

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ORGANİK OLARAK YETİŞTİRİLEN DOMATES VE
KIRMIZIBİBER EKSTRAKTLARININ H₂O₂ İLE HASAR
OLUŞTURULAN SACCHAROMYCES CEREVISIAE L.
ÜZERİNDEKİ BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

Selahattin GÖNAYLI

Yüksek Lisans Tezi

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Zooloji Bilim Dalı

ŞUBAT 2023

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

ORGANİK OLARAK YETİŞTİRİLEN DOMATES VE KIRMIZIBİBER
EXTRAKTLARININ H₂O₂ İLE HASAR OLUŞTURULAN
SACCHAROMYCES CEREVISIAE L. ÜZERİNDEKİ BİYOKİMYASAL
ETKİLERİ

Tez Yazarı
Selahattin GÖNAYLI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Akın TEMİZER

ŞUBAT 2023
ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Başlığı: Organik Olarak Yetiştirilen Domates ve Kırmızıbiber Ekstraktlarının H₂O₂ ile Hasar Oluşturulan Saccharomyces cerevisiae L. Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri

Yazarı: Selahattin GÖNAYLI

İlk Teslim Tarihi: 16.12.2022

Savunma Tarihi: 06.02.2023

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Akın TEMİZER Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	<i>İmza</i> Onayladım
Başkan:	Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Doç. Dr. Sevinç AYDIN Munzur Üniversitesi, Çemişgezek MYO	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza
Prof. Dr. Burhan ERGEN
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “Organik Olarak Yetiştirilen Domates ve Kırmızıbiber Ekstraktlarının H₂O₂ ile Hasar Oluşturulan *Saccharomyces cerevisiae* L. Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri ” Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

06.02.2023

Selahattin GÖNAYLI



ÖNSÖZ

Çevresel etkenlerin sebep olduğu veya içsel kaynaklı oksidatif stresin tüm canlıları olumsuz etkilediği ve olumsuz çevresel koşulların her geçen gün arttığı günümüzde doğal kaynaklı antioksidan çözümler her geçen gün daha çok ilgi görmektedir. Meyve ve sebze gibi bitkiler, vitaminler (A, C, E), flavonoidler, karotenoidler ve polifenol gibi doğal antioksidanlar bakımdan zengin olduğu için ve bu doğal bileşiklerin serbest radikallere ve hastalıklara karşı koruyucu özelliklerinden ötürü diyet olarak tüketilmesi veya gıda katkı takviyesi şeklinde kullanılması tavsiye edilmektedir.

Çalışmamızda oksidatif stres sebeplerinden olabilen H_2O_2 'in *Saccharomyces cerevisiae* üzerindeki oksidatif hasarına karşı domates ve kırmızıbiber ekstrelerinin uygulanması ile maya hücresinde oluşabilecek savunma sisteminin mekanizmalarını anlamayı amaçladık. Bu şekilde elde ettiğimiz verilerle diyetle önemli yere sahip bu iki meyvenin antioksidan bileşiklerini ve etkilerini analiz edip beslenme üzerine katkılarını göstermeye çalıştık.

Yüksek lisans çalışmamda desteğini, bilgisini ve tecrübesini benimle paylaşan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Akın TEMİZER'e, biyokimyasal çalışmalarına katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a, laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Görkem KIRMIZIKAYA ve Öğr. Gör. Tuba Okutan'a içten dileklerimle teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından FF.21.10 protokol numaralı proje ile desteklenmiştir.

Selahattin GÖNAYLI

ELAZIĞ, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Aerobik Metabolizmalarda O ₂ Kullanımı ve ROS Oluşumu	2
1.2. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	3
1.3. Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Koruma Mekanizmaları	4
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	6
1.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	6
1.3.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	6
1.3.1.1.2. Katalaz	7
1.3.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	7
1.3.1.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)	8
1.3.1.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)	8
1.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	8
1.3.1.2.1. Glutasyon (GSH)	8
1.3.1.2.2. C Vitamini	9
1.3.1.2.3. Karotenoidler	10
1.3.1.2.4. Tokoferoller	10
1.3.1.2.5. Fenolik Bileşikler	10
1.4. Domates (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	11
1.5. Kırmızıbiber (<i>Capsicum annuum</i> L.)	13
1.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> L. (Maya Hücresi) ve Oksidatif Stres	15
2. MATERYAL METOD	18
2.1. Kullanılan Kimyasal Çözücüler ve Organik Çözücüler	18
2.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> L. Kültür Ortamının Hazırlanması	18
2.3. Bitkisel Materyallerin Toplanması	18
2.4. Bitki Ekstraktların Hazırlanması	18
2.5. Total Protein Tayini	19
2.6. Lipid peroksidasyon (MDA) Miktarlarının HPLC cihazı ile Tayini	20
2.7. GSH ve GSSG Değerlerinin HPLC Cihazı ile Tayini	20
2.8. Lipid ve Vitaminlerin Ekstraksiyonu	20
2.9. A, D, E ve K Vitamin ile Ergosterol Miktarlarının HPLC Cihazı ile Tayini	20
2.10. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması	21
2.11. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisi ile Analizi	21
2.12. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Tayini	22
2.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi	22

2.12.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi	22
2.12.3. Glutation-S-transferaz (GST) Enzim Aktivitesi	22
2.13. İstatistik Analizi.....	22
3. BULGULAR	23
3.1. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Protein, GSH, MDA ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri	23
3.2. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Yağ Asidi Sonuçları	24
3.3. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Lipofilik Molekül Analizleri	27
3.4. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Protein, GSH, MDA ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri	29
3.5. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Yağ Asitleri	30
3.6. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Lipofilik Molekül Analizleri	33
4. TARTIŞMA.....	35
KAYNAKLAR.....	43
ÖZ GEÇMİŞ	

ÖZET

Organik Olarak Yetiştirilen Domates ve Kırmızıbiber Ekstraktlarının H₂O₂ ile Hasar Oluşturulan *Saccharomyces cerevisiae* L. Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri

Selahattin GÖNAYLI

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Şubat 2023, Sayfa: xi + 51

Çalışmamızda, domates ve kırmızıbiberin metanolik ekstraktlarındaki fitokimyasalların *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde oluşturulan H₂O₂ toksitesine karşı biyokimyasal etkileri araştırıldı. Lipofilik vitaminler ve fitosterol içerikleri bakımından sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda, H₂O₂ grubuna karşı; K2, D2 vitaminleri ve α -Tokoferol miktarının domates ekstrelerinin eklendiği bütün gruplarda daha yüksek olduğu, bunula birlikte kırmızıbiber ekstrelerinin eklendiği gruplarda ise α -Tokoferol, B-Sitosterol ve K1 vitamini miktarının domates gruplarından daha yüksek olduğu tespit edildi.

Yağ asidi analizi sonuçları incelendiğinde, *S. cerevisiae* kültürüne H₂O₂ ile domates ekstresinin eklendiği D1+H grubu haricinde diğer gruplarda H₂O₂ grubuna oranla; 16:0, 17:0, 17:1, 18:0, 16:1, n-7, 18:1, n-9 yağ asitlerinin düzeylerinde artışlar gözlenirken, kırmızıbiber ekstrelerinin eklendiği aynı gruplarda bu yağ asitlerinin azaldığı saptandı ($p<0.05$, $p<0.01$). Total protein ve GSH değerleri üzerine etkisi incelendiğinde ise domates ekstrelerinin eklendiği bütün gruplarda daha belirgin artışlar ($p>0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$) olduğu saptandı. Kırmızıbiber ekstrelerinin eklendiği gruplarda ise domates gruplarına oranla daha az düzeyde artış olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Malondialdehit düzeyi ile Glutasyon transferaz, Katalaz ve Süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerine olan etkileri incelendiğinde, H₂O₂ grubuna göre, hem domates hem de kırmızıbiber gruplarında MDA değerlerinin belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.01$, $p<0.001$). Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerinde ise, domates ve kırmızıbiber ekstrelerinin bazı gruplarında artışlar bazı gruplarında ise azalmalar tespit edildi ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$).

Sonuç olarak *S. cerevisiae* üzerinde H₂O₂ toksitesine karşı domates ve kırmızıbiber ekstrelerinin metabolik açıdan farklı oranlarda etkilere sahip olduğu gözlemlendi. Bu farklılıklara rağmen H₂O₂ toksitesine karşı her iki sebze ekstresinin uygulamasında da pozitif yönde etkilere sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Saccharomyces cerevisiae*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annum*, antioksidan etki, lipofilik vitaminler.

ABSTRACT

Biochemical Effects of Organically Grown Tomato and Red Pepper Extracts on H₂O₂-Damaged *Saccharomyces cerevisiae* L.

Selahattin GÖNAYLI

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

February 2023, Pages: xi + 51

In our study, the biochemical effects of phytochemicals in methanolic extracts of tomato and red pepper against H₂O₂ toxicity on *Saccharomyces cerevisiae* were investigated. When we compare our results in terms of lipophilic vitamins and phytosterol contents, against the H₂O₂ group; It was determined that the amount of vitamins K₂, D₂ and α -Tocopherol was higher in all groups to which tomato extracts were added, however, the amount of α -Tocopherol, B-Sitosterol and vitamin K₁ was higher in the groups to which red pepper extracts were added than in the tomato groups.

When the fatty acid analysis results were examined, except for the D1+H group, in which H₂O₂ and tomato extract were added to the *S. cerevisiae* culture, compared to the H₂O₂ group; While increases were observed in the levels of 16:0, 17:0, 17:1, 18:0, 16:1, n-7, 18:1, n-9 fatty acids, these fatty acids were decreased in the same groups to which red pepper extracts were added ($p < 0.05$, $p < 0.01$). When the effect on total protein and GSH values was examined, it was determined that there were more significant increases ($p > 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) in all groups to which tomato extracts were added. It was determined that there was a lesser increase in the groups to which red pepper extracts were added compared to the tomato groups ($p < 0.05$).

When the effects of malondialdehyde level on the activities of antioxidant enzymes such as Glutathione transferase, Catalase and Superoxide dismutase were examined, it was determined that MDA values decreased significantly in both tomato and red pepper groups compared to H₂O₂ group ($p < 0.01$, $p < 0.001$). On the activities of antioxidant enzymes, increases in some groups of tomato and red pepper extracts and decreases in some groups were determined ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$).

As a result, it was observed that tomato and red pepper extracts had different metabolic effects against H₂O₂ toxicity on *S. cerevisiae*. Despite these differences, it was observed that both vegetable extracts had positive effects against H₂O₂ toxicity.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, antioxidant effect, lipophilic vitamins.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Serbest Oksijen Radikallerin Hücrede Etkileri.....	3
Şekil 1.2. Glutasyonun kimyasal yapısı	9
Şekil 1.3. Domatesin besinsel içerikleri ve miktarları	12
Şekil 1.4. Dört ayrı bölgeden toplanan domates (<i>Solanum lycopersicum</i> L). örnekleri	13
Şekil 1.5. Dört ayrı bölgeden toplanan kırmızıbiber (<i>Capsicum annuum</i> L.) örnekleri	15



TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1.	Domates ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi	23
Tablo 3.2.	Domates ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin H grubuna göre değişimi	24
Tablo 3.3.	Domates ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi (%).....	25
Tablo 3.4.	Domates ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde yağ asidi değerlerinin H grubuna göre değişimi (%).....	26
Tablo 3.5.	Domates ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi.....	27
Tablo 3.6.	Domates ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde lipofilik moleküllerin H grubuna göre değişimi.....	28
Tablo 3.7.	Kırmızıbiber ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi	29
Tablo 3.8.	Kırmızıbiber ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin H grubuna göre değişimi	30
Tablo 3.9.	Kırmızıbiber ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi (%).....	31
Tablo 3.10.	Kırmızıbiber ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde yağ asidi değerlerinin H grubuna göre değişimi (%).....	32
Tablo 3.11.	Kırmızıbiber ekstraktı ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi (µg/ g hücre pelleti).	33
Tablo 3.12.	Kırmızıbiber ekstraktı ve H ₂ O ₂ ilave edilen <i>S. cerevisiae</i> pelletlerinde lipofilik moleküllerin H grubuna göre değişimi (µg/ g hücre pelleti).....	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
dk	: Dakika
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
µg	: Mikrogram
g	: Gram
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
rpm	: Revolutions per minute

Kısaltmalar

CAT	: Katalaz
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
DTNB	: 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
GST	: Glutasyon S Transferaz
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
SFA	: Doymuş yağ asitleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
USFA	: Doymamış yağ asitleri
MDA	: Malondialdehit

1. GİRİŞ

Oldukça reaktif olan Oksijen molekülü, bir şekilde kimyasal olarak yüksek bir reaktiviteye sahip olan daha küçük maddeler olan reaktif oksijen türlerine (ROS) indirgenebilir (Jamieson, 1998). Bunlar; süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikaller ($\cdot OH$) gibi radikal ve ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen ($^1O_2$) gibi radikal olmayan oksijen türleridir [1]. Biyolojik sistemler tarafından (başta mitokondri olmak üzere) üretilen ROS, apoptoz, bağışıklık, farklılaşma ve çeşitli transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte yer alması nedeniyle büyük bir öneme sahiptir [2].

Bununla birlikte, çevresel faktörlerin (UV, iyonlaştırıcı radyasyonlar, kirleticiler ve ağır metaller, sigara gibi) neden olabileceği ROS ürünleri, prooksidanların oluşumunda ve antioksidanların ROS ürünlerini nötralize etme yeteneklerinde dengesizlik olan oksidatif stres olarak bilinen bir fenomeni oluşturur [3]. Bunun sonucunda ise, zarlar, proteinler, lipidler, nükleik asit gibi hücresel bileşenlerde hasara neden olarak [4], diyabet [5], böbrek hastalığı [6], kanser [7], kardiyovasküler hastalıklar [8], nörolojik hastalıklar [9] ve solunum yolu hastalıkları [10] gibi oksidatif stres ile ilişkili olduğu kanıtlanmış çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir.

Oksidatif stres tüm canlıları olumsuz etkileyen bir faktör olmakla birlikte yaşam sürecinde normal fizyolojik şartlarda da meydana gelebildiği için kaçınılmaz bir olaydır. Bitkilerde, dünya çapında büyümeyi ve üretkenliği olumsuz etkileyen çeşitli abiyotik streslerle sürekli olarak karşı karşıyadır. Bitkiler evrimleri ölçüsünde; belirli streslere tolerans derecesi türden türe farklılık göstermesinin yanı sıra, çevresel koşullara uygun şekilde tepki vermek için, dış sinyalleri tanımak için karmaşık mekanizmalar geliştirmiştir [11]. Bitkisel mekanizmalarda bu reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ise, bitkisel makromoleküllerde ve hücresel yapılarında oksidatif hasara neden olan, bitki büyümesini ve gelişmesini engelleyen veya ölümüne bile neden olabilen abiyotik ve/veya biyotik stresler altında artmaktadır. Çeşitli ROS'lar arasında daha serbest yayılabilen ve diğerlerine göre daha uzun ömürlü olabilen H_2O_2 , stres sinyalinin iletim yollarında merkezi bir oyuncu olarak işlev görür. Stresi ileten bu yollar, daha sonra çeşitli abiyotik ve biyotik kaynaklı olabilen stres faktörlerine karşı direnci güçlendiren mekanizmaları aktive de edebilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, H_2O_2 'in dejeneratif etkisinin yanı sıra, H_2O_2 'in dozunun toksik olmayacak şekilde tutulursa, ROS detoksifikasyonunu, strese yanıt veren çoklu yolları ve gen ekspresyonunu düzenleyerek abiyotik stres toleransını artırabildiğini göstermiştir [11].

Antioksidanlar ise hücrelere zarar veren ROS türlerini indirgeyerek daha düşük toksititeye sahip ya da toksik olmayan ürünlere dönüştürme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, hücreye ve dolayısıyla metabolik yollara zarar veren bu bileşiklere karşı savunma mekanizması geliştiren antioksidanlar hayatımızın vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. Antioksidan mekanizmalar,

vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla dışarıdan da alınabilmektedir. Gıdalardan (meyve ve sebze) alınan ve serbest radikallere karşı koruyucu özellikleri olan başlıca doğal antioksidanlar; vitaminler (A, C, E), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Meyve antioksidanlarının dokuları stres ve hastalıklara karşı koruduğu bilinmektedir [12].

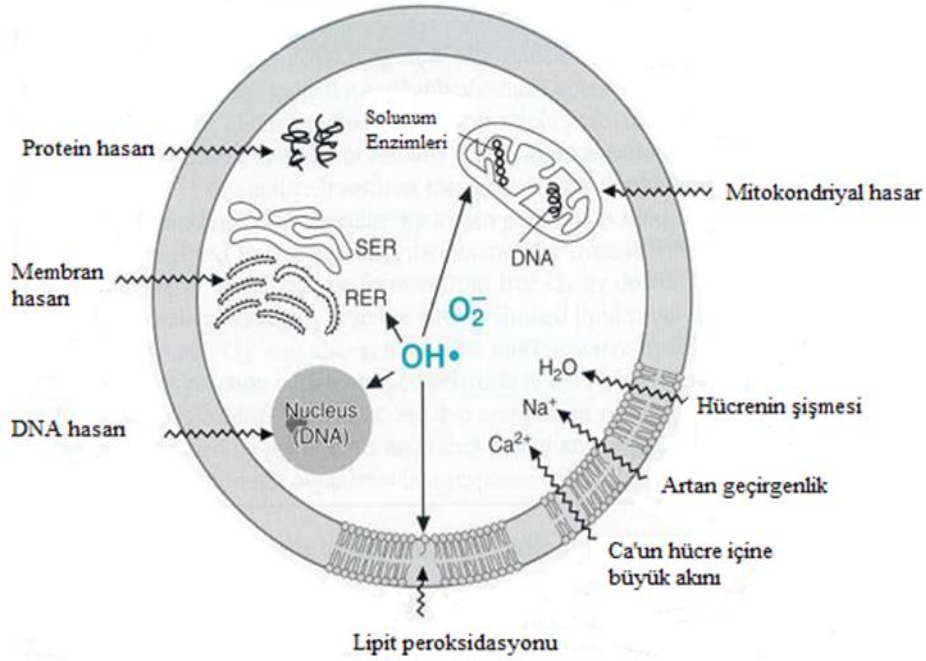
Maya hücreleri dünya genelinde gıda biyoteknolojisi alanında kullanılan başlıca üreticileri olup diğer endüstriyel mikroorganizma gruplarına oranla çok daha fazla kullanılmaktadır. Ekmek yapımı, biyoetanol üretimi ve diğer biyoteknolojik işlemlerde kültür ortamına ilave edilen maddelere göre kullanımı da farklılık gösterebilir. Diyet amaçlı kullanılan bitkilerin hücrelerindeki endojen antioksidan mekanizmalar reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu veya olabileceği hasara karşı etkili bir savunma mekanizmasına sahiptir. Süperoksit dismutaz, katalaz ve Glutasyon peroksidaz gibi enzimler hücredeki endojen antioksidan enzimlerdir. Askorbat, karotenoidler ve tokoferoller grubunda alan moleküller ise bitkisel besinler ile hücre içine alınan eksternal antioksidanlardır. Bütün bu moleküller hücrede normal fizyolojik şartlarda oluşan reaktif oksijen moleküllerini etkisiz hale getirirler.

Bu tez çalışmasında, H_2O_2 ile oksidatif hasar oluşturulmuş *Saccharomyces cerevisiae* L. (Ekmek mayası) kültürüne ilave edilen, insanların beslenmesinde çok önemli yeri olan ve normal mevsiminde organik olarak yetiştirilen domates ve kırmızıbiber ekstraktlarının hücre pelletlerindeki antioksidan moleküller ile diğer bazı moleküller üzerine biyokimyasal etkilerinin (LPO, GSH, GSSG, yağ asitleri ile ADEK) analizleri yapılarak, domates ve kırmızıbiberin içerdiği fitokimyasalların H_2O_2 'in oluşturduğu dejeneratif etkiye karşı koruyuculuğunun olup olmadığının anlaşılması amaçlanmıştır. Domates ve kırmızıbiber genellikle her mevsimde bulunmakla birlikte en faydalı olan dönemin mevsiminde organik olarak yetiştirilmiş olması önemli bir faktördür. Bu dönemde daha yüksek oranda antioksidan moleküller içerebilmektedir. Bu anlamda bu çalışma ile domates ve biber ekstraktlarının içeriklerinin mayada H_2O_2 ile oluşan serbest radikallerin etkilerini azalttığı gösterilirken, bu sonuçların ışığında da kronik hastalıkların önlenmesi için beslenme alışkanlıklarının daha fazla meyve, sebze ve tahıl tüketerek şekilde değiştirilmesi yönünde etkin bir yaklaşım sunmaya katkıda bulunmayı amaçlanmıştır.

1.1. Aerobik Metabolizmalarda O_2 Kullanımı ve ROS Oluşumu

Serbest radikaller eşlenmemiş elektron taşıyan ve çok reaktif olabilen kimyasallardır. Ve eğer bir molekül üzerinde eşlenmemiş elektron taşıyorsa stabil duruma geçmek için bir başka bir elektronla birleşme eğilimine geçer. Serbest radikalleri oluşturan diğer bir faktör ise oksijendir. Solunum yoluyla vücudumuza aldığımız oksijen her ne kadar hayati fonksiyonlar için gerekli olsa da sağlığımız için tehlikeli bir yanı da bulunmaktadır. Beslenmeyle vücuda alınan ve hayati fonksiyonlar için gerekli olan enerjinin açığa çıkması için oksijen gereklidir. Ancak oksijenle temas eden bir metallerin zamanla paslanması gibi oksijenin hücrede kullanılması sırasında da

ortamda bulunan diğer moleküller de okside olabilir. Bu şekilde ortaya çıkan serbest radikaller ise hücredeki protein, yağ ve genetik materyal gibi önemli maddelere saldırarak zarar verir (Şekil 1.1). Hücrede bu olaylar meydana gelirken, birbiriyle bağlantılı kimyasal reaksiyonlar zinciri başlar ve bu reaksiyonlar sonucunda serbest radikal sayısı da artar. Bunların yanı sıra insan vücudu yaşlandıkça, antioksidan savunma sistemleri de zayıflar. Dolayısıyla hücrelerin kendini tamir etme özelliği de azalır. Bu yıpratıcı gelişmelerin etkisiyle kanser ve kalp hastalıkları gibi hastalık riskleri de artmaktadır. Yapılan birçok çalışma; nörodejeneratif hastalıklar (alzheimer, parkinson, hungtington) başta olmak üzere, yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar (arteroskleroz, diyabet, romatoid artrit), otoimmün hastalıklar ve çeşitli kanser türlerinin oluşumunda serbest radikallerin önemli bir rolü olduğunu göstermektedir [13].



Şekil 1.1. Serbest Oksijen Radikallerin Hücrede Etkileri

1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit radikali, oksijen molekülüne iki adet elektron eklenmesi ($O_2^{\cdot -} + e^- + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2$, $O_2 + 2 e^- + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2$) ile oluşabildiği gibi, süperoksit radikalının sulu ortamlarda dismutasyona uğraması ($2 O_2^{\cdot -} + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$) ile de oluşabilir [14].

H₂O₂ serbest radikal değildir ancak biyolojik membranlara kolaylıkla girebildiği için oldukça önemli bir moleküldür. Serbest radikal olmamakla birlikte; Fe⁺² veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ($Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH^{\cdot}$) ve O₂^{• -} radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ($O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\cdot} + OH^- + O_2$) sonucu en reaktif ve zarar

verici serbest oksijen radikali olan OH • radikalini oluşturduğu için reaktif oksijen bileşikleri kapsamına girmektedir (Nordberg vd., 2001; Özden, 2006). Bu şekilde biyolojik membranlara nüfuz ederek proteinler, lipitler ve DNA gibi birçok biyomolekölün zarar görmesine ve hücresel işlevlerin bozulmasına neden olurlar. Bunlar; enzimlerin işlevini yitirmesi, lipitlerin oksidasyonu ile membranların bozulması, DNA’da kırıkların oluşması ve diğer birçok metabolitin oksitlenerek işlevini yitirmesi gibi birçok önemli bozukluklara ve sonu ölümle biten yıkım olaylarına neden olur [15].

Böyle zararlı etkilere sahip oksidanlara karşı, canlılarda farklı basamaklarda çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Canlılar bu antioksidan etkiye sahip moleküllerden (endojen enzim gibi) bazılarını kendileri sentezlerken bazen de bu görevi dışardan aldıkları çeşitli maddelerle yerine getirirler. Bu şekilde aynı zamanda hasar gören moleküllerini ya tamir eder ya da yeniden sentezlerler.

İnsanlarda bu süreçle ilişkili görülen en büyük stres belirtisinin yaşlılık olduğu düşünülmektedir. Bunun dışında, söz konusu antioksidan savunma yetersiz kaldığında veya beklenmeyen şekilde gelişen stres koşullarının sonucunda nörodejeneratif hastalıklar ve dolaşım sistemi hastalıkları gibi ve ayrıca günümüzün en çok görülen hastalıklarından olan kanser çeşitlerinin de artış gösterdiği bilinmektedir [16]. Diğer taraftan bu enzim temelli antioksidan savunmanın aktivitelerini yitirmesine sebep olan, kofaktör özellikli eser elementlerin (Cu, Mn, Zn, Se) veya bazı vitaminlerin (riboflavin gibi) eksikliği de dile getirilmiştir. Bu eksikliklerin aynı zamanda ilgili hastalıkların oksidatif stres yollarını tetiklediği bildirilmiştir [17].

1.3. Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Koruma Mekanizmaları

Metabolik faaliyetleri gerçekleştirmek için oksijen kullanmak zorunda olan canlı organizmaların yeryüzünde yaşamaya başladığından beri bu metabolik faaliyetler sonucu radikalleri oluşturduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, canlılığın devamı için bu organizmalar serbest radikallerin zararlarını inhibe etmek için endojen ve eksojen kaynaklı çeşitli savunma mekanizmalarıyla donatılmıştır. Ancak bu serbest radikaller ile antioksidan düzeyleri arasındaki denge bozulduğu zaman hücre hasarıyla sonuçlanabilecek birçok patolojik hastalıklar rapor edilmiştir [18].

İnsana ait metabolik faaliyetlerde antioksidan kapasite ile oksijen tüketimi ve radikal üretim miktarı değerleri arasında bir paralellik söz konusudur. Örneğin yüksek düzeyde oksijen kullanan organlar olan karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlar kullanılan oksijenle orantılı olarak antioksidan enzim aktivitelerine sahiptirler. Yine benzer şekilde iskelet kasları da yüksek oksijen tüketimleriyle orantılı olarak yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir.

Antioksidan terimini en basit şekilde, biyomoleküllerin oksidasyonunu inhibe eden herhangi bir madde olarak tanımlayabiliriz. Bu görevi yerine getirirken hedef molekül olan

serbest radikalden bir elektron alarak veya vererek onu etkisiz hale getirebilir. Bunun sonucu olarak da serbest radikal zincirleme reaksiyonları durdurulmaktadır. Bu olay gerçekleşirken, yani serbest radikaller engellenirken kendisi her durumda stabil kalma yeteneğine sahip olduğundan ötürü serbest radikale dönüşmezler ve böylelikle diğer serbest radikallerin süpürülmesindeki görevine devam edebilmektedir [19]. Antioksidan maddelerin hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri korudukları, başlıca vitamin (C, E, A, β -karoten), karotenoidler ve fenolik bileşiklerin bu gruba girdiği, ayrıca metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenozin, koenzim Q, ürat, ubikinol, sistein, homosistein, taurin, metionin, nitroksidler, GSH, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrikoksit sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz gibi hücre içi salgılanan maddelerinde bu özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [20].

Özellikle de meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler, vitaminler (C ve E) ve karotenoidlerin oksidatif stresle ilişkili hastalıklardan korunmada etkili olduğu ve bu özelliklerinden ötürü diyetle alınabilen bu besinlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi üzerine büyük bir ilgi oluşmuştur. Bu besinlerdeki fenolikler, serbest radikalleri bağlayarak, metallerle şelat oluşturarak ve lipoksigenaz enzimini inaktive ederek antioksidan etki göstermektedir. Günümüze kadar yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada ve klinik denemelerde meyve ve sebze tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve bazı kronik hastalıkların oluşumu arasında ters orantı olduğunu rapor etmiştir [21].

Antioksidanların beslenme kaynaklı veya diğer tehlikelere karşı, oksidatif stresin ürettiği radikal türlerini bastırarak, ksenobiotik veya patolojilerin neden olduğu diğer durumlardan ve gen toksikantlarına karşı DNA'nın bütünlüğünü koruma yoluyla koruyucu bir role sahip olduğu bilinmekle birlikte, bu konuda hala bilinmeyen veya belirlenemeyen prooksidan/oksidan aktiviteler ile ilişkili olan birçok bileşik vardır. Bu anlamda antioksidanlar bakımdan oldukça zengin olan meyve ve sebzelerin koruyucu etkilerinin iyi bilinmesine rağmen sahip oldukları antioksidanların da güvenilirliği de henüz açıkça belirlenememiştir [22]. Ayrıca antioksidanlar diyetin temel bir maddesi olan lipidlerin oksidatif bozulmasını önleyerek de besin kalitesini koruyabilirler. Bu özelliklerinden ötürü bazı bitki fenolikleri ticari olarak da üretilmektedir. Bütün bu özellikleri düşünüldüğünde diyetteki antioksidanların biyolojik mevcudiyetinin ve alınması gereken dozlarının bilinmesi son derece önemlidir [23].

Antioksidanlar etkilerini farklı mekanizmalarla gösterirler;

- Lokal oksijen konsantrasyonunu azaltmak için, oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini almak yoluyla,
- Katalitik metal iyonlarını bağlayarak radikal oluşumunu önleme yoluyla.

- Süperoksit ve hidrojen peroksit gibi anahtar rol oynayan reaktif oksijen türlerini uzaklaştırma yoluyla,
- Hidroksil, alkoksil, peroksil gibi radikalleri temizleme yoluyla; peroksitleri alkol gibi nonradikal ürünlere dönüştürerek bunu gerçekleştirirler. Örneğin; glutatyon peroksidaz enzimi peroksitleri bu yolla temizleyen antioksidan bir örnek olarak verilebilir.
- Başlamış ve devam eden oksidan zincirleri kırma yoluyla; bu zincir oluşumuna neden olan serbest radikallerle reaksiyona girerek, yağ asidi zincirlerinin sebep olduğu hidrojen iyonu salınımına engel olabilirler.
- Membran lipitlerine etki yoluyla; peroksit oluşturabilen tekil oksijeni baskılayabilir ya da kökten temizleyebilirler [14].

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Endojen kaynaklı (enzim) ve eksojen (enzim olmayan) kaynaklı olmak üzere başlıca iki ayrı grupta sınıflandırıldığı gibi serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen ve mevcut olanları etkisiz inaktive eden olarak da sınıflandırılırlar [24].

1.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.3.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Aerobik metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan süperoksit anyonunu, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürerek ve hücre bölünmelerinde süperoksit düzeylerini kontrol ederek oksidatif hasara karşı hücreleri koruyan bu enzim ilk olarak 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır [25].

Bu enzim yapısında metalloprotein yapısında olan 4 izoenzim bulundurmaktadır. Sitozolik SOD İntraselüler izomerlerinden olup bakır ve çinkoya bağlı iken (CuZn-SOD), mitokondriyal SOD manganzeze bağlı olarak bulunmaktadır (Mn-SOD). Genel olarak sitozolik SOD daha çok bulunur ve hemoglobinin otooksidasyonundan oluşan süperoksit reaktifini inhibe için eritrositlerde bulunan en önemli antioksidan olarak bilinir [26]. Diğer taraftan, mitokondriyal solunum oksijen radikallerinin en büyük kaynağı olduğu için mitokondriyal SOD'un ne kadar önemli bir antioksidan olduğu anlaşılabilir [27]. Bu enzim tümör nekrozis faktörü ve interlökin-1 tarafından uyarılarak aktive olmaktadır [28].

Bu iki SOD enzimi dışında, SOD enziminin az bir kısmı da snoviyal ve plazma gibi ekstraselüler sıvılarda bulunmakta ve ekstraselüler olanı bakır ve çinkoya bağlıdır (EC-SOD) [29]. Son olarak, demire bağlı bir SOD (Fe-SOD) ile nikel bağli bir SOD (Ni-SOD) şeklinde bazı bakteri ve kloroplastlarda bulunduğu bildirilmiştir [30].

Reaktif oksijen türlerine karşı enzimatik antioksidan savunmanın ilk adımını SOD oluşturur. Bu enzimin aktivitesi sonucu oluşan hidrojeni peroksit ve suya parçalayan glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz ise ikinci enzimatik savunmayı oluşturur. Bu mekanizmadan ötürü SOD aktivitesindeki herhangi bir artış ya da azalış ikinci kademe enzimlerinin aktivitesinde artışı ya da azalışı gerektirir. Örneğin süperoksit üretiminin artışıyla artış gösteren SOD ile GSH-Px arasındaki bir dengesizlik, meydana gelen oksidatif stresi gösterir. Diğer bir ifadeyle SOD/GSH-Px oranındaki artış oksidatif hasarın ve patolojik olayların başlamasına neden olabilir [31].

SOD enzimi fizyolojik olarak da büyük öneme sahiptir. Bunu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı koruyarak ve lipid peroksidasyonunun başlamasını engelleyerek gerçekleştirir [32].

1.3.1.1.2. Katalaz

Tetramer yapısında bulunan ve non-kovalent bağlı bir hemoprotein olan bu enzim özellikle peroksizomlarda bulunur. En çok eritrositlerde bulunmakla birlikte kan, kemik iliği, karaciğer ve böbreklerde de yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Ayrıca düşük miktarlarda beyin, kas, pankreas ve akciğer hücrelerinde de bulunmaktadır. Ortamda H_2O_2 mevcutsa bu enzim, aktif bölgesinde meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon sonucu dismutasyon tepkimelerini katalizleyerek süperoksitleri detoksifiye eder [33]. Yapısında 4 adet hem grubu bulunur [34]. Katalaz enzimi, peroksidaz aktivitesi göstermekle birlikte büyük moleküllü lipid peroksitlerine etki edemez ve yaşla birlikte bu enzimin aktivitesi azalmaktadır [35].

1.3.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Bu enzim ilk olarak 1957'de Mills tarafından sığır eritrositlerinden izole edilerek tanımlanmıştır [36]. Daha sonra yapılan çalışmalarla selenoprotein yapıya sahip olduğu gösterildi. İnsan metabolizmasında bu enzim, sitozolik glutatyon peroksidaz, plazma glutatyon peroksidaz, gastro-intestinal glutatyon peroksidaz ve fosfolipid glutatyon peroksidaz olmak üzere başlıca dört şekilde bulunmaktadır.

Hidrojen peroksit ve hidroperoksit gibi reaktif moleküllerin indirgenmesinde glutatyon redoks döngüsü hayati öneme sahiptir. Ve bu döngüde anahtar enzim glutatyon peroksidaz, substrat ise glutatyondur. GSSG/GSH oranının dengesinin bozulması oksidatif stresin diğer bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [37]. Normal koşullarda eritrositlerde 1/500 seviyesinde tutulan bu oran bozulursa oksidatif strese meydana gelerek eritrosit hasarı görülebilmektedir [38].

1.3.1.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

İki alt birimden oluşan, dimer yapıda olan ve yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren antioksidan enzimdir. Alt birimlerden her biri 3 tane yapı içerir. Bunlar: NADPH bağlayan, FAD bağlayan ve ara yüz alan olmak üzere [39].

Glutasyon redüktaz tüm evrimsel gelişimi boyunca yüksek oranda korunmuş bir enzimdir. GR'ler, NADPH'yi bağlama ve oksitleme ve aktif bölgede bir flavin adenin dinükleotit (FAD) kofaktörü kullanarak elektronları transfer etme yeteneğine sahiptir. Örneğin NADPH'nin oksidasyonunu glutasyon disülfidin (GSSG) indirgenmesine bağlayarak indirgeyici bir ortamı teşvik eder ve indirgenmiş glutasyon (GSH) verir. Ve bu GSH ise süperoksit dışında bazı ROS'ları doğrudan ortadan kaldırır (Winterbourn, 2016), proteinleri indirgenmiş hallerinde tutan bir tiyol tamponu görevi görür ve ROS hidrojen peroksidi (H_2O_2) bozan glutasyon peroksidazın bir substratı olarak hizmet eder [40].

Bununla birlikte GR, doğal substrat GSSG'nin yanı sıra çok çeşitli alıcılara oksijen dahil [41], elektron verebilir [42]. Örneğin GR tarafından ROS üretimi daha önce bitki [43], maya [44], sığır [45] ve insanda [46] rapor edilmiştir, ancak bununla birlikte GR, fizyolojik bir ROS kaynağı olarak yaygın olarak tanınmamaktadır [40].

1.3.1.1.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST'ler), indirgenmiş glutasyonun (GSH) elektrofilik endojen ve eksojen bileşiklerle konjugasyonunu katalize eden, sonuçta ortaya çıkan ürünlerin çözünürlüğünü ve salgılanmasını artıran detoksifikasyon enzimlerinin süper ailesidir [47]. Ayrıca GST'ler antioksidan enzimler olarak işlev görür ve oksidatif stresi azaltma yeteneğine sahiptir ve doğuştan gelen bağışıklık yanıtında önemli roller oynar [48]. Çalışmalar sonunda elde edilen raporlar, GST'lerin sinyal molekülleri ve hücre içi taşıma, önemli metabolitlerin biyosentezi gibi önemli metabolik fonksiyonlara da sahip olduğunu göstermektedir [49].

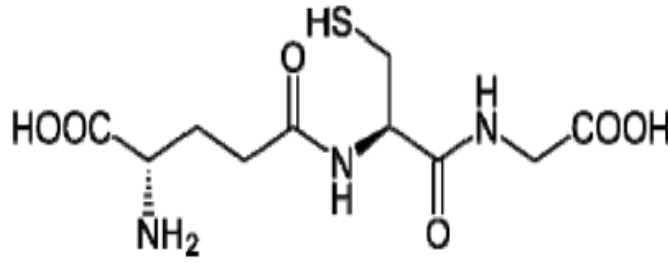
Günümüzde glutasyon transferazlar, antiastmatik ve antitümör ilaç tedavileri için hedefler sağladıklarından ve ayrıca kanser kemoterapötik ajanların, insektisidlerin, herbisitlerin, karsinogenlerin ve hücrel direnci belirleyen oksidatif stres yan ürünlerinin metabolizması sırasında aktif oldukları için farmakologlar ve toksikologlar için ilgi çekicidir [50].

1.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.3.1.2.1. Glutasyon (GSH)

Metabolizmada sistein, glisin ve glutamattan direkt olarak sentezlenen, redoks döngüsünün bir substratı olan, hidroksil radikalleri ile singlet oksijenin temizlenmesinde görev alan önemli bir

antioksidandır (Şekil 1.2). Bu görevinin yanı sıra, Glutasyon Peroksidaz ile birlikte iş birliği yaparak (koenzim) enzimatik olarak da etki gösterir. Enzimlerin dışında diğer hücresel bileşenlerin de redükte halde tutulmamaları için hayati bir görev yapar. Glutasyon en fazla karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık %40'ı safra ile atılır. Safradaki glutasyonun diyetle alınan ksenobiyotiklere karşı vücudu koruyarak barsak lümenini lipid peroksidasyonuna karşı ve barsak epitelyumunu da oksijen radikallerine karşı koruduğu düşünülmektedir.



Şekil 1.2. Glutasyonun kimyasal yapısı

Glutasyonun hücre dışına taşınması olabiliyorken, dışardan hücre içine normal koşullarda alınmaz. Hücre dışına çıkınca yapısındaki γ -peptid bağı γ -GT enzimi tarafından parçalanır. Bu enzim ise böbrek, koroid pleksus, lenfositler, safra kanalı, silli yapılar, barsak ve pankreasta gibi dokularda bol bulunmaktadır. Bu reaksiyonun sonunda γ -glutamil aminoasidi oluşur. Ve bu amino asitde seri reaksiyonlardan geçerek glutamat oluşturulur. Devamında ise Transpeptidaz enzimi ile γ -glutamilsistein'e daha sonra da belirli hücrelere (böbrek vb.) taşınarak sistein ve γ -glutamata [51].

1.3.1.2.2. C Vitamini

C vitamini (Askorbik asit) radikallerle (süperoksit, hidroksil ve singlet oksijen) reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirerek zararlarına karşı koruyucu görev görür. Sulu fazda bulunan lipid peroksidasyonu etmenlerini de etkisizleştirerek, lipidleri ve zarları bu radikallerin zararlı etkilerine karşı korur. Ayrıca tokoferoksil radikalının alfa-tokoferole indirgenmesini sağlayarak E vitamininin yenilenmesinde etkin görev üstlenir. Bu şekilde E vitamini ile birlikte düşük yoğunluklu lipoproteini de oksidasyona karşı korur. C vitamini insanlarda sentezlenemez ve bu nedenle diyetle alınması gereken bir vitamindir [18].+

1.3.1.2.3. Karotenoidler

Meyve ve sebzelerin çoğunda bulunan ve bunlara sarı, turuncu ve kırmızı rengi veren pigmentlerdir. Çoklu doymamış yapılarından ötürü kolay okside olabilirler. Hidrokarbonlar (α -, β -, γ -karoten ve likopen) ve ksantofiller (lutein ve kapsatin) olarak 2 grupta incelenirler [52]. Konjuge çift bağları onlara serbest radikal toplama ve singlet oksijen bastırma gibi özellikler katmaktadır [53]. Antioksidan aktivite oranı yapılarındaki çift bağ sayısı ile doğru orantılıdır. Likopen, en etkili antioksidan özellikli karotenoiddir. β -kriptoksantin ve β -karoten etkinlik bakımından likopenden sonra gelir. Ksantofiller ise bu gruptaki en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir karotenoiddir [52].

1.3.1.2.4. Tokoferoller

Hayvansal ve bitkisel dokularda yaygın olarak bulunan tokoferoller, fenolik hidroksil gruplarından hidrojen veya elektron vermek suretiyle lipid oksidasyonunu inhibe ederler. Bilinen bulunan sekiz veya daha fazla sayıda formu olmakla birlikte; alfa-, beta-, gamma- ve delta- en çok rastlanılan türleri olup ve tamamen antioksidan etkiye sahiptirler. Bunlar arasında en fazla antioksidan etkiye delta sahipken, en düşük etkiye ise alfa sahiptir. Ancak bu durum substrat yoğunluğu ve sıcaklığa bağlı olarak da farklılık gösterebilir [54].

Örneğin Vitamin E (alfa-tokoferol) tokoferoller içinde bilinen çok güçlü etkiye sahip bir antioksidandır. Vitamin E, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini, serbest radikal etkisinden koruyarak ilk savunma mekanizmasını oluşturur [55].

1.3.1.2.5. Fenolik Bileşikler

Bitkilerde çok miktarda bulunan, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip, ikincil metabolitler olarak da adlandırılan antioksidan maddelerdir [56]. Yaklaşık olarak 8000'den fazla fenolik bileşiğin olduğu bilinmektedir [57]. Yapıları çok basitten çok karmaşığa doğru değişkenlik gösterebilir. Örneğin fenolik asit basit bir yapıdayken, tanin daha kompleks yapıya sahip bir polifenoldür. Bu değişkenliği ise sahip oldukları aromatik halkaların yapısal farklılıkları, OH gruplarının sayısı, çeşitli karbonhidratlar ve organik asitlerle yapmış oldukları bağlar oluşturmaktadır [58]. Fenolik bileşiklerle ilgili olarak önceleri protein, karbonhidrat ve enzimleri bağlayarak sindirimi olumsuz şekilde etkilediği rapor edilmesine rağmen sonraları bu bileşiklerin serbest radikal süpürücü özelliği sayesinde sahip olduğu antioksidan özellikleri ve sağlık yararları daha çok gündeme gelmiştir [59]. Ve bu antioksidan özelliklerinin sahip oldukları OH gruplarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Örneğin fenolelik bileşiklerin önemli bir grubunu oluşturan flavonoidlerin serbest radikalleri emme kapasitesi, anti-

kanserojen, antiinflamatuvar, antibakteriyel, anti-alerjik, anti-viral, özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [58].

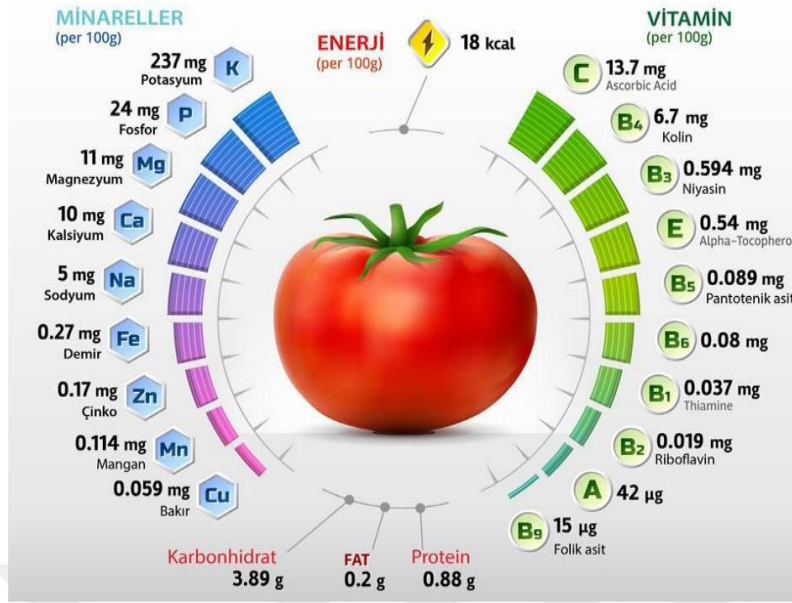
Bütün bu özelliklerinden ötürü günümüzde bitkilerdeki fenolik bileşiklere her geçen gün artan ilgi söz konusudur. Bu ilginin sonucunda, bu flavonoidler daha çok preparatlar şeklinde hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılmaktadır [60].

1.4. Domates (*Solanum lycopersicum* L.)

Hemen hemen dünyanın her yerinde yıllık veya çok yıllık olarak görülebilen, kapalı tohumlu ve çift çenekli olan bu bitkinin Güney Amerika kökenli olduğu düşünülür. Kendisine verilen ismin ise o bölgede yaşayan yerlilerin kullandığı yerel dilden kaynaklı xitomate / zitotomate kelimesinden geldiği bilinmektedir [61]. Bu bitkinin tarım ürünü olarak ilk yetiştirildiği yer Meksika olmasının yanı sıra aynı zamanda domates bitkisinin Avrupa'daki ilk giriş yeri olarak da bilinir [62]. Tarımının yapıldığı ilk yer Avrupa olmakla birlikte Türkiye, Çin, Hindistan, ABD ve Mısır gibi ülkeler günümüzde üretim açısından Avrupa ülkelerini geride bırakmışlardır. Günümüzde bu ülkeler üretim miktarları bakımından dünyada ilk sıralarda yer almaktadırlar [63].

Solanum lycopersicum L 3000' den fazla türe sahip Solanaceae familyasına mensuptur. Bu aileye mensup diğer önemli türlerden patates, biber, patlıcan ekonomik açıdan önemli türler iken karabanotu, ölümcül itüzümü, boru otu gibi türler tıbbi değere sahip, petunya gibi türler ise süs bitkileri de olarak bilinir [64].

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), dünyada insan beslenmesinin önemli bir bileşenidir. Karotenoidler (likopen), askorbik asit, potasyum, folat ve fenolik bileşikler dahil olmak üzere doğal antioksidanların ve zengin bir mikro besin kaynağıdır (Şekil 1.3) [63, 65]. Domates ve domates bazlı ürünlerdeki fenolik içerik olağanüstü olmasa da diğer meyve ve sebzeye oranla yüksek tüketimi (Güney Avrupa'da 2013'te kişi başına ~35 kg; FAOSTAT (2017), sağlığı teşvik edici içeriği daha yüksek olan diğer birçok meyve ve sebzeyi geride bırakmaktadır [66]. Bununla birlikte, bu meyvenin kimyasal bileşimi çeşidine, yetiştirme tekniğine, işleme ve depolama koşullarına göre değişebilir [65].



Şekil 1.3. Domatesin besinsel içerikleri ve miktarları [63].

Domatesin içerdği fitokimyasallardan en çok bilineni likopendir. Birçok sebze ve meyvede (kuşburnu, havuç, karpuz, kestane kabağı, pembe greyfurt vb.) bulunan, bazen miktar olarak domatesten bile fazla miktarda bulunabilen likopen, domatesin tüketimi yıl içinde daha fazla olduğu için kaynağı olarak domates olarak bilinmektedir. Antioksidan özellikli bu madde aynı zamanda domatese olgunlaşma aşamasında kırmızı rengi veren maddedir [67]. Likopenin dışında insan sağlığı için faydalı olan β -karoten, C ve E vitamini ve diğer fenolik bileşikler gibi antioksidan özellikli maddeler içerdği için hem gıda sanayisi hemde tüketiciler için domates daha çok tercih edilmektedir. Bununla birlikte uygunsuz işlem ve fazla ışık ve oksijene maruz bırakma gibi depolama şartlarında likopen izomer oranı değişebilir ya da yapısı tamamen bozulabilir. Bu durum domatesin tüketici gözündeki tercih oranını da azaltabilir [68]. Diğer taraftan domatesteki fenolik bileşikler, çeşitli domates genotiplerinde kapsamlı şekilde karakterize edilmiştir. Rutin, kersetin, naringenin, kalkonaringenin ve kaempferol türevleri gibi flavonoidlerin yanı sıra klorojenik asitler ve ilgili bileşiklerde (hidroksisinnamatlar) ana fenolik bileşikler olarak rapor bildirilmiştir [65]. Bu ikincil metabolitler arasında klorojenik asit, antioksidan, antiinflamatuvar, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, hipoglisemik, antimikrobiyal ve antiviral ajan gibi çeşitli terapötik roller oynayan önemli ve biyolojik olarak aktif bir diyet polifenolüdür [69].

Ayrıca başka bir çalışmayla domatesin sahip olduğu kuersetinin invivo olarak kalple ilgili önemli faydaları ve anti-inflamatuvar, antiagregan ve vazodilatör etkileri sergilerken [70] ve P vitamini olarak da bilinen rutin antikanserojenik etkiye ve kan damarlarının kırılabilirliğini azaltma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir [71]. Bu polifenollerin miktarlarının oranları ayrıca domatesin burukluğu (tadı) ile de ilişkilendirilmiştir [72].



Şekil 1.4. Dört ayrı bölgeden toplanan domates (*Solanum lycopersicum* L.) örnekleri

1.5. Kırmızıbiber (*Capsicum annuum* L.)

Capsicum annuum (biber), dünya genelinde bulunabilen, Solanaceae familyasının çift çenekli çiçekli bir bitkisi olup genellikle ılıman bölgelerde yetişir ve çevresel etkilerin çoğuna dayanıklı bir bitkidir. Biber, tropik bölgelerde yayılan çok yıllık çalı formunda bulunmasının yanı sıra yıllık olarak da bulunabilir [73]. *Capsicum* cinsi, çok çeşitli renk, boyut, şekil ve kimyasal bileşime sahip 200'den fazla tür içerir. Biberler dünya çapında taze bitkisel gıdalar olarak, baharat, makarna veya oleoresin gibi kurutulmuş ürünlerde, ayrıca soslar, salamura veya tutsülenmiş gıdalarda tüketilmektedir [74]. Popülerlikleri ve büyük ekonomik önemi, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan geniş çeşitlilik ve değişkenliğinden kaynaklanmaktadır [75].

Uçucu yağ, vitaminler, lif, proteinler, karotenoidler, kapsaisinoidler, mineral elementler ve yağlı yağlar dahil olmak üzere çeşitli ikincil metabolitler içeren bir bitkidir [76]. Ayrıca, kendi savunması için de besin değeri, aroma, doku, lezzet ve renk bakımından önemli bileşenler içerir. C vitamini özellikle olgun meyvelerinde bulunur [77]. Bunun yanında provitamin A, B1, B2, B3, B6, E ve insan vücudunun oksidatif hasarını önleyen, kardiyovasküler hastalıklardan ve kanserden koruyan antioksidanlar [78] bulundurulur. Biberlerin keskin kokulu bileşenleri baharat ve silah olarak da kullanılır. Biber yüksek antioksidan aktiviteye sahip büyük bir polifenol içeriğine sahiptir [77]. Bu nedenle biber (1.4 g/kg), siyah fasulye, patlıcan, kuşkonmaz (1.2 g/kg)

ve nohuttan (0.10 g/kg) daha yüksek bir polifenol içeriğine sahiptir [79]. Bütün bu bileşikler, hayvanlar ve insanlar üzerindeki farmasötik uygulamaları için tanınmasını arttırmış ve bu uygulamalar gıda ve ilaç idaresi (FDA ve EFSA) tarafından onaylanmaktadır [80].

Dünya biber üretimi 2019 yılında yaklaşık 42 milyon ton olarak gerçekleşmiş [81] ve bunun %12'si (5 milyon ton) biberin yüksek sıcaklıklar, fırtınalar veya hasat sırasında besin eksikliğinden kaynaklanan kalitesiz deformasyonları veya üzerlerinde oluşan lekeler nedeniyle ve yenmeyen parçalar nedeniyle israf edilmektedir. Ayrıca biberin organik bileşimi, büyük bir karbon ayak izine sahip önemli bir çevresel etki anlamına gelir (sebzeler bir bütün olarak, gerekli atık planıyla ilgili olarak yaklaşık %6'ya yol açar) (INTA Ministerio de Agricultura de Chile 2018).

Kırmızıbiber (*Capsicum annuum* L., tatlı biber) genellikle taze veya pişmiş bir sebze olarak yenir ve doğal gıda boyası olarak yaygın olarak kullanılır [82]. Farklı şekil ve renklerde birçok farklı kırmızıbiber çeşidi vardır ve kırmızıbiber sadece karotenoid pigmentler için değil aynı zamanda vitaminler, mineraller ve flavonoidler gibi fitokimyasallar için de iyi bir kaynak olarak kabul edilir [83]. Kırmızıbiberin bu farklı çeşitleri arasında daha çok olgun meyvesi tüketiciler tarafından tercih edilir ve bu kırmızıbiberde bulunan ana karotenoid ksantofillerden biri olan kapsantindir [84]. Kırmızıbiberdeki kapsantin, yağ asitleri ile açillendiği bir formda bulunur ve oksijen içerir ve β -karotenden daha polardır; kapsan'ın farklı yapıları, ince insan vücudunda farklı fonksiyonel etkiler gösterebilir [85]. Kapsantin bir serbest radikal süpürücü olarak etkilidir [86]. anti-tümör aktivite sergiler [87], obezite kaynaklı iltihabı hafifletir [88] ve plazma yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyelerini yükseltir [89].



Şekil 1.5. Dört ayrı bölgeden toplanan kırmızıbiber (*Capsicum annuum* L.) örnekleri

1.6. *Saccharomyces cerevisiae* L. (Maya Hücresi) ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres canlıların yaşam kalitesini bozduğu gibi aynı zamanda biyoteknolojik üretim süreçlerinde de soruna sebep olur. Bunu ise oksijen dengesini bozarak ve mikroorganizmaların üremesine engel olarak gerçekleştirir. Burada oksidatif stresin dozu önemlidir. Yani oksidatif stres etmenleri arttıkça bu anlamda maddi kayıplarda artmaktadır [90]. Gerek canlılar üzerindeki kötü etkilerini ve gerekse maddi kayıplarını ortadan kaldırmak amacıyla başta insan olmak üzere, birçok canlı üzerindeki oksidasyon-antioksidasyon mekanizmalarını aydınlatarak çözüm üretmek için geçmişten günümüze pek çok araştırma yürütülmüştür. Bu çalışmalar içinde insana ve diğer yüksek organizasyonlu canlılara uygunluk gösteren bir model olan maya hücreleriyle yapılan çalışmalar bu anlamda daha dikkat çekmiştir. Özellikle maya hücrelerinin makromoleküler olarak memeli hücrelerine benzerlik göstermesi maya hücreleriyle yapılan çalışmalara ilgiyi arttırmıştır [91]. *Saccharomyces cerevisiae* ekmek mayası olarak bilinen, deneysel çalışmalarda en çok kullanılan ve mantar ailesinin topluluk halinde bulunabilen maya hücresidir. Meyve yüzeylerinde serbest yaşamakla birlikte, daha çok ekmek ve maya endüstrisinde karşımıza çıkmaktadır. Diğer bir deyişle *S. cerevisiae*, gıda maddelerindeki kullanımının makul olması, uygun maliyetli ve elde edilmesi kolay bir mikroorganizma olması bakımından fermentasyon sanayisinde en önemli hücresel ajanı olarak kabul edilmektedir. Bu önemli hücresel ajan, eski zamanlardan beri ekmek ve şarap üretiminde ve birçok diğer alanda da kullanılmaktadır [92].

Boyutları bakteri hücresine göre daha büyük olduğundan, hücresel döngülerin anlaşılmasına yönelik çalışmalarda daha çok kullanılmaktadır. Diğer bir önemli tercih nedeni ise daha kolay şekilde kültürünün oluşturulmasıdır [93] % 20-40 oranında karbohidrat ihtiva etmekte; hücre duvarında β -glukan ve mannan polisakkaritler yer almaktadır [94]. Karbohidratın yanısıra; bol miktarda, sindirim ve emilimleri yüksek olan proteinleri de ihtiva ettikleri bildirilmiştir [95]. Ayrıca en çok B vitamini olmak üzere gibi birçok vitamin ihtiva ettiği gibi [94]. Lizin ve Methionin gibi aminoasitlerin önemli bir dengeleyicisi olduğu rapor edilmiştir. Bu maya hücresinin hayat süresi sınırlı olduğundan, hücre yaşlanmasında mitokondrial antioksidan genlerin görevlerini anlamak için de iyi bir model oluşturur.

Hayvan, bitki ve mantarlar üzerinde yapılan genomik, proteomik ve metabolik çalışmalarda birçok mekanizmanın anlaşılmasında en iyi sonuç veren organizma olarak da *S. cerevisiae* kabul görmektedir [96]. Özellikle de ksenobiyotik ve diğer toksik madde etkilerinin incelenmesinde en çok kabul gören ökaryotik hücre modelidir [97]. Çünkü bu hücreler toksik maddelere karşı direnç gösterirler [98].

Maya hücreleriyle yapılan bir çalışmada bu hücrelerin strese karşı (glukoz yokluğu, ağır metal, ısı veya yüksek etil alkol düzeyi) tepkiler oluşturduğu gözlenmiştir. Bu çalışma ile maya hücrelerinin stres altında, hücresel yapıyı koruyup destekleyen, proteinlerin ilgili gen transkripsiyonundaki değişimlerini ise kontrol edebildiği ileri sürülmüştür [99].

Maya hücreleri de diğer canlılar gibi gerek doğal olarak ve gerekse insanların yol açtığı diğer etkiler sonucu oluşan stres koşulları altında yaşamak zorunda kaldıklarından ve bunla mücadele etmek için adaptasyon geliştirdikleri, bununla ilgili bir çalışmada ise sıcaklık, oksijen ve besin sınırlanması gibi bazı çevresel faktörlerin değişimine karşı *S. cerevisiae* hücresinin açık bir şekilde etkilenip plazma membranında bazı adaptasyonlar meydana getirdiği ve bu adaptasyonların ise lipid bileşimindeki modifikasyonlara neden olduğu gösterilmiştir [100].

Tabiki *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerini etkileyen bir diğer stres ise oksidatif streştir. Örneğin bu hücrelerin çoğaldıkları ortamın çözünmüş oksijen miktarı yükselirse veya iyonize radyasyon uygulanırsa, protein, lipid ve DNA üzerinde oksidatif hasar meydana gelir. Oksidatif stresle karşılaşan maya hücrelerinin içerdikleri antioksidan etkili bileşikler ve enzimler yardımıyla aktif oksijeni ortamdan uzaklaştırarak mücadele ettikleri bildirilmiştir [100].

Maya hücrelerindeki başlıca antioksidan savunma sistemleri olarak, süperoksit dismutaz (sitoplazma), katalaz, glutatyon redüktaz enzimleri ile glutatyon, metalloprotein, poliamin kimyasalları gösterilmiştir [100].

Maya hücreleriyle yapılan birçok çalışma ile oksidatif stresin moleküler mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır. Maya hücresindeki protein yapısı ROS aktivitesi sonucu oksitlenir ve protein karbonilleri meydana getirir. Sistein amino asidi ROS tarafından daha çok uğrayan amino asittir. Bunun nedeni yapısındaki tiyol (-SH) grubunun ROS moleküllerine daha kolay elektron

vermesidir [101]. Maya hücrelerinin lipid ve yağ asidi bileşimi ise mayalanma sıcaklığı, oksijenin oranı, büyüme hızı ve mayalanma aktivitesini değiştirebilir [102].

Yapılan bir çalışmayla, önemli bir antioksidan olan glutatyonun maya hücresindeki miktarının hidrojen peroksit (H_2O_2)'e karşı oluşturulacak oksidatif stres cevabındaki rolü incelenmiş, γ –glutamilsistein sentetaz (GSH-I) enziminin inaktivitesiyle H_2O_2 'e karşı hassasiyetin arttığı ve bu anlamda oksidatif strese cevabın baskılandığı tespit edilmiştir [103]. Yine benzer şekilde glutatyonun mayalardaki sentezinin ilk aşamasında görevli enzimi kodlayan geni kusurlu olan mutantların (GSH1) ve glutatyon redoks oranı değiştirilmiş mutantların (glr1) hidrojen peroksit'e karşı daha duyarlı hale geçmeleri maya hücresinde GSH'nin H_2O_2 'e karşı temel savunma antioksidanı olarak aktif rol aldığını göstermektedir [104]. Yani yapılan bu çalışmalarla oksidatif stres koşullarında GSH düzeyinin; GSH'nin GSSG'ye oksidasyonu, GSH'nin proteinlerle birleşerek karışık disüflitler oluşturması, Glutatyon transferazların katalizlediği konjugasyon reaksiyonlarından sonra hücre dışına aktif olarak pompalanması ve Glutamil transpeptidazların etkisiyle GSH yıkımının başlaması ile değişebileceği öngörülmüştür [105].

Yapılan başka bir çalışmada, *S. cerevisiae* hücrelerine radyasyon uygulanarak süperoksit dismutaz enziminin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, iyonize radyasyon uygulanmış yabani tip ve SOD geni delesyonlu suşlar arasındaki karşılaştırmalar sonucunda, canlılık oranları ve protein karbonil düzeyleri arasında belirgin farklılıklar belirlenmiştir [106]. H_2O_2 'nin yüksek dozlarda süperoksit dismutaz enziminin aktivitesini engellediği, süperoksit radikalının hücre içinde birikerek katalazı inhibe ettiği rapor edilmiştir [107].

Antioksidan özellikteki GST, oksidatif hasarı oluşturan serbest radikaller ve peroksitlere karşı hücrelerin korunmasını sağlar. GST'nin bu görevi; maya hücreleriyle yapılan çalışmalarda farklı besin kaynakları ve oksidatif strese karşı sentezlediği saptanarak gösterilmiştir [108]. Bu çalışmaların dışında maya hücrelerinde, selenyum bileşikler, vitamin A ile vitamin E'nin ve enzimlerin koruyucu etkileri de incelenmiştir [109]. Ayrıca bir diğer oksidatif stres belirteci olan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan ve miktarının fazla olması hücresel hasarın bir göstergesi olan MDA [110], hücre düzeyinde metabolize edilerek ya da diffüze olarak diğer hücrelerde zarar vermektedir [111].

2. MATERYAL METOD

2.1. Kullanılan Kimyasal Çözücüler ve Organik Çözücüler

Tris-base, Sülfirik Asit (H_2SO_4), Tris-base HCl, Methanol, Hidrojen peroksit (H_2O_2), perklorik asit (PCA), potasyum hidroksit (KOH), Asetonitril, Potasyum sodyum tartarat, n-hekzan, Sodyum karbonat ($NaCO_3$), n-heptan, Sodyum sitrat ($C_6H_5Na_3O_7$), İzopropanol, Monopotasyum fosfat (KH_2PO_4), EDTA, Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), Butilhidroksitoluen (BHT). Yağ asidi standart karışımı, Hidroklorik asit (HCl), Vitamin Standartları, Potasyum bikarbon kır sülfat çözeltisi ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), Dimetil sülfoksit (DMSO), Sodyum klorür (NaCl), Folin (FCR), Sodyum hidroksit ($NaCO_3$).

2.2. *Saccharomyces cereviaiae* L. Kültür Ortamının Hazırlanması

20 g peptone water, 20 g yeast ekstraktı ve 40 g D-Glukoz 1 L'lik saf su içerisinde ultrasonik su banyosunda 20 dakika süre ile çözdürülerek, 250 ml'lik şişelere etiketleme yapılarak eşit şekilde aktarıldı. Şişelerin her birine 200 ml besiyeri eklendi. Sonrasında otoklav 121 °C'ye programlanıp 15 dakika sterilize edildi. Soğutma işleminden sonra steril olarak 1 ml stok maya hücresi, 100 µL H_2O_2 eklendi. İnkübatör 30 °C' ayarlanıp elde edilen karışım 72 saat boyunca inkübasyona bırakıldı.

2.3. Bitkisel Materyallerin Toplanması

Bu çalışmada, yaz mevsimi döneminde organik olarak yetiştirilen domates ve kırmızıbiber örnekleri Elazığ'ın 4 farklı bölgesinden toplandı (Şekil 1.4, Şekil 1.5). Bu bölgeler Baskil (D1), Cip (D2), Doğukent (D3) ve Sivrice (D4) olarak belirlendi. Ve örnek materyaller bu bölgelerden ayrı ayrı taze olarak toplanıp deneylerin yapılacağı laboratuvara getirildi.

2.4. Bitki Ekstraktların Hazırlanması

Domates ve kırmızıbiber örneklerinden 100'er g tartılarak 250 mL %85'lik metanol ile blender yardımıyla homojenize edilip, filtre kağıdı yardımıyla filtre edildi. 50 °C'deki döner buharlaştırıcı ile çözücü madde uçurularak uzaklaştırıldı. Geride kalan kısım dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözünerek 50 mL hacime getirildi. Bu karışımdan 1 mL alınarak *S. cerevisiae* kültürlerine ilave edilerek 30 C'de inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda hücre pelletleri toplanarak biyokimyasal işlemler uygulandı ve sonuçlar ortalama±SEM şeklinde ifade edildi.

Besiyeri ortamı hazırlandıktan sonra gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

1-Kontrol Grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su, 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı olacak şekilde hazırlandı.

2-Hidrojen Peroksit Grubu (H₂O₂): Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı hazırlandı. Ayrıca inkübasyon başlangıcında 100 µL H₂O₂ çözeltisi eklendi.

3-Domates Ekstraktı Verilen Gruplar: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı kullanıldı ve besi ortamına 1 mL domates ekstraktı ilave edildi.

4- Kırmızıbiber Ekstraktı Verilen Gruplar: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı kullanıldı ve besi ortamına 1 mL kırmızıbiber ekstraktı ilave edildi.

5- Domates Ekstraktı+H₂O₂ Verilen Gruplar: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı kullanıldı ve besi ortamına 1 mL domates ekstraktı ile inkübasyonun başlangıcında 100 µL H₂O₂ çözeltisi eklendi.

6-Kırmızıbiber Ekstraktı+H₂O₂ Verilen Gruplar: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktipepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı kullanıldı ve besi ortamına 1 mL kırmızıbiber ekstraktı ile inkübasyonun başlangıcında 100 µL H₂O₂ çözeltisi eklendi.

Kültür ortamına steril şartlarda maya hücresi aşılmasından sonra, kültürler 30 °C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kültürler laboratuvar şartlarında 600 nm'de hücre yoğunlukları ölçüldükten sonra, 6000 rpm'de 5 dakika süreyle + 4 ° C'de santrifüj edilip hücreler toplandı. Hücreler pellet olarak toplandıktan sonra yağ ağırlıkları belirlendi.

Hücre pelletleri, 20 mM Tris HCl-baz (pH= 7.4) ve 20 mM ETDA karışımı ile homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ile antioksidan enzimler, GSH, protein, MDA ve GST ölçümleri yapıldı. Geriye kalan pellet 10 ml 3/2, (v/v) oranında n-hekzan/izopropanol karışımı ile homojenize edilip, yağ asidi düzeyi, ADEK ve sterollerin (ergosterol) analizi yapıldı.

2.5. Total Protein Tayini

Hücre pelletlerinden elde edilen örneklerin protein ölçümü Lowry ve ark.'nın (1951) [112], tanımladığı metoda göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Örnekler Lowry çözeltisi ilave edilerek 10 dk bekletildi. Bu sürenin sonunda su ile 1/1 (v/v) oranında seyreltilmiş folin reaktifi ilave edilip, 30 dk karanlık ortamda bekletildi. Sürenin sonunda 660 nm dalga boyunda UV'de

blank'a karşı örneklerin absorpsanları okundu. Standart olarak ise Bovin serum albümin kullanıldı. Elde edilen sonuçlar mg/g olarak ifade edildi.

2.6. Lipid peroksidasyon (MDA) Miktarlarının HPLC cihazı ile Tayini

MDA değerlerinin belirlenmesi için 1mL alınan supernatant kısım kullanıldı. Bunun üzerine %10'luk perklorik asit (PCA) eklenip proteinlerin çökmesi sağlandı. Elde edilen bu karışım 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek, supernatant kısım otosampler viallere alınarak Shimadzu (Kyoto Japan) marka HPLC cihazında analizler yapıldı. Mobil faz için 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı (%82-%18, H_3PO_4 ile pH=3.6) oluşturuldu. ODS-3 kolonu (150 mm x 4.6, 5 μm) analiz için kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1,0 mL/dk olarak ve DAD dedektörünün dalga boyu ise 244 nm olarak ayarlandı [113].

2.7. GSH ve GSSG Değerlerinin HPLC Cihazı ile Tayini

Supernatant kısımdan ayrılan diğer örnekten 1 mL alınıp üzerine %10'luk PCA eklenerek proteinler çöktürüldü. Elde edilen bu karışım 6000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip meydana gelen supernatant kısım otosampler viallere alındı. Analizler HPLC cihazında yapıldı. Bunun için mobil faz olarak 50 mmol NaClO_4 (%0,1 H_3PO_4) tamponu, kolon olarak da ODS 3 HPLC kolonu (150 mm x 4.6, 5 μm) kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1,0 mL/dk olarak, DAD dedektörünün dalga boyu ise 215 nm olarak ayarlandı. Elde edilen değerler Labsolution 5.67 (Kyoto Japan) programı kullanılarak hesaplandı [114].

2.8. Lipid ve Vitaminlerin Ekstraksiyonu

Elde edilen örnek karışımların yağ asidi, A, D, E ve K vitamini, ergosterol ve diğer sterollerin ekstraksiyon işlemi Hara ve Radin (1978) [115]' in tanımladığı metoda göre yapıldı. Bu amaçla örnekler 3:2 (v/v) oranında hekzan-izopropanol karışımı ile 30 sn homojenize edilip, elde edilen homojenat 5000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edildi. Son olarak elde edilen bu supernatant kısımdan yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, ergosterol ve diğer sterollerin analizleri yapıldı.

2.9. A, D, E ve K Vitamin ile Ergosterol Miktarlarının HPLC Cihazı ile Tayini

Bu tayin için ayrılan örneklerin üzerine %10'lık metanolik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi eklendikten sonra vortekslendi. Daha sonra bu karışım 85 °C'de 15 dk süre ile bekletildi. Bu süre sonunda tüpler oda sıcaklığına soğutularak üzerine saf su ilave edilip karıştırıldı. Lipofilik moleküllerden sabunlaşmayanlar için ise 5 mL hekzan ile ekstraksiyonu kullanıldı. Bunun

için kullanılan hekzan fazı ise azot gazı kullanılarak uçuruldu. Geride kalan tortu 1,0 mL (%60 + % 40v/v) asetonitril/ metanol karışımı ile çözüldükten sonra otosampler viallere alındı. Shimadzu marka HPLC cihazı kullanılarak analizler yapıldı. Bu ölçüm için Asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı mobil faz olarak kullanıldı. Mobil fazın akış hızı ise 1 mL/dk olarak ayarlandı. A, D, E ve K vitamin analizleri DAD-UV dedektörü kullanılarak yapıldı. Bunun için kolon olarak ise Nucleodur LC 18 (15 x 4,6 cm, 5 µm; MN USA) kolonu kullanıldı. Dedeksiyon dalga boyları olarak A vitamini için 326 nm, E, D, K vitaminleri ve fitosteroller için ise 202 nm ayarlandı [116].

2.10. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Örneklerin yağ asidi bileşimini tespit için, ayrılan örneklerin üzerine %2'lik metanolik sülfürik asit ilave edilip vortekslenerek örneğin homojen şekilde karışması sağlandı. Sonrasında elde edilen bu karışım 55 °C'de 15 saat boyunca metilleşmeye bırakıldı. Ve 15 saat sonrasında tüpler oda sıcaklığına soğutulup %5'lik sodyum klorür (NaCl) ilave edilerek iyice karıştırıldı ve bu şekilde tüpler içinde oluşturulan yağ asidi metil esterleri hekzan ile ekstre edildi. Bu işlem sonunda oluşan hekzan fazı ise üstten pipetle alınarak %2'lik potasyum bikarbonat (KHCO₃) ile muamele edildi ve faz ayrımı için 4 saat bekletildi [117-119]. Daha sonra bu metil esterlerini içeren karışımların çözücülerini 45 °C'deki azot gazı kullanılarak uçuruldu. Bu işlemden sonra tüp içinde kalan kalıntıya 1 mL kloroform eklenip çözülerek, örneğin elde edilen bu son formundaki yağ asidi metil esterleri Shimadzu GC 2010 Plus gaz kromatografisi kullanılarak analiz edildi.

2.11. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisi ile Analizi

Örneklerin yağ asitleri metil esterlerine dönüştürülürken kolon sıcaklığı 138–218 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak ayarlandı. Kolon sıcaklık programı 138 °C'den 218 °C'ye kadar, sıcaklık artışı ise 200 °C'ye kadar 5 °C/dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C/dk olarak ayarlandı. 218 °C'de 7 dakika tutulup, toplam süre olarak 28 dakika ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Helyum gazı kullanıldı. Analiz aşamasında örneklerle ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar ilave edilip, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bütün bu işlemler bittikten sonra gerekli programlamalar yapıp örneklerin yağ asidi metil esterleri analiz edilmiştir.

2.12. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Tayini

2.12.1. Superoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi

SOD enzim tayini adenokroma oksidasyonunu inhibe eden, epinefrin-ksantin ve ksantinoksidaz sisteminden oluşan bir metodla yapıldı. Örneklerin inceleneceği tüplere sırasıyla 0.05 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, epinefrin, ksantin ve örnek materyal eklenip, son olarak da ksantin oksidaz ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Bu olaylar sonunda n oluşan absorbanlar spektroda 480 nm'e karşı okundu [120].

2.12.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi

Katalaz enzim aktivitesinin analizi için ise hidrojen peroksitin 240 nm dalga boyundaki absorbans değerinin ölçülmesine dayanan UV metodu kullanıldı. Deney tüplerine 50 µl örnek materyal ve üzerine ise 250 µl 67 mm fosfat tamponu (pH 7.0) ve 20 mM H₂O₂ eklendi. Meydana gelen reaksiyon sonucu hidrojen peroksit, katalaz yardımı ile oksijen ve suya ayrışması sonucunda spektroda 240 nm'deki absorbans değerinin azalmasından faydalanılarak doku içerisindeki katalaz aktivitesi hesaplandı. Bu hesaplama da bir birim katalazın dakikada 1 µmol H₂O₂'yi ayrıştıran enzim miktarını göstermektedir [121].

2.12.3. Glutation-S-transferaz (GST) Enzim Aktivitesi

Glutation-S-transferaz enzim analizi için 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.5) içeren deney tüplerine sırasıyla, 1 mM 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ve 1 mM GSH ve son olarak örnek materyal eklenerek reaksiyon başlatıldı ve spektroda 340 nm'deki değeri ölçülerek belirlendi. [122].

2.13. İstatistik Analizi

İstatistik analizler SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile deneysel gruplar arasındaki karşılaştırmalar ANOVA (tek yönlü varyans analizi; one-way ANOVA) testi ile grupların kendi aralarındaki karşılaştırılması ise LSD testi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi.

İstatistiksel anlamlar şu şekilde ifade edildi: a: $p > 0.05$ ise Gruplar arasında farklılık yok, b: $p < 0.05$ ise Gruplar arasında istatistiksel farklılık var, c: $p < 0.01$ ise Gruplar arasındaki farklılık önemli düzeyde, d: $p < 0.001$ ise Gruplar arasındaki farklılık daha belirgin düzeydedir.

3. BULGULAR

3.1. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Protein, GSH, MDA ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Bulgularımıza göre total protein miktarı kontrol grubuna göre H grubunda önemli düzeyde azaldığı halde ($p<0,01$), D4+H grubunda kısmen artış gözlemlendi ($p<0,05$). Diğer gruplarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında protein düzeyinin H grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ($p<0,01$). Lipid peroksidasyon (MDA) düzeyi kontrol grubuna göre bütün bitki gruplarında kontrol grubundan farklı değildi. H_2O_2 verilen grupta belirgin düzeyde yüksek olmasına rağmen ($p<0,001$), H_2O_2 ve domates ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında H grubuna göre belirli oranlarda azalma olduğu tespit edildi ($p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.1, Tablo 3.2). GSH düzeyi kontrol grubuna göre D1 ve D2 kodlu ekstrakt verilen gruplarda kısmen azaldığı halde ($p<0,05$), D3 ve D4 gruplarında önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p<0,01$). Ayrıca H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre ekstrakt verilen bütün gruplarda GSH düzeyinin farklı oranlarda arttığı belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$).

GSSG düzeyi kontrol grubuna göre D1 grubunda belirgin düzeyde yüksek olduğu halde ($p<0,001$), diğer gruplarda kontrol grubuna göre kısmen azalmış ($p<0,05$), ya da istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre domates ekstraktı verilen gruplarda belirgin düzeyde bir azalış trendi olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). GST düzeyinde kontrol grubuna göre bütün gruplarda kısmen bir azalma olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında GST düzeyi bakımından farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3.1, Tablo 3.2).

Tablo 3.1. Domates ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi

Analizler	K	D1	D2	D3	D4
Total protein (mg/g pellet)	1,41±0,04	1,47±0,12 ^c	1,52±0,02 ^a	1,41±0,07 ^a	1,55±0,07 ^a
MDA (nmol/g ellet)	26,21±0,87 ^a	27,59±1,09 ^a	25,15±0,88 ^a	28,26±1,61 ^a	29,14±1,51 ^a
GSH (µg/g pellet)	135,34±0,98	101,52±2,07 ^b	111,41±1,97 ^b	164,78±2,64 ^c	171,31±3,95 ^c
GSSG (µg/g pellet)	29,03±1,36	55,41±1,11 ^d	31,59±1,33 ^a	21,21±1,21 ^b	23,25±1,08 ^b
GST (µg/g pellet)	14,23±0,34	11,82±0,22 ^b	11,47±0,69 ^b	11,22±0,32 ^b	11,71±0,36 ^b
CAT (µg/g pellet)	91,26±2,02 ^a	48,63±1,91 ^d	71,89±3,26 ^b	65,14±4,67 ^b	95,89±2,66 ^a
SOD (µg/g pellet)	7,01±0,25	4,82±0,16 ^c	5,33±0,25 ^b	5,09±0,18 ^b	5,32±0,21 ^b
SOD (% inhibisyon)	80,66±0,97 ^a	83,53±0,17 ^a	80,73±0,80 ^a	81,07±0,73 ^a	80,08±0,63 ^a

K= Kontrol, D1= (Baskil), D2= (Cip), D3= (Doğukent), D4= (Sivrice)

Domates ekstraktı verilen gruplarda katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre D1 grubunda belirgin düzeyde azalırken ($p<0,001$), D2 ve D3 gruplarında kısmen bir azalış trendi gözlenmiştir ($p<0,05$). D4 ve D4+H gruplarında ise istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre D1+H grubunda katalaz enzim düzeyinde belirgin düzeyde azalma gözlenmiştir ($p<0,001$). D2+H, D3+H ve D4+H gruplarındaki katalaz düzeyinin ise H grubuna göre yükseliş trendi olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,01$) (Tablo 3.1, Tablo 3.2). SOD düzeyi kontrol grubuna göre bütün ekstrakt ve H_2O_2 verilen gruplarda kısmen azaldığı belirlendi. Ancak, H_2O_2 ve domates ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, D1+H, D2+H ve D3+H gruplarında istatistiksel farklılık gözlenmediği halde, D4+H grupta kısmen bir artış trendi olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$) (Tablo 3.1, Tablo 3.2). SOD enziminin % inhibisyon değerleri incelendiğinde, ekstrakt verilen gruplar arasında istatistik farklılık bulunmamış, H_2O_2 ve domates ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, D3+H ve D4+H gruplarında kısmen bir azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Tablo 3.1, Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Domates ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin H grubuna göre değişimi

Analizler	H	D1+H	D2+H	D3+H	D4+H
Total protein (mg/g pellet)	1,18±0,03	1,32±0,04 ^a	1,34±0,03 ^a	1,32±0,05 ^a	1,59±0,07 ^b
MDA (nmol/g ellet)	42,86±1,17	20,89±0,51 ^d	34,81±0,43 ^c	28,16±1,11 ^c	27,93±0,72 ^c
GSH (µg/g pellet)	101,52±3,71	124,89±1,11 ^b	149,21±3,99 ^c	139,18±3,68 ^b	167,49±5,61 ^d
GSSG (µg/g pellet)	48,18±0,85	24,32±0,49 ^d	30,51±0,74 ^d	19,32±0,32 ^d	27,96±0,88 ^d
GST (µg/g pellet)	10,59±0,79 ^a	11,45±0,53 ^a	10,19±0,26 ^a	10,51±0,17 ^a	12,37±0,31 ^a
CAT (µg/g pellet)	64,99±1,61	38,77±0,86 ^d	73,76±1,63 ^b	110,11±2,93 ^d	87,63±2,26 ^c
SOD (µg/g pellet)	4,84±0,26 ^a	5,16±0,11 ^a	5,15±0,16 ^a	5,56±0,3 ^a	6,34±0,21 ^b
SOD (% inhibisyon)	83,47±0,86 ^a	81,47±0,80 ^a	81,01±0,81 ^a	77,73±1,29 ^b	77,06±0,81 ^b

H= H_2O_2 , D1+H= (Baskil), D2+H = (Cip), D3+H = (Doğukent), D4+H = (Sivrice)

3.2. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Yağ Asidi Sonuçları

Gaz kromatografisi ile yapılan yağ asidi sonuçlarına göre *S. cerevisiae* pelleti içinde başlıca olarak palmitik asit (C16:0), Palmitoleik asit (C16:1, n-7), Stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1 n-9) ve linoleik asit (18:2 n-6) gibi yağ asileri bulunmuştur. Laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), heptadekanoik asit (17:0), heptadekanoik asit (C17:1) ve linolenik asit (C18:3 n-3) gibi yağ asitlerinin düzeyi ise düşük bulunmuştur (Tablo 3). Bu yağ asitlerin gruplar arasındaki

değişimi incelendiğinde, palmitik asit düzeyi kontrol grubuna göre D1 grubunda belirgin düzeyde azaldığı halde ($p<0,001$), D2, D3 ve D4 gruplarında farklılık bulunmadı. H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre D1+H, D2+H ve D3+H gruplarında farklılık bulunmadı. D4+H grubunda ise H grubuna göre kısmi bir yükselme gözlemlendi ($p<0,05$). Kontrol grubuna göre H, D1+, D2+H ve D3+H gruplarında palmitik asit düzeyinin kısmen azaldığı belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Palmitoleic asit düzeyi kontrol grubuna göre D1, D1+H, H ve D4 gruplarında azaldığı halde ($p<0,001$, $p<0,01$), D2 ve D3 gruplarında farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ve domates ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre D1+H grubunda azaldığı halde ($p<0,05$), D2+H, D3+H ve D4+H gruplarında artış gözlemlendi ($P<0,05$, $p<0,01$) (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Tablo 3.3. Domates ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi (%)

Yağ Asitleri	K	D1	D2	D3	D4
C12:0	1,47±0,13 ^a	0,56±0,05 ^d	0,82±0,03 ^d	0,74±0,06 ^d	0,58±0,03 ^d
C14:0	1,93±0,13 ^a	0,41±0,03 ^d	0,88±0,02 ^d	0,74±0,04 ^d	0,67±0,05 ^d
C16:0	28,74±0,36	23,68±0,33 ^d	27,96±0,99 ^a	27,77±0,45 ^a	26,56±0,91 ^a
C6:1 n-7	18,66±0,34 ^a	10,07±0,27 ^d	19,19±0,55 ^a	17,67±0,82 ^a	14,14±0,34 ^c
C17:0	0,62±0,03	0,44±0,02 ^b	0,82±0,07 ^b	0,76±0,04 ^b	0,69±0,08 ^a
C17:1	0,47±0,03	0,26±0,01 ^c	0,59±0,06 ^a	0,53±0,06 ^a	0,43±0,02
C18:0	15,11±0,51 ^a	17,04±0,47 ^b	18,41±0,49 ^c	22,83±0,74 ^d	21,74±0,34 ^d
C18:1 n-9	22,94±0,85 ^a	30,65±1,86 ^d	21,42±0,58 ^a	18,73±0,66 ^c	21,12±0,46 ^a
C18:2 n-6	8,83±0,41 ^a	15,28±0,54 ^d	7,84±0,23 ^a	8,58 ±0,16 ^a	12,67±0,32 ^b
C18:3 n-3	1,26±0,02 ^a	1,75±0,06 ^c	2,07±0,02 ^d	1,65±0,06 ^b	1,72±0,08 ^b
Σ Saturated	47,84±1,45 ^a	42,13±0,87 ^c	48,89±1,71 ^a	52,84±1,33 ^c	50,01±1,43 ^b
Σ Unsaturated	51,34±1,65 ^a	57,88±1,75 ^d	51,25±2,96 ^a	47,16±1,86 ^c	49,99±1,23 ^b
Σ MUFA	41,60±1,22 ^a	40,98± 1,14 ^a	41,20±1,19 ^a	36,93±1,54 ^c	35,69±0,82 ^c
Σ PUFA	10,09±0,43 ^a	17,03±0,61 ^d	9,91±0,25 ^a	10,23±0,22 ^a	14,39±0,41 ^c

K= Kontrol, D1= (Baskil), D2 = (Cip), D3= (Doğukent), D4= (Sivrice)

Stearik asit düzeyi kontrol grubuna göre domates ekstraktı ve ekstrakt + H_2O_2 verilen bütün gruplarda farklı oranlarda yüksek bulundu ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Oleik asit miktarı kontrol grubuna göre D1 grubunda belirgin düzeyde artış göstermesine rağmen ($p<0,001$), D3 grubunda önemli düzeyde azalış gösterdiği belirlendi ($p<0,01$). D2 ve D4 gruplarında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). H_2O_2 ve domates ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, D1+H grubu ile H grubu arasında farklılık bulunmamasına rağmen, D2+H, D3+H ve D4+H gruplarında kısmen azalma tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Linoleik asit düzeyi kontrol grubuna göre D1 ve D4 gruplarında belirgin düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$). D2 ve D3 gruplarıyla kontrol grubu arasında farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre D2+H ve D3+H gruplarında farklılık gözlenmediği halde ($p>0,05$), D1+H grubunda önemli düzeyde artış belirlendi. D4+H grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık gözlenmediği halde, H grubuna göre D4+H grubunda önemli düzeyde bir azalma saptandı ($p<0,01$) (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Esansiyal yağ asitlerinden olan linolenik asit kontrol grubuna göre domates ekstratı ve H_2O_2 + ekstrakt verilen gruplarda artış farklı oranlarda artış gösterdiği belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Miristik ve laurik asitlerin kontrol grubuna göre hem ekstrakt verilen hem de ekstrakt + H_2O_2 verilen gruplarda farklı oranlarda azaldığı belirlendi (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Domates ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde yağ asidi değerlerinin H grubuna göre değişimi (%)

Yağ Asitleri	H	D1+H	D2+H	D3+H	D4+H
C12:0	0,92±0,07 ^a	0,55±0,04 ^b	0,65±0,05 ^b	0,64±0,08 ^b	0,65±0,09 ^b
C14:0	1,11±0,11 ^a	0,54±0,04 ^b	0,71±0,08 ^b	0,74±0,07 ^b	0,95±0,06 ^b
C16:0	25,77±0,76 ^a	25,54±0,24 ^a	26,92±0,39 ^a	26,47±0,55 ^a	28,87±0,31 ^b
C6:1 n-7	15,13±0,24	13,78±0,17 ^b	17,05±0,35 ^b	18,34±0,32 ^c	18,28±0,44 ^c
C17:0	0,55±0,03 ^a	0,54±0,02 ^a	0,65±0,07 ^a	0,69±0,04 ^a	0,87±0,08 ^a
C17:1	0,44±0,04 ^a	0,43±0,02 ^a	0,47±0,03 ^a	0,51±0,02 ^a	0,48±0,02 ^a
C18:0	21,30±0,51 ^a	20,83±0,67 ^a	22,43±0,89 ^a	21,07±0,74 ^a	21,51±0,84 ^a
C18:1 n-9	22,96±0,88 ^a	22,69±0,86 ^a	19,06±0,78 ^b	19,21±0,86 ^b	18,88±0,56 ^b
C18:2 n-6	10,98±0,81 ^a	13,26±0,74 ^c	10,18±0,63 ^a	10,87 ±0,78 ^a	7,73±0,82 ^c
C18:3 n-3	0,84±0,03 ^a	1,84±0,04 ^c	1,88±0,06 ^d	1,46±0,07 ^b	1,78±0,09 ^b
Σ Saturated	49,65±1,45 ^a	48,42±1,01 ^a	51,36±1,48 ^b	49,49±1,48 ^a	52,85±1,37 ^b
Σ Unsaturated	50,35±1,99 ^a	51,58 ± 1,83 ^b	48,64±1,85 ^b	50,51±2,06 ^a	47,15±1,93 ^b
Σ MUFA	38,53±1,16 ^a	36,90±1,05 ^a	36,53±1,16 ^a	38,06±1,21 ^a	37,64±1,02 ^a
Σ PUFA	11,82±0,84 ^a	15,10±0,78 ^c	12,11±0,69 ^a	12,33±0,85 ^a	9,51±0,91 ^c

H= H_2O_2 , D1+H= (Baskil), D2+H = (Cip), D3+H = (Doğukent), D4+H = (Sivrice)

Toplam doymuş yağ asidi düzeyi kontrol grubuna göre D1 grubunda önemli düzeyde azaldığı halde ($p<0,01$), D3 ve D4 gruplarında farklı oranlarda artış gösterdi ($p<0,01$, $p<0,05$). Toplam doymamış yağ asitleri ise kontrol grubuna göre aynı gruplarda tersi bir durum göstermiştir (Tablo 3). H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre doymuş yağ asidi oranı D3+H ve D4+H gruplarında kısmen artış göstermiştir. Doymamış yağ asitlerinde ise tersi bir olay gerçekleşmiştir. Tek çift bağlı doymamış yağ asitlerin oranı kontrol

grubuna göre D3 ve D4 grupları ile H₂O₂ ve ekstrakt + H₂O₂ verilen gruplarda azaldığı belirlendi (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

3.3. Domates Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Lipofilik Molekül Analizleri

Lipofilik moleküller olarak ADEK vitaminleri ile fitosterollerin analizleri yapıldı. Bu moleküllerden vitamin K2 kontrol grubuna göre ekstrakt ilave edilen gruplarda yükseldiği belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$). Ayrıca H₂O₂ ve ekstrakt ilave edilen gruplardan D2+H, D3+H ve D4+H gruplarında da yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$, $p<0,01$). δ -Tokoferol D1, D2, D1H ve D2H gruplarında azaldığı halde ($p<0,05$, $p<0,01$), diğer gruplarda farklılık bulunmadı. Vitamin D2 düzeyi kontrol grubuna göre D1 grubunda farklı olmadığı halde, D2, D3 ve D4 gruplarında yüksek bulundu ($p<0,05$, $p<0,01$). H₂O₂ ve ekstrakt ilave edilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında D1+H, D2+H, D3+H ve D4+H gruplarında artış eğiliminde olduğu görüldü ($p<0,05$, $p<0,01$). Vitamin D3 düzeyi D2 ve D3 gruplarında kısmen yükseldiği halde ($p<0,05$), H₂O₂ ve ekstrakt ilave edilen gruplarda H grubuna göre azalma eğiliminde olduğu gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.5, Tablo 3.6). α -Tokoferol miktarı kontrol grubuna göre diğer gruplarda farklılıklar göstermiştir. Kontrol grubuna göre D1, D3 ve D4 gruplarında azaldığı halde ($p<0,01$, $p<0,05$), D2 grubunda kısmen artış gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Domates ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi

Lipofilik moleküller	K	D1	D2	D3	D4
K2	0,41±0,02	0,64±0,03 ^b	0,57±0,04 ^b	0,75±0,06 ^b	0,82±0,08 ^c
δ -Tokoferol	0,28±0,01 ^a	0,13±0,01 ^c	0,19±0,02 ^b	0,23±0,02 ^a	0,24±0,02 ^a
D2	1,06±0,02 ^a	1,02±0,03 ^a	1,57±0,12 ^b	1,97±0,09 ^c	1,39±0,07 ^b
D3	0,24±0,03 ^a	0,23±0,08 ^a	0,47±0,05 ^b	0,43±0,03 ^b	0,26±0,02 ^a
α -Tokoferol	2,61±0,13	1,59±0,11 ^c	3,37±0,17 ^b	1,88±0,16 ^c	2,29±0,18 ^b
Ergosterol	121,52±2,21 ^a	78,35±1,52 ^c	126,57±1,29 ^a	113,54±1,46 ^a	134,82±2,32 ^b
K1	0,68±0,07	2,94±0,12 ^d	2,96±0,13 ^d	2,18±0,11 ^d	2,62±0,14 ^d
Stigmasterol	21,48±0,97 ^a	10,82±0,87 ^c	20,16±0,32 ^a	22,38±0,88 ^a	21,11±0,67 ^a
β -Sitosterol	1,04±0,05	3,88±0,28 ^d	3,17±0,11 ^d	1,93±0,12 ^c	3,23±0,29 ^d

K= Kontrol, D1= (Baskil), D2 = (Cip), D3= (Doğukent), D4= (Sivrice)

H₂O₂ ve ekstrakt ilave edilen gruplardan H grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında α -Tokoferol düzeyinin ekstrak ilave edilen gruplarda H grubuna göre yükseldiği belirlendi

($p<0,001$). Ancak bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşük düzeyde olduğu belirlendi ($p<0,01$). Bu gruplar içinde en düşük düzeyin H grubunda olduğu gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 3.5, Tablo 3.6).

Maya hücrelerinin membran yapısında yer alan ergosterol düzeyi D1 grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı halde ($p<0,01$), D4 grubunda kısmen artış gözlemlendi ($p<0,05$). D2 ve D3 grubunda farklılık bulunmadı. H_2O_2 ilave edilen gruplardan D1+H grubunda önemli düzeyde azalış ($p<0,01$), D3+H grubunda ise kısmen artış gözlemlendi ($p<0,05$). Diğer gruplarda ise farklılık bulunmadı.

Vitamin K1 düzeyi kontrol grubuna göre sadece ekstrakt verilen gruplarda belirgin düzeyde yükseldiği halde ($p<0,001$), H_2O_2 verilen gruplarda farklılık bulunmadı (Tablo 5-6). Yalnız H_2O_2 ve ekstrakt ilave edilen grupların K1 düzeyleri kontrol grubu değerlerinden belirgin düzeyde yüksekti ($p<0,001$) (Tablo 3.6).

Stigmasterol düzeyi kontrol grubuna göre D1 grubunda belirgin düzeyde azalırken ($p<0,001$), diğer gruplarda farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ilave edilen grupların karşılaştırılmasında D2+H ve D3+H gruplarında H grubuna göre kısmen yükselme gözlemlendiği halde ($p<0,05$), diğer grupların H grubuna göre farklı olmadığı gözlemlendi. Ancak kontrol grubu ile H_2O_2 verilen gruplar kıyaslanırsa, kontrol grubuna göre farklı oranlarda azalma olduğu saptandı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 5-6). Fitosterollerden β -Sitosterol düzeyi kontrol grubuna göre hem ekstrakt hem de ekstrakt + H_2O_2 verilen gruplarda farklı oranlarda yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.5, Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Domates ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde lipofilik moleküllerin H grubuna göre değişimi.

Lipofilik moleküller	H	D1+H	D2+H	D3+H	D4+H
K2	0,59±0,05	0,49±0,03 ^b	0,64±0,05 ^b	0,68±0,06 ^b	0,63±0,07 ^c
δ -Tokoferol	0,22±0,02 ^a	0,12±0,02 ^c	0,18±0,03 ^a	0,24±0,04 ^a	0,28±0,05 ^a
D2	0,61±0,08 ^a	0,85±0,07 ^b	0,95±0,08 ^b	1,96±0,07 ^c	1,46±0,08 ^b
D3	0,56±0,03 ^a	0,38±0,08 ^b	0,29±0,05 ^c	0,44±0,03 ^b	0,26±0,02 ^d
α -Tokoferol	0,58±0,03	1,56±0,08 ^d	1,81±0,11 ^d	2,08±0,05 ^d	1,63±0,05 ^d
Ergosterol	111,33±4,07 ^a	90,18±3,03 ^c	101,83±2,45 ^a	149,56±2,12 ^c	115,71±2,30 ^a
K1	1,47±0,07 ^a	1,42±0,12 ^a	1,56±0,13 ^a	1,36±0,11 ^a	1,46±0,14 ^a
Stigmasterol	11,47±0,05 ^a	11,77±0,11 ^a	17,04±0,22 ^b	23,24±0,28 ^b	12,49±0,77 ^a
β -Sitosterol	1,31±0,05	2,27±0,11 ^b	1,81±0,06 ^b	3,37±0,21 ^d	2,33±0,11 ^b

H= H_2O_2 , D1+H= (Baskil), D2+H= (Cip), D3+H= (Doğukent), D4+H= (Sivrice)

3.4. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Protein, GSH, MDA ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Bulgularımıza göre total protein miktarı kontrol grubuna göre B1+H grubunda kısmen artış gösterdiği halde ($p<0,05$), H grubu dahil diğer gruplarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Lipid peroksidasyon (MDA) düzeyi kontrol grubuna göre bütün bitki gruplarında kontrol grubundan farklı değildi.

Tablo 3.7. Kırmızıbiber ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi

Analizler	K	B1	B2	B3	B4
Total protein (mg/g pellet)	1,41±0,14	1,44±0,18 ^a	1,43±0,12 ^a	1,44±0,17 ^a	1,47±0,19 ^a
MDA (nmol/g ellet)	14,35±0,93 ^a	15,31±1,12 ^a	15,17±0,78 ^a	14,33±1,11 ^a	13,88±,59 ^a
GSH (µg/g pellet)	115,81±1,68	136,03±1,07 ^c	143,91±1,97 ^d	167,16±2,11 ^d	133,28±1,95 ^c
GSSG (µg/g pellet)	35,52±1,36	45,64±1,11 ^c	26,89±1,33 ^b	34,73±1,21 ^a	22,29±1,08 ^c
GST (µg/g pellet)	11,61±0,34 ^a	11,99±0,22 ^a	11,87±0,69 ^a	9,71±0,32 ^b	14,12±0,36 ^b
CAT (µg/g pellet)	64,37±2,02 ^a	69,24±1,91 ^a	67,61±3,26 ^a	112,44±4,67 ^d	133,03±2,66 ^d
SOD (µg/g pellet)	5,01±0,25 ^a	5,46±0,16 ^a	3,93±0,25 ^b	3,96±0,18 ^b	4,84±0,21 ^a
SOD (% inhibisyon)	84,80±0,97 ^a	82,86±0,17 ^a	87,07±0,80 ^a	86,54±0,73 ^a	84,21±0,63 ^a

K= Kontrol, B1= (Baskil), B2 = (Cip), B3= (Doğukent), B4= (Sivrice)

H₂O₂ verilen grupta önemli düzeyde yüksek olmasına rağmen ($p<0,01$), H₂O₂ ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında H grubuna göre belirli oranlarda azalma olduğu tespit edildi ($p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.7, Tablo 3.8). GSH düzeyi kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda belirli oranlarda artış gözlemlendi ($p<0,01$, $p<0,001$). Ayrıca H₂O₂ ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre B1+H, B2+H ve B4+H gruplarında kısmen yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$). Kontrol grubuna göre B3+H ve H gruplarında istatistik farklılık bulunmadı (Tablo 3.7, Tablo 3.8).

GSSG düzeyi kontrol grubuna göre B1 grubunda önemli düzeyde yüksek olduğu halde ($p<0,01$), B2 ve B4 gruplarında azalmıştı ($p<0,05$, $p<0,01$). B3 grubu kontrol grubu arasında farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H₂O₂ ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda belirgin düzeyde bir azalış trendi olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). GST düzeyinde kontrol grubuna göre B3 grubunda kısmen bir azalma olduğu saptandı ($p<0,05$). Diğer gruplarda ise istatistik açıdan farklı

bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında GST düzeyinin B1+H ve B4+H gruplarında kısmen bir artış olduğu belirlendi ($p<0,05$). Diğer gruplar ise H grubuna göre istatistik açısından farklılık göstermedi ($p>0,05$) (Tablo 3.7, Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Kırmızıbiber ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde protein, MDA, GSH, SOD ve CAT değerlerinin H grubuna göre değişimi

Analizler	H	B1+H	B2+H	B3+H	B4+H
Total protein (mg/g pellet)	1,44±0,04 ^c	1,59±0,11 ^b	1,46±0,08 ^a	1,46±0,04 ^a	1,45±0,06 ^a
MDA (nmol/g ellet)	23,41±0,69	15,11±0,51 ^c	13,92±0,29 ^d	12,64±0,33 ^c	15,03±0,72 ^c
GSH (µg/g pellet)	123,13±2,71 ^a	131,27±2,53 ^b	138,97±2,59 ^b	125,26±2,48 ^a	136,61±3,14 ^b
GSSG (µg/g pellet)	53,31±0,85	37,31±0,49 ^d	32,83±0,74 ^d	31,74±0,32 ^d	18,27±0,88 ^d
GST (µg/g pellet)	10,59±0,79 ^a	12,45±0,53 ^b	10,19±0,26 ^a	10,51±0,17 ^a	12,37±0,31 ^b
CAT (µg/g pellet)	30,14±1,61	50,51±0,86 ^c	63,42±1,63 ^c	108,66±2,93 ^d	130,72±2,26 ^d
SOD (µg/g pellet)	4,76±0,26 ^a	4,56±0,11 ^a	3,95±0,16 ^b	3,93±0,3 ^b	4,11±0,21 ^b
SOD (% inhibisyon)	83,73±0,86 ^a	82,87±0,80 ^a	86,54±0,81 ^b	85,80±1,29 ^b	83,92±0,81 ^a

H= H_2O_2 , B1+H= (Baskil), B2+H= (Cip), B3+H= (Doğukent), B4+H= (Sivrice)

Katalaz (CAT) düzeyi kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplardan B1 ve B2 gruplarında kontrol grubuna göre farklılık bulunmadığı halde, B3 ve B4 gruplarında belirgin düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$). H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstrakt verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen grupların CAT aktivitesinde farklı oranlarda yükselme gözlemlendi ($p<0,01$, $p<0,001$). Ancak H_2O_2 verilen gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında H ve B1+H gruplarında CAT düzeyi düşük seviyelerde bulunuyordu ($p<0,05$, $p<0,001$).

Superoksit dismutaz (SOD) düzeyi kontrol grubuna göre B1 ve B4 gruplarında farklılık bulunmadığı halde, B2 ve B3 gruplarında kısmen azalmıştı ($p<0,05$). H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstrakt verilen gruplarda ise hem H grubu hem de kontrol grubuna göre B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında kısmen bir azalma trendi gözlemlendi ($p<0,05$). SOD'un % inhibisyon oranı B2, B3, B2+H ve B3+H gruplarında yüksek bulunmuştur (Tablo 3.7, Tablo 3.8).

3.5. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Yağ Asitleri

Gaz kromatografisi ile yapılan yağ asidi sonuçlarına göre *S. cerevisiae* pelleti içinde başlıca olarak palmitik asit (C16:0), Palmitoleik asit (C16:1, n-7), Stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1

n-9) ve linoleik asit (18:2 n-6) gibi yağ asileri bulunmuştur. Laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), heptadekanoik asit (17:0), heptadekanoik asit (C17:1) ve linolenik asit (C18:3 n-3) gibi yağ asitlerinin düzeyi ise düşük bulunmuştur (Tablo 8). Bu yağ asitlerin gruplar arasındaki değişimi incelendiğinde, palmitik asit düzeyi kontrol grubuna göre B1 ve B4+H gruplarında kısmen azaldığı halde ($p<0,05$), diğer gruplarında farklılık bulunmadı (Tablo 3.9, Tablo 3.10).

Palmitoleic asit düzeyi kontrol grubuna göre B1, B1+H, H ve B4 gruplarında azaldığı halde ($p<0,001$, $p<0,01$), B2 ve B3 gruplarında farklılık bulunmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ve Kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında, H grubuna göre B1+H grubunda azaldığı halde ($p<0,05$), B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında artış gözlemlendi ($P<0,05$, $p<0,01$) (Tablo 9-10). Palmitoleik asit miktarı kontrol grubuna göre H grubu dahil kırmızıbiber ekstraktı verilen bütün gruplarda değişik oranlarda yükseldiği belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 9-10). Stearik asit miktarı kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı ve H_2O_2 verilen gruplarda değişik oranlarda azaldığı halde, oleik asit düzeyinin yükseldiği saptandı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 9-10). Ancak H grubuna göre stearik asit B1+H grubuna göre değişmediği halde, B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında azaldığı bulundu ($p<0,01$, $p<0,001$). Buna karşılık oleik asit düzeyi B1+H ve B4+H gruplarında kısmen azaldığı halde ($p<0,05$), diğer gruplar ile H grubu arasında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 3.9, Tablo 3.10).

Linoleik asit ile linolenik asit düzeylerinin kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplar ile H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda hem kontrol grubu hem de H grubuna göre farklı oranlarda yükseldiği belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Ayrıca kontrol grubu ile H grubu karşılaştırıldığında linoleik asit ve linolenik asit düzeyleri bakımından istatistik farklılık gözlenmedi (Tablo 3.9, Tablo 3.10).

Tablo 3.9. Kırmızıbiber ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi (%)

Yağ Asitleri	K	B1	B2	B3	B4
C12:0	3,26±0,22 ^a	2,29±0,12 ^d	2,71±0,17 ^c	2,89±0,11 ^c	2,69±0,12 ^c
C14:0	1,65±0,04 ^a	1,42±0,09 ^b	1,38±0,07 ^b	1,81±0,12 ^b	2,16±0,16 ^c
C16:0	32,82±0,27 ^a	30,79±0,34 ^b	31,03±0,16 ^a	31,83±0,31 ^a	31,91±0,34 ^a
C6:1 n-7	16,03±0,28 ^a	20,30±0,55 ^d	17,26±0,25 ^b	19,05±0,28 ^c	21,05±0,29 ^d
C17:0	0,83±0,02	0,85±0,05 ^a	0,91±0,02 ^a	0,85±0,02 ^a	0,57±0,05 ^c
C17:1	0,56±0,01	0,59±0,01 ^a	0,54±0,02 ^a	0,61±0,02 ^a	0,46±0,02 ^b
C18:0	23,86±0,34	16,13±0,38 ^c	19,27±0,56 ^b	15,81±0,27 ^d	13,01±0,73 ^d
C18:1 n-9	17,35±0,28 ^a	21,09±0,22 ^d	18,44±0,42 ^b	18,27±0,31 ^b	18,22±0,46 ^b
C18:2 n-6	2,87±0,41 ^a	4,23±0,54 ^d	5,09±0,23 ^d	4,25 ±0,16 ^d	5,32±0,32 ^d
C18:3 n-3	0,77±0,02 ^a	2,31±0,06 ^d	3,27±0,02 ^d	4,63±0,06 ^d	4,61±0,08 ^d
Σ Saturated	61,42±1,45 ^a	51,48±0,87 ^d	55,30±1,71 ^d	53,19±1,33 ^d	50,34±1,43 ^d
Σ Unsaturated	51,34±1,65 ^a	48,52±1,75 ^b	44,53±2,96 ^d	46,22±1,86 ^c	49,66±1,23 ^b
MUFA	36,96±1,22 ^a	41,98±1,14 ^d	36,24±1,19 ^a	37,93±1,54 ^a	35,69±0,82 ^a
Σ PUFA	3,02±0,43 ^a	6,54±0,61 ^d	8,29±0,25 ^d	8,29±0,22 ^d	9,93±0,41 ^d

K= Kontrol, B1= (Baskil), B2 = (Cip), B3= (Doğukent), B4= (Sivrice)

Laurik asit ve miristik asit düzeyleri kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda farklı oranlarda azalmıştı ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Laurik asit miktarı H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda H grubuna göre B1+H grubunda kısmen arttığı halde ($p<0,05$), B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Miristik asit düzeyi ise B1+H, B2+H ve B4+H gruplarında kısmen yükseldiği halde B3+H grubunda farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Heptadekanoik ve heptadenoik asitler kontrol grubu ve H grubuna göre gruplar arasında farklılık göstermediği belirlendi. Ancak kırmızıbiber verilen gruplardan B4+H grubunda her iki yağ asidi düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi ($p<0,01$, $p<0,05$) (Tablo 3.9, Tablo 3.10).

Toplam yağ asidi bakımından incelendiğinde, kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda, Σ Doymuş yağ asidi ile Σ Doymamış yağ asidi miktarlarının azaldığı belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Kontrol grubuna göre H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda benzer bir eğilim gözlemlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.8, Tablo 3.9). Ancak H_2O_2 verilen gruplardan B1+H grubun ile H grubu arasında farklılık bulunmadı. Ayrıca B3+H grubunda Σ Doymamış yağ asidi miktarlarının H grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ($p<0,001$). Σ MUFA miktarı kontrol grubuna göre B1 grubunda yüksek olduğu halde ($p<0,001$) diğer gruplar arasında istatistik farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Σ PUFA miktarlarının ise kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda belirgin düzeyde arttığı saptandı ($p<0,001$) (Tablo 3.9). H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda Σ MUFA ve PUFA miktarlarının H grubuna göre değişik oranlarda yükseldiği tespit edildi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Kırmızıbiber ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde yağ asidi değerlerinin H grubuna göre değişimi (%)

Yağ Asitleri	H	B1+H	B2+H	B3+H	B4+H
C12:0	2,77±0,12 ^a	3,34±0,15 ^b	2,73±0,21 ^a	2,31±0,22 ^a	2,38±0,47 ^a
C14:0	1,55±0,04 ^a	1,81±0,17 ^b	1,96±0,13 ^b	1,56±0,08 ^a	1,79±0,21 ^b
C16:0	32,84±0,89 ^a	31,54±0,94 ^a	30,47±0,79 ^a	29,02±0,65 ^b	31,12±0,81 ^b
C6:1 n-7	19,11±0,44 ^a	18,71±0,57 ^a	21,25±0,65 ^b	22,37±0,72 ^c	24,16±0,84 ^c
C17:0	0,83±0,02 ^a	0,87±0,03 ^a	0,85±0,06 ^a	0,65±0,05 ^a	0,57±0,07 ^a
C17:1	0,63±0,03 ^a	0,58±0,04 ^a	0,74±0,02 ^a	0,59±0,05 ^a	0,54±0,06 ^a
C18:0	18,07±0,39 ^a	18,77±0,49 ^a	14,06±0,32 ^c	13,02±0,45 ^d	12,02±0,38 ^d
C18:1 n-9	21,21±0,34 ^a	18,49±0,26 ^b	21,94±0,31 ^a	22,11±0,31 ^a	19,43±0,48 ^b
C18:2 n-6	2,04±0,31 ^a	3,39±0,09 ^c	3,77±0,19 ^c	5,05±0,05 ^c	4,57±0,12 ^c
C18:3 n-3	0,94±0,04 ^a	2,51±0,07 ^c	2,23±0,11 ^d	3,32±0,28 ^b	4,15±0,31 ^b
Σ Saturated	56,06±1,25 ^a	56,33±1,11 ^a	50,07±1,18 ^c	45,56±1,38 ^d	52,85±1,17 ^c
Σ Unsaturated	43,84±1,39 ^a	43,67±1,73 ^a	49,74±1,55 ^b	53,44±1,66 ^d	47,15±1,43 ^b
Σ MUFA	40,95±1,16 ^a	37,78±1,15 ^b	43,73±1,13 ^b	45,07±1,22 ^b	38,43±1,23 ^b
Σ PUFA	3,01±0,36 ^a	5,91±0,68 ^c	6,01±0,59 ^c	8,37±0,75 ^d	8,72±0,81 ^d

H= H_2O_2 , B1+H= (Baskil), B2+H= (Cip), B3+H= (Doğukent), B4+H= (Sivrice)

3.6. Biber Ekstraktı ile Oluşturulan Grupların Lipofilik Molekül Analizleri

Lipofilik moleküllerden moleküllerden δ -Tokoferol ve stigmasterol düzeyleri kontrol grubu ile kırmızıbiber ekstraktı ile H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplarda istatistiksel açıdan farklı olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 3.11, Tablo 3.12). Ayrıca, K1 vitamini de H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplarda istatistiksel açıdan farklı bulunmadı ($p>0,05$). K1 vitamin düzeyi H_2O_2 ve ekstrakt verilen gruplarda istatistiksel açıdan farklı bulunmadığı halde (Tablo 3.12), sadece kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplarda B2 ve B4 gruplarında kısmen arttığı halde, B3 grubunda azalmıştı ($p<0,05$) (Tablo 3.11). Kontrol grubu ile B1 grubu arasında istatistik farklılık bulunmadı.

Vitamin D2 düzeyi kontrol grubuna göre B1 grubunda farklı olmadığı halde, B2, B3 ve B4 gruplarında yüksek bulundu ($p<0,05$, $p<0,01$). H_2O_2 ve ekstrakt ilave edilen gruplar H grubu ile karşılaştırıldığında B1+H, B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında artış eğiliminde olduğu görüldü ($p<0,05$, $p<0,01$). Vitamin B3 düzeyi B2 ve B3 gruplarında kısmen yükseldiği halde ($p<0,05$), H_2O_2 ve ekstrakt ilave edilen gruplarda H grubuna göre azalma eğiliminde olduğu gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.11, Tablo 3.12). α -Tokoferol miktarı kontrol grubuna göre diğer gruplarda farklılıklar göstermiştir. Kontrol grubuna göre B1, B3 ve B4 gruplarında azaldığı halde ($p<0,01$, $p<0,05$), B2 grubunda kısmen artış gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.11), D2 vitamin düzeyi, kontrol grubuna göre B1, B2 ve B4 gruplarında yüksek bulundu ($p<0,05$, $p<0,001$). B3 grubunda ise istatistik farklılık gözlenmedi (Tablo 3.11). H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplardan B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında H grubu ve kontrol grubuna göre artış gözlemlendi. Ancak kontrol grubuna göre H grubunda belirgin düzeyde bir azalış olduğu belirlendi ($p<0,001$).

Tablo 3.11. Kırmızı biber ekstraktı ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi ($\mu\text{g/g}$ hücre pelleti).

Lipofilik moleküller	K	B1	B2	B3	B4
K2	0,44 $\pm$ 0,02	0,84 $\pm$ 0,03 ^c	0,64 $\pm$ 0,04 ^b	0,41 $\pm$ 0,06 ^a	0,39 $\pm$ 0,08 ^a
δ -Tokoferol	0,16 $\pm$ 0,01 ^a	0,12 $\pm$ 0,01 ^a	0,13 $\pm$ 0,02 ^a	0,16 $\pm$ 0,02 ^a	0,13 $\pm$ 0,02 ^a
D2	0,33 $\pm$ 0,05 ^a	0,54 $\pm$ 0,08 ^b	0,57 $\pm$ 0,04 ^b	0,39 $\pm$ 0,03 ^a	0,96 $\pm$ 0,02 ^d
α -Tokoferol	1,63 $\pm$ 0,08	4,34 $\pm$ 0,38 ^c	3,43 $\pm$ 0,23 ^b	4,69 $\pm$ 0,13 ^c	6,04 $\pm$ 0,74 ^d
Ergosterol	82,65 $\pm$ 2,05 ^a	157,98 $\pm$ 3,41 ^d	90,97 $\pm$ 1,14 ^a	130,15 $\pm$ 2,66 ^c	142,98 $\pm$ 2,43 ^d
K1	3,46 $\pm$ 0,31 ^a	3,78 $\pm$ 0,22 ^a	4,02 $\pm$ 0,11 ^b	2,91 $\pm$ 0,12 ^b	4,96 $\pm$ 0,29 ^b
Stigmasterol	12,52 $\pm$ 0,26 ^a	13,19 $\pm$ 0,24 ^c	13,26 $\pm$ 0,11 ^a	14,56 $\pm$ 0,21 ^a	13,11 $\pm$ 0,07 ^a
β -Sitosterol	5,09 $\pm$ 0,26	9,73 $\pm$ 0,15 ^d	19,34 $\pm$ 0,16 ^d	12,41 $\pm$ 0,52 ^c	26,56 $\pm$ 0,77 ^d

K= Kontrol, B1= (Baskil), B2 = (Cip), B3= (Doğukent), B4= (Sivrice)

α -Tokoferol düzeyi kontrol grubuna göre kontrol grubuna göre bitki ekstraktı verilen bütün gruplarda farklı oranlarda yükselmiş olduğu belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). H_2O_2 ve

kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplardan B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında da hem H grubu hem de kontrol grubuna göre yükseliş trendi gözlemlendi ($p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3.11, Tablo 3.12). Ancak B1+H grubunda kontrol ve H grubuna göre kısmen bir azalma trendi belirlendi ($p<0,05$). Ayrıca H grubunda kontrol grubuna göre α -Tokoferol düzeyinde kısmi bir yükseklik gözlemlense de istatistik açıdan farklı bulunmadı (Tablo 3.11, Tablo 3.12).

Ergosterol düzeyi kontrol grubuna göre kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplardan B1, B3 ve B4 gruplarında yüksek bulundu ($p<0,001$). B2 grubunda ise kontrol grubuna göre istatistik farklılık bulunmadı. H_2O_2 ve kırmızıbiber ekstraktı verilen gruplardan B2+H, B3+H ve B4+H gruplarında artış trendi belirlendiği halde ($p<0,05$, $p<0,01$), B1+H grubunda azalış trendi gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubu ile B1+H grubu arasında kısmi bir farklılık bulunmasına rağmen, istatistik farklılık saptanmadı. Ayrıca ergosterol miktarının kontrol grubuna göre H grubunda da önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p<0,01$) (Tablo 3.11, Tablo 3.12).

Tablo 3.12. Kırmızıbiber ekstraktı ve H_2O_2 ilave edilen *S. cerevisiae* pelletlerinde lipofilik moleküllerin H grubuna göre değişimi ($\mu\text{g/g}$ hücre pelleti).

Lipofilik moleküller	H	B1+H	B2+H	B3+H	B4+H
K2	0,15 $\pm$ 0,01 ^a	0,15 $\pm$ 0,01 ^a	0,23 $\pm$ 0,02 ^b	0,19 $\pm$ 0,02 ^b	0,19 $\pm$ 0,02 ^c
δ-Tokoferol	0,13 $\pm$ 0,02 ^a	0,14 $\pm$ 0,02 ^a	0,14 $\pm$ 0,01 ^a	0,14 $\pm$ 0,02 ^a	0,14 $\pm$ 0,02 ^a
D2	0,19 $\pm$ 0,02 ^a	0,16 $\pm$ 0,01 ^a	0,36 $\pm$ 0,04 ^c	0,49 $\pm$ 0,03 ^d	0,47 $\pm$ 0,04 ^d
α-Tokoferol	2,01 $\pm$ 0,03	1,16 $\pm$ 0,08 ^b	3,39 $\pm$ 0,11 ^c	4,49 $\pm$ 0,05 ^d	5,21 $\pm$ 0,05 ^d
Ergosterol	115,68 $\pm$ 2,91 ^a	74,81 $\pm$ 1,92 ^c	133,12 $\pm$ 2,25 ^b	148,09 $\pm$ 3,12 ^c	156,73 $\pm$ 3,31 ^c
K1	1,47 $\pm$ 0,07 ^a	1,42 $\pm$ 0,12 ^a	1,56 $\pm$ 0,13 ^a	1,36 $\pm$ 0,11 ^a	1,46 $\pm$ 0,14 ^a
Stigmasterol	14,11 $\pm$ 0,05 ^a	13,75 $\pm$ 0,11 ^a	15,72 $\pm$ 0,22 ^a	15,52 $\pm$ 0,28 ^a	13,19 $\pm$ 0,77 ^a
β-Sitosterol	1,68 $\pm$ 0,05	4,95 $\pm$ 0,11 ^b	16,98 $\pm$ 0,06 ^d	12,98 $\pm$ 0,21 ^d	31,21 $\pm$ 0,11 ^d

H= H_2O_2 , B1+H= (Baskil), B2+H = (Cip), B3+H = (Doğukent), B4+H = (Sivrice)

4. TARTIŞMA

Doğal olarak veya çevresel kaynaklı oluşabilen hücresel reaktif oksijen türlerinin organizmalarda hasara neden olduğu bu reaktiflerin yaşlanmayla da alakalı olduğu bildirilmiştir [123]. Hücredeki bu reaktif oksijen türlerinin miktarı arttıkça enzimatik olan ya da enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerinin bozulduğu ve bu durumun canlıdaki homeostasiyi bozduğu ifade edilmiştir. Antioksidanlar hücrelerdeki çevresel veya diğer stres kaynaklarının oluşturduğu bu serbest radikallerin neden olduğu hasarı önleme veya azaltılma kapasitesine sahip maddeler olarak tarif edilmiştir. Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalarda bitkisel ekstraktların ve bunlardan elde edilen bileşiklerin yüksek antioksidan özelliğe sahip oldukları bildirilmiştir [124].

Bitkisel gıdaların bol bir şekilde tüketilmesi, birçok kronik hastalık riski ile ters orantılıdır. Bu genellikle temel besin ve/veya lif alımıyla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, alkaloidler, karotenoidler, polifenoller dahil olmak üzere besleyici olmayan fitokimyasallar, antioksidasyon, anti-iltihaplanma, anti-çöğalma, detoksifikasyon ve kan kolesterolünün azaltılması dahil olmak üzere bir veya daha fazla varsayılan mekanizma yoluyla bu faydaya katkıda bulunabilir [125]. Meyve ve sebzeler, insan sağlığına fayda sağlayan fizyolojik ve biyokimyasal işlevlere sahip önemli düzeyde biyolojik olarak aktif bileşenler içerir [126]. Yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bilinen bu bileşenlerden, E ve C vitaminleri, polifenoller ve karotenoidlere olan ilgi son yirmi yılda giderek artmıştır. Bu ilginin artmasının sebebi kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser türlerinin gelişmesine sebep olan reaktif oksijen türlerini temizleme yeteneklerinin bilinmesidir. Canlılar yüksek radikal seviyelerine maruz kalınca kendini koruyamayacağı için hücrelerde ciddi değişiklikler meydana gelir. Bununla birlikte bu radikallere karşı hücrenin koruma kapasitesi beslenme yoluyla artırılabilir. Özellikle de vitamin ve polifenol bakımından zengin beslenmenin kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser riskini azalttığı bildirilmiştir. Bahsi geçen bu antioksidanlar bakımından zengin olan meyve ve sebzelerin anormal patolojik durumları önlemek için uygulanan beslenme stratejilerinde büyük ilgi gördüğü ve kullanım alanının yaygınlaştığı ifade edilmiştir [127].

Son birkaç yılda gıda, “fonksiyonel gıda” statüsüne kavuşmuştur. Hem beslenme gereksinimlerini karşılaması gerekir hem de önemli patolojilerin önlenmesi gibi çeşitli fizyolojik faydalar da sağlayabilmelidir. Meyve sağlıklı bir haleye sahip olmasının yanı sıra diğer tüm gıda türlerinden daha fazla yarar sağlar. Bu durum, sebze ve meyvelerin içsel sağlık yararları hakkında sürekli bir haber akışı ile desteklenmektedir. Aslında meyve, düşük kalori içeriği ve yüksek miktarda antioksidan madde ile karakterize edilen ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve yaşlanma süreçlerine bağlı dejeneratif hastalıklar gibi çok çeşitli patolojileri önleyebilen

mükemmel bir besindir. Bu nedenle, meyve ve sebzeler diyet antioksidanlarının önemli bir kaynağını temsil eder [128].

Bu besinlerden önemli bir tür olan domates dünya genelinde çoğu ülkede tarla veya serada yetiştirilir. Genellikle sebze olarak telaffuz edilip aslında bir meyve olan domates, tadıyla da popüler bir besin olup insan diyetinde önemli bir vitamin ve antioksidan kaynağıdır. Domatese antioksidan özellik verdiği gibi kırmızı renginden de sorumlu olan pigment likopen olup bu pigmentin kanser gibi dejeneratif hastalıkları önleyebildiği ve bu hastalıklarla savaşılabileceği bildirilmiştir. Likopen lipitte çözünabilir bileşik olduğu için, yağ ile tüketilmesi faydasını da arttırmaktadır [129]. Geçmişten günümüze kadar antioksidan özelliği bilinen likopenin sağlık üzerine etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma rapor edilmiştir [130]. Likopen tekli oksijeni yakalamada diğer karotenoidlerden daha etkilidir. Karotenoidlerin aktif radikalleri elektron transferi yoluyla veya H₂ vererek ya da direkt radikale bağlanarak oksidatif özellikli bu maddeleri inaktive edebildiği bildirilmiştir [131]. Yapılan bazı çalışmalarda antioksidan özelliği (zincir kırma özelliği sayesinde) yüksek olan β -karotenin ortamın oksijen basıncının artması söz konusu olduğunda antioksidan etkinliğinin azaldığı rapor edilmiştir [132]. Ayrıca vücuda alınan karotenoid miktarı arttıkça kalp damar tıkanıklığı, kemik kalsifikasyonu ve sinirsel rahatsızlıkların görülme oranının azalma gösterdiği rapor edilmiştir [133].

Domateste β -karotenin dışında ayrıca phytoene, phytofluene gibi karotenoidler, kumarik ve klorojenik asitler gibi fenolik bileşikler, yüksek oranlarda C vitamini ve tokoferol maddelerinin de domatesin besleyiciliğini arttırdığı bildirilmektedir. Diğer taraftan domates üzerinde yapılan çalışmalara bakıldığında domatesteki fitokimyasalların sağlık üzerinde etkilerini anlamaya yönelik çalışmaların sayısının az olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışmalarda ise ağırlıklı olarak, A vitamini önemli bir öncülü olduğu bilinen ve kanseri önleme bakımından likopene benzerliğinden dolayı daha çok β -karoten ilgi odağı olmuştur [134].

Bizde bu çalışmalara ek olarak domates ekstraktlarının, mayanın vitamin ve tokoferol içeriği üzerindeki etkilerini anlamaya çalışarak, bu mekanizmanın insan metabolizmasını anlamaya yönelik çalışmalara öncülük etmesini amaçladık. Ve çalışmamızın sonunda domates eklenen gruplarda kontrole oranla K1, K2 vitaminleri, β -Sitosterol, D2 vitamini miktarlarının D1, D2, D3, D4 gruplarında artış gösterdiğini, α -Tokoferol miktarının D2 grubunda, Ergosterol miktarının D2 ve D4 gruplarında artış gösterdiğini H grubuna oranla yapılan karşılaştırma çalışmasında ise Stigmasterol, β -Sitosterol miktarlarının D1+H, D2+H, D3+H, D4+H gruplarında, Ergosterol miktarının D3+H ve D4+H gruplarında arttığını tespit ettik. Elde ettiğimiz bu farklılıkların domates gruplarındaki şeker içeriklerinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Zira bununla ilgili daha önce yapılan bir çalışmada farklı şekerlerin olduğu besiyerlerinde (glukoz, pekmez, sakkaroz ve laktoz) izole edilen *Rhodotolura glutinis* mayasındaki vitamin sentezi araştırılmıştır.

Araştırma sonunda bu maya hücresinin en yüksek vitamin sentezini sakkarozu yüksek olan ortamda gerçekleştirdiği, laktozlu ortamda ise aynı etkinin görülmediği rapor edilmiştir [135].

Karotenoid ve vitamin içeriklerinin faydalarının yanısıra domatesta bulunan fenolik bileşenlerin, alerjik, inflamatuvar, mikrobiyal ve kanser hastalıklarının önlenmesinde, ayrıca domates tohumunda yer alan jelatin yapısındaki maddenin pıhtı veya damar tıkanıklığının giderilmesinde, felç ve kalp krizi benzeri hastalıkların ortaya çıkışının önlenmesinde etkili olduğunu rapor eden çalışmalar da mevcuttur. Domatesin belirtilen bütün bu zengin vitamin ve protein içeriğinden tıbbi anlamda her zaman ilgi odağı olmuştur [131]. Bizde çalışmamızda domates ekstresinin maya hücresinin protein içeriğine etkisini görmek üzere oluşturduğumuz gruplarda; hem kontrol grubuna kıyasla hemde H grubuna kıyasla diğer grupların tümünde total protein miktarının arttığını tespit ettik.

Çevre ve gıda kontaminasyonlarına yol açmadan bitki üretimi ve meyve kalitesini iyileştirmek için kullanılan bitki biyostimülanları yenilikçi ürünler olarak araştırmalara konu olmaya başlanmıştır. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada deniz yosunu ve maya özlerine dayalı biyostimülan olan Expando uygulamasının *Solanum lycopersicum* var. 'ın bitki verimliliği, meyve olgunlaşma süreleri ve kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Biyostimülan uygulamasından sonra hem meyve veriminin hemde olgunlaşma sürelerinde iki haftalık bir azalma ve en erken olgunlaşma zamanlarında üretim bazında yüzde olarak artış olduğu rapor edilmiştir. Meyve kalitesi karşılaştırıldığında ise biyostimülan ile işlenen domateslerin işlenmemiş domateslere oranla hem doymamış yağ asitleri hem de daha iyi besin içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir [136].

Aerobik türler yapılarındaki yağlı yapıdaki partiküller vasıtasıyla çeşitli peroksitlerle (OH, hidroksil, süper oksit ve lipoid peroksitler) açıkça sitotoksik bir etki oluşturacak şekilde birlikte çalışır [137]. Bu bilgiyle uyumlu olan, domatesin çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisinin incelendiği bir çalışmada, aerobik hücrelerin olası metabolizmaları serbest radikal oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Ve bu çalışmada, serbest radikallere karşı söz konusu aktivitenin domatesin ekstraktındaki aktif bileşenlerinin varlığından kaynaklandığı gösterilmiştir [138].

Şimdiye kadar domatesle ilgili yapılan çalışmalar, ya domatesin antioksidan içeriklerinin belirlenmesine yönelik ya da domatesle ilişkili faydalı mikroorganizmaların bu bitkinin büyümesini teşvik edici özelliklere katkıda bulunup bulunmayacağını anlaşılmaması [139] konu edinmiştir. Ancak domatesin içeriklerinin maya hücrelerinin gelişimi üzerine etkilenin incelendiği çalışma mevcut değildir.

Biber ekstraktıyla yapılan bir çalışmada, biber ekstraktlarının (*Capsicum annum*), konidiaların (*Alternaria alternata*) çimlenmesi üzerindeki etkileri incelenmiş, çalışma sonunda; biber ekstraktlarının miselyal büyümeyi etkilediği ve çimlenmeyi doza bağlı olarak değişen oranlarda önlediği tespit edilmiştir. Bu çalışmada biber ekstraktlarının fenolik profilleri (gallik

asit, klorojenik asit, kateşin, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit) analiz edilmiş ve bu moleküllerin ekstraktlara antifungal aktivite özelliği kazandıran rolleri tartışılmıştır. Çalışmayla elde edilen sonuçlar fenolik bileşikler bakımından zengin ekstraktların bitki korunmasında sürdürülebilir uygulamalar açısından umut verici olmuştur [140].

Bu çalışmalarla benzer şekilde bizim çalışmamızda fenolik grubuna giren bileşikleri incelediğimizde; Kırmızıbiber çalışmasında ise D2 vitamini, α -Tokoferol, Ergosterol, Stigmasterol, β -Sitosterol miktarlarının kontrole oranla belirgin artış gösterdiğini, H grubuna göre ekstrakt eklenen gruplarda ise K2, D2 vitaminleri, α -Tokoferol, Ergosterol miktarının B2+H, B3+H, B4+H gruplarında arttığını tespit ettik. Bu sonuçlar maya hücresinin gelişme ortamına ilave edilen kırmızıbiber ekstrelerinin mayanın lipofilik içeriği üzerinde farklılıklara yol açabileceğini göstermiştir. Bu farklılıkların ise daha önce yapılan çalışmalarla, meyvelerin sahip olduğu karbon kaynaklarının farklılığından ve içeriklerinden kaynaklandığı rapor edilmiştir [141].

Bitkilerdeki fitokimyasal bileşiklerin aflatoksin gibi maddeleri detoksifiye ettiği bilinmektedir. Bununla ilgili bir çalışmada özellikle Çin ve Güneydoğu Asya'da birçok geleneksel ilaç yapımında kullanılan ve Piperaceae familyasından olan beyaz biber (*Piper nigrum*)'in olgunlaşmış meyvelerinin çekirdekleri güneşte kurutularak antioksidan fitokimyasal içerikleri araştırılmıştır. Bu çalışmayla beyaz biberin antioksidan, anti-inflamasyon, anti-aterojenik ve anti-platelet agregasyon aktiviteleri gibi çeşitli faydalarının olduğu gösterilmiştir. Ve *Piper nigrum*'un fitokimyasal içeriklerinin toksijenik mantarların aflatoksin üretimini engellediği rapor edilmiştir [142].

Yüksek yağ içerikli ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen sıçanların diyetlerine farklı dozlarda kırmızıbiber tohumlarının etanol ekstraktlarının eklendiği bir başka çalışmada ise antioksidan savunma sistemi ve oksidatif stres üzerindeki etkiler incelenmiştir. Çalışmanın sonunda kırmızı biberin etanolü tohum ekstraktlarının eklendiği gruplarda karaciğerde glutatyon, peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan aktivitelerin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu gruplarda karaciğer mikrozom ve mitokondrilerinde (H_2O_2) süperoksit radikal miktarlarının büyük ölçüde azaldığı görülmüştür. Yine aynı çalışmada kırmızı biber tohumlarının eklendiği gruplarda; hepatik TBARS değerleri ve hepatik mitokondrial karbonil değerlerinin önemli derecede azaldığı rapor edilmiştir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçların, kırmızıbiber tohumlarının etanolü ekstraktlarının yüksek yağlı ve kolestreollü diyetle beslenen sıçanlarda antioksidatif savunma sistemini aktive ederek oksidatif hasarın azaltılabileceğinin göstergesi olduğu ileri sürülmüştür [143].

Yapılan başka bir çalışmada ise Çin kırmızıbiberi (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim) yaprağının ekstresi balıkların (*Hypophthalmichthys molitrix*) tuzlanarak kurutulduğu bir uygulamaya eklenerek balıklardaki antioksidan kapasite ve serbest radikal temizleme aktivitesi (DPPH) üzerindeki etkisi incelenmiştir. Balığın dorsal ve ventral kaslarındaki nem, tuz, lipi ve

lipit oksidasyon analizleri yapılarak karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonunda kırmızıbiber ekstraktı uygulanan grupların hem dorsal hemde ventral kaslarında TBARS, lipoksijenaz (LOX) aktivitesinin ekstre uygulanmayan gruplara oranla önemli oranda düşüş gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışmayla elde edilen sonuçlarla araştırmacılar, kırmızıbiber ektresinin doğal antioksidan kaynağı olabileceği ve bu özelliğinin gıda katkı maddesi olarak da kullanılabileceğinin göstergesi olduğunu ifade [144].

Serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksitlerlerin birçok kronik hastalıkların oluşumu ve artışında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Aynı zamanda bu radikaller gıda ürünlerinin bozulmasından da sorumlu olabilir. Bununla ilişkili yapılan bir çalışmada, biber ekstraktlarının in vitro sistemlerde serbest radikalleri süpürme potansiyellerinin incelendiği deneyler (DPPH, NDMPD, ABTS, FRAP, CUPRAC) uygulanmış ve sıçan karaciğer homojenatındaki lipit peroksidasyonu üzerindeki antioksidan etkiler incelenmiştir. Ve çalışmanın sonunda acı biber ve biberin alkol ekstraktlarının test edilen uygulamaların tümünde önemli şekilde radikal temizleme aktiviteler ve antioksidan aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir [145].

Kırmızıbiberin, Korede yetiştirilen 5 türünün (*Capsicum annuum* L) plesanta, sap ve perikarp kısımlarından metanollü ekstreleri hazırlanmış ve bu ekstrelerin antioksidan özellikli fenolik bileşikleri, toplam flavonoid ve kapsaisin içeriklerinin analizleri yapılmıştır. Çalışmada bu analizlerle ilişkili olan ABTS, DPSS ve nitrik oksit (NO) serbest radikal temizleme aktiviteleri SOD enzim aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan biberin ayrı kısımlarıyla oluşturulan tüm ekstraktlar yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca antioksidan aktiviteler ile fenolik ve flavonoid bileşikler arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Özellikle kapsaisin içeriğinden dolayı kırmızıbiberin insan sağlığını iyileştirebilecek gıda maddesi olabileceği sonucuna varmışlardır [146].

Tarımsal atık olan kırmızıbiber saplarıyla yapılan bir çalışmada, kırmızıbiber saplarının biyoyararlanımı için uygun bir yöntem tasarlanarak, SOD aktivitesi ve makrofajlardaki NO üretimi üzerinde kırmızıbiber saplarının inhibitör etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda, ilginçtir ki kırmızıbiberin saplarındaki fenolik, flavonoid ve kapsaisin içeriğinin perikarp ve plesanta ekstraktlarına oranla daha fazla miktarlarda tespit edilmiştir. SOD enzim aktivitesi analiz edildiğinde 100µg/mL konsantrasyonda sap, plesanta ve perikarp içeriğinin sırasıyla %52, 3, %7,4 ve %10,4'lük etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kırmızıbiber saplarının diğer parçalara göre çok yüksek seviyede klorojenik asit (3,82mg/gdw) ve p-kumarik asit (2,98 mg/gdw) içerik ile en güçlü antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Bu çalışma ile kırmızıbiber tarımsal atıklarının anti-inflamatuar ajan geliştirme fırsatı olarak kullanılabileceğini göstermiştir [147].

Bazı araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışmada ise kırmızıbiber (*Capsicum annuum*, L.) perikarp ve tohumu ekstraktlarının bazı antioksidan aktiviteleri (DPPH radikal süpürme,

süperoksit anyon radikal süpürme, hidroksil radikal süpürme, ABTS radikal süpürme, demir şelatlama aktivitesi, SOD aktivitesi ve indirgeme gücünün yanı sıra toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesi gibi) analiz edilmiştir. Çalışma sonunda tüm gruplardaki ekstraktların bütün antioksidan test yöntemlerinde göre güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmayla kırmızıbiber perikarp ekstraktının hem hidroksil hem de DPPH radikalleri üzerinde güçlü demirli şelatlama aktivitesi ve yüksek süpürme aktivitesi gösterirken, süperoksit anyon radikale karşı oluşan SOD aktivitesinin daha zayıf olduğu rapor edilmiştir. Ancak kırmızıbiber tohum ekstraktının ise perikarp ekstresine oranla SOD aktivitesinin daha yüksek olduğu bununla birlikte daha zayıf demirli şelatlama aktivitesi, hidroksil radikal süpürme ve DPPH aktivitesi bildirilmiştir. Sonuç olarak Kırmızıbiber tohumunun indirgeme gücü seviyesi ve ABTS radikal süpürme aktivitesinin, test edilen en yüksek konsantrasyondaki kırmızıbiber perikarpından bile daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan bu çalışmada doz miktarı arttıkça, kırmızıbiber tohumu ve kırmızıbiber perikarp ekstraktlarındaki antioksidan aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. Ancak istisnai şekilde metal şelatlama, SOD ve ABTS radikal süpürme aktivitelerinin konsantrasyon miktarının artışı ile artmadığı da rapor edilmiştir [148].

Bütün bu çalışmalara bakıldığında, çalışılan bütün ekstraktların antioksidan aktivitelerinin (glutatyon, SOD, peroksidaz, katalaz, ABTS, DPSS ve nitrik oksit (NO) ve DPPH serbest radikal temizleme aktiviteleri gibi) fenolik ve flavonoid bileşiklerinin miktarlarıyla pozitif yönde bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarla benzer şekilde özellikle domates ekstraktlarında H grubuna kıyasla diğer gruplarda; antioksidan etkinin göstergesi olan GSH, Cat (D1+H grubu hariç), SOD değerlerinin artış gösterdiği, bununla birlikte değerlerinin azalması olumlu olarak karşılanan MDA, GSSG, SOD inhibisyon değerlerinin ise H grubuna kıyasla azalış göstermiştir. Kırmızıbiber çalışmamızın H grubuna göre karşılaştırdığımızda ise; MDA'nın bütün gruplarda azaldığı, GSH'nın artış gösterdiği (B3+H grubu hariç) gözlemlendi. Bununla birlikte SOD ve SOD inhibisyon değerlerinin domatesteki gibi olumlu sonuçlar vermediğini tespit ettik. Bu değişimlerin kullandığımız meyve ekstraktlarındaki lipofilik moleküllerin değişim oranlarıyla paralellik gösterdiğini gözlemledik. Bu sonuçlar daha önce yapılan birçok çalışmayı destekler niteliktedir.

Saccharomyces cerevisiae ile yapılan bir çalışmada bu mayanın ürettiği hidrojen peroksidin (H_2O_2) ekmek hamurunun fermantasyondaki etkisi incelenmiştir. Ekmek hamurunun fermantasyonunun hamur matrisinin güçlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Ve bu etkide maya tarafından üretilen hidrojen peroksidin etkisi üzerine yapılan bu çalışmada Rezaei ve arkadaşları, hamur ve sulu fermentasyon et suyunda maya tarafından hidrojen peroksit üretimini ve etkisini incelemiştir. Çalışmanın sonunda fermente hamurda daha önceki uygulamalarda elde edilen yüksek seviyelerdeki hidrojen peroksit miktarının kullanılan potasyum dikromat / asetik asit bazlı yönteminden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Bunu ispatlamak için Kemilüminesan

HyPer Blu testini kullandıklarında fermente hamur veya et suyunda maya tarafından hidrojen peroksit üretiminin olamıdığını tespit etmişlerdir. Ancak bununla birlikte düşük miktarlarda H_2O_2 oluşumunun unda bulunan katalaz varlığından ve hidrojen peroksitin glüten proteinleri ile hızlı reaksiyona girmesinden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmayla araştırmacılar fermentasyon üzerine hamur matrisindeki reolojik özelliklerin değişiminde maya tarafından üretilen H_2O_2 üretiminden kaynaklanmadığını ifade etmişlerdir [149].

S. cerevisiae suşunda ve geleneksel olmayan maya türlerinde triptofan kaynaklı sentezlenen Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) varlığı, *Saccharomyces cerevisiae*'nin antioksidan özelliklerinin kaynağı olarak düşünülmektedir. Ancak *Saccharomyces* dışı türler ve *S. cerevisiae*'nin diğer türleri üzerindeki olası melatoninin antioksidan etkisinin olup olmadığını anlamak için Vazquez ve arkadaşları sekiz *S. cerevisiae* suşu ve geleneksel olmayan dört maya türünde (*Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Starmerella bacillaris* ve *Hanseniaspora uvarum*) melatoninin antioksidan kapasitesini incelemişlerdir. Bu amaçla ROS oluşumu, lipid peroksidasyonu, katalaz aktivitesi, yağ asidi bileşimi ve peroksizom proliferasyonunu analiz etmişlerdir. Çalışma sonucu daha önceki düşünceleri destekler şekilde olmuştur. Bu sonuca varılmasının nedeni, melatonin varlığının peroksizom birikimini ve kısmen de katalaz aktivitesini artırdığının tespit edilmesidir. Ve melatonin varlığında büyüyen hücrelerin H_2O_2 ' neden olduğu oksidatif strese maruz kaldığında uygulama yapılan bütün türlerde ROS birikiminin ve lipid peroksidasyonunun daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Bunun sonucu olarak da oksidatif stres altında artan katalaz aktivitesinin melatonin varlığında azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmayla melatoninin varlığının hücre yağ asidi kompozisyonunu düzenlediği, oleik ve palmitoleik asit gibi yağ asitlerinin miktarlarının artırdığı belirlenmiştir. Dolayısıyla bu yağ asitlerinin daha önce H_2O_2 'le ilişkisi belli bir toleransa sahipken çalışma sonunda daha yüksek UFA / SFA oranlarının oluştuğu gözlenmiştir. Bu çalışmayla görülmüştür ki melatonin hem *S. cerevisiae* hem de *Saccharomyces* olmayan mayalarda bir antioksidan molekül olarak görev yapmaktadır [150].

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda H_2O_2 'in hücre zarlarında serbest bir şekilde difüze olamadığı, başta *E. coli*, *S. cerevisiae* ve memeli hücresi Jurkat-T hücrelerinin H_2O_2 'in difüzyonuna karşı bir bariyer sistemi geliştirdiği bildirilmiştir [151]. H_2O_2 'in hücre içine girişinin daha zor gerçekleşmesi ile ilgili bu mekanizmanın oluşmasında yağ asit sentetaz'ın (FAS) anahtar bir molekül olduğu tespit edilmiştir [152]. Bu mekanizmayla ilgili başka bir çalışmada, *S. cerevisiae*'nin yağ asidi bileşimi üzerine nitrojen kaynaklarının etkisi araştırılmış ve mayanın gelişme ortamının yağ asidi bileşimini etkilediğini vurgulanmıştır. Bunun nedeni olarak plazma membranının mayanın içinde bulunduğu çevre ile temas kuran ilk hücre kısmı olması olarak gösterilmiştir [153]. Benzer bir çalışmada 4 farklı yöntemle *S. cerevisiae*'nin iki ayrı suşuyla yapılan bir çalışmada yağ asidi analizi yapılmıştır. Ve bu araştırmanın sonunda CCl_4 'ün de içinde

bulunduğu karışım ile hazırlanmış ekstraktın yağ asidi içeriğinin diğer yöntemlere göre belirgin düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir [154].

Çalışmamızda domates ekstresiyle yaptığımız çalışmalarda bu çalışmalarla benzer şekilde sonuçlar elde edildi. Özellikle hidrojen (H) grubunun domates ekstresinin eklendiği gruba oranla yağ asidi içeriğinin genel olarak daha yüksek olduğunu tespit ettik. Domates ile yapılan çalışmada C12:0, C14:0, C18:1 n-9 değerlerinin ve H grubunun Σ MUFA değerlerinin H+D gruplarına oranla daha yüksek olduğunu tespit ettik. Bununla birlikte bazı meyve gruplarında (D1, B1, B2, B3, B4, D1+H, B2+H, B3+H gruplarında) bazı yağ asitlerinin (C18:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3 n-3 gibi) artış gösterdiğini tespit ettik. Meyve ekstraktı ile radikal içeren gruplarda yağ asitlerindeki bu yağ asidi düzeylerindeki artışların; *S. cerevisiae*'nin gelişme ortamında bulunan farklı meyve ekstraktlarının içeriğinde bulunan meyve şekerleri ve diğer mineraller gibi karbon kaynaklarından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Çünkü meyvelerin içerdiği bu değişik oranlardaki maddeler ve karbon kaynaklarının farklı olması bazı yağ asitlerinin sentezinden sorumlu olan enzimlerin aktivitesini etkilemekte ve yağ asitlerinin farklılığına yol açabilmektedir. Diğer taraftan bunun sebebi olarak *S. cerevisiae* H₂O₂'ye maruz bırakıldığında lipit bileşimindeki geçirgenlik ve biyofizyolojik özelliklerinin değişimlerinin de buna sebep olabileceği bildirilmiştir [151]

Elde ettiğimiz verilerin ışığında sonuç olarak, *S. cerevisiae*'in besi ortamına eklenen domates ve kırmızıbiber bitkisinin her ikisinin ekstrelerinin eklendiği gruplarda hidrojen peroksit radikale karşı savunma mekanizması geliştirdiği, bunula birlikte farklı bölgelerden toplanan bazı örneklerin gerek antioksidan aktivite ve gerekse bunlara etki eden temeldeki bileşikler olan lipofilik moleküller ve yağ asidi içeriğinin ufak da olsa farklılıklar gösterdiğini belirledik. Ancak bu farklılığa rağmen her iki bitkinin içerik ve antioksidan aktivite bakımından etkinliği göz önünde bulundurulduğunda, insan beslenmesine katkı sağlayacak bu bileşiklerin hem izole edilip gıda katkı maddesi olarak kullanılması hemde doğal olarak bu ürünlerin tüketilmesinin teşvik edilmesinin öneminin anlaşılması yolunda çalışmamızın diğer çalışmalar için faydalı olacağını ümit ediyoruz.

KAYNAKLAR

- [1] Kurutas, E.B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15, 71.
- [2] Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E.N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436, 332–347.
- [3] Aouacheri, O., Saka, S., Krim, M., Messaadia, A., Maidi, I. (2015). The Investigation of the Oxidative Stress-Related Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*, 39, 44-49.
- [4] Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82 (1), 47–95.
- [5] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–13.
- [6] Galle, J. (2001). Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant.* 16, 2135–2137.
- [7] Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266 (1/2), 37–56.
- [8] Baboran, T., Soobrattee, M.A., Luximon-Ramma, V., Aruoma, O.I. (2007). Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease. *Internet Journal of Medical Update – J.* 1.
- [9] Allan Butterfield, D. (2002). Amyloid b-peptide (1–42)-induced Oxidative Stress and Neurotoxicity: Implications for Neurodegeneration in Alzheimer’s Disease Brain. A Review. *Free Radical Research*, 36 (12), 1307-1313.
- [10] Caramori, G. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59 (2), 170-173.
- [11] Hossain, M., Bhattacharjee, S., Armin, S.M., Qian,P., Xin,W., Li, H.Y., Burritt, D. J., Fujita M., Tran, L.S. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance:insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in Plant Science*, 6,420
- [12] Can, A., Özçelik, B. ve Güneş, G. (2005). Meyve sebzelerin antioksidan kapasiteleri, *GAP IV. Tarım Kongresi*, Şanlıurfa.
- [13] Süzen, S. (2007). Antioxidant Activities of Synthetic Indole Derivatives and Possible Activity Mechanisms, *Topics in Heterocyclic Chemistry*, 11, 145-178.
- [14] Gutteridge, J.M.C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1828.
- [15] Lee, J., Spector, D., Godon, C., Labarre, J., Toledano, M.B. (1999). A new antioxidant with alkyl hydroperoxide defense properties in yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 274 (8), 4537-4544.
- [16] Jacewicz, D, Siedlecka-Kroplewska, K., Drzeżdżon, J., Piotrowska, A., Wyrzykowski, D., Tesmar, A., Zamojc, K., Chmurzyński, L. (2017). Method for Detection of Hydrogen Peroxide in HT22 Cells. *Scientific Reports*, 7, 45673.
- [17] Sipowicz, M.A., Chomarat, P., Diwan, B.A., Anver; M.A., Awasthy, Y.C., Ward, J.M. (1997). Increased oxidative DNA damage and hepatocyte overexpression of specific cytochrome P450 isoforms in hepatitis of mice infected with Helicobacter hepaticus, *American Journal of Pathology*, 4, 933-941.
- [18] Yalçın, A. (1998). Antioksidanlar, *Klinik Gelişim*, 11, 342-346.
- [19] Chu, Y.H, Chang, C.L. and Hsu, H.F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 561-566.

- [20] Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, *Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- [21] Sağlam, S. (2007). *Antosiyanince Zengin Dut, Kiraz ve Gilaburu Meyvelerindeki Fenolikler ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Reçel Yapım İşleminin Etkisi*. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2007.
- [22] Cemeli, E., Baumgartner, A., Anderson, D. (2008). Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 681, 51-67.
- [23] Burak, M., Çimen, M. (1999). Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 19, 296-304.
- [24] Warma, S.D., Devamanoharan, P.S., Morris, S.M. (1995). Prevention of cataracts by nutritional and metabolic antioxidants. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*, 35, 111-129.
- [25] Riemarsma, R.A., Wood, D.A., Elton, R.A., Oliver, M.F. (1991). Risk of angina pectoris and plasma concentration of vitamin A, C, E, and caroten, *The Lancet*, 337, 1-5.
- [26] Ceballas-Picot, I., Trivier, J.M., Nicole, A., Thevenin, M. (1992). Age-correlated modifications of CuZn-SOD and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes, *Clinical Chemistry*, 38, 66-70.
- [27] Mates, J.M., Gomez, C., De Castro, I.N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603.
- [28] Ono, M., Sekiya, C., Ohhira, M., Namiki, M., Endo, Y., Suzuki, K., Matsuda, Y., Taniguchi N. (1991). Elevated level of serum Mn-SOD in patients with primary biliary cirrhosis: possible involvement of free radicals in the pathogenesis in primary biliary cirrhosis, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 118, 477-483.
- [29] Sankarapandi, S. and Zweier, J.L. (1999). Evidence against the generation of free hydroxyl radicals from the interaction of copper, zinc-SOD and hydrogen peroxide, *Journal of Biological Chemistry*, 274, 34576-34583.
- [30] Henle, E.S. and Linn, S. (1997). Formation, prevention and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 272, 19095-19098.
- [31] Gaeta, L.M., Tozzi, G., Pastore, A., Federici, G., Piemonte, F. (2002). Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subject, *Clinica Chimica Acta*, 322, 117-120.
- [32] Çelik, S. (2001). *APS ile opere edilen tavşanların kan ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzim düzeylerinin tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [33] Uysal, F. (1997). *Tavşanlarda perivasküler yaka modeli ile oluşturulan erken aterosklerozda antioksidan enzim aktiviteleri ve nitrik oksit üzerine E vitaminin etkileri*, Ege Üniversitesi-Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi, İzmir.
- [34] Chatcart, R.F. (1985). Vitamin-C-The Nontoxic, Nonrate-Limited, Antioxidant Free-Radical Scavenger, *Medical Hypotheses*, 18, 61-77.
- [35] Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G. (1991). Biological variability of superoxide-dismutase, glutathione-peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 37, 1932-1937.
- [36] Mills, G.C. (1957). Hemoglobin catabolism, glutathione peroxidase and erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown, *Journal of Biological Chemistry*, 229, 189-197.
- [37] Sohal, R.S. (1988). Effect of hydrogen peroxide administration on life span, superoxide dismutase, catalase, and glutathione in the adult housefly, *Musca domestica*. *Experimental Gerontology*, 23(3), 211-216.

- [38] İnal, E.M., Kanbak, C., Alataş Ö. (1994). Antioksidant enzyme activities in diabetes mellitus. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 21, 155-157.
- [39] Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C. and Mecocci, C. (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 841 – 852.
- [40] Diaz, J.M and Shi X. (2022). NOX-like ROS production by glutathione reductase. *iScience*, 25, 105093.
- [41] Angiulli, G., Lantella, A., Forte, E., Angelucci, F., Colotti, G., Ilari, A., Malatesta, F. (2015). Leishmania infantum trypanothione reductase is a promiscuous enzyme carrying an NADPH: O₂ oxidoreductase activity shared by glutathione reductase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1850, 1891-1897.
- [42] Carlberg, I., and Mannervik, B. (1986). Reduction of 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonate by glutathione reductase and the effect of NADP⁺ on the electron transfer. *Journal of Biological Chemistry*, 261, 1629–1635.
- [43] Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601-639.
- [44] Massey, V., and Williams, C.H., Jr. (1965). On the reaction mechanism of yeast glutathione reductase. *Journal of Biology Chemistry*, 240, 4470–4480.
- [45] Liochev, S.I. and Fridovich, I. (1992). Superoxide generated by glutathione reductase initiates a vandante-dependent free radical chain oxidation of NADH. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 294, 403–406.
- [46] Coppo, L., Mishra, P., Siefert, N., Holmgren, A., Pääbo, S., Zeberg, H. (2022). A substitution in the glutathione reductase lowers electron leakage and inflammation in modern humans. *Science Advances*, 8(1), eabm1148.
- [47] Mannervik, B., Board, P.G., Hayes, J.D., Listowsky, I., Pearson, W.R. (2005) Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases, *Methods Enzymology*, 401, 1–8.
- [48] Blanchette, B. Feng, X., Singh B.R. (2007). Marine glutathione S-transferases. *Mar. Biotechnol.* 9 (5), 513-542.
- [49] Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., Dowd, C.A. (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical Journal*, 360, 1–16.
- [50] Zhang, L., Qiu, L., Wu, H., Liu, X., You, L., Pei, D., Chen, L., Wang, Q., Zhao, J. (2012). Expression profiles of seven glutathione S-transferase (GST) genes from *Venerupis philippinarum* exposed to heavy metals and benzo[a]pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155 (3), 517–527.
- [51] Jefferies, H., Coster, J., Khalil, A., Bot, J., Mccauley, R.D., Hall, J.C. (2003). Glutathione. *ANZ Journal of Surgery*, 73, 517–522.
- [52] Koca, N. ve Karadeniz, F. (2005). Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler, *Gıda*, 30, 229-236.
- [53] Podsdek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food Science and Technology LWT*, 40, 1-11.
- [54] Sherwin, E.R. (1990). *Antioxidants. Food Additives*, AL Brannen, PM Davidson and S Salminen (eds), pp. 139-191, Marcel Dekker Inc., New York.
- [55] Banarjee, A.K., Mandal, A., Chanda, D., Chakraborti, S. (2003). Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol. Cell. Biochem.* 253, 307-312.
- [56] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.

- [57] King, A. and Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals, *J.A.D.A.* 99, 213-218.
- [58] Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- [59] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C. (2005). Dietary polyphenols and prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 45, 287-306.
- [60] Spranger, I., Sun, B., Mateus, A. M., Freitas, V., Ricardo-da-Silva, J.M. (2008). Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds, *Food Chemistry*, 108, 519–532.
- [61] Colvine, S., and Branthome, X. (2016). The Tomato: A Seasoned Traveller. The Tomato Genome. *Compendium of Plant Genomes*, 1–5.
- [62] Blanca, J., Cañizares, J., Cordero, L., Pascual, L., Diez, M. J., Nuez, F. (2012). Variation Revealed by SNP Genotyping and Morphology Provides Insight into the Origin of the Tomato. *PLoS ONE*, 7(10).
- [63] Durmuş, M., Yetgin, O., Abed, M.M., Haji, E.K., Akçay, K. (2018). Tomato Plant, Evaluation in terms of Nutrient Content and Healthy. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(2), 59-74
- [64] Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., Spooner, D. M. (2004). Solanaceae — a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics*, 5, 285–291.
- [65] Barros, L., Duenas, M., Pinela, J., Carvalho, A. M., Buelga, C. S., Ferreira, I. C. F. R. (2012). Characterization and quantification of phenolic compounds in four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmers' varieties in Northeastern Portugal homegardens. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(3), 229-234.
- [66] George, S., Tourniaire, F., Gautier, H., Goupy, P., Rock, E., Caris-Veyrat, C. (2011). Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. *Food Chemistry*, 124(4), 1603-1611.
- [67] Figueiredo-González, M., Valentão P, Pereira, D.M, Andrade, P. B. (2017). Further insights on tomato plant: Cytotoxic and antioxidant activity of leaf extracts in human gastric cells. *Food and Chemical Toxicology*, 109,386-392.
- [68] Ganesh, N., Lakshmi, K., Chandy, V. (2016). Lycopene properties, and its benefits in human health: a brief review. *WJPPS*, 5: 424-436.
- [69] Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 67–74.
- [70] Patel, R. V., Mistry, B. M., Shinde, S. K., Syed, R., Singh, V., Shin, H.S. (2018). Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 889-904.
- [71] Pandey, P., Rahman, M., Bhatt, P. C., Beg, S., Paul, B., Hafeez, A., Kumar, V. (2018). Implication of nano-antioxidant therapy for treatment of hepatocellular carcinoma using PLGA nanoparticles of rutin. *Nanomedicine*, 13(8), 849-870.
- [72] Gomez-Lopez, V. M. (2012). In V. M. Gomez-Lopez (Ed.). Decontamination of fresh and minimally processed produce. Wiley-Blackwell
- [73] Kumar S., Ahanger, M.A., Alshaya, H., Jan., B.L., Yerramilli, V. (2022). Salicylic acid mitigates salt induced toxicity through the modifications of biochemical attributes and some key antioxidants in *Capsicum annuum*. *Saudi Journal of Sciences*, 29, 1337-1347.
- [74] Liu, Y., Nair, M. G. (2010). Capsaicinoids in the hottest pepper Bhut Jolokia and its antioxidant and antiinflammatory activities. *Natural Product Communication*, 5, 91–94.

- [75] Jang, Y. K., Jung, E. S., Lee, H. A., Choi, D., Lee, C. H. (2015). Metabolomic characterization of hot pepper (*Capsicum annuum* “CM334”) during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 9452–9460.
- [76] Bosland, P., Votava, E. (2000). Peppers: vegetable and spice capsicums. Crop production science in horticulture. Peppers: Vegetable And Spice Capsicums. *CAB International Publishing, Wallingford, CT*, 204.
- [77] Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 3861–3869.
- [78] Oboh, G., Rocha, J. (2007). Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*Capsicum pubescens*). *Journal of Food Biochemistry*, 31, 456–473.
- [79] Almonacid, G.F. (2016). *Evaluación de la variación del contenido de polifenoles en alimentos vegetales, en función del método de conservación empleado*. Universidad Nacional de Cuyo.
- [80] Basith, S., Cui, M., Hong, S., Choi, S. (2016). Harnessing the therapeutic potential of capsaicin and its analogues in pain and other diseases. *Molecules*, 21.
- [81] Jimenez-Rosado M., Zavaglia, A.G., Guerrero, A, Romero A. (2022). Green synthesis of ZnO nanoparticles using polyphenol extracts from pepper waste (*Capsicum annuum*). *Journal of Cleaner Production*, 350,131541.
- [82] Jeong, C. H., Ko, W. H., Cho, J. R., Ahn, C. G., Shim, K. H. (2006). Chemical components of Korean paprika according to cultivars. *Korean Journal of Food Preservation*, 13(1), 43–49.
- [83] Kim, J. S., Ahn, J. Y., Ha, T. Y., Rhee, H. C., Kim, S. A. (2011). Comparison of phytochemical and antioxidant activities in different color stages and varieties of paprika harvested in Korea. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 43 (5), 564–569.
- [84] Oshima, S., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Terao, J. (1997). Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. *The Journal of Nutrition*, 127(8), 1475–1479.
- [85] Kim, J. S., An, C. G., Park, J. S., Lim, Y. P., Kim, S. (2016). Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annuum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods. *Food Chemistry*, 201, 64–71.
- [86] Bendich, A., Olson, J. A. (1989). Biological actions of carotenoids. *The FASEB Journal*, 3(8), 1927-1932.
- [87] Maoka, T., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H. (2004). Biological function and cancer prevention by paprika carotenoids. *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 209, 203–210.
- [88] Maeda, H., Saito, S., Nakamura, N., Maoka, T. (2013). Paprika pigments attenuate obesity-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *ISRN Inflammation*, 763758.
- [89] Aizawa, K. and Inakuma, T. (2009). Dietary capsanthin, the main carotenoid in paprika (*Capsicum annuum*), alters plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels and hepatic gene expression in rats. *British Journal of Nutrition*, 102(12), 1760-1766.
- [90] Penninckx, M. (2000). A short review on the role of glutathione in response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 737-742.
- [91] Costa, V. and Moradas-Ferreira, P. (2001). Oxidative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases, *Molecular Aspects of Medicine*, 22, 217-246.
- [92] Kocaadam, B. ve Acar T., N. (2016). Ekmek, Bira, Şarap ve Yoğurdun Orijinleri ve Tarihsel Süreçleri. *Beslenme Diyetisyen Dergisi*, 44, 272-279.
- [93] Cabaroğlu, T., Yılmaztekin, M. (2010). *Aroma Biyoteknolojisi*. In N. Aran (Ed.), *Gıda Biyoteknolojisi*, 1st ed. Nobel Yayın Dağıtım. ISBN 375-390s. 978–605-395-299-2.

- [94] Yağmur, G. (2006). *Mitokondriyal Mutantların Bira Fermantasyonu Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üni. Fen Bilimleri Ens., Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- [95] Köksal, O. (1980). Tek hücre proteininin insan beslenmesinde kullanılması, *Gıda Dergisi*, 4: 89-94.
- [96] Braconi, D., Sotgi, M., Millucci, L., Paffetti, A., Tasso, F., Alisi, C., Martini, S., Rappuoli, R., Lusini, P., Rosa, A., Rossi, C., Santucci, A. (2006). Comparative analysis of the effects of locally used herbicides and their active ingredients on a wild-type wine (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 3163-3172.
- [97] Ribeiro, I.C., Verissimo, I., Moniz, L., Cardoso, H., Sousa, M.J., Soares, A.M.V.M., Leão, C. (2000). Yeasts as A Model for Assessing The Toxicity of The Fungicides Penconazol, Cymoxanil and Dichlofluanid. *Chemosphere*, 41, 1637-1642.
- [98] Kireççi, O. (2017). *Saccharomyces cerevisiae*'nın Gelişme Ortamına İlave Edilen Ağır Metallerin (Mn, Mg, Cd, Fe) Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkileri, Bitlis Eren Üniversitesi Hızan MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Bitlis. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20, 175-184.
- [99] Singh, A., Sharma, P., Saran, A.K., Sing, N., Bishnoi, N.R. (2013). Comparative study on ethanol production from pretreated sugarcane bagasse using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on various matrices. *Renewable Energy Pages*, 488-493.
- [100] Walker, G.M. (1998). *Yeast Physiology and Biotechnology*, John Wiley & Sons, England, 0-471-964468.
- [101] Ahmad, S., Khan, H., Shahab, U., Rehman, S., Rafi, Z., Khan, M. Y., Ansari, A., Siddiqui, Z., Ashraf, J.M., Abdullah, S.M.S., Habib, S., Uddin, M. (2017). Protein oxidation: an overview of metabolism of sulphur containing amino acid, cysteine. *Frontiers in Bioscience, Scholar*, 9, 71-87.
- [102] Duan, L.L., Shi, Y., Jiang, R., Yang, Q., Wang, Y.Q., Liu, P.T., Duan, C.Q., Yan, G.L. (2015). Effects of Adding Unsaturated Fatty Acids on Fatty Acid Composition of *Saccharomyces cerevisiae* and Major Volatile Compounds in Wine, Centre for Viticulture and Oenology, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, 36 (2), 285-295.
- [103] Izawa, S., Inoue, Y., Kimura, A. (1995). Oxidative stress response in yeast: effect of glutathione on adaptation to hydrogen peroxide stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, 368, 73-76.
- [104] Grant, C.M., Maciver, F.H., Dawes, I.W. (1996). Glutathione is an essential metabolite required for resistance to oxidative stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genetics*, 29, 511-515.
- [105] Grant, C.M., Perrone, G., Dawes, I.W. (1998). Glutathione and catalase provide overlapping defenses for protection against hydrogen peroxide in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 253, 893-898.
- [106] Lee, J.H., Choi, I.Y., Kil, I.S., Kim, S.Y., Yang, E.S., Park, J. (2001). Protective role of superoxide dismutases against ionizing radiation in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526, 191-198.
- [107] Shimizu, N., Kobayashi, K., Hayashi, K. (1984). The reaction of superoxide radical with catalase, *The Journal of Biological Chemistry*, 259 (7), 4414-4418.
- [108] Szacz, G. (1969). A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. *Clinical Chemistry*, 15, 24.
- [109] Bronzetti, G., CINI, M., Andreoli, E., Caltavuturo, L., Panunzio, M., Croce, C.D. (2001). Protective effects of vitamins and selenium compounds in yeast. *Mutation Research*, 496, 105-115.
- [110] Garcia, A.I., Garcia, L.A., Diaz, M. (1993). Fusel Alcohols Production in Beer Fermentation Processes. *Process Biochemistry*, 29, 303-309.
- [111] Cheeseman, K. H. and Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493.
- [112] Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The Journal of Biochemistry*, 193, 265-277.

- [113] Karataş, F., Karatepe, M., Baysar, A. (2002). Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochemistry*, 311, 76-79.
- [114] Yılmaz, O., Keser, S., Tuzcu, M., Guvenc, M., Cetintas, B., Irtegun, S., Tastan, H., Sahin, K. (2009). A Practical HPLC Method to Measure Reduced (GSH) and Oxidized (GSSG) Glutathione Concentrations in Animal Tissues. *Journal of Animal And Veterinary Advances*. 8 (2), 343-347.
- [115] Hara, A., Radin, N.S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90, 420-426.
- [116] Sánchez-Machado, D.I., López-Hernández, J., Paseiro-Losada, P. (2002). High performance liquid chromatographic determination of alpha-tocopherol in macro algae. *Journal of Chromatography A*, 976, 277-284.
- [117] Christie, W.W. (1990). *Gas chromatography and lipids*, The Oil Pres, Glaskow.
- [118] Christie, W.W. (1992). Preparation of fatty acid methyl esters. *Inform*. 3, 1031-1034.
- [119] Tvrzicka, E., Vecka, M., Stankova, B. and Zak, A. (2002). Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography flame ionisation detection Quantative aspects. *Analytica Chimica Acta*, 465, 337-350.
- [120] Panchenko, L.F., Brusov, O.S., Gerasimov, A.M, Loktaeva, T.D. (1975). Intramitochondrial localization and release of rat liver superoxide dismutase. *Febs Letters*, 55,84-87.
- [121] Aebi, H. (1984). Catalase Invitro. *Methods In Enzymology*, 105, 121-126.
- [122] Bell, J.G., Cowey, C.B., Adron, J.W., Shanks, A.M. (1985). Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*, 53, 149-157.
- [123] Kim, D. W., Kim, M. J., Shin, Y., Jung, S. K., Kim, Y. J. (2020). Green Pepper (*Piper nigrum* L.) Extract Suppresses Oxidative Stress and LPS-Induced Inflammation via Regulation of JNK Signaling Pathways. *Applied Sciences-Basel*, 10.
- [124] Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 517Se520S.
- [125] Gülçin, I., Riad, E., Akçahan, G., Boyer, L., Köksal, E. (2007). A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of Biotechnology*, 6, 410e418.
- [126] Le Grandois, J., Guffond, D., Hamon, E., Marchioni, E., Werner, D. (2017). Combined microplate-ABTS and HPLC-ABTS analysis of tomato and pepper extracts reveals synergetic and antagonist effects of their lipophilic antioxidative components. *Food Chemistry*, 223, 62-71.
- [127] Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., Menichini, F., Loizzo M.R. (2013). Antioxidant and hypoglycaemic activities and their relationship to phytochemicals in *Capsicum annuum* cultivars during fruit development. *Food Science and Technology*, 53, 370e377.
- [128] Malo, I., De Bastiani, M., Arevalo, P., Bernacchia, G. (2017). Natural extracts from pepper, wild rue and clove can activate defenses against pathogens in tomato plants. *European Journal of Plant Pathology*, 149, 89-101.
- [129] Hwang, E.S. and Bowen, P.E. (2002). Can the consumption of tomatoes or lycopene reduce cancer risk? *Integrative cancer therapies*, 1(2), 121-132.
- [130] Stewart, W. (2001). *Balanced fertilization increases water use efficiency*. News & Views. A regional newsletter published by the Potash & Phosphate Institute (PPI) and the Potash & Phosphate Institute of Canada (PPIC). Lubbocks Texas.
- [131] Sönmez, K. and Ellİaltioğlu, Ş.Ş. (2014). Domates, karotenoidler ve bunları etkileyen faktörler üzerine bir inceleme. *Derim*, 31(2), 107-130.

- [132] Kaya, K., Al-Remi, F., Arvas, Y.E., Durmuş, M. (2018). Domates Bitkisi ve in Vitro Mikro Çoğaltımı (Tomato Plant and Its In Vitro Micropropagation). *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, 3(1), 55-73.
- [133] Barba, A.O., Hurtado, M. C., M.C. Sa´nchez Mata, M.C., Ferna´ndez Ruiz, V., Tejada M.L. 2006. Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 2006. 95(2): p. 328-336.
- [134] Navarro-González, I., García-Alonso, J., Periago, M.J. (2018). Bioactive compounds of tomato: Cancer chemopreventive effects and influence on the transcriptome in hepatocytes. *Journal of Functional Foods*, 42, 271-280.
- [135] Aksu, Z. and Eren, A.T. (2007). Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotolura glutinis*, *Biochemical Engineering Journal*, 35, 107-113
- [136] Mannino, G., Campobenedetto, C., Vigliante, I., Contartese, V., Gentile C., Berteau, C. M. (2020). The Application of a Plant Biostimulant Based on Seaweed and Yeast Extract Improved Tomato Fruit Development and Quality. *Biomolecules*, 10.
- [137] Aust, S.D. and Sringen B.A. (1982). Free radicals in biology. Vol. 5. New York: Academic Press.
- [138] Al- Oqaili, R.M., Mohammedistabregh, B.B., Salman, M.A., Al-satarasad, D.A. (2014). In Vitro Antimicrobial activity of *Solanum Lycopersicum* Extract against some Pathogenic Bacteria. *Food Science and Quality Management*, 27, 12-17.
- [139] Engindeniz, S. (2006). Economic analysis of pesticide use on processing tomato growing: a case study for Turkey, *Crop Protection*, 25 (6), 534–541.
- [140] Pane, C., F. Fratianni, M. Parisi, F. Nazzaro, and M. Zaccardelli. (2016). Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. *Crop Protection*, 84, 81-87.
- [141] Ozsahin A.D., Güvenç, M., Yilmaz, O., Aslan, A., Tuzcu, M. (2009). The Effects of Different Sugar Sources on Fatty Acid Biosynthesis in the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Culture. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(3): 424-429.
- [142] Hussein, A. M. S., Fouda, K. A., Badr, A. N., Abdel-Razek, A. G. (2019). Counteractive Role of White Pepper Extracts for Oxidative Stress and Hepatotoxicity Induced by Aflatoxin B-1 in Rats. *International Journal of Pharmacology*, 15: 177-88.
- [143] Song, W. Y., Ku, K. H., Choi, J. H. (2010). Effect of ethanol extracts from red pepper seeds on antioxidative defense system and oxidative stress in rats fed high-fat. high-cholesterol diet. *Nutrition Research and Practice*, 4, 11-15.
- [144] Li, J. K., Hui, T., Wang, F. L., Li, S., Cui, B. W., Cui, Y. Q., Peng, Z. Q. (2015). Chinese red pepper (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) leaf extract as natural antioxidants in salted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in dorsal and ventral muscles during processing. *Food Control*, 56, 9-17.
- [145] Krishna, A. G. G., Lokesh, B. R., Sugasini, D., Kancheva, V. D. (2010). Evaluation of the antiradical and antioxidant properties of extracts from Indian red chili and black pepper by in vitro models. *Bulgarian Chemical Communications*, 42, 62-69.
- [146] Chen, L., Hwang, J. E., Gu, K. M., Kim, J. H., Choi, B., Song, K. S., Park, Y., Kang, Y. H. (2012). Comparative study of antioxidant effects of five Korean varieties red pepper (*Capsicum annuum* L.) extracts from various parts including placenta, stalk, and pericarp. *Food Science and Biotechnology*, 21, 715-21.
- [147] Chen, L. and Kang, Y. H. (2013). Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts, *Journal of Functional Foods*, 5, 1724-31.

- [148] Sim, K. H. and Sil, H. Y. (2008). Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1813-23.
- [149] Rezaei, M. N., Dornez, E., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M. (2015). Critical assessment of the formation of hydrogen peroxide in dough by fermenting yeast cells. *Food Chemistry*, 168, 183-89.
- [150] Vazquez, J., K. Grillitsch, G. Daum, A. Mas, M. J. Torija, G. Beltran. (2018). Melatonin Minimizes the Impact of Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide in *Saccharomyces* and Non-conventional Yeast. *Frontiers in Microbiology*, 9.
- [151] Folmer, V., Pedroso, N., Matias, A.C., Lopes, S.C.D.N., Antunes, F., Cyrne, L., Marinho, H.S. (2008). H₂O₂ induces rapid biophysical and permeability changes in the plasma membrane *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1778, 1141–1147.
- [152] Matias, A.C., Pedroso, N., Teodoro, N., Marinho, H.S., Antunes, F., Nogueira, J.M., Herrero, E., Cyrne, L. (2007). Down-regulation of fatty acid synthase increases the resistance of *Saccharomyces cerevisiae* cells to H₂O₂. *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 1458-1465.
- [153] Torija, M.J., Beltron, G., Novo, M., Poblet, M., Guillaman, J.M., Mas, A., Rozes, N. (2002). Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 127-136.
- [154] Lamacka, M., Sajbidor, J., Bohov, P. (1998). Lipid isolation and fatty acid analysis in *Saccharomyces cerevisiae*. Comparison of different methods, *Biotechnology Techniques*, 12, 621-625.