakat çalışılan meyve (veya sebze) suyundan içeren şahit çözelti

hazırlanarak cihazın “0 ayarı” yapılmıştır (10 mL 0.20 M KNO_3 + 1mL meyve veya sebze suyu + 9 mL saf su (toplam hacim: 20 mL) çözeltisinden 1 mL alınarak kuvartz küvete konmuştur). Daha sonra metal iyonu ve çalışılan meyve (veya sebze) suyunu içeren çözeltinin (10 mL 0.20 M KNO_3 + 1mL metal iyonu + 1mL meyve veya sebze suyu + 8 mL saf su çözeltisinden 1 mL alınarak kuvartz küvete konmuştur) şahit çözeltiye karşı 190-1100 nm arasında spektrum taraması yapılarak maksimum absorbansları ölçülmüştür.

4. BULGULAR VE SONUÇLAR

Bu bölümde, meyve ve sebzelerden elde edilen meyve ve sebze sularında toplam antioksidan madde kapasitesini belirlemek için yapılan çalışmaların deneysel bulguları verilmektedir.

Gıdalardan antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin ekstraksiyonunda değişik solventler ve ekstraksiyon tekniklerinin kullanılması ve yine ekstraktlarda toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde farklı yöntemlerin takip edilmesi, gıdaların antioksidan kapasiteleri hakkında yapılan çalışmaların karşılaştırılmasını oldukça zorlaştırmaktadır. Gıdalarda bulunan antioksidan bileşenlerin en önemlilerini askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), karotenoidler (özellikle A vitamini ve β -karoten) ve fenolik maddeler (fenolik asitler, flavonoidler ve diğer polifenolik bileşikler) oluşturmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001; Koca ve Karadeniz, 2005; Orman ve Bağdatlıoğlu, 2005). Gıdalar arasında meyveler ve sebzeler (Kaur ve Kapoor, 200; Özgen ve ark., 2006), tüm tane tahıllar, baklagiller (Anıl, 2006; Doğan ve Meral, 2006) ve sert kabuklu yemişler ile bazı yağlı tohumlar (Velioğlu ve ark., 1998) söz konusu antioksidanlar bakımından zengin gıda gruplarıdır.

Bu çalışmada çeşitli meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasiteleri DPP, CV ve UV olmak üzere üç farklı yöntemle araştırılmıştır.

4.1. Metal İyonu- Askorbik Asit İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Askorbik asit redoks özelliği olan bir maddedir.



Askorbik asit, metal iyonları ve metal kompleksleri tarafından oksitlenir ve metal iyonları indirgenir. Örneğin; Cu(II), Cu(I)'e; Fe (III), Fe(II)'ye indirgenir.

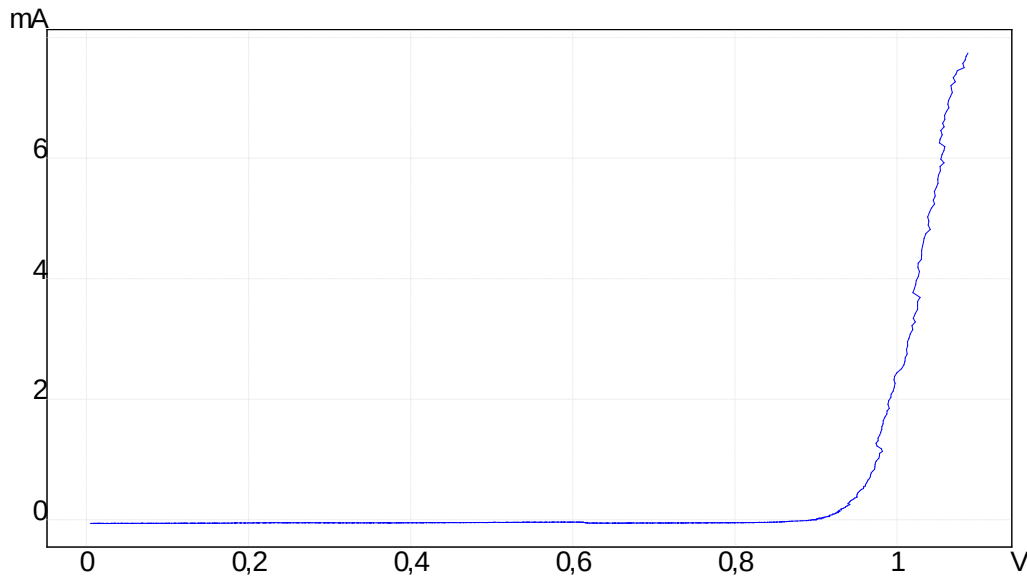


Askorbik asit suda çözünen süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen ile direkt olarak reaksiyona giren zincir kıran bir antioksidandır. Bu yüzden öncelikle birçok meyve ve sebze doğal olarak bulunan askorbik asitin, çalışacağımız metal iyonları ile etkileşimi incelenmiştir. Yüksek oksidasyon basamağındaki metal iyonu çözeltisine askorbik asit ilave edildiğinde o iyonun ait pik akımında ki azalma ya da absorbandsında ki düşme metal iyonunun indirgendiğini göstermektedir. Bu sonuç da çeşitli gıda maddelerinde toplam antioksidan kapasite düzeyinin indirekt olarak geliştirdiğimiz yöntemle tayin yapılabileceğini ifade etmektedir.

4.1.1. Fe^{3+} - ASC İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

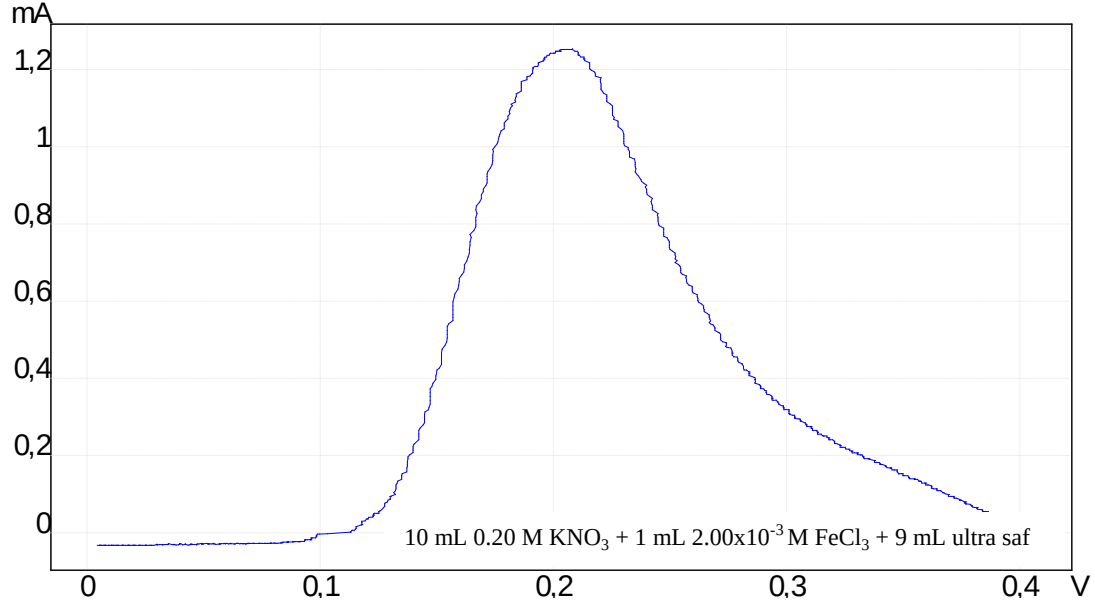
Fe^{3+} - ASC etkileşmesi diferansiyel puls polarografisi tekniği ile incelenmiştir.

Polarografide her çalışmadan önce, ortama konulan destek elektrolitin davranışı incelenmiştir. Destek elektrolitin polarogramında herhangi bir pike rastlanmaması destek elektrolitin, kullanılan civanın ve doymuş kalomel elektrotun temiz olduğunu gösterir. Bu nedenle her çalışmadan önce polarografi hücresine 0.20 M KNO_3 destek elektrolit çözeltisinden 10 mL alınmış ve hücreden 10 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir (toplam hacim ultra saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır). Gaz geçişi kesildikten sonra polarogram alınmıştır. Daha sonraki çalışmalarda da aynı işlemler tekrarlanmıştır.



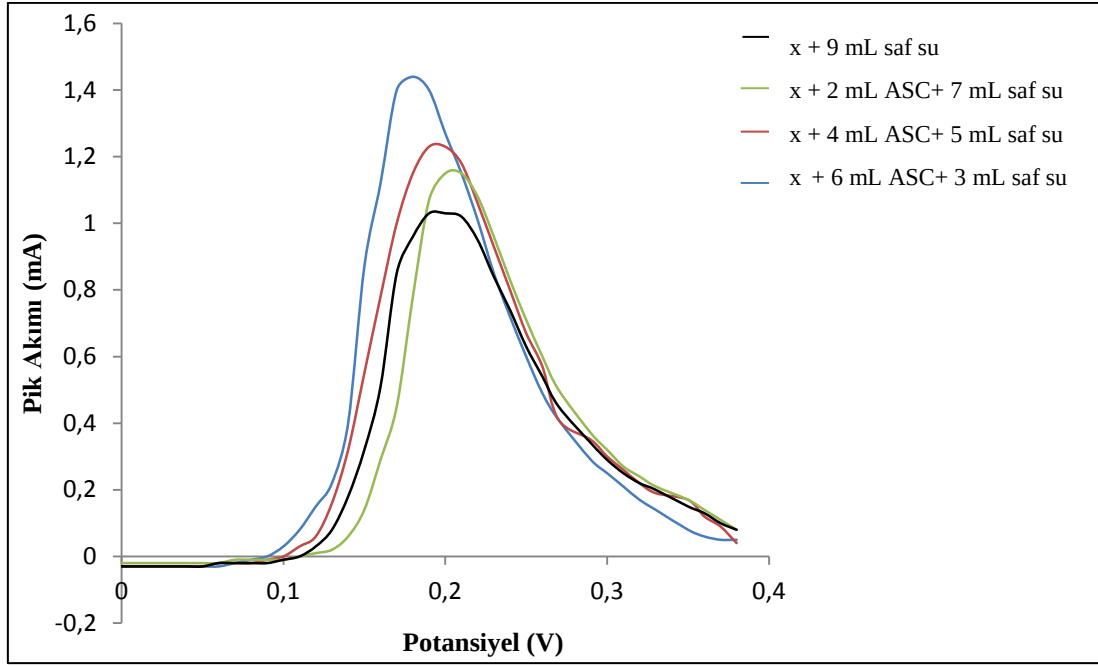
Şekil 4.1. 0.10 M KNO_3 çözeltisinin diferansiyel puls polarografisi (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV)

1.00×10^{-3} M FeCl_3 çözeltisinin polarogramı Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Polarogramda gözlenen pikin pik analizi cihazla birlikte temin edilen PicoLog Recorder, PicoLog Player ve PicoScope adlı yazılımlar yardımıyla yapılmıştır.

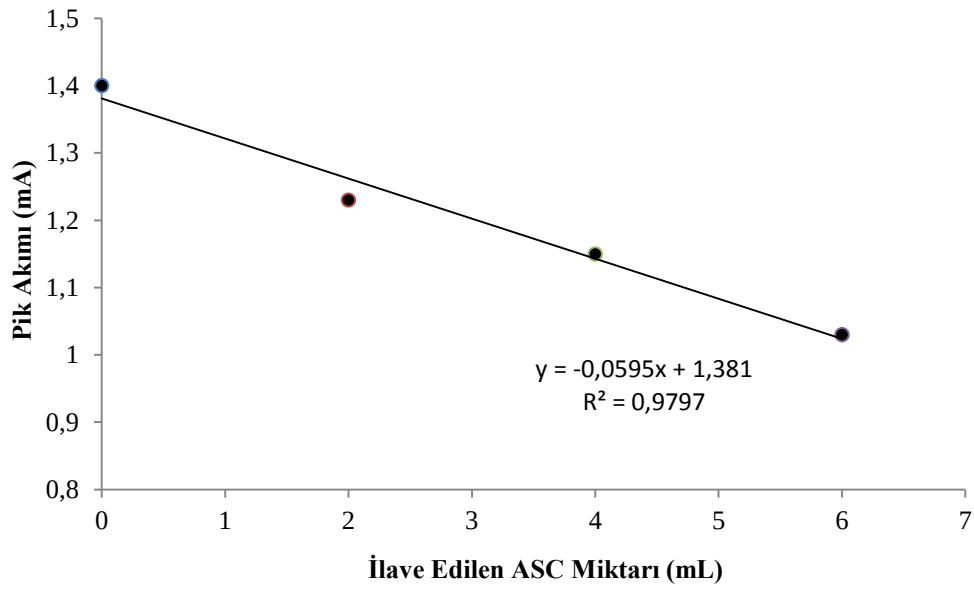


Şekil 4.2. 1.00×10^{-3} M FeCl_3 çözeltisinin polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV, pH=3.35)

Fe^{3+} ’ün yarı dalga potansiyeli ve pik akımı tespit edildikten sonra ASC ile deneylere geçilmiştir. 10 mL 0.2 M KNO_3 + 1 mL 0.02 M FeCl_3 + 7 mL ultra saf su polarografi hücresine konularak 10 dakika azot gazı geçirilmiştir. Daha sonra 2 mL ASC çözeltisinden ilave edilerek 2 dakika daha azot gazı geçirilmiş ve polarogramı alınmıştır (Polarografi hücresinde toplam hacim her zaman 20 mL olacak şekilde ultra saf su ile hacim ayarlaması yapılmıştır). Bu işlem artan miktarlarda ASC için tekrarlanmıştır. Polarogramlarda pik boylarında orantılı azalış görülmüştür. Bu sonuçtan yola çıkılarak ASC’in Fe^{3+} iyonlarının inhibisyonu diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle pik boyundaki azalış hesaplanarak yapılabileceği düşünülmüştür.



Şekil 4.3. $1.00 \times 10^{-3} \text{ M Fe}^{3+}$ - ASC polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL $2.00 \times 10^{-3} \text{ M Fe}^{3+}$)

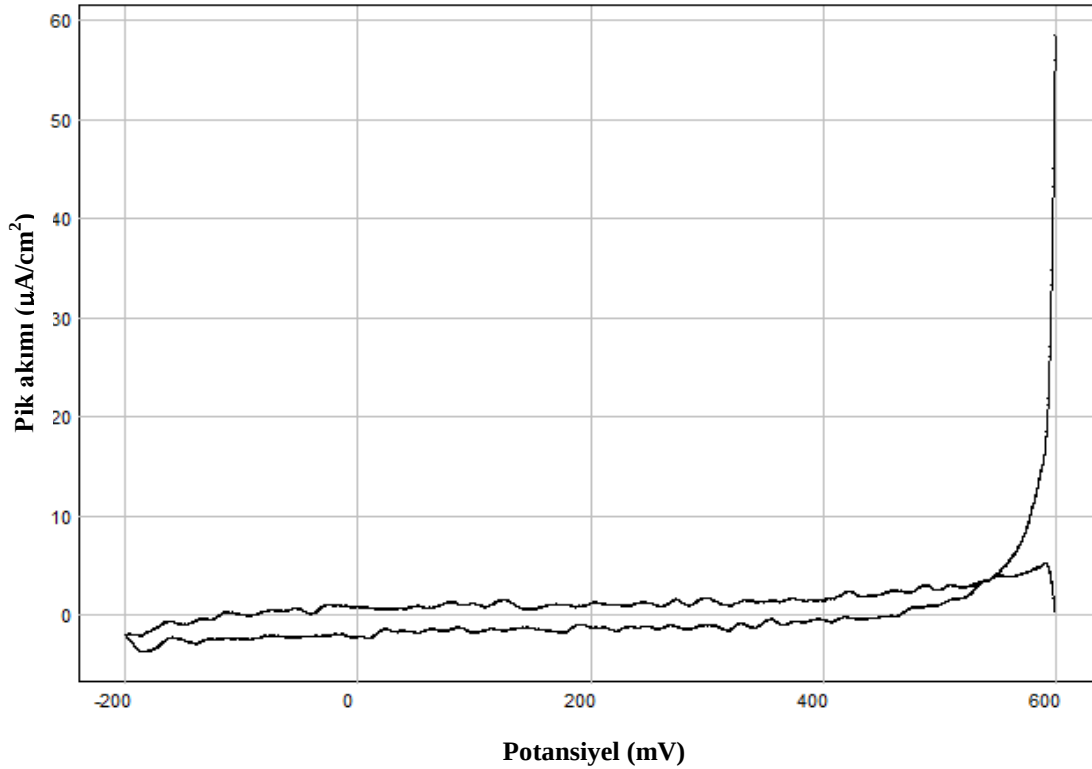


Şekil 4.4. ASC eklenmesi ile Fe^{3+} pikindeki azalma

4.1.2. Cu^{2+} -ASC İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

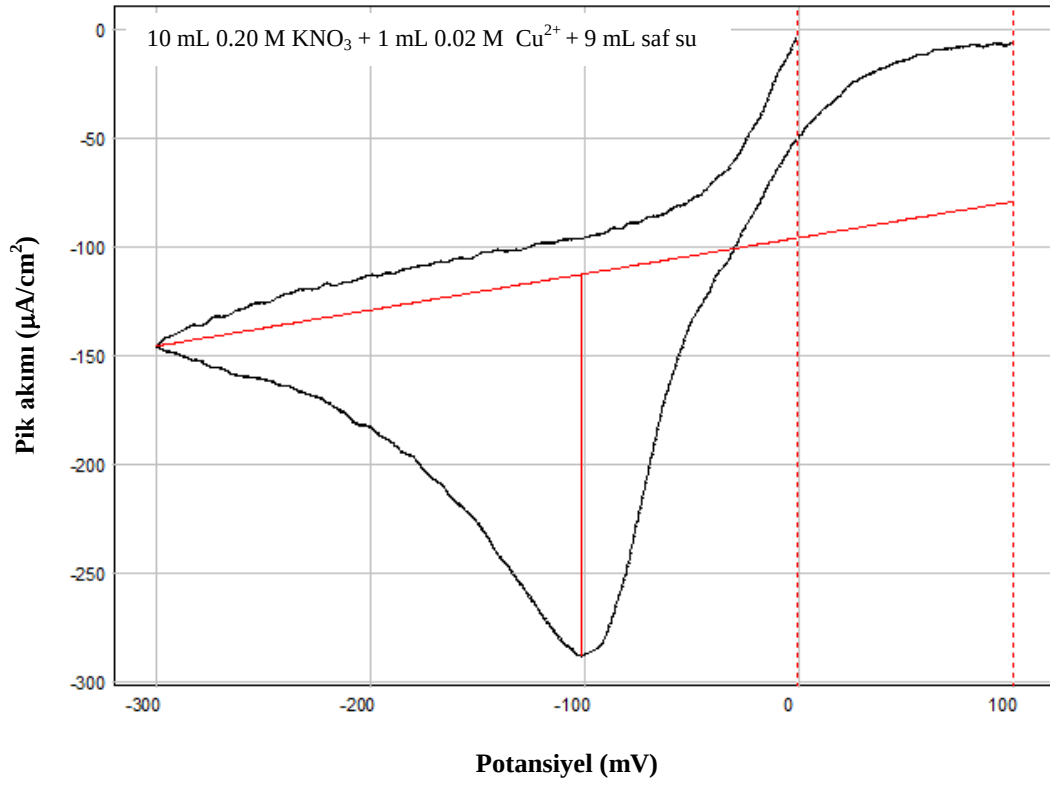
Cu^{2+} -ASC etkileşmesi dönüşümlü voltametri tekniği ile incelenmiştir.

Voltametrde her çalışmadan önce, ortama konulan destek elektrolitin davranışı incelenmiştir. Destek elektrolitin voltamogramında herhangi bir pike rastlanmaması destek elektrolitin ve kullanılan elektrotların temiz olduğunu gösterir. Bu nedenle her çalışmadan önce voltametre hücresine 0.20 M KNO_3 destek elektrolit çözeltisinden 10 mL alınmış ve hücreden yaklaşık 10 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir (toplam hacim 20 mL). Gaz geçişi kesildikten sonra voltamogram alınmıştır. Daha sonraki çalışmalarda da aynı işlemler tekrarlanmıştır.



Şekil 4.5. 0.10 M KNO_3 çözeltisinin dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 20 mV/s)

Şekil 4.6a'da CV tekniği kullanılarak $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin 20 mV/s tarama hızında alınmış dönüşümlü voltamogramı görülmektedir. CV ile yapılan tüm deneysel çalışmalarda önce katodik sonra anodik yönde dönüşüm sağlanmıştır. Her iki tarama yönünde voltamogramın baseline'ları belirlendikten sonra pik maksimumları işaretlenerek pik akımları, maksimum pik akımları ve pik potansiyelleri cihazla birlikte temin edilen VoltaMaster 4 programı yardımıyla hesaplanmıştır.



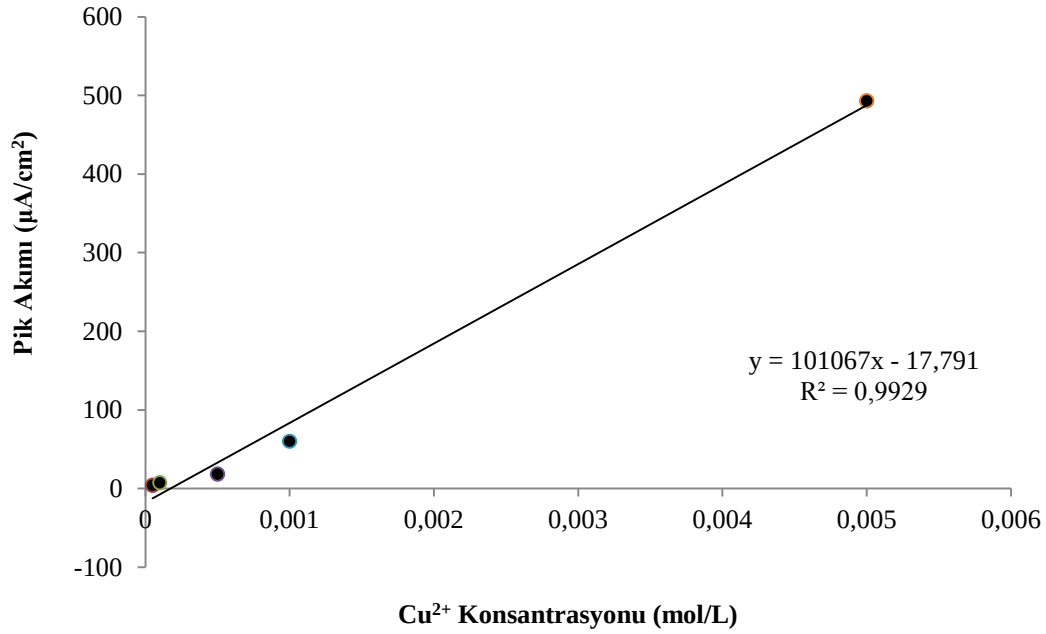
(a)

DATA	
Base line	
Mode :	Manual
Point 1 :	-293.999 mV 7.900 sec.
Point 2 :	-23 mV 2.480 sec
Equation :	$Y(\mu A/cm^2) = 0.224187X(mV) - 82.1917$
RESULTS	
Integration	
Point 1 :	100.001 mV, 20.00 msec.
Point 2 :	-1 mV, 14.00 sec.
Total :	-201. $\mu C/cm^2$, -10.0 $\mu W/cm^2$
Positive :	0.000 pC/cm^2 , 0.000 pW/cm^2
Negative :	-201. $\mu C/cm^2$, -10.0 $\mu W/cm^2$
Peak	
Position :	-101. mV, 4.040 sec.
Height :	-182.91 $\mu A/cm^2$
Width :	222.5 mV, 4.450 sec.

(b)

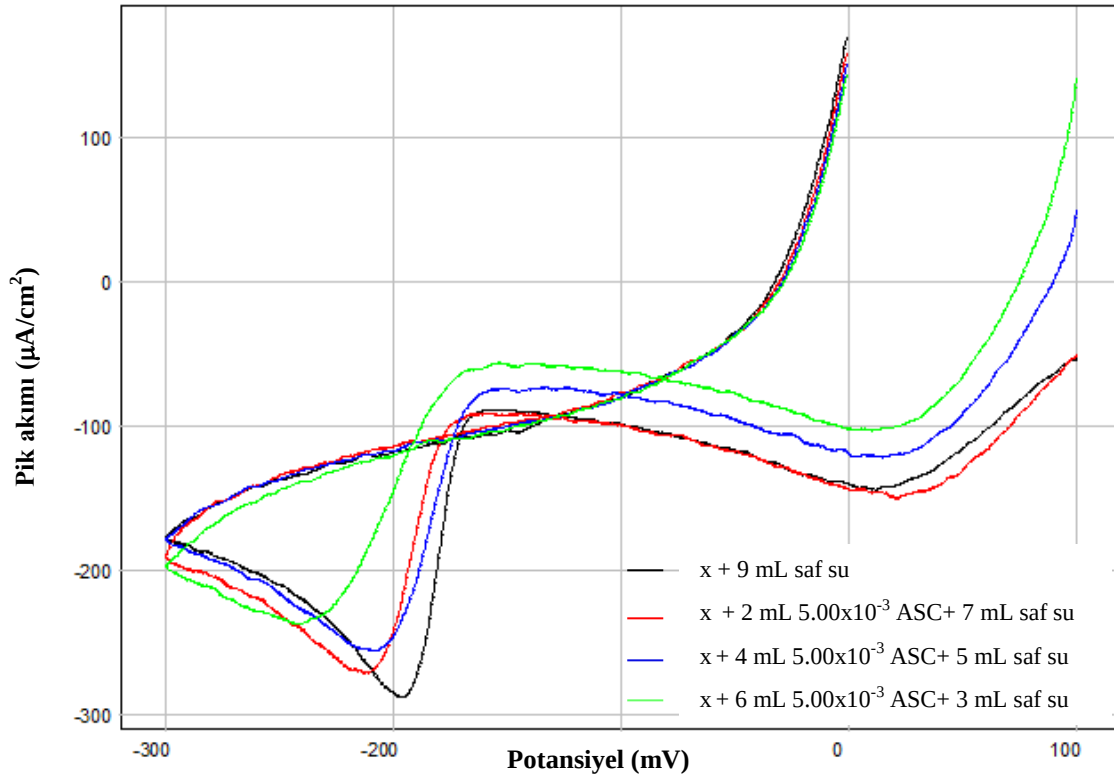
Şekil 4.6. a) 1.00×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisinin dönüşümlü voltamogramı b) VoltaMaster 4 programı ile yapılan pik analizi (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.18)

0.01 M stok standart Cu^{2+} çözeltisinden seyreltilerek 5.00×10^{-5} - 5.00×10^{-3} M derişim aralığında standart çözelti serisi hazırlanarak pik akımları ölçülmüştür. Hazırlanan standart çözelti serisinin kalibrasyon grafiğı Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. Standart Cu^{2+} çözelti serisinin kalibrasyon grafiğı (n=3)

Kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra, askorbik asitle çalışmalara geçilmiştir. Cu^{2+} iyonu içeren çözeltiye artan miktarlarda askorbik asit ekleyerek aralarındaki etkileşim gözlenmiştir. Cu^{2+} pikindeki küçülme (akım yoğunluğundaki azalma) askorbik asit varlığında Cu^{2+} ’nin Cu^{+} ’e indirgendiğini göstermektedir.



Şekil 4.8. 2×10^{-3} M Cu^{2+} -ASC etkileşmesinin voltamogramı ((Tarama hızı 50 mV/s, pH=5.19, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 0.04 M Cu^{2+})).

Askorbik asitin Cu^{2+} iyonlarını inhibe etme oranı şu şekilde hesaplanmıştır.

5.00×10^{-5} - 5.00×10^{-3} M derişim aralığında hazırlanan standart Cu^{2+} çözelti serisi için çizilen kalibrasyon doğrusunun denklemi;

$$i_p = 101067C - 17.791 \quad (4.4)$$

şeklindedir. Burada;

i_p : Cu^{2+} iyonuna ait pik akımı

C: Cu^{2+} iyonunun derişimini ifade etmektedir.

Çalışmalar sırasında deneysel hataları en aza indirmek ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilebilirliğini görmek için deneyler 3'er defa tekrarlanmıştır. Elde edilen piklerin pik akımlarından Cu^{2+} derişimi hesaplanmış ve daha sonra derişimlerin ortalaması alınarak standart sapması hesaplanmıştır.

2.00x10⁻³ M Cu²⁺ çözeltisine 1.16x10⁻² M ASC çözeltisinden 2 mL ilave edildiğinde çözeltideki Cu²⁺ iyonu derişimi Eşitlik (4.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$i_p = 101067C - 17.791$$

$$133.16 = 101067C - 17.791$$

$$C = 1.49 \times 10^{-3} M$$

Buradan inhibisyon oranı hesaplanırsa,

$$\% \text{İnhibisyon} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad (4.5)$$

C₀: Başlangıçtaki Cu²⁺ derişimi

C: Askorbik asit katıldıktan sonra çözeltide kalan Cu²⁺ derişimi

$$\% \text{İnhibisyon} = \frac{2.00 \times 10^{-3} - 1.49 \times 10^{-3}}{2.00 \times 10^{-3}} \times 100$$

$$\% \text{İnhibisyon} = 25.50$$

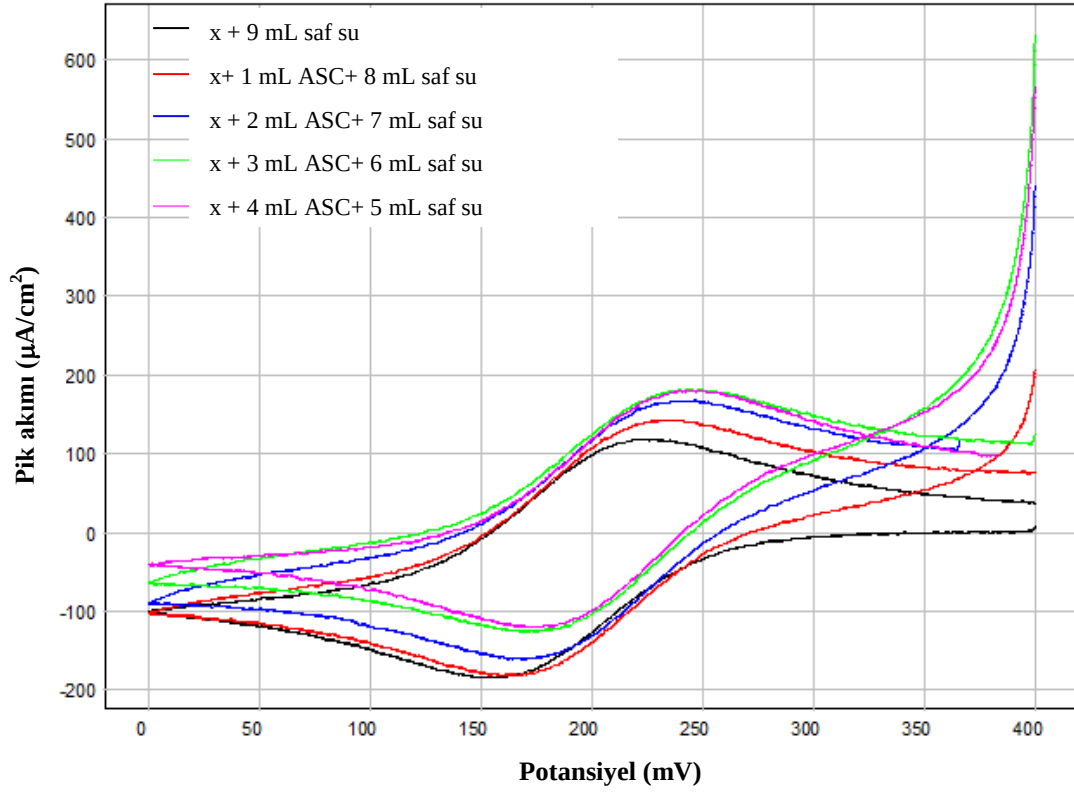
Bu sonuca göre; 1.16x10⁻³ M ASC'in 2x10⁻³ M Cu²⁺'yi inhibe oranı % 25.1'dir.

4.1.3. Fe(CN)₆³⁻-ASC İle Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

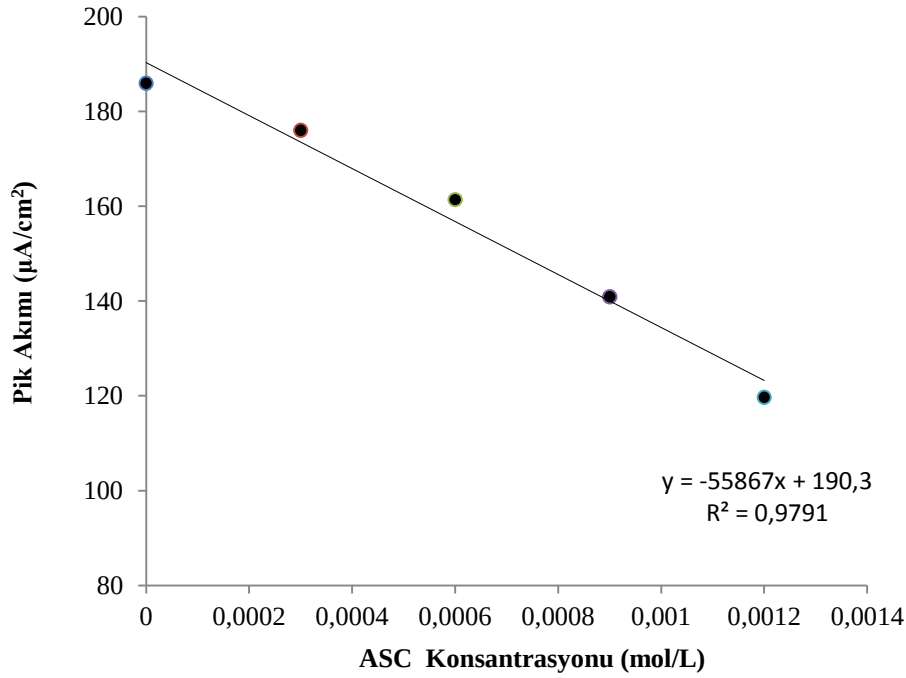
4.1.3.1. Fe(CN)₆³⁻-ASC Etkileşiminin CV Tekniğı İle İnceleme Bulguları

Şekil 4.9'da da görüldüğü gibi Fe(CN)₆³⁻ piki eklenen askorbik asit miktarı ile orantılı olarak küçülmektedir.





Şekil 4.9. 2.00×10^{-3} M Fe(CN)_6^{3-} çözeltisine 6.00×10^{-3} M ASC dönüşümlü voltagramı (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.07, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 0.04 M Fe(CN)_6^{3-})



Şekil 4.10. Eklenen ASC miktarına bağlı olarak Fe(CN)_6^{3-} pikinde meydana gelen azalma (n=3)

Askorbik asitin $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonunu inhibisyon oranı Eşitlik (4.5) kullanılarak hesaplanmıştır.

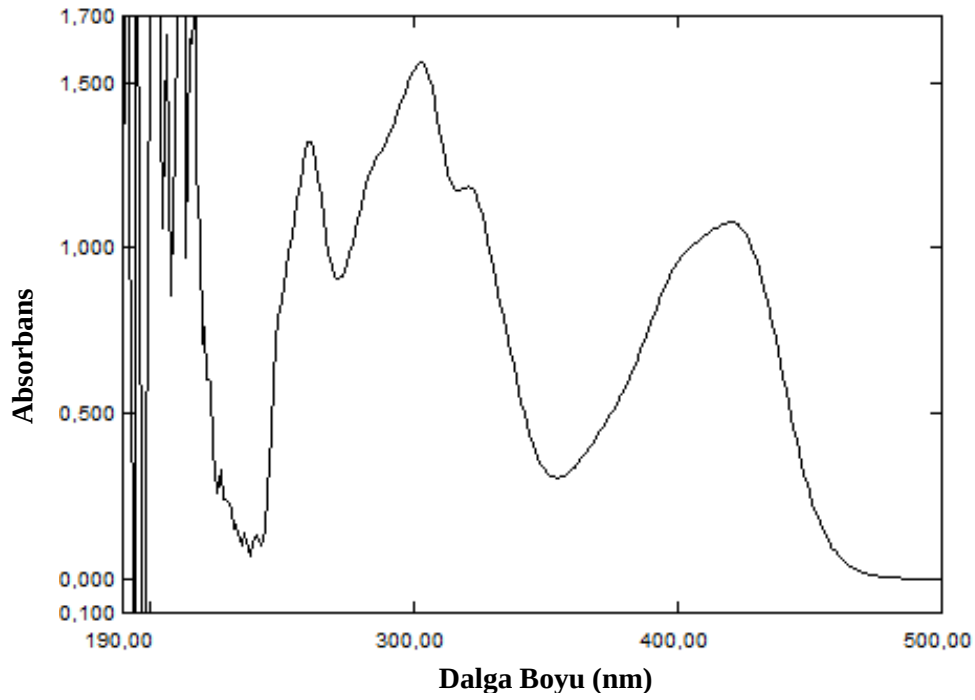
Tablo 4.1. 2.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları (n=3)

6.10^{-3} M ASC (mL)	$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	% İnhisyon
0	$(2.00 \pm 0.04) \times 10^{-3}$	-
1	$(1.97 \pm 0.06) \times 10^{-3}$	1.50
2	$(1.80 \pm 0.07) \times 10^{-3}$	10
3	$(1.58 \pm 0.04) \times 10^{-3}$	21
4	$(1.34 \pm 0.02) \times 10^{-3}$	33

4.1.3.2. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ASC Etkileşiminin UV Tekniğı İle İnceleme Bulguları

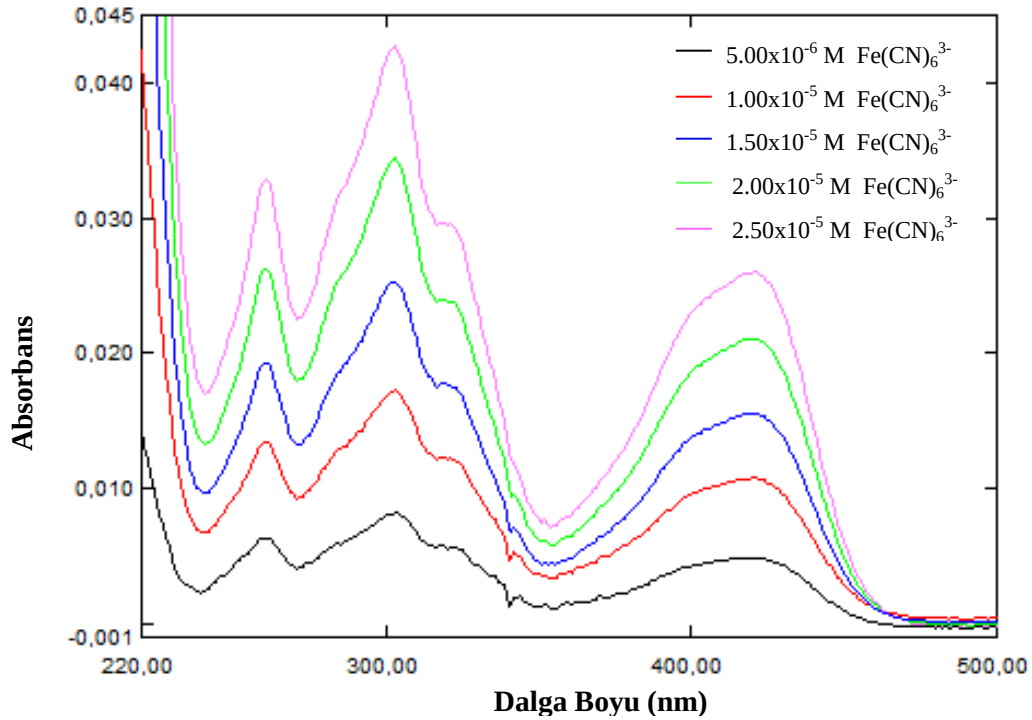
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ASC etkileşmesi ayrıca spektrofotometrik yöntem ile de incelenmiştir.

Şekil 4.11’de UV tekniğı kullanılarak çizilen $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisinin spektrumu görölmektedir. Spektrumların değeriendirilmesi UVProbe programı yardımıyla yapılmıştır.

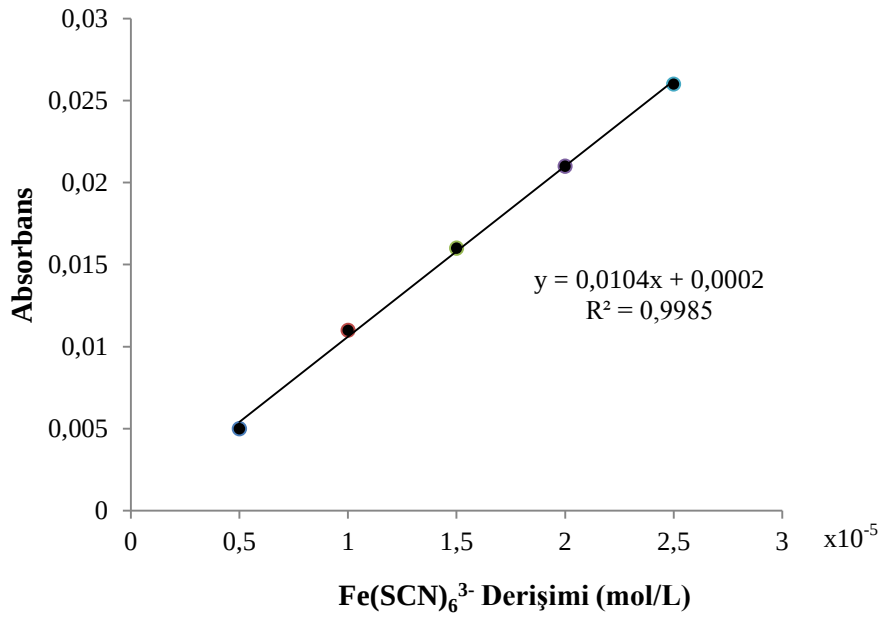


Şekil 4.11. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisinin spektrumu (pH=5,56)

5.00×10^{-6} - 2.50×10^{-5} M derişim aralığında standart $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözelti serisi hazırlanarak 190-1100 nm arasında spektrum taraması yapılmıştır. Maksimum absorpsiyonun olduğu 420 nm’de kalibrasyon grafiğı çizilmiştir.

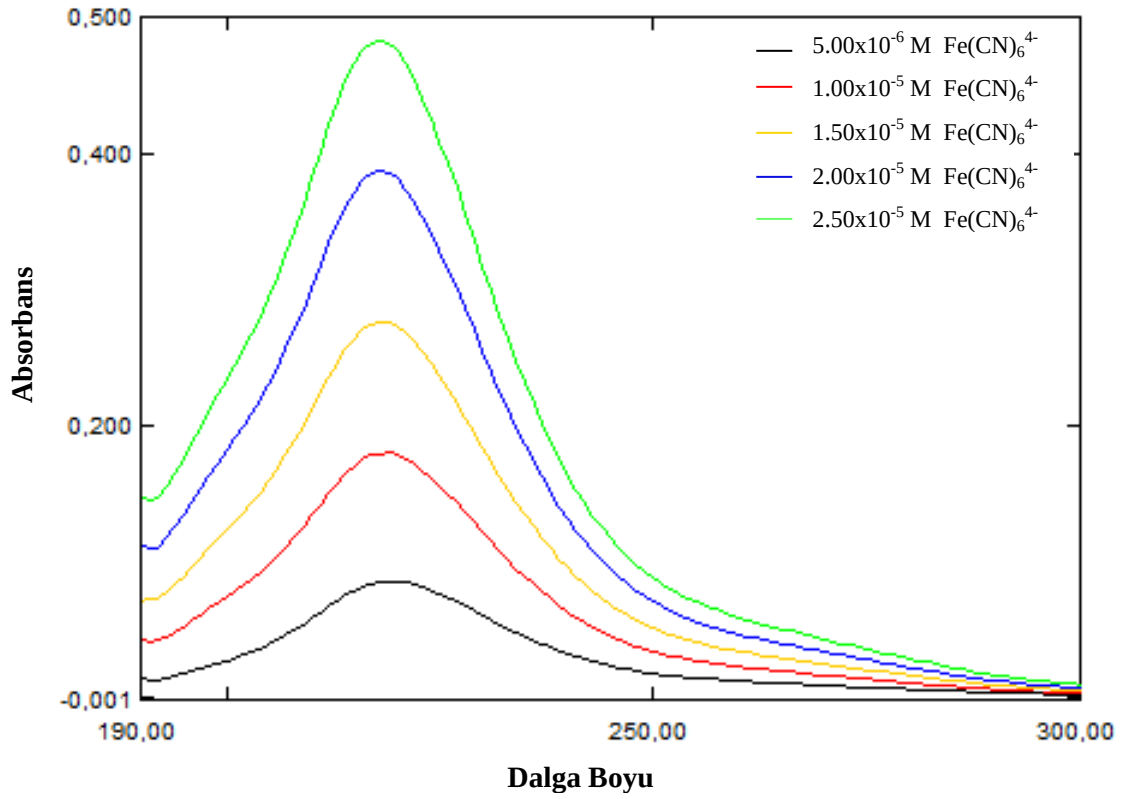


Şekil 4.12. Farklı derişimlerde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ spektrumları

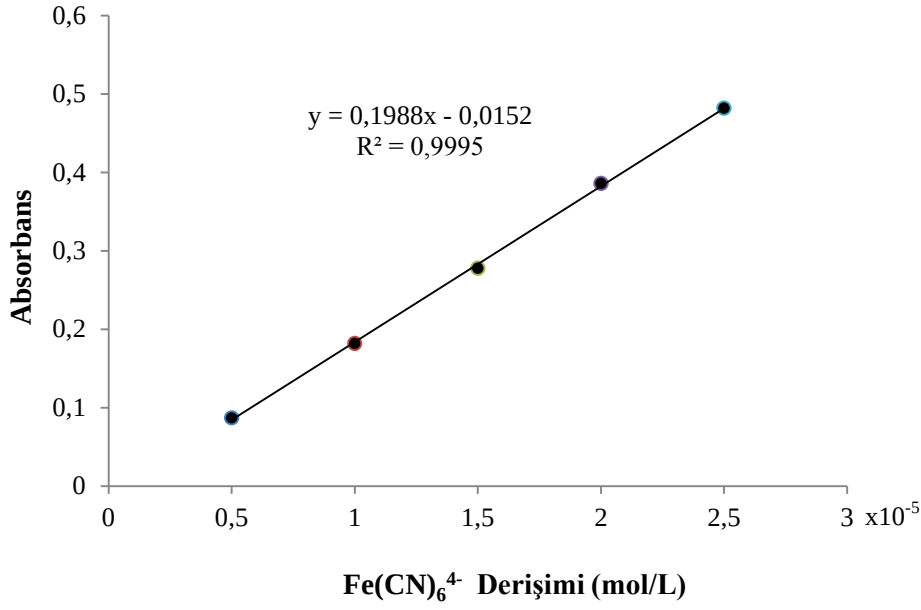


Şekil 4.13. Fe(CN)₆³⁻ kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\max}$ =420 nm)

Fe(CN)₆³⁻- ASC etkileşiminin spektrofotometrik olarak incelenmesine geçmeden önce Fe(CN)₆⁴⁻ ile ASC arasında bir etkileşimin olup olmadığı incelenmiştir.

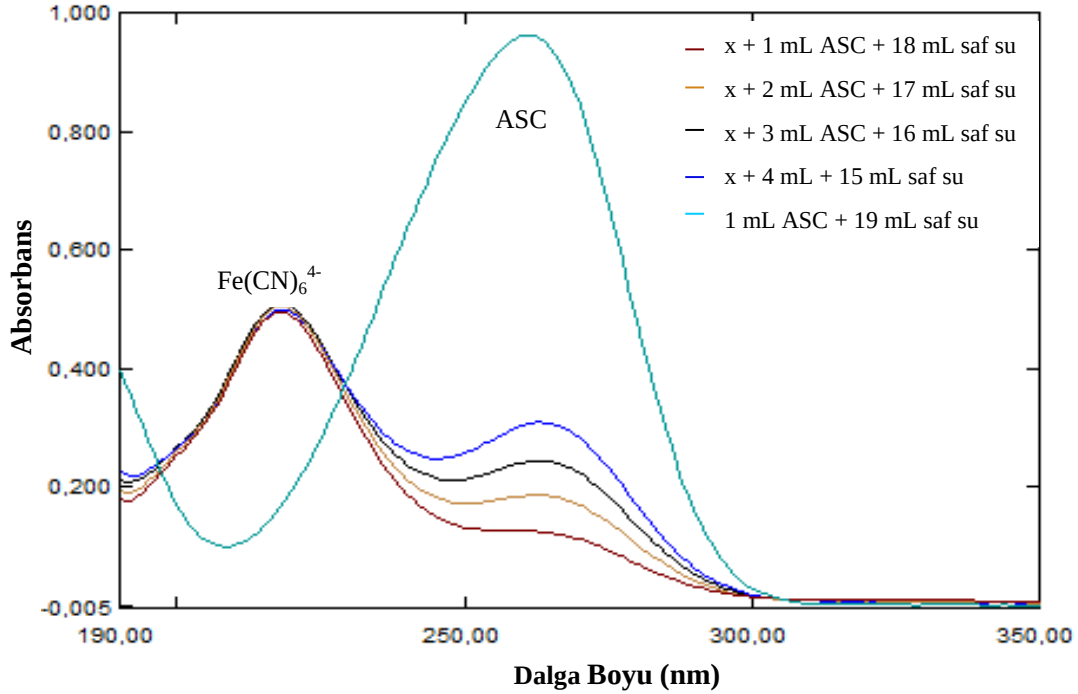


Şekil 4.14. Farklı derişimlerde Fe(CN)₆⁴⁻ spektrumları ($\lambda_{\max}$ =218 nm)



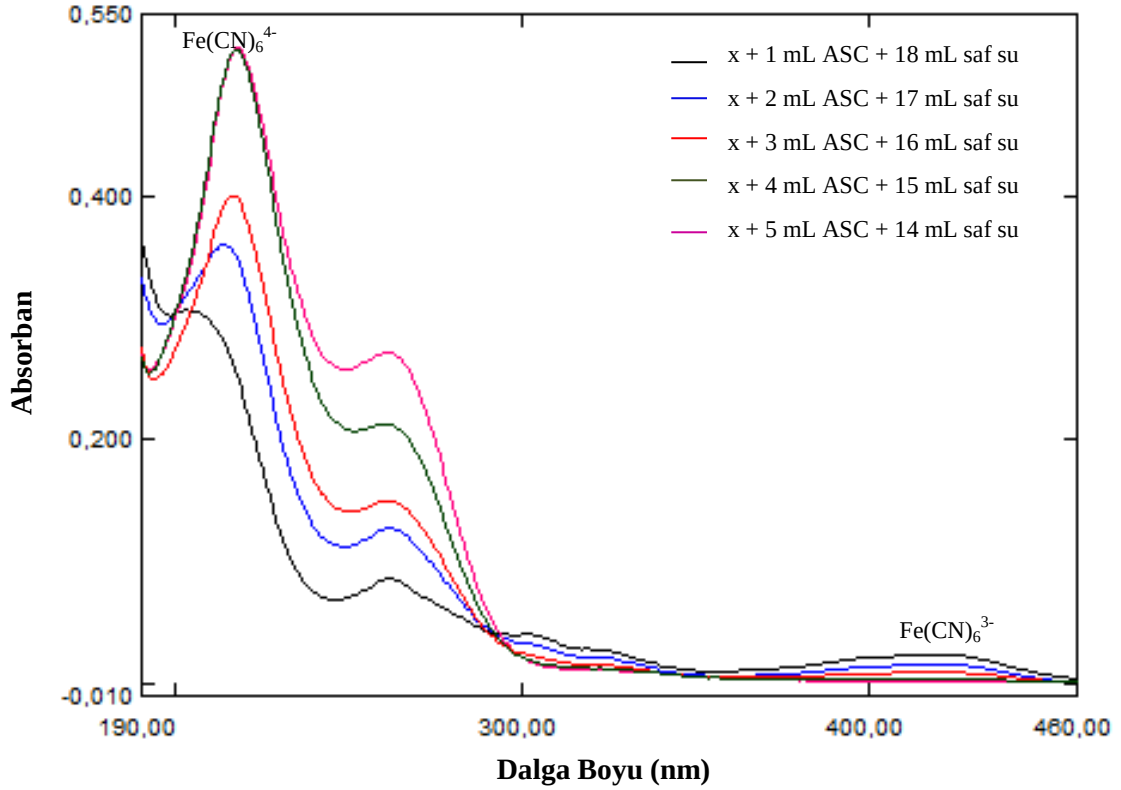
Şekil 4.15. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{max}}=218 \text{ nm}$)

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ çözeltisine artan derişimlerde ASC ilave edildiğinde Şekil 4.16’da da görüldüğü gibi $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ pik boyunda bir değişim olmamaktadır. Bu sonuca göre $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ - ASC arasında bir etkileşim olmadığı görülmektedir.

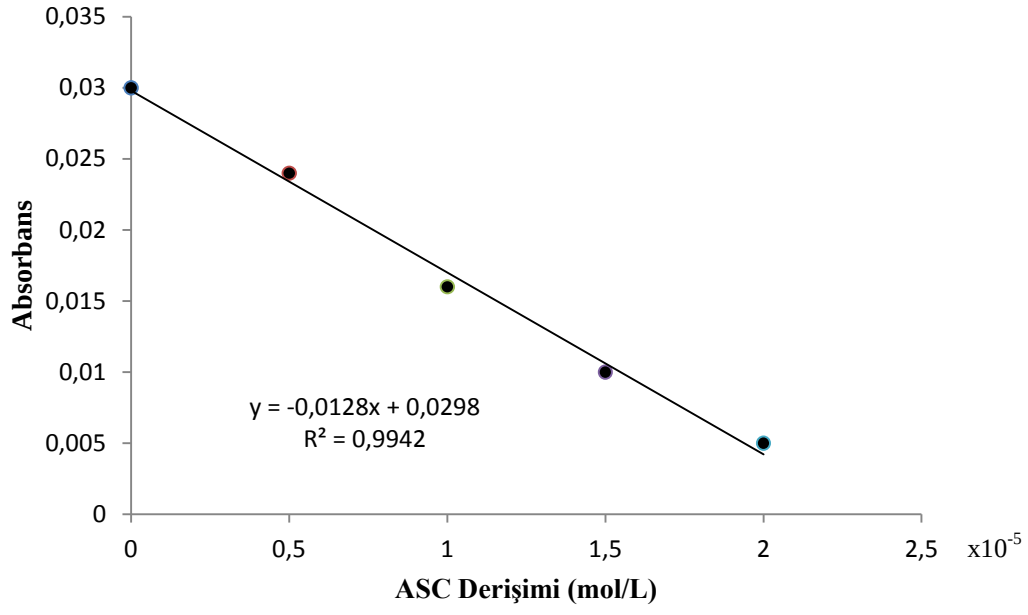


Şekil 4.16. $2.50 \times 10^{-4} \text{ M}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ çözeltisine artan miktarlarda $1.00 \times 10^{-4} \text{ M}$ ASC ilave edilmesi ile elde edilen spektrumlar (x:1 mL $5.00 \times 10^{-4} \text{ M}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$)

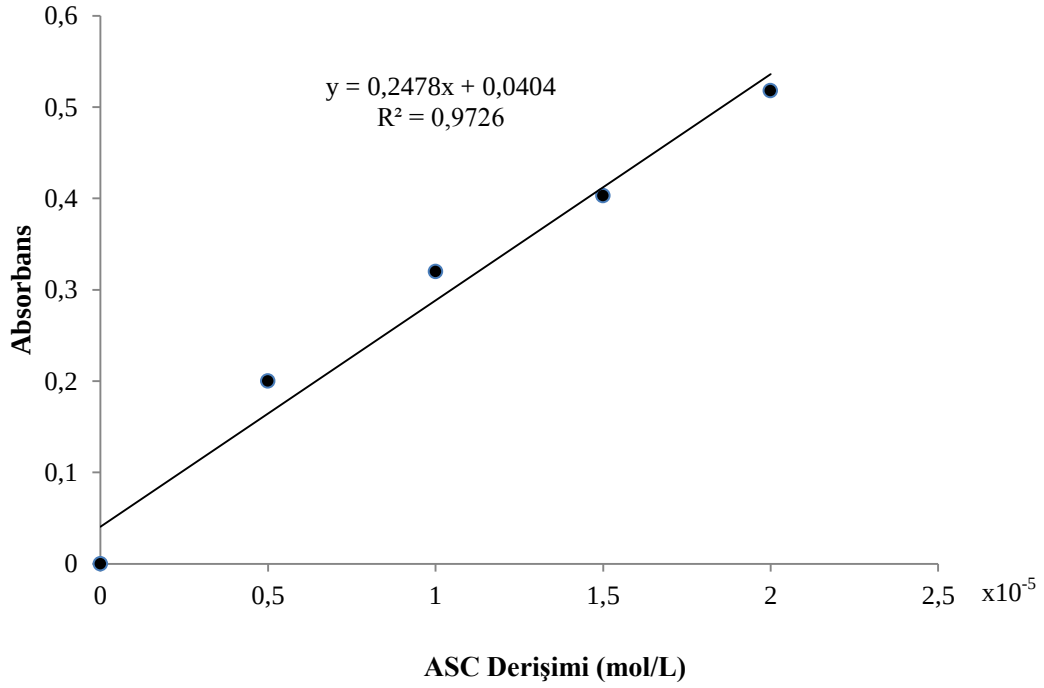
$\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$ - askorbik asit etkileşimi spektrofotometrik olarak Şekil 4.17’de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine askorbik asit ilavesinden sonra $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde eklenen ASC miktarına bağlı olarak küçülme, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ pikinde ise büyüme görülmektedir. Dolayısıyla ASC'nin antioksidan etkisi spektrofotometrik olarak gözlenmiştir.



Şekil 4.17. 2.50×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda 1.00×10^{-4} M ASC ilave edilmesi ile elde edilen spektrumlar (x:1 mL 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$)



şekil 4.18. 2.50×10^{-5} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltilisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ absorbansındaki azalma ($\lambda_{\text{max}}=420$ nm)

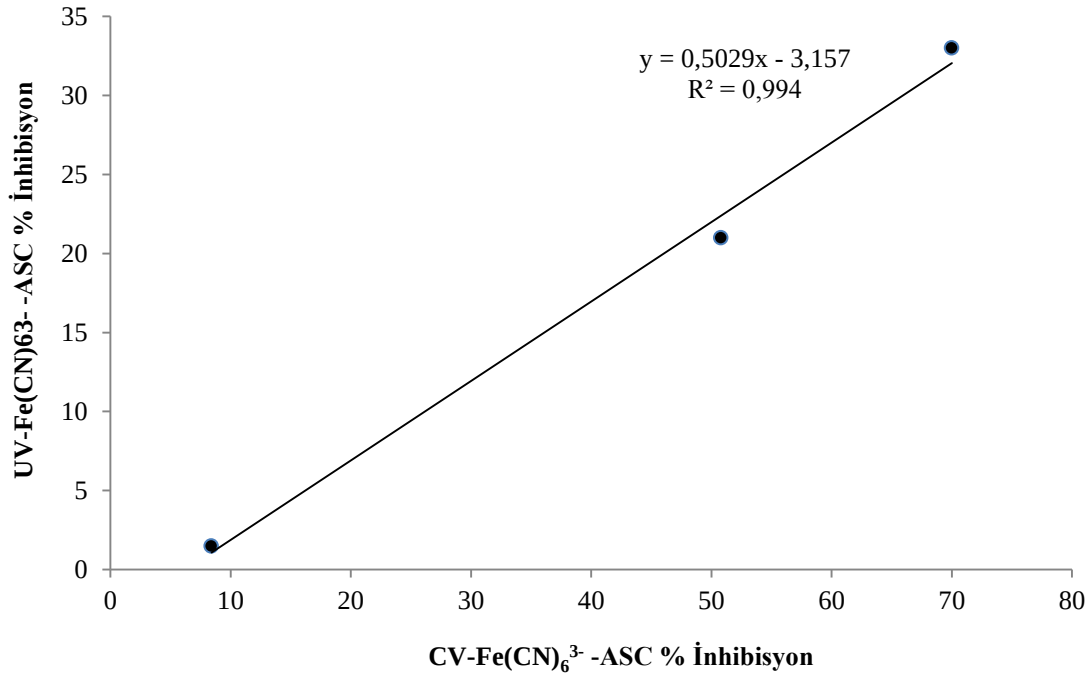


şekil 4.19. 2.50×10^{-5} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ çözeltilisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ absorbansındaki artma ($\lambda_{\text{max}}=218$ nm)

Tablo 4.2. 2.50×10^{-5} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda ASC eklenmesi ile çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları

1.10^{-4} M ASC (mL)	$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	% İnhibisyon
0	$(2.50 \pm 0.01) \times 10^{-5}$	-
1	$(2.29 \pm 0.01) \times 10^{-5}$	8.40
2	$(1.52 \pm 0.02) \times 10^{-5}$	39.20
3	$(1.23 \pm 0.01) \times 10^{-5}$	50.80
4	$(0.75 \pm 0.03) \times 10^{-5}$	70.00

Askorbik asidin $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonunu indirgeme kapasitesinin spektroskopik ve voltametrik ölçümleri arasındaki korelasyon Şekil 4.20’de verilmiştir ($r=0.99$).



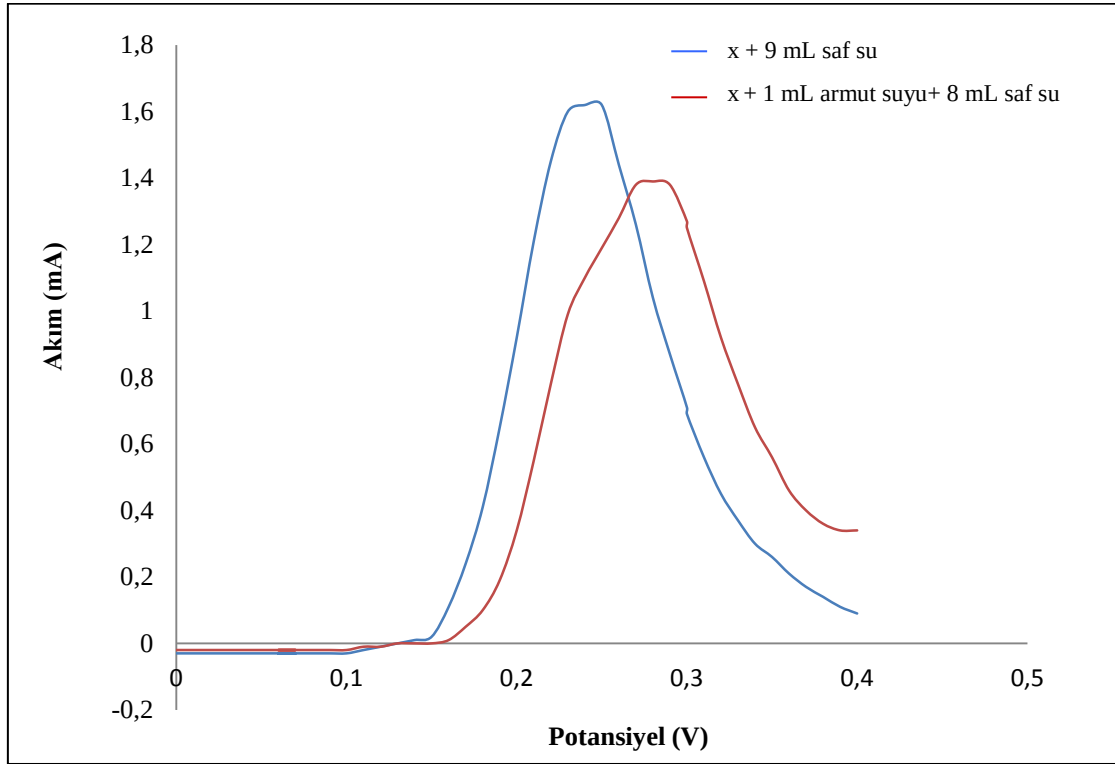
Şekil 4.20. Askorbik asidin $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonunu indirgeme kapasitesinin spektroskopik ve voltametrik ölçümleri arasındaki korelasyon

4.2.Bazı Gıda Maddelerinde TAC Tayini İçin Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

4.2.1. $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar

4.2.1.1.DPP Tekniği İle Elde Edilen Bulgular

Polarografik yöntem değişik meyve ve sebzelere uygulanmıştır. Örneğin; armudun antioksidan kapasitesi bu yöntemle incelenmiştir. Şekil 4.21’de görüldüğü gibi Fe^{3+} çözeltisine armut suyu ilave edildiği zaman pik boyunda küçülme olmaktadır. Yani armutta bulunan antioksidan maddeler Fe^{3+} iyonunu inhibe etmektedir.

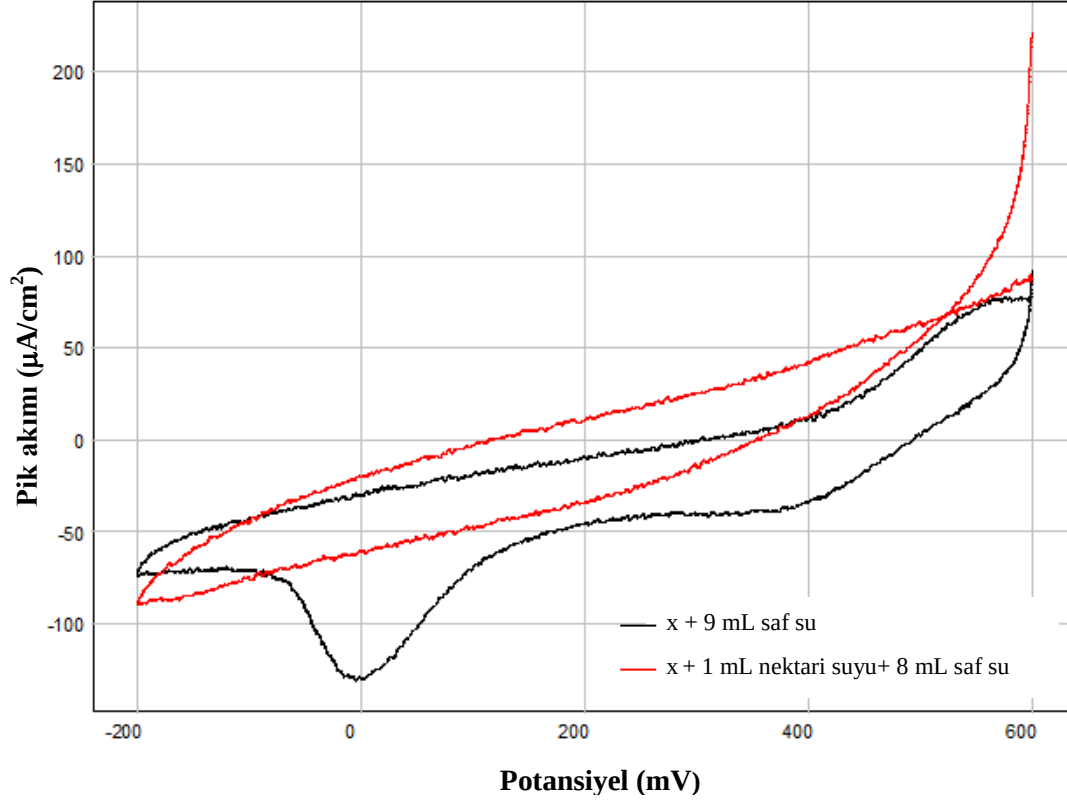


Şekil 4.21. $1.00 \times 10^{-3} \text{ M Fe}^{3+}$ - armut suyu polarogramı (Tarama hızı: 5 mV/s, Damla ömrü: 1 s; Puls genliği: 100 mV, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL $2.00 \times 10^{-3} \text{ M Fe}^{3+}$)

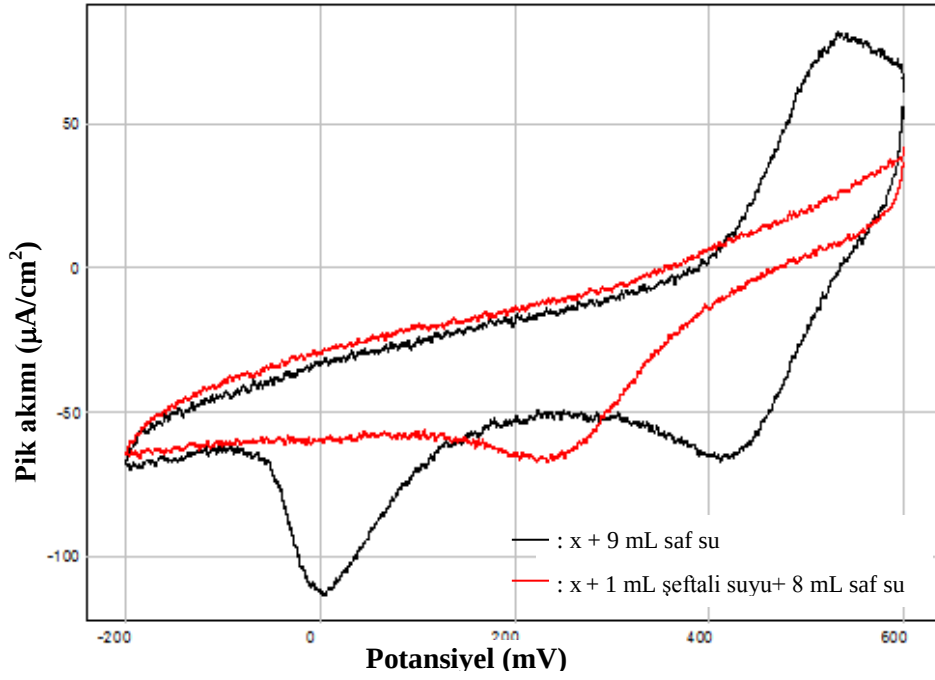
Bu sonuçtan yola çıkılarak gıda maddelerindeki toplam antioksidan kapasite tayininin diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle pik boyundaki azalış hesaplanarak yapılabileceği düşünülmüştür.

4.2.1.2. CV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular

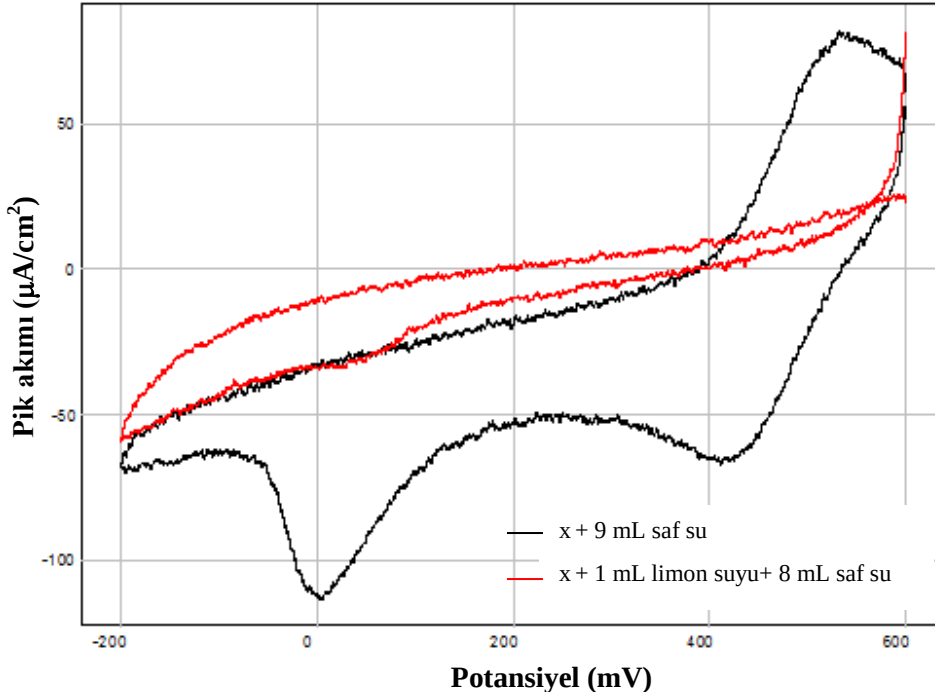
Hazırlanan Fe^{3+} çözeltisine çeşitli meyve ve sebze suları ilave edilerek alınan voltamogramlar Şekil 4.22, 4.23, 4.24 ve 4.25’de gösterilmiştir.



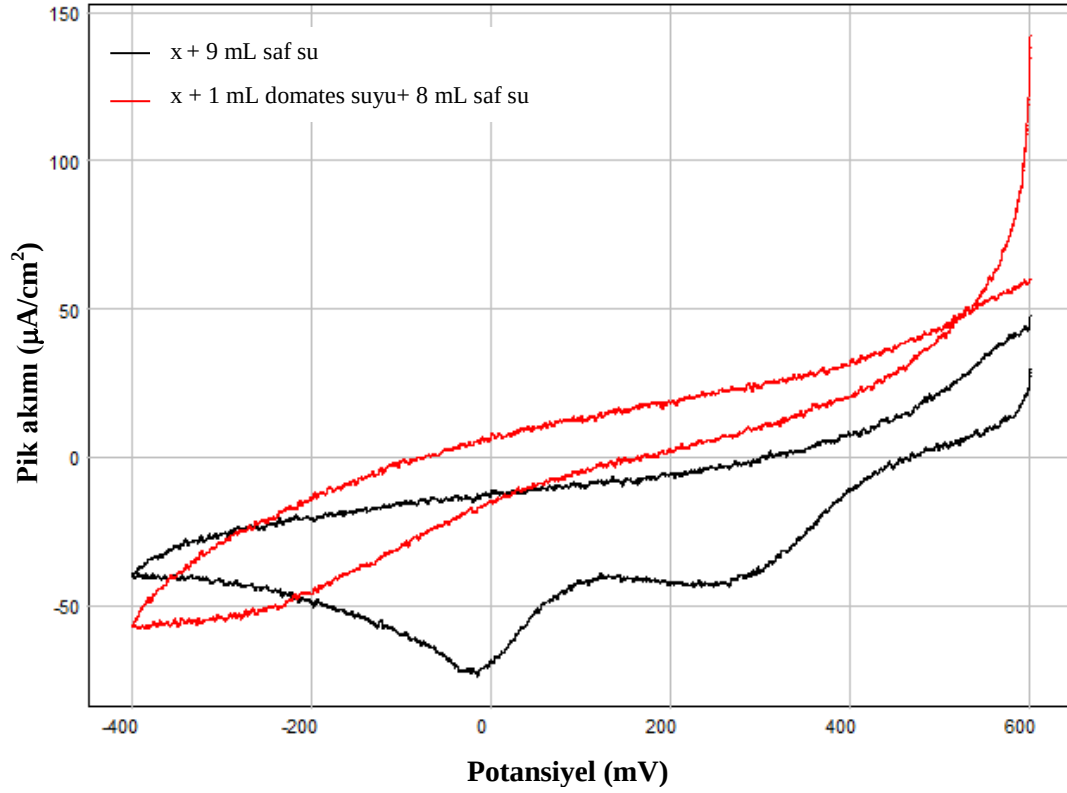
Şekil 4.22. 1.00×10^{-3} M Fe^{3+} çözeltisinin ve bu çözeltiye nektari suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.10, nektari suyu eklendikten sonra pH=3.50, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Fe^{3+})



Şekil 4.23. 1.00×10^{-3} M Fe^{3+} çözeltisinin ve bu çözeltiye şeftali suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH= 3.40, şeftali suyu eklendikten sonra pH= 3.30, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Fe^{3+})



Şekil 4.24. 1.00×10^{-3} M Fe^{3+} çözeltisinin ve bu çözeltiye limon suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.20, limon suyu eklendikten sonra pH=3.05, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Fe^{3+})



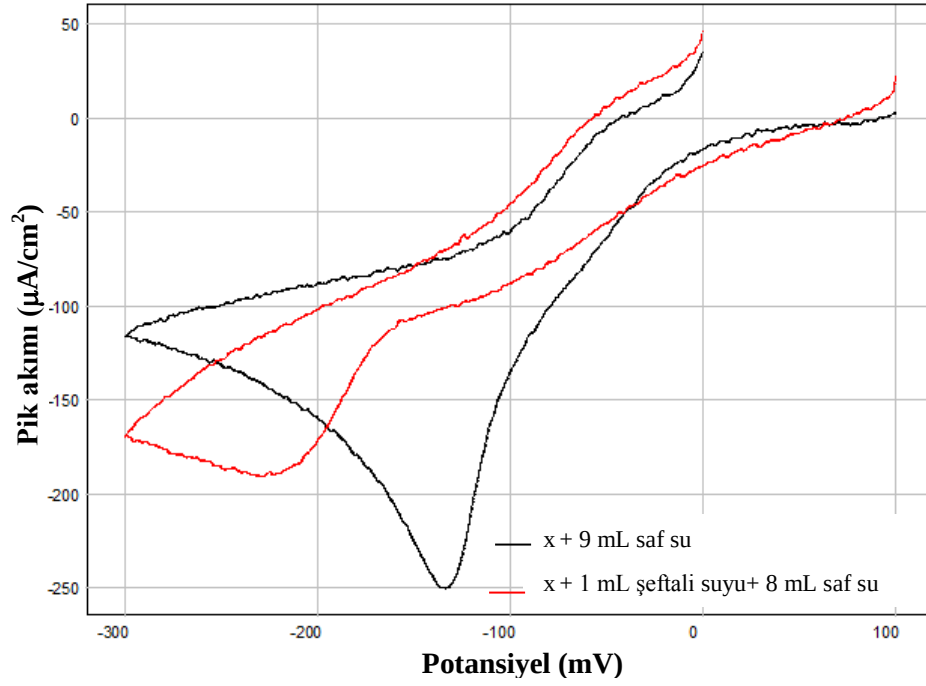
Şekil 4.25. 1.00×10^{-3} M Fe^{3+} çözeltisinin ve bu çözeltiye domates suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=3.10, domates suyu eklendikten sonra pH=3.15, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Fe^{3+})

Voltamogramlardan da görüldüğü gibi Fe^{3+} ile yapılan çalışmalarda, ortama meyve-sebze suyu ilave edildiğinde Fe^{3+} pikinde küçülme olmaktadır. Dolayısıyla Fe^{3+} indirgeme kapasitesinden yararlanarak gıda maddelerinin antioksidan kapasitesi hesaplanabilir.

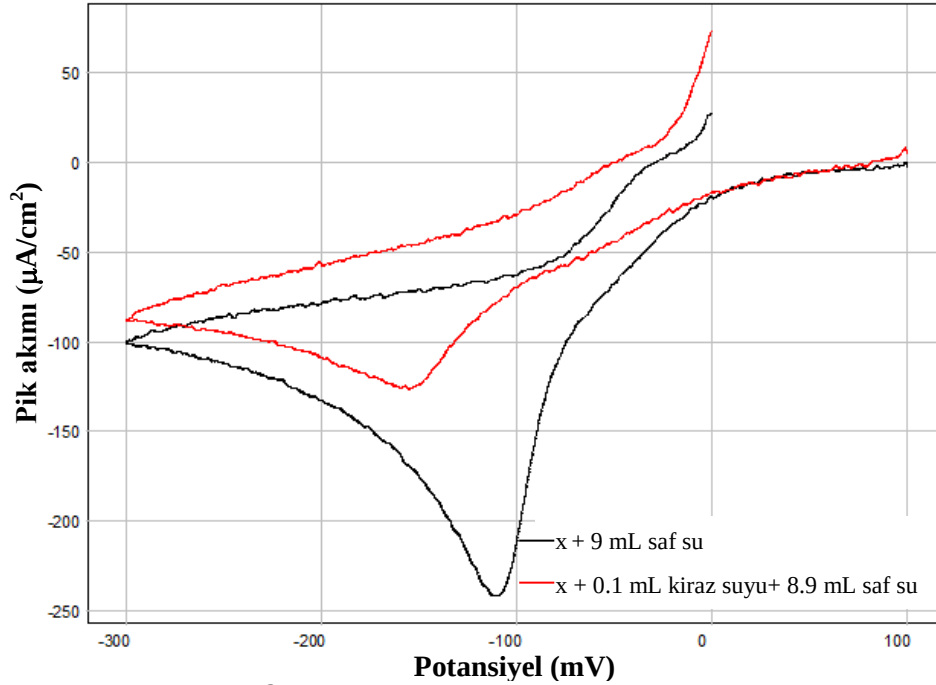
4.2.2. $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar

Cu^{2+} iyonu için kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra toplam antioksidan kapasite tayini için geliştirilen voltametrik yöntem değişik meyve ve sebzelere uygulanmıştır.

Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ çözeltisine şeftali ve kiraz meyvelerinden elde edilen taze meyve sularından ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim görülmektedir.

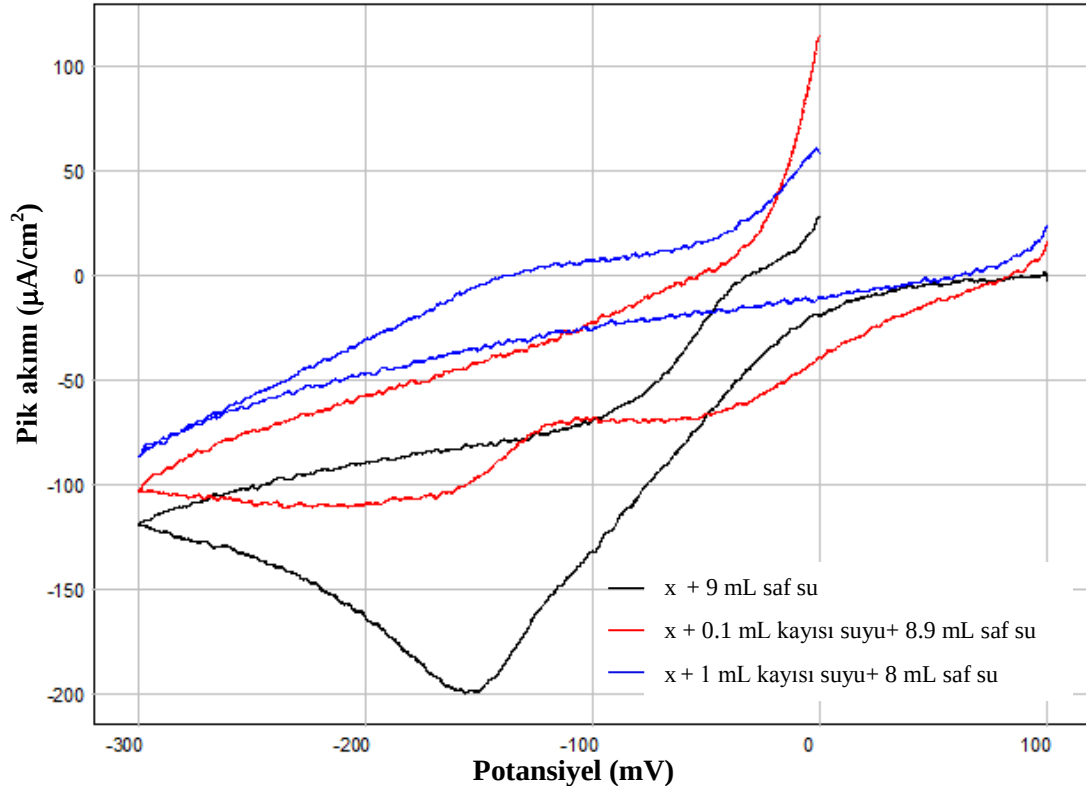


Şekil 4.26. 1.00×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisinin ve bu çözeltiye şeftali suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (Tarama hızı 20 mV/s, pH=5.18, şeftali suyu eklendikten sonra pH=3.87, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})

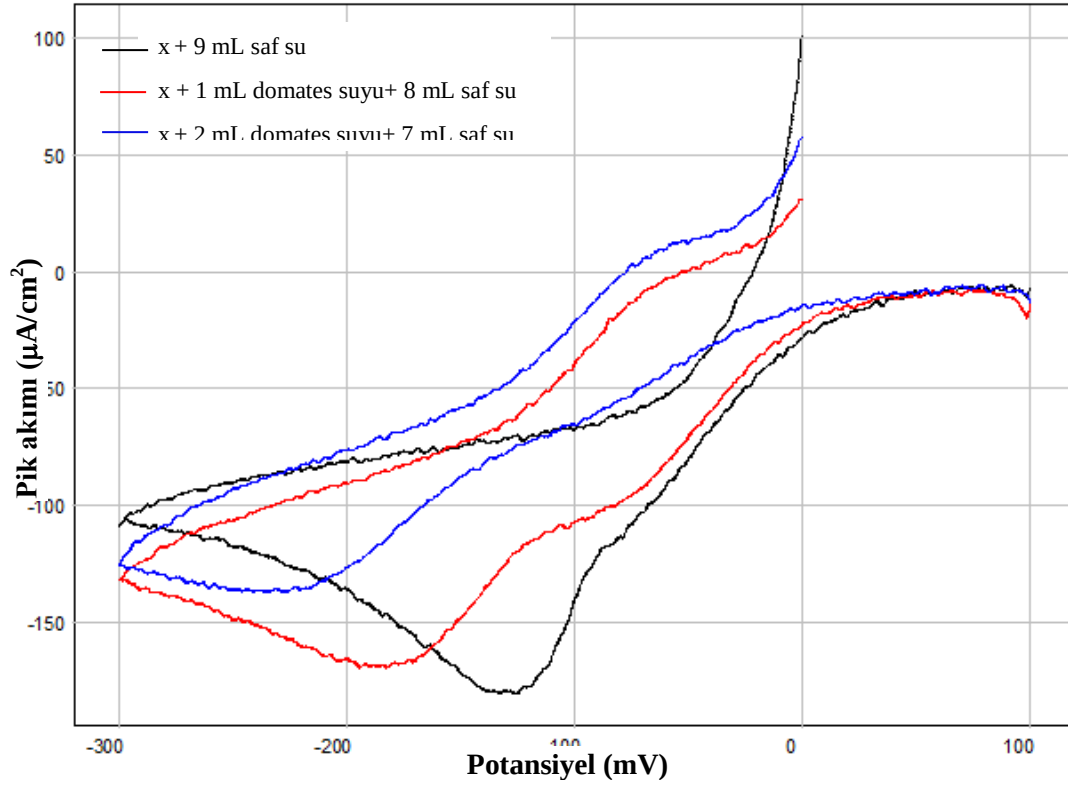


Şekil 4.27. 1.00×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisinin ve bu çözeltiye kiraz suyu ilavesi ile edilen çözeltinin voltamogramları (20 mV/s, pH=5.32, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})

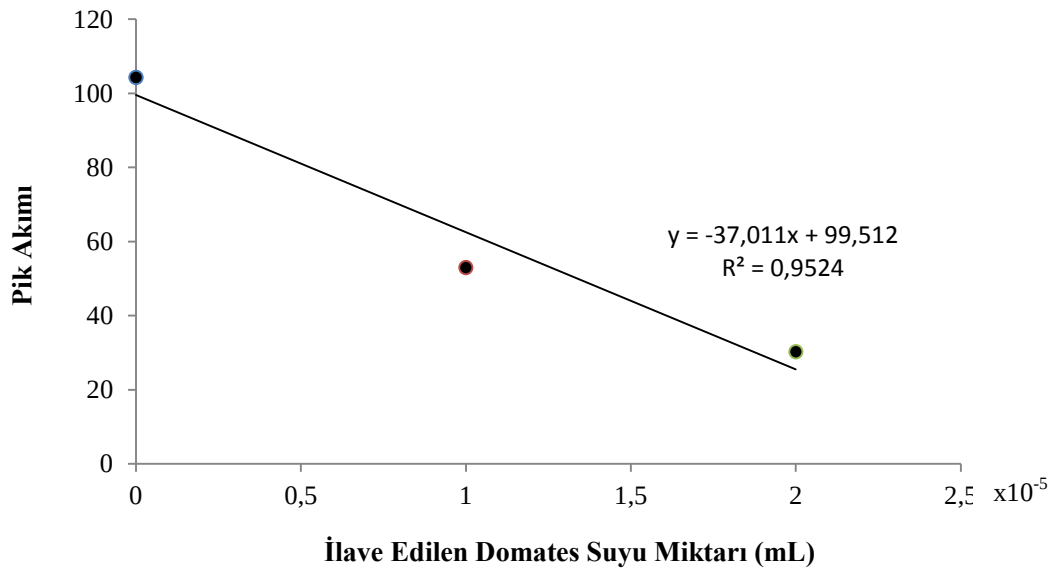
Şekil 4.28'de Cu^{2+} çözeltisine artan miktarlarda taze sıkılmış kayısı suyu ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim görülmektedir. Yapılan pik analizlerine göre ilave edilen meyve suyu miktarı arttıkça Cu^{2+} pikindeki küçülme artmaktadır.



Şekil 4.28. 1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine kayısı suyu ilavesi ile elde edilen voltamogram (20 mV/s, pH=5.33, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})



Şekil 4.29. 1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine artan miktarlarda taze sıkılmış domates suyu ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim (Tarama hızı 20 mV/s, pH=4.19, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 2.00×10^{-3} M Cu^{2+})



Şekil 4.30. 1×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine artan miktarlarda taze sıkılmış domates suyu ilave edilmesi ile Cu^{2+} pikindeki değişim.

Voltamogramlardan da görüldüğü gibi meyve suyu eklendiği zaman Cu^{2+} pikinde küçülme bu meyvelerin antioksidan gücü olduğunu göstermektedir.

Cu^{2+} 'nin mol miktarındaki azalmaya eşdeğer incelenen meyve veya sebzenin toplam antioksidan kapasitesi saptanmıştır. Bunun için meyve ve sebzelerin % inhibisyon oranları Eşitlik (4.5) kullanılarak hesaplanmıştır. Bulunan değer o meyve veya sebzenin toplam antioksidan kapasitesine karşılık gelmektedir.

Tablo 4.3: 1.00×10^{-3} M Cu^{2+} çözeltisine 1 mL meyve suyu eklendikten sonra çözeltide kalan Cu^{2+} derişimi ve meyvelerin % inhibisyon oranları

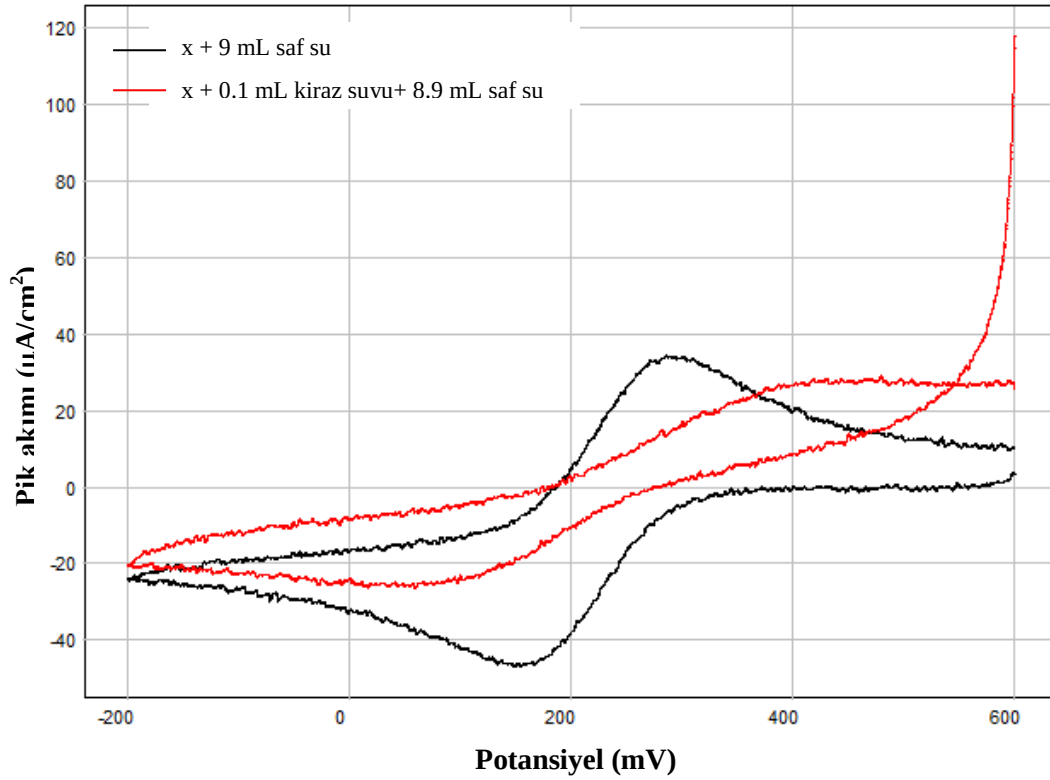
Meyve-sebze	Çözeltide Kalan Cu^{2+} Konsantrasyonu (mol/L)	% İnhibisyon Oranı
Portakal	$(3.25 \pm 0.12) \times 10^{-4}$	67.50
Mandalina	$(4.82 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	51.80
Armut	$(5.02 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	49.80
Şeftali	$(4.49 \pm 0.09) \times 10^{-4}$	55.10
Domates	$(7.88 \pm 0.04) \times 10^{-4}$	21.20

Voltamogramlardan da görüldüğü gibi Fe^{3+} ve Cu^{2+} ile yapılan çalışmalarda, ortama meyve - sebze suyu ilave edildiğinde Fe^{3+} ve Cu^{2+} piklerinde küçülme olmaktadır. Dolayısıyla Fe^{3+} ve Cu^{2+} indirgeme kapasitelerinden yararlanılarak gıda maddelerinin antioksidan kapasitesi hesaplanabilir. Ancak çalışmalarımızda tersinir pikler ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilemediği için $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ve $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ iyon çiftleri ile çalışmalara devam edilmemiştir. Bunun yerine iyi tersinir pikler ve tekrarlanabilen sonuçlar veren $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ iyon çifti ile çalışmalara devam edilmiştir.

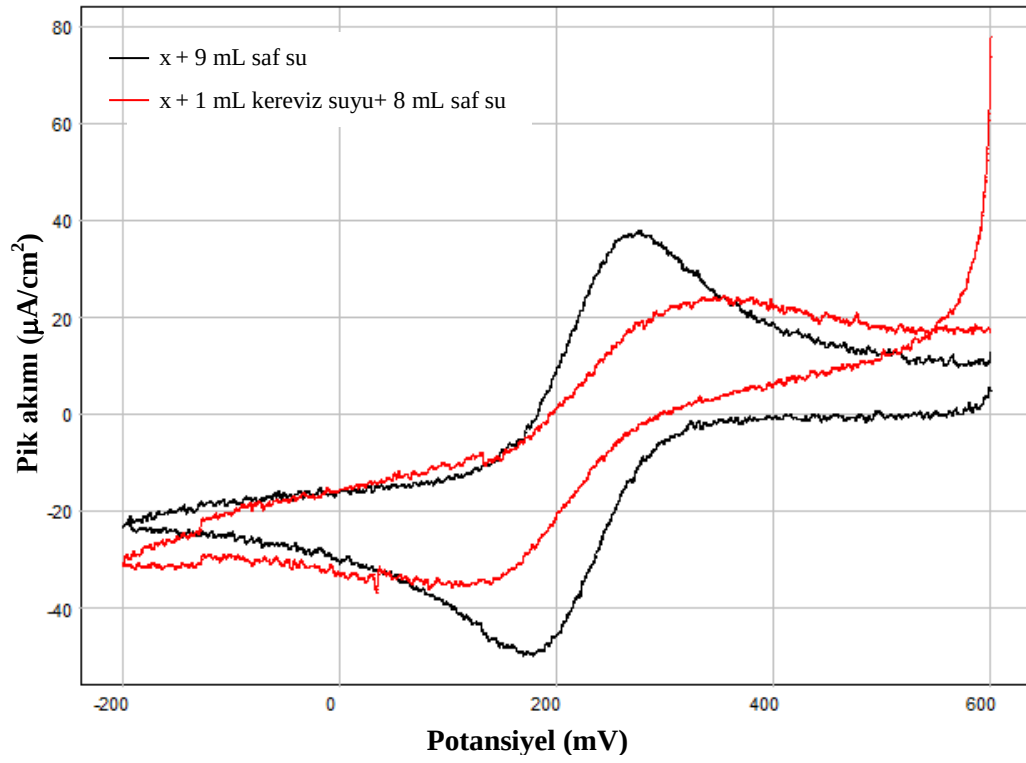
4.2.3. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ İyon Çifti İle Yapılan Çalışmalar

4.2.3.1. CV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonu için kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra toplam antioksidan kapasite tayini için geliştirilen voltametrik yöntem değişik meyve ve sebzelere uygulanmıştır. Şekil 4.30 ve Şekil 4.31 elde edilen voltamogramlara örnek olarak verilmiştir.

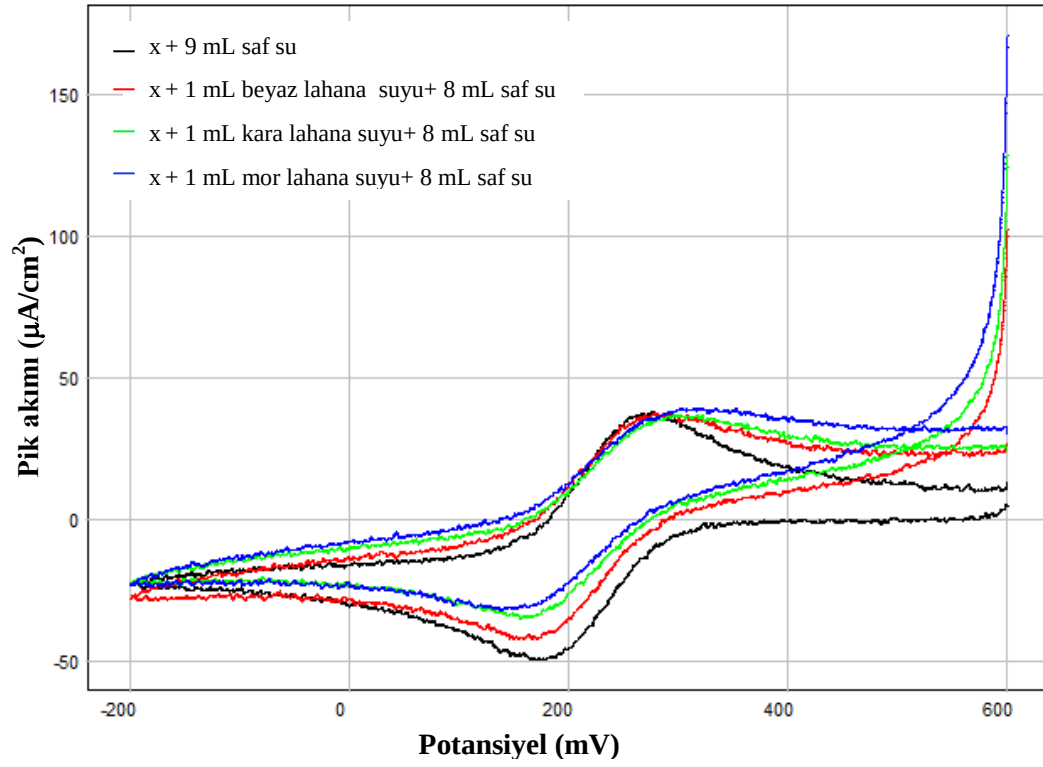


Şekil 4.31. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine taze sıkılmış ısırgan otu suyundan ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.96, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)

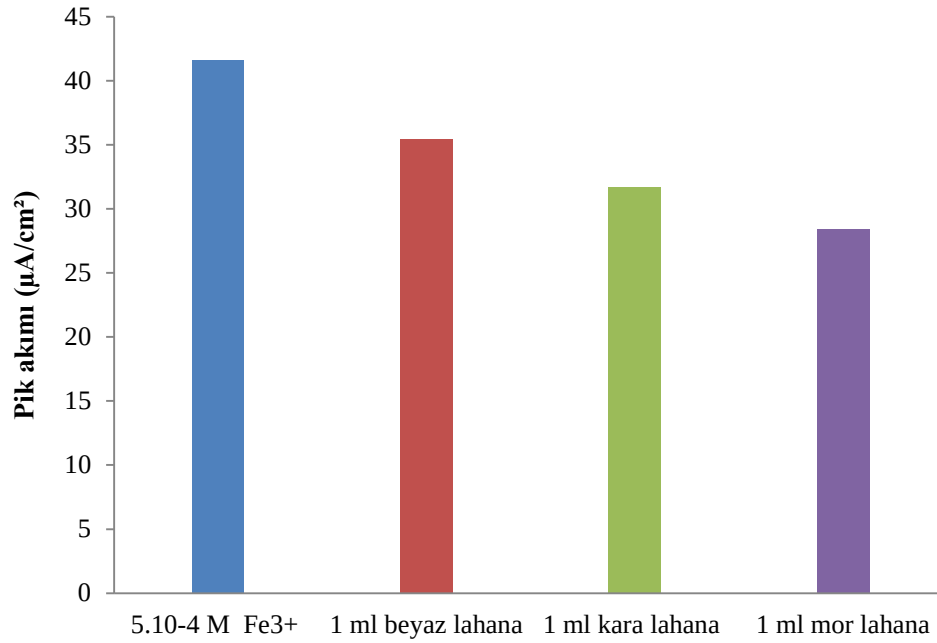


Şekil 4.32. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine taze sıkılmış kereviz suyundan ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (Tarama hızı: 20 mV/s, pH=5.85, x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)

Şekil 4.33'de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine beyaz, kara ve mor lahanalarından elde edilen sebze sularının ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim görülmektedir. Elde edilen voltamogramların pik analizi sonucunda toplam antioksidan kapasitesi en yüksek olan lahanalar türü mor lahanadır.



Şekil 4.33. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine aynı miktarlarda taze sıkılmış beyaz, kara ve mor lahana sularından ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)



Şekil 4.34. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine aynı miktarlarda taze sıkılmış beyaz, kara ve mor lahana sularından ilave edilmesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikindeki değişim.

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde meydana gelen küçülme sebzelerin antioksidan özelliği olduğunu göstermektedir. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 'ün mol miktarındaki azalmaya eşdeğer incelenen meyve veya sebzenin toplam antioksidan kapasitesi % inhibisyon oranlarından faydalanılarak saptanmıştır.

Çeşitli sebze ve meyvelerle yapılan CV çalışmaları sonucu elde edilen sonuçlar Tablo 4.4' de verilmiştir.

Tablo 4.4. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 mL taze sıkılmış meyve ve sebze suyu eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları (n=3)

Meyve-sebze	CV- $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	CV-%İnhibisyon Oranı
Havuç	$(3.03 \pm 0.07) \times 10^{-4}$	39.4
Mor havuç	$(2.12 \pm 0.11) \times 10^{-4}$	57.6
Turp	$(4.79 \pm 0.07) \times 10^{-4}$	4.20
Şalgam	$(3.85 \pm 0.07) \times 10^{-4}$	23.0
Kereviz	$(3.21 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	36.2
Karnabahar	$(4.24 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	15.2
Kabak	$(4.39 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	12.2
Pırasa	$(4.81 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	3.80
Pazı	$(3.90 \pm 0.12) \times 10^{-4}$	22.0
Ispanak	$(3.66 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	29.0
Maydanoz	$(4.57 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	8.60
Semiz otu	$(4.80 \pm 0.11) \times 10^{-4}$	4.00
Beyaz lahana	$(3.93 \pm 0.11) \times 10^{-4}$	21.4
Mor lahana	$(3.21 \pm 0.12) \times 10^{-4}$	35.8
Kırmızı pancar	$(3.04 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	39.2
Yeşil biber	$(3.75 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	25.0
Mandalina	$(4.76 \pm 0.05) \times 10^{-4}$	4.80
Kivi	$(4.74 \pm 0.12) \times 10^{-4}$	5.20
Limon	$(4.92 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	1.60
Ticari vişne suyu	$(4.87 \pm 0.07) \times 10^{-4}$	2.60
Ticari elma suyu	$(4.79 \pm 0.12) \times 10^{-4}$	4.20
Ticari kayısı suyu	$(4.99 \pm 0.09) \times 10^{-4}$	0.20

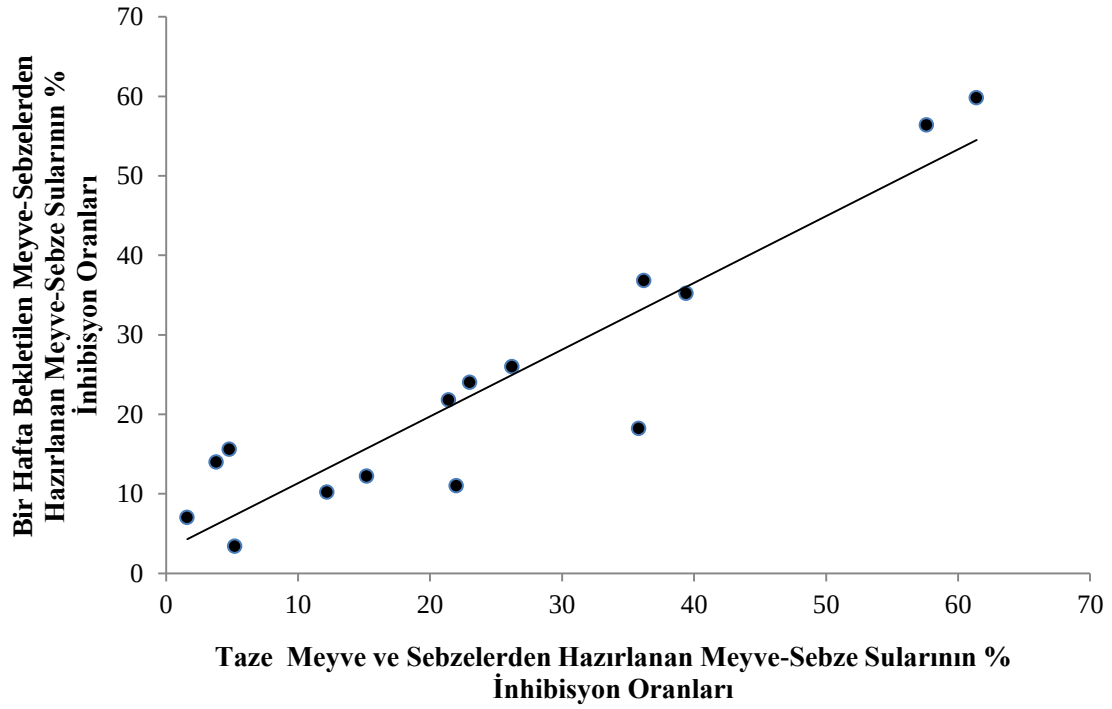
Sebzelerin toplam antioksidan kapasitesi ise içeriğinde bulunan antioksidan maddelerle doğrudan ilişkilidir. Özellikle koyu ve parlak renge sahip olan sebzelerin antioksidan içeriğinin daha fazla olduğunu söyleyebiliriz.

Ayrıca, taze meyve ve sebzelerle hazırlanan meyve-sebze suları ile 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve-sebze suları arasındaki fark incelenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve ve sebze sularından 1 mL eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları (n=3)

Meyve-sebze	CV- $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	CV- %İnhibisyon Oranı
Havuç	$(3.24 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	35.2
Mor havuç	$(2.18 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	56.4
Turp	$(3.86 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	22.8
Şalgam	$(3.80 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	24.0
Kereviz	$(3.16 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	36.8
Karnabahar	$(4.39 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	12.2
Kabak	$(4.49 \pm 0.05) \times 10^{-4}$	10.2
Pırasa	$(4.27 \pm 0.13) \times 10^{-4}$	14.0
Beyaz lahana	$(3.91 \pm 0.11) \times 10^{-4}$	21.8
Mor lahana	$(4.09 \pm 0.07) \times 10^{-4}$	18.2
Pazı	$(4.45 \pm 0.09) \times 10^{-4}$	11.0
Mandalina	$(4.22 \pm 0.06) \times 10^{-4}$	15.6
Kivi	$(4.81 \pm 0.05) \times 10^{-4}$	3.40

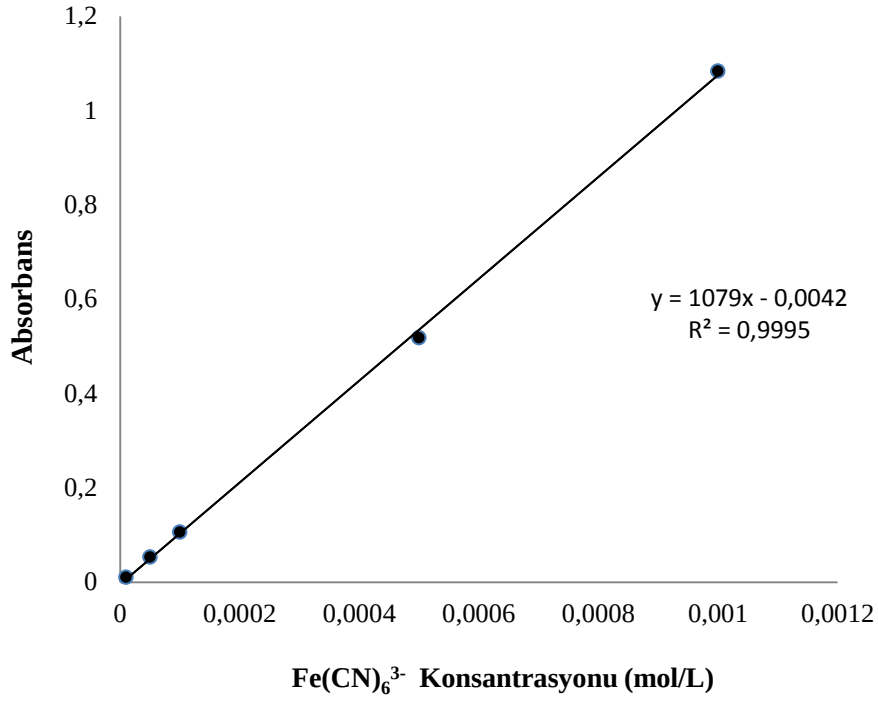
Tablo 4.5’den de görüldüğü gibi CV ile yapılan çalışmalar sonucunda taze meyve ve sebzelerden elde edilen meyve-sebze sularının antioksidan kapasiteleri ile 1 hafta buzdolabında havayla temas etmeyecek şekilde saklanan meyve--sebzelerden elde edilen meyve-sebze sularının antioksidan kapasiteleri arasında çok büyük bir fark yoktur.



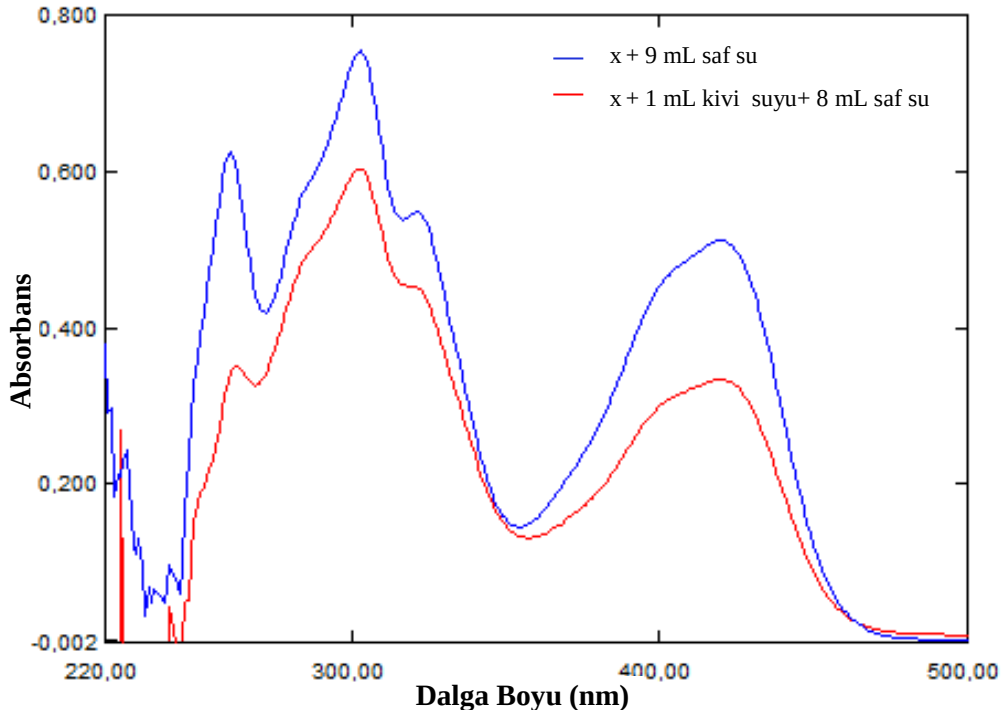
Şekil 4.35. Taze hazırlanan meye-sebze suları ile bir hafta bekletilerek hazırlanan meyve-sebze sularının CV yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasiteleri arasındaki korelasyon ($r=0.86$)

4.2.3.2. UV Tekniği İle Elde Edilen Bulgular

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonu için $1.00 \times 10^{-5} - 1.00 \times 10^{-3}$ M derişim aralığında kalibrasyon grafiği (Şekil 4.35) çizildikten sonra toplam antioksidan kapasite tayini için geliştirilen spektrofotometrik yöntem değişik meyve ve sebzelere uygulanmıştır. Örneğin; 5×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltilisine 1 mL kivi suyu ilave edilmesiyle elde edilen spektrum Şekil 4.36’da gösterilmiştir.

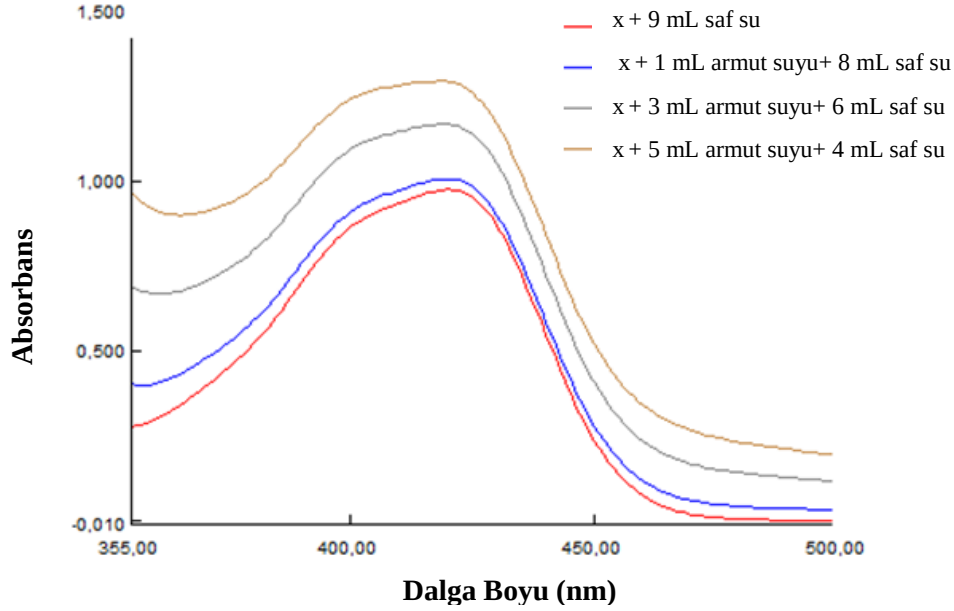


Şekil 4.36. Fe(CN)_6^{3-} 'ün kalibrasyon grafiği

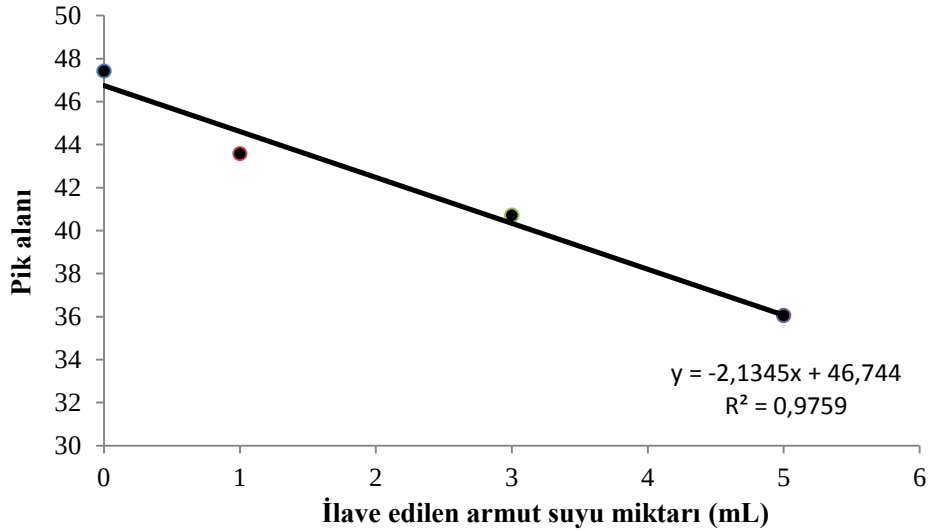


Şekil 4.37. $5,00 \times 10^{-4}$ M Fe(CN)_6^{3-} çözeltisine 1 mL kivi suyu ilavesiyle elde edilen UV- görünür bölge spektrumu (x:10 mL 0,20 M KNO_3 + 1 mL $1,00 \times 10^{-3}$ M Fe(CN)_6^{3-})

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda meyve-sebze suyu ilave edildiği zaman pikte nasıl bir değişim olduğu incelenmiştir. Bunun için metal iyonu içeren çözeltiye artan miktarlarda armut suyu ilave edilerek spektrumları çizilmiştir.



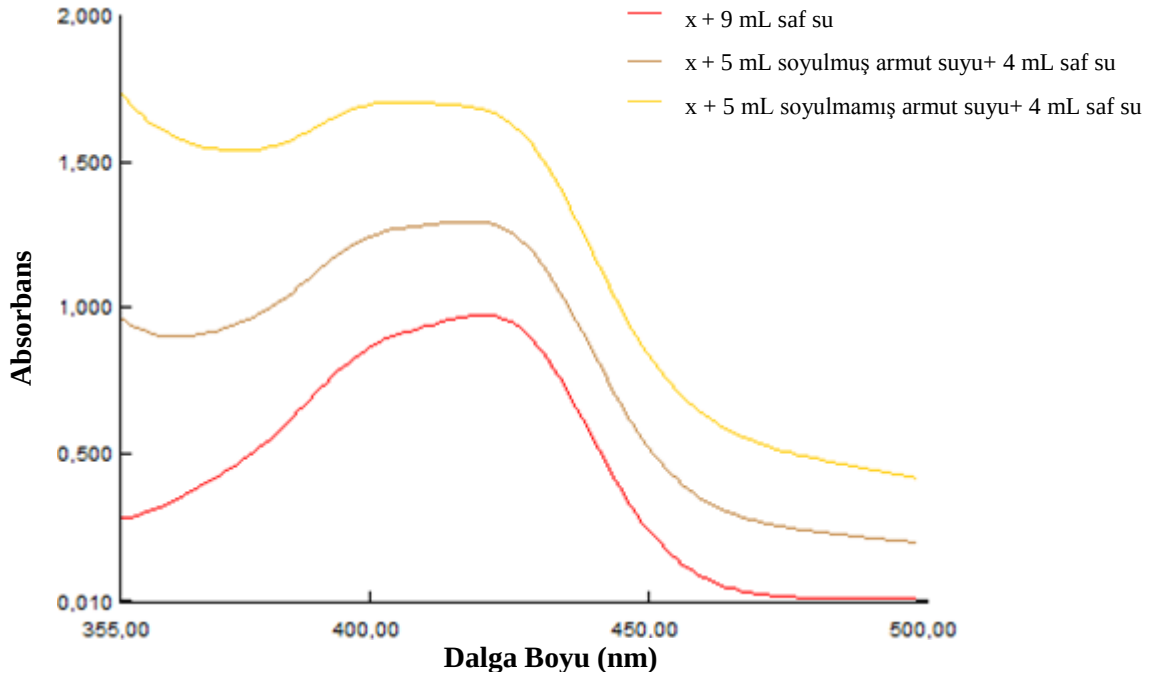
Şekil 4.38. 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda armut suyu ilavesi ile elde edilen spektrum (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)



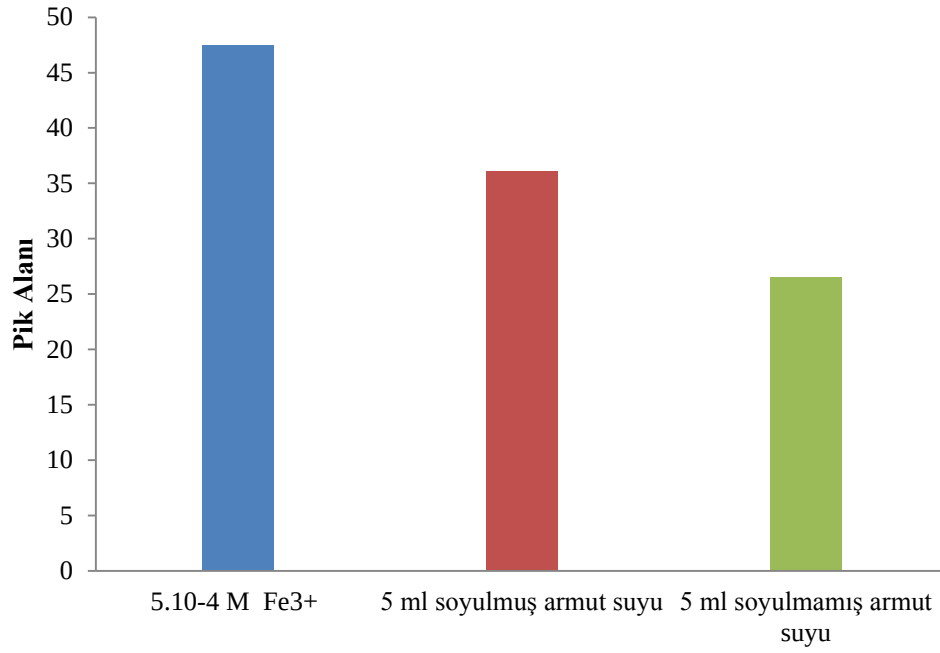
Şekil 4.39. 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine artan miktarlarda armut suyu ilavesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde meydana gelen küçülme (x:10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)

Şekil 4.38’de görüldüğü gibi ilave edilen meyve suyu miktarı arttıkça $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pik alanı küçülmektedir. Bu sonuçtan yola çıkılarak gıda maddelerindeki toplam antioksidan kapasite tayininin spektrofotometrik yöntemle çözeltinin absorbansındaki düşüş hesaplanarak yapılabileceği düşünülmüştür.

Başka bir çalışmada ise meyveleri kabuğu ile ya da kabuğunu soymadan tüketmenin toplam antioksidan kapasite açısından farkı olup olmadığı araştırılmıştır. Örneğin; armut meyvesinin kabuğu soyulmadan ve soyularak sıkılan suyundan 1 mL alınarak $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine ilave edilmiştir. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.39 ‘da gösterilmiştir.



Şekil 4.40. 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine soyulmuş ve soyulmamış armutlardan elde edilen armut sularının ilavesi ile elde edilen spektrum (x: 10 mL 0.20 M KNO_3 + 1 mL 1.00×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$)



Şekil 4.41. 1×10^{-3} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine soyulmuş ve soyulmamış armutlardan elde edilen armut sularının ilavesi ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde meydana gelen küçülme

Şekil 4.40'da görüldüğü gibi meyveleri soymadan kabuğu ile birlikte suyu sıkıldığı zaman antioksidan gücü daha fazla olmaktadır.

Bu sonuçlara göre; geliştirdiğimiz yöntemle meyve-sebzelerin toplam antioksidan kapasitesinin spektrofotometrik olarak da ölçülebileceğini gördükten sonra yöntem değişik meyve ve sebzelere uygulanmıştır. Çeşitli sebze ve meyvelerle yapılan UV çalışmaları sonucu elde edilen sonuçlar Tablo 4.6' da verilmiştir.

Tablo 4.6: 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 mL taze sıkılmış meyve ve sebze suyu eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları ($\lambda_{\text{max}}=420$ nm, $n=3$)

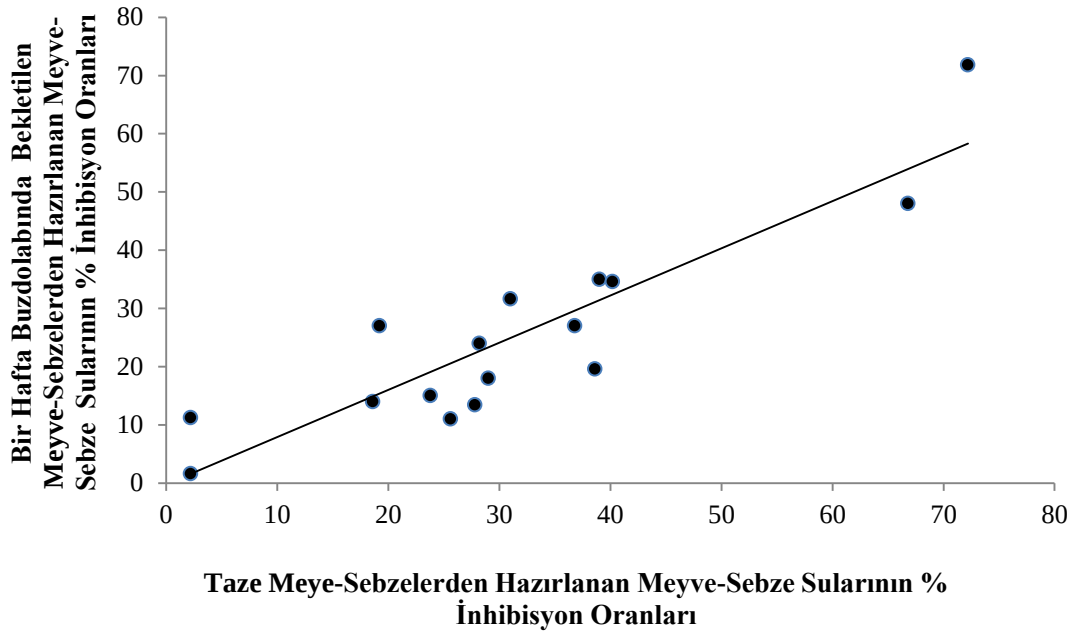
Meyve-sebze	$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	%İnhibisyon Oranı
Havuç	$(4.07 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	18.6
Mor havuç	$(3.05 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	39.0
Turp	$(4.04 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	19.2
Şalgam	$(2.99 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	40.2
Kereviz	$(3.55 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	29.0
Karnabahar	$(1.39 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	72.2
Kabak	$(4.89 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	2.20
Pırasa	$(3.72 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	25.6
Pazı	$(3.61 \pm 0.04) \times 10^{-4}$	27.8
Ispanak	$(1.92 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	61.6
Maydanoz	$(4.63 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	7.40
Semiz otu	$(4.93 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	1.40
Beyaz lahana	$(3.16 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	36.8
Mor lahana	$(1.66 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	66.8
Kırmızı pancar	$(3.24 \pm 0.08) \times 10^{-4}$	35.2
Yeşil biber	$(3.18 \pm 0.05) \times 10^{-4}$	36.4
Elma	$(4.89 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	2.20
Portakal	$(3.07 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	38.6
Mandalina	$(3.81 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	23.8
Kivi	$(3.59 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	28.2
Limon	$(3.45 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	31.0
Ticari vişne suyu	$(4.79 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	4.20
Ticari elma suyu	$(4.92 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	1.60
Ticari kayısı suyu	$(5.02 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	0.10

Ayrıca, taze meyve ve sebzelerle hazırlanan meyve-sebze suları ile 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve-sebze suları arasındaki fark CV’de olduğu gibi UV’de de incelenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. 5.00×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisine 1 hafta buzdolabında bekletilen meyve ve sebzelerden hazırlanan meyve ve sebze sularından 1 mL eklendikten sonra çözeltide kalan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ derişimleri ve % inhibisyon oranları ($\lambda_{\text{max}}=420$ nm, n=3)

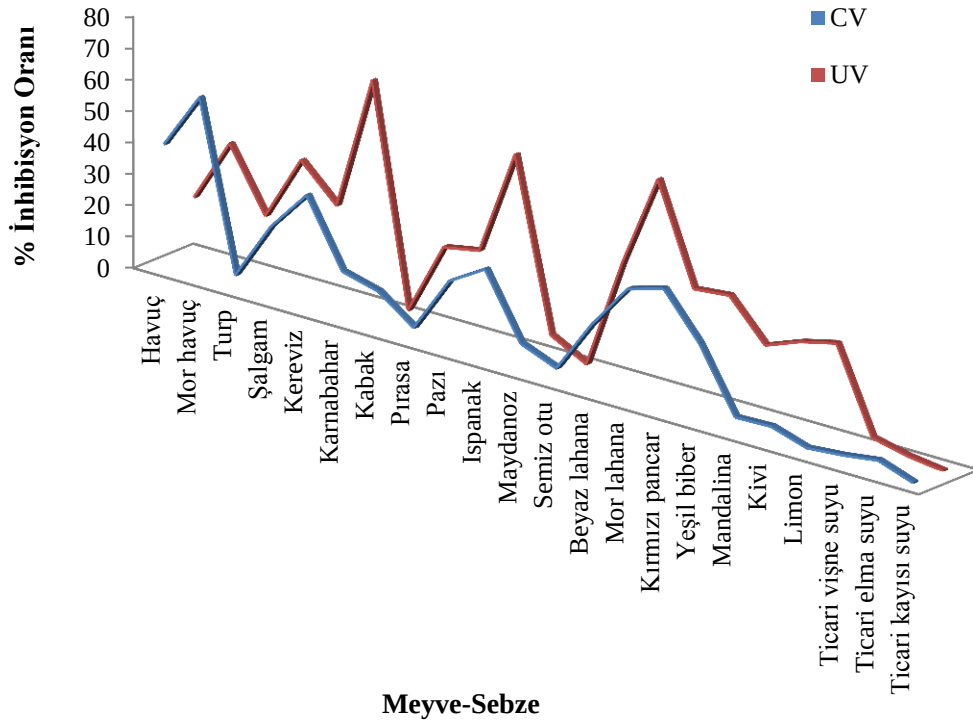
Meyve-sebze	$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$ (mol/L)	%İnhibisyon Oranı
Havuç	$(4.30 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	18.6
Mor havuç	$(3.25 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	39.0
Turp	$(3.65 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	19.2
Şalgam	$(3.27 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	40.2
Kereviz	$(4.10 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	29.0
Karnabahar	$(1.41 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	72.2
Kabak	$(4.44 \pm 0.04) \times 10^{-4}$	2.20
Pırasa	$(4.45 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	25.6
Beyaz lahana	$(3.65 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	36.8
Mor lahana	$(2.60 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	66.8
Pazı	$(4.33 \pm 0.05) \times 10^{-4}$	27.8
Elma	$(5.08 \pm 0.04) \times 10^{-4}$	2.20
Portakal	$(4.02 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	38.6
Limon	$(3.42 \pm 0.03) \times 10^{-4}$	31.0
Mandalina	$(4.45 \pm 0.02) \times 10^{-4}$	23.8
Kivi	$(3.80 \pm 0.01) \times 10^{-4}$	28.2

Tablo 4.7’de de görüldüğü gibi UV ile yapılan çalışmalar sonucunda taze meyve ve sebzelerden elde edilen meyve-sebze sularının antioksidan kapasiteleri ile 1 hafta buzdolabında havayla temas etmeyecek şekilde saklanan meyve-sebzelerden elde edilen meyve-sebze sularının antioksidan kapasiteleri arasında çok büyük bir fark yoktur ($r=0,80$).

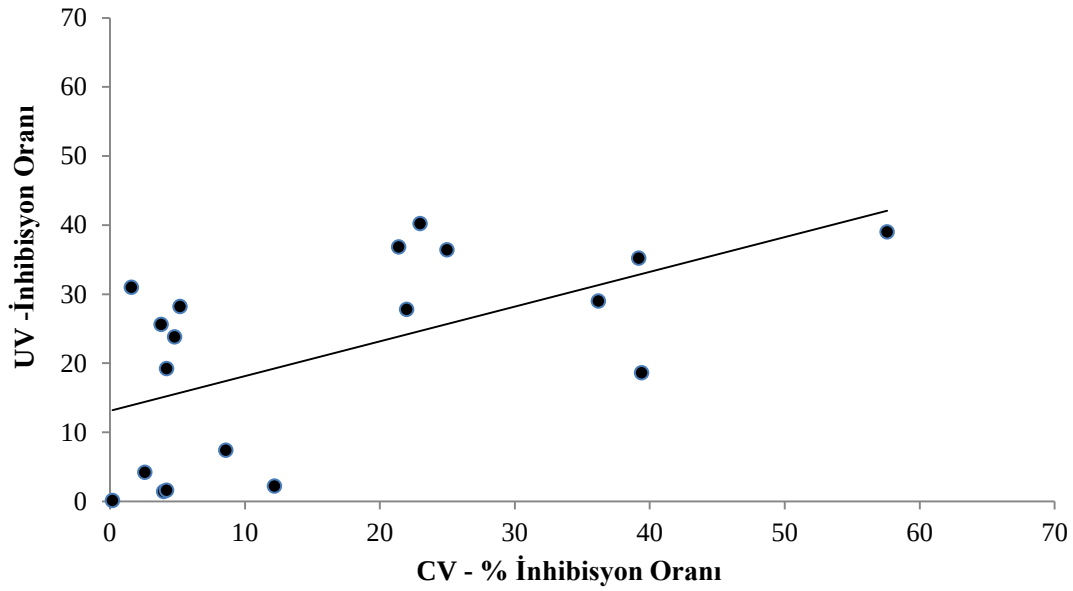


Şekil 4.42. Taze meye-sebzelerden hazırlanan besin suları ile bir hafta buzdolabında bekletilen meyve-sebzelerden hazırlanan besin sularının UV yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasiteleri arasındaki korelasyon ($r=0,80$)

Bütün meyve-sebze ve ticari meyve sularının dönüşümlü voltametri ile bulunan toplam antioksidan kapasiteleri ile spektrofotometri yöntemi ile bulunan toplam antioksidan kapasiteleri arasında grafik çizildiğinde her iki yöntem bulguları arasındaki ilişki Şekil 4.42 ve Şekil 4.43’de gösterilmiştir.



Şekil 4.43. CV ve UV ile elde edilen meyve-sebze sularının $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonu indirgeme kapasiteleri arasındaki ilişki



Şekil 4.44. CV ve UV ile elde edilen meyve-sebze sularının $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ iyonu indirgeme kapasiteleri arasındaki korelasyon

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek hastalıkları önlemede önemli rol oynamaktadırlar. Antioksidanların sağlık üzerine yararları kanıtlandıktan sonra, vücudun antioksidan savunma mekanizmasının serbest radikallerin hasarlarını önleyebildiği ancak hepsini önleyemediği ortaya çıkmıştır. Bu yüzden de gıdalarla alınan antioksidanların önemi artmıştır (Albayrak ve ark.,2010). İşlenmiş gıdaların bozulmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı anlaşıldığında ise sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaya başlanmış ancak sentetik antioksidanların toksik etkisi ortaya çıkınca doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır (Akıllıoğlu ve Yalçın, 2010; Orman ve Bağdatlıoğlu, 2005).

Yüksek besin değerlerine sahip olmaları sebebiyle insan beslenmesinde önemli yer tutan meyve ve sebzeler, doğal antioksidanların en iyi kaynaklarıdır. Meyve-sebzelerin antioksidan kapasitesi, içerdikleri askorbik asit, fenolik bileşikler, karotenoidler gibi fitokimyasallardan kaynaklanır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, antosiyaninlerin serbest radikalleri tutma ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme etkilerinin olduğunu, antosiyanince zengin meyve ve sebzelerin yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle birçok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (Ardağ, 2008).

Bu çalışmada meyve ve sebzelerde toplam antioksidan kapasite tayini için temel olarak bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan antioksidanların, yüksek oksidasyon kademesindeki metal iyonunu düşük oksidasyon kademesine indirgemesi incelenmiştir. Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi onun elektron transfer edebilmesiyle ilişkilidir ve potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilir. Bunun için birden fazla oksidasyon kademesi olan metal iyonlarından faydalanılmıştır. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$, $\text{Cu}^{2+} / \text{Cu}^{+}$ vb. iyon çiftleri kullanılarak yüksek oksidasyon kademesindeki metalin antioksidanla indirgenmesi sağlanarak bunun elektroanalitik yöntemler ve spektrofotometrik yöntem kullanılarak nicel tayini yapılması amaçlanmıştır.

Ancak, $\text{Cu}^{2+} / \text{Cu}^{+}$, $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$, iyon çiftleri ile çalışırken bazı komplikasyonların oluşması, tersinir piklerin ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilememesi nedenleriyle çalışmalara $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redoks çifti ile devam edilmiştir.

Bu amaçla, semt pazarlarından ve marketlerinden alınan farklı sebze ve meyvelerin CV, DPP ve UV olmak üzere üç farklı yöntemle toplam antioksidan kapasiteleri belirlenmiş ve farklı yöntemlerin sonuçları karşılaştırılmıştır. Ayrıca bazı meyve-sebzelerin taze ve buzdolabında bekletilmeleri durumunda da antioksidan kapasite ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Askorbik asit (C vitamini) indirgeme gücü çok yüksek olan bir antioksidandır ve genellikle indirgeme gücü tayini deneylerinde standart olarak kullanılır. Bu amaçla metal iyonu -ASC etkileşmesi iki yöntemle de incelenmiş ve hepsinde de artan ASC miktarına bağlı olarak metal iyonuna ait piklerde orantılı olarak bir küçülme olduğu tespit edilmiştir ($r=0.94$).

2. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ASC etkileşmesinin dönüşümlü voltamogramında reversibl pikler elde edilmiştir. Bu da $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 'ün ASC varlığında $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 'e indirgendiyi; dolayısıyla bir gıda maddesinin toplam antioksidan kapasite tayininin elektroanalitik yöntemlerle yapılabileceğini göstermektedir.

3. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ASC etkileşmesinin UV spektrumları incelendiğinde eklenen ASC miktarına bağlı olarak $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pikinde azalma, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ pikinde ise artma olduğu görülmektedir. Bundan yararlanarak, meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasite tayini spektrofotometrik olarak da yapılabilir.

4. Fe^{3+} -ASC etkileşmesinin DPP ile elde edilen polarogramları incelendiğinde de yine ASC miktarına bağlı olarak Fe^{3+} pikinde küçülme olduğu ve bu teknik kullanılarak meyve ve sebzelerin toplam antioksidan kapasite tayininin yapılabileceği görülmektedir.

5. Metal iyonlarının indirgenmesi, bir bileşiğin antioksidan aktivite gösterebilmesi için önemli bir mekanizma olan elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir ve diğer antioksidan özellikler ile de yakından ilişkilidir. Meyve ve sebzelerin ortamdaki metal iyonlarını indirgeme yeteneğini belirlemek üzere çeşitli meyve ve sebze suları ile çalışılmıştır.

Araştırmada yer alan meyve ve sebze çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitesi kaynaklarına göre önemli farklılıklar göstermiştir. Bu durum meyve ve sebzelerin içerdiği pigmentlerin, antioksidan özellik taşıyan maddelerin varlığına göre değiştiğini işaret etmektedir.

Araştırılan sebze çeşitleri arasında CV ile yapılan çalışmalarda toplam antioksidan kapasite içeriği bakımından en zengin sebzelerin; ısırgan otu (%61.4), mor havuç (%57.6), havuç (%39.4), kırmızı pancar (%39.2), kereviz (%36.2), mor lahana (%35.8), ıspanak (%29), kara lahana (%26.2), yeşil biber (%25.0), şalgam(%23.0) olduğu gözlenmiştir. Diğer sebze çeşitlerinin toplam antioksidan kapasiteleri daha düşük ve birbirlerine yakındır.

UV ile yapılan çalışmalarda ise toplam antioksidan kapasite içeriği bakımından en zengin sebzelerin; karnabahar (%72.2), mor lahana (%66.8), ıspanak (%61.6), şalgam(%40.2), mor havuç (%39), beyaz lahana (%36.8), kırmızı pancar (%35.2), pazı (%27.8), pırasa (%25.6) şeklinde sıralandığı gözlenmiştir.

6. Farklı analiz yöntemleri toplam antioksidan kapasite hakkında özgün fakat sınırlı bilgi vermektedirler. Bu nedenle analiz tekniklerinin gücü ve sınırlamaları onların en fazla uygulanabilir oldukları durumları belirler. Bu çalışmada da sunulduğu üzere bir örneğin değişik antioksidan kapasite tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan kapasiteleri arasında bir korelasyon olma zorunluluğu yoktur.

7. Meyveleri soymadan kabuğu ile birlikte suyu sıkıldığı zaman antioksidan gücünün daha fazla olduğu tespit edilmiştir . Bu nedenle bilindiği gibi günlük diyetle mümkün olduğunca meyveleri kabuğu ile tüketmek antioksidan alımı açısından önemlidir.

8. Metal iyonu içeren çözeltiye artan miktarlarda meyve veya sebze suyu ilave edildiğinde metal iyonuna ait pikte de orantılı olarak küçülme olduğu görülmüştür ($r=0.98$).

9. Bazı meyve ve sebzelerin taze ve buzdolabında bir hafta bekletilmeleri durumunda antioksidan kapasite ölçümleri sonucunda da önemli bir değişiklik olmadığı, sonuçların paralel olduğu gözlenmiştir. CV ile yapılan çalışmalarda $r=0.83$, UV ile yapılan çalışmalarda $r=0.80$ tespit edilmiştir.

Antioksidan kapasite tayini için bugün literatürde yirmiden fazla yöntem vardır ve bunlara her gün yenileri eklenmektedir. Antioksidan kapasitesi belirlenecek olan ekstrakt içerdiği antioksidan karakterdeki maddelerin kimyasal yapılarına göre bu yöntemlerle farklı sonuçlar verebilir.

Antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanarak canlı sistemlerdeki biyokimyasal olayları göz önünde bulundurarak, fizyolojik koşulları daha

fazla yansıtacak ve aynı zamanda kesinliği ve tekrarlanabilirliği yüksek metotların uygulanması oldukça yararlı olacaktır. Ancak çalışma sonuçları ve aynı zamanda çalışma sırasında yapılan literatür taramaları göstermektedir ki gıdalardaki ve biyolojik örneklerdeki antioksidan kapasiteyi güvenilir şekilde ölçen bu analiz metotlarının farklı araştırma grupları tarafından rapor edilen sonuçlarını birbiri ile karşılaştırmak açısından güçlük çekilmektedir (Özta, 2006).

Antioksidan aktivite tayin metotları çalışılan sistemdeki substrat, reaksiyon koşulları, konsantrasyonlar ve analizlenecek bileşimin yapısı gibi çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşimin antioksidan aktivitesini tayin etmek için standart bir metod yoktur. Bu yüzden antioksidan değerlendirmenin birkaç metod kullanılarak farklı oksidasyon şartları altında çalışılması önerilmektedir.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre daha sonra yapılabilecek araştırmalar şöyle özetlenebilir:

Bazı ticari meyve suları ile yapılan CV ve UV çalışmalarında metal iyonlarına ait piklerde değişme olmadığı yani antioksidan kapasitesi olmadığı tespit edilmiştir. Bunun nedeninin araştırılması gerekmektedir.

Değişik elektrotlar kullanılarak sonuçların hassasiyeti incelenebilir.

Meyve ve sebzelerdeki antioksidanların spesifik tayinlerinin yapılabilmesi için elektroanalitik yöntem geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

Akıllıoğlu H.G., Yalçın E. (2010) Tahıl Protein Hidrolizatlarının Antioksidan Aktiviteleri, GIDA, 35 (3) 227-233.

Akkuş İ, (1995), Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.

Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A. (2010) Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(4),401-409

Altun M., Güçlü K., Çelik S.E., Özyürek M., Apak R. (2007) Bazı Yaş Ve Kuru Malatya Kayısı Türlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin Cuprac, Abts/Teac Ve Folin Yöntemleriyle Tayini, 21. Ulusal Kimya Kongresi, Malatya, Türkiye.

Anıl, M. (2006) Antioksidan olarak tahıllar. Hububat 2006 - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. and Özyurt, D. (2007) Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay, Molecules, 12, 1496-1547.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., Erçağ, E. (2006) The CUPRAC antioxidant capacity and polyphenolics content of some herbal teas, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 57, 292-304.

Ardağ, A., (2008), Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 15-24.

Areias, F. M., Valentao, P., Andrade, P. B., Ferreres, F., Seabra, R. M. (2001) Phenolic fingerprint of peppermint leaves, Food Chemistry, 73, 307-311.

Barros L., Falcao S., Baptista P., Freire C., Vilas-Boas M., Ferreira I.C.F.R. (2008) Antioxidant Activity of Agaricus sp. Mushrooms by Chemical, Biochemical and Electrochemical Assays, Food Chemistry, 111(1), 61-66.

Berker, K.I. (2005) Çeşitli Kromojen Ligandlar Varlığında Fenolik Antioksidanların Demir(III) İndirgeme Kapasiteleri Yoluyla Toplam Miktar Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 22-26.

Brown, J. A., Khodr, H., Hider, R. C., Rice-Evans, C. (1998) Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties, Biochemical Journal, 330, 1173-1178.

Brune, M., Rossander, L., Hallberg, L. (1989) Iron absorption and phenolic compound: Importance of different phenolic structures, European Journal of Clinical Nutrition, 43, 547-558.

Cadenas, E., Packer, L., (2002) Handbook of Antioxidants, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.

Cemeroğlu, B. (2007), Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Yayınları No: 34. Ankara.

Çalimli, A. (2003) Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Ankara. [http: papius.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_28/proje.pdf](http://papius.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_28/proje.pdf).

Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., Agabbio, M. (2004) Changes of Flavonoids, vitamin C, and Antioxidant Capacity in Minimally Processed Citrus Segments and Juices During Storage. food Chemistry. 84: 99- 105.

Diaz T.G., Meras I.D., Cabanillas A.G., Franco M.F.A. (2004) Voltammetric Behavior and Determination of Tocopherols with Partial Least Squares Calibration: Analysis in Vegetable Oil Samples, *Analytica Chimica Acta*, 511(2), 231-238.

Diopan V., Babula P., Shestivska V., Adam V., Zemlicka M., Dvorska M., Hubalek J., Tmkova L., Havel L., Kizek R. (2008) Electrochemical and Spectrometric Study of Antioxidant Activity of Pomiferin, Isopomiferin, Osajin and Catalposide, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(1), 127-133.

Doğan, İ.S. ve Meral, R. (2006). Buğdayda bulunan antioksidan maddeler. Hububat 2006- Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.

Duve, K. J., White, P.J. (1991) Extraction and identification of antioxidants in oats, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 365-370.

Dziedzic, S. Z., Hudson, B. J. F. (1983) Polyhydroxychalcones and flavanones as antioxidants for edible foods, *Food Chemistry*, 12, 205-212.

Elmastaş M., Gerçekçioğlu R. (2006) Bazı Üzümsü Meyve Türlerinin Antioksidan Aktiviteleri, II. Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat, Türkiye, 295-298.

Feroci G., Fini A. (2007) Voltametric Investigation of the Interactions Between Superoxide Ion and Some Sulfur Amino Acids, *Inorganica Chimica Acta*, 360(3), 1023-1031.

Firuzi O., Lacanna A., Petrucci R., Marrosu G., Saso L. (2005) Evaluation of the Antioxidant Activity of Flavonoids by “Ferric Reducing Antioxidant Power” Assay and Cyclic Voltammetry, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721(1-3) 174-184.

Gill, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic

Composition and Processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(10), 4581-4589.

Gök, V. ve Serteser, A. (2003). Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim 2003, Ankara.

Gökpinar, S., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., ve Durmaz, Y. (2006). Algal antioksidanlar. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23, 85-89.

Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E. and Apak, R. (2006) Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/ TEAC and folin methods. International Journal of Food Science and Technology, 41, 76-85.

Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, G. and Küfrevioğlu, Ö. İ. (2005) Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus Mas* L.). Food Chemistry, 94: 193-202.

Günaydın, B. ve Çelebi, H. (2003). Genel anesteziklerin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkileri. Anestezi Dergisi, 11, 87-98.

Gündüz T. (2002) İnrümental Analiz, Gazi kitapevi, Ankara, 1033-1113.

Gür, E. ve Altug, T. (2001) Antioksidanlar. Gıda Katkı Maddeleri, Ed: Altug, T., Meta Basım, İzmir, 17-30.

Harborne, J. B. (1967) Comparative biochemistry of the flavonoids, Academic Press, London.

Herrmann, K. (1989) Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods, Critical Review Food Science and Nutrition, 28, 315-347.

Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T. (1998) Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by highperformance liquid

chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 799, 101-110.

Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.

Karakaya, S., EL, N. S. (1999) Quercetin, luteolin, apigenin and kamferol contents of some foods, *Food Chemistry*, 66 , 289-292.

Kaur, C. and Kapoor H. C. (2001) Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(2), 153-161.

Keskin, H., Erkmen, G. (1987), *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, İstanbul.

Koca, N. ve Karadeniz, F. (2005) Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30, 229-236.

Korotkova E.I., Karbainov Y.A.: Shevchuk A.V.: “ Study of Antioxidant Properties by Voltammetry”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 518(1) (2002) 56-60.

Korotkova E.I., Avramchik O.A., Kagiya T.V., Karbainov Y.A., Tcherdyntseva N.V. (2004) Study of Antioxidant Properties of a Water-Soluble Vitamin E Derivative-Tocopherol Monoglucoside (TMG) by Differential Pulse Voltammetry. *Talanta*, 63(3), 729-734.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D., Lee H. J. and Lee C. Y. (2003). Major phenolics in the apple their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 20-6516.

Lee, J., Koo, N., and Min, D.B., (2004) Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21-33.

Lopez-Alarcon, C. and Lissi, E. (2005) Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. *Free Radical Research*, 39(7), 729-736.

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., (1996) Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. *Markel Dekker*, Newyork, pp 41-50.

Memişoğulları, R. (2005) Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.

Min, D.B. and Boff, J.M. (2002) Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 58-72.

Naczki, M. and Shahidi, F. (2004). Extarction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.

Nagai, T., Myoda, T. and Nagashima T. (2005) Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*. *Food Chemistry*, 91, 389-394.

Opara E.C., Rockway S.W. (2006) Antioxidants and micronutrients. *Disease a Month*, 52, 151-163

Orman, S. ve Bağdatlıoğlu, N. (2005) Gıdalardaki Antioksidanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Standart Dergisi*. 52-61.

Özcan M.M., Baydar H., Sağdıç O., Özkan G. (2007) Türkiye’de ticari açıdan önemli Lamiaceae familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. TÜBİTAK Projesi, No: TOGTAG-3319, Konya.

Öztan T. (2006) Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu Ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini Ve Fenolik Madde Profiline Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 73-75.

Öztürk N., Tunalier Z., Koşar M., Başer K.H.C. (2002) Petroselinum Crispum, Anethum Graveolens Ve Eruca Satıva’nın Antioksidan Etki Ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi”, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, Türkiye, Mayıs, 376-384.

Park, Y. S., Jung, S. T., Kang, S. G., Heo, B. G., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., Drzewiecki, J., Namiesnik J. and Gorinstein, S. (2008). Antioxidants and proteins in ethylene-treated kiwifruits. Food Chemistry, 107, 640-648.

Pisoschi, A. M. * and Negulescu, G. P.(2011) Methods for Total Antioxidant Activity Determination, Biochem & Anal Biochem, 1:1.

Prior, R. L., Cao, G. (1999) In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods, Free Radical Biol. Medicine, 27, 1173-1181.

Prior, R. L. and Cao, G. H. (2000) Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. Journal of AOAC International, 83 (4), 950-956.

Rice-Evans, C.A., Miller, N. J., Bolwell, P.G., Bramley, P. M., Pridham, J. B. (1995) The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, Free Radical Research, 22, 375-383.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.

Sağlam, F., (2007), Antosiyanince Zengin Dut, Kiraz Ve Gilaburu Meyvelerindeki Fenolikler Ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Reçel Yapım İşleminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 3-9.

Saldamlı, İ. ve Sağlam, F. (1998). Vitaminler ve mineraller. Gıda Kimyası, Ed:Saldamlı, İ., Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 337-398.

Skoog D.A., West D.M., Holler J.F. (2004) *Fundamentals Analytical Chemistry*, 1, Kılıç E., Köseoglu F., Bilim yayıncılık, Ankara, 460-494.

Sousa W.R., Rocha C., Cardoso C.L., Silva D.H.S., Zanoni M.V.B. (2004) Determination of the Relative Contribution of Phenolic Antioxidants in Orange Juice by Voltametric Methods, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(5), 619-633.

Seven A., CANDAN G. (1996), Antioksidan savunma sistemleri, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.

Sizer, F. and Whitney, E. (1997) *Nutrition: Concepts and Controversies*. West/Wadsworth, New York.

Stahl W., SIES H. (1999) Carotenoids: Occurance, biochemical activities, and bioavailability, Chapter 13, p.183-202 In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.

Şensoy N.D. (2007) Adaçayı (*Salvia Officinalis*) Yapraklarından Süperkritik Karbon Dioksit Ekstraksiyonu İle Doğal Antioksidan Eldesi Ve Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 14-18.

Tekeli Y., Sezgin M., Şanda M.A., (2008) Konya’da Yetişen *Centaurea Pterocaula* Truatv. 'In Fenolik Yapısı Ve Antioksidan Etkisi, SDÜFen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi(E-Dergi), 3, 35-41.

Tosun, İ. ve Karadeniz, B. (2005). Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(1),78-83.

Tosun İ., Üstün, N.S. (2003) An investigation about Antioxidant Capacity of fruit nectars, Pakistan J. Nutr., 2(3), 167-169.

Tunalıer Z., Öztürk N., Koşar M., Başer K.H.C., Duman H., Kırimer N., (2002) Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki Ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, Türkiye, Mayıs, 130-138.

Velioğlu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B.D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4113-4117.

Wang, H., Cao, G., Pprior, R.L. (1996) Total Antioxidant Capacity of Fruits, J. Agric. Food Chem., 44 (3), 701 -705.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nesrin ÇAKIR ARICAN
Doğum Yeri ve Tarihi : SAMSUN/ 17.08.1977
Yabancı Dili : İngilizce
E-Posta : cakirnesrin@yahoo.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	Fen-Matematik	Samsun Namık Kemal Lisesi	1994
Üniversite	Eğitim Fakültesi/ Kimya Öğretmenliği	On dokuz Mayıs Üniversitesi	1998
Y. Lisans	Fen Bilimleri Enstitüsü /Kimya ABD Fizikokimya Programı	Marmara Üniversitesi	2003

İş Deneyimi

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
1998-2006	Yuvacık Serdar İ.Ö.O.	Fen Teknolojileri Öğretmeni
2006-	İzmit Teknik ve Endüstri Meslek Lisesi	Kimya/Kimya Teknolojileri Öğretmeni