

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HATAY YÖRESİNDEKİ ÇEŞİTLİ BİTKİLERDEN ELDE
EDİLEN DOĞAL BİLEŞİKLERİN OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİ

Talin ÇİMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayşe OGAN

İSTANBUL 2012

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HATAY YÖRESİNDEKİ ÇEŞİTLİ BİTKİLERDEN ELDE
EDİLEN DOĞAL BİLEŞİKLERİN OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİ

Talin ÇİMEN
(520610002)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayşe OGAN

İSTANBUL 2012

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez konumun seçilmesinde, hazırlanmasında ve tüm aşamasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe OGAN'a,

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, her konuda sabırla yardımcı olan Kimya Bölümü Öğr. Gör. Dr. Özkan DANIŞ'a, Öğr. Gör. Dr. Serap DEMİR'e ve Arş. Gör. Dr. Başak YÜCE DURSUN'a,

Tezimin kromatografi çalışmalarıyla ilgili kısmında, laboratuvarlarını kullanmamı sağlayan, büyük ilgi ve yardımlarını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Ümit SALAN'a ve Öğr. Gör. Dr. Cihan GÜNDÜZ'e,

Tezimin ekstraksiyon çalışmalarıyla ilgili kısmında, laboratuvarlarını kullanmamı sağlayan, yardımlarını gördüğüm M.Ü. Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Güler YALÇIN'a,

Ekstraksiyon çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Merve YURTCU'ya ve öğretim üyesi Nuray YÜKTAŞ'a,

İstatistiksel çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Arkun TATAR'a,

Laboratuar çalışmalarım boyunca her zaman desteklerini hissettiğim, bana her konuda yardımcı olan ve yanımda olan sevgili arkadaşlarım Nayat ARSLAN'a, Mustafa M. ALPARSLAN'a ve Özcan AÇAR'a,

Her konuda beni cesaretlendiren, zor zamanlarımda güç vererek dostluklarını benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Sayat, Dalida, Nayat, Karolin, Linda, Jbid ve Nadin'e,

Tüm hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteği benden esirgemeyen, her zaman yanımda olacaklarını bildiğim canım anneme, babama ve kardeşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2012

Talin ÇİMEN

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
SEMBOLLER	ix
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
BÖLÜM I. GİRİŞ ve AMAÇ	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	4
II.1 BİBERİYE.....	4
II.1.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri	4
II.1.2 Kimyasal Özellikleri	4
II.1.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	5
II.2 ADAÇAYI	6
II.2.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri	6
II.2.2 Kimyasal Özellikleri	7
II.2.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	7
II.3 SUMAK	8
II.3.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri	8
II.3.2 Kimyasal Özellikleri	9
II.3.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	10
II.4 FESLEĞEN	11
II.4.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri	11
II.4.2 Kimyasal Özellikleri	11
II.4.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	14

II.5 ZAHER	14
II.5.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri.....	14
II.5.2 Kimyasal Özellikleri	15
II.5.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	16
II.6 ÖKSEOTU	17
II.6.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri.....	17
II.6.2 Kimyasal Özellikleri	18
II.6.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi	18
II.7 SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES	19
II.7.1 Serbest Radikaller	19
II.7.1.1 Serbest Radikallerin Oluşumu	19
II.7.1.2 Serbest Radikallerin Etki Mekanizması	20
II.7.2 Reaktif Oksijen Türleri ve Özellikleri	20
II.7.2.1 Reaktif Oksijen Türlerinin Etkileri	22
II.7.3 Oksidatif Stres	23
II.8 ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	23
II.8.1 Antioksidan Etki Tipleri	24
II.8.2 Antioksidanların Sınıflandırılması	25
II.8.2.1 Enzimatik Antioksidanlar	25
II.8.2.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	26
II.8.3 Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri.....	29
II.9 HIZLANDIRILMIŞ ÇÖZÜCÜ EKSTRAKSİYONU (ASE)	29
II.9.1 Cihazın Çalışma Prensipleri	30
II.10 KROMATOĞRAFI	31
II.10.1 Kolon Kromatografisi	31
BÖLÜM III. ÇALIŞMALAR	32
III.1 ARAŞTIRMA ARAÇLARI	32
III.1.1 Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihazlar	32
III.1.2 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
III.1.3 Deneysel Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Temin Edilmeleri	33
III.1.4 Ekstraksiyon İşlemleri	33
III.2 GENEL YÖNTEMLER	34
III.2.1 Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini	34

III.2.2	Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite (FRAP) Tayini	35
III.2.3	Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	36
III.2.4	DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	37
III.2.5	Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi Tayini	38
III.2.6	Hidroksil Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	40
III.3	Değerlendirme	41
III.4	Kolon Kromatografisi ile Ayırma	41
BÖLÜM IV. SONUÇLAR ve TARTIŞMA		42
IV.1	SONUÇLAR.....	42
IV.1.1	Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini.....	42
IV.1.2	Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite (FRAP) Tayini	46
IV.1.3	Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	50
IV.1.4	DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	51
IV.1.5	Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi Tayini	58
IV.1.6	Hidroksil Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	60
IV.1.7	Kolon Kromatografisi.....	60
IV.2	TARTIŞMA.....	61
BÖLÜM V. SON DEĞERLENDİRMELER ve ÖNERİLER		68
KAYNAKLAR		69
ÖZGEÇMİŞ		76

ÖZET

HATAY YÖRESİNDEKİ ÇEŞİTLİ BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN DOĞAL BİLEŞİKLERİN OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada, Hatay bölgesinden temin edilen biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.), zahter (*Thymbra spicata* L.), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), ökseotu (*Viscum album* L.) yaprakları ve sumak (*Rhus coriaria* L.) meyveleri ve yapraklarının antioksidan kapasiteleri incelenmiştir.

Bitkiler kurutulduktan sonra oda sıcaklığındaki su, kaynamış su ve Hızlandırılmış Çözücü Ekstraktörü (ASE) yardımıyla metanol ile ekstreler hazırlanmıştır. Total antioksidan aktivite, Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) ve Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite (FRAP) tayin yöntemleri ile saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı ise, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak tayin edilmiştir. Serbest radikal giderme aktivitesi tayini için kullanılan yöntemler şunlardır: DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikalini giderme, süperoksit anyonunu giderme ve hidroksil radikalini giderme aktivitesi yöntemleri. Elde edilen sonuçlar standart antioksidanlarla karşılaştırılmıştır.

CUPRAC yönteminden elde edilen sonuçlara göre, sumak yaprağının tüm ekstreleri en etkili ve en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Bitki ekstrelerinin total antioksidan aktiviteleri FRAP yöntemiyle de tayin edilmiştir ve CUPRAC yöntemiyle paralel sonuçlar elde edilmiştir.

Bitki ekstrelerinin toplam fenolik içerikleri 0,5412-15,1473 µg GAE/mL arasında değişmektedir. En yüksek fenolik içerik sumak yaprağında bulunmuştur.

DPPH serbest radikal ve süperoksit anyonunu giderme aktivitesinden elde edilen sonuçlara göre, çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır; $p < 0,01$. Hidroksil radikalini giderme aktivitesinde ise, çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır; $p > 0,05$.

Aktivite tayininden sonra en yüksek aktivite gösteren sumak yaprağı kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılmış ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyon tespit edilmiştir.

Temmuz, 2012

Talin ÇİMEN

ABSTRACT

EFFECT OF NATURAL COMPOUNDS FROM VARIOUS HERBS IN HATAY REGION ON OXIDATIVE STRESS

In this study, antioxidant capacities have been determined in some herbs collected from Hatay Region, Turkey; rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), wild thyme (*Thymbra spicata* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.), mistletoe (*Viscum album* L.) leaves and sumac (*Rhus coriaria* L.) fruits and leaves.

The plants were dried first, then the extractions were prepared by room temperature water, boiled water and methanol by Accelerated Solvent Extractor (ASE). Total antioxidant activity was determined by Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) assay and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay. Total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu reagent. The free radical scavenging activity was shown by the following methods: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging, superoxide anion scavenging and hydroxyl radical scavenging activity methods. The obtained results were compared by using standard antioxidants.

According to results obtained from CUPRAC assay, the extracts of sumac leaves showed the most effective and the highest antioxidant activity. Total antioxidant activities of plant extracts also were assayed by FRAP assay. Results were in parallel with the results obtained from CUPRAC assay.

The total phenolic content of herb extracts ranged between 0,5412 and 15,1473 µg GAE/mL. The highest phenolic content was found in sumac leaves.

According to results obtained from DPPH free radical and superoxide anion scavenging activity assay, among the seven plants statistically significant difference was found; $p < 0,01$. In hydroxyl radical scavenging activity, among the seven plants statistically significant difference was not found; $p > 0,05$.

Sumac leaves which showed the highest activity, were fractioned over column chromatography and the fraction was determined which had shown antioxidant activity.

July, 2012

Talin ÇİMEN

SEMBOLLER

%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
g	: Gram
m	: Metre
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
p	: Para
psi	: Basınç birimi
rpm	: Dakikadaki dönüş hızı
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre

KISALTMALAR

AIDS	: Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu (Acquired Immune Deficiency Syndrome)
ASE	: Hızlandırılmış Çözücü Ekstraktörü (Accelerated Solvent Extractor)
BHA	: Bütilenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütilenmiş Hidroksi Toluen
CAT	: Katalaz Enzimi
CUPRAC	: Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)
DMF	: Dimetil Formamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
FRAP	: Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi (Ferric Reducing Antioxidant Power)
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GPx	: Glutasyon Peroksidaz Enzimi
GR	: Glutasyon Redüktaz Enzimi
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
GSPE	: Proantosiyanidin
GSSG	: Yükseltgenmiş Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferaz Enzimi
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium Klorür
Nc	: Neokuproin
NDGA	: Nordihidroguareyetik Asit
PG	: Propil Gallat

PMS	: Fenazin Metasülfat
ROOH	: Lipit Hidroperoksit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz Enzimi
SS	: Standart Sapma
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBHQ	: Tersiyer Bütil Hidro Kinon
TCA	: Trikloroasetik Asit
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER

SAYFA NO

Şekil II.1 Biberiye bitkisinin doğadaki görünümü	5
Şekil II.2 Baharat olarak tüketilen biberiye.....	5
Şekil II.3 Adaçayı bitkisinin doğadaki görünümü	7
Şekil II.4 Baharat olarak tüketilen adaçayı	8
Şekil II.5 Sumak bitkisinin doğadaki görünümü	9
Şekil II.6 Sumak bitkisinin meyve ve yaprakları	9
Şekil II.7 Baharat olarak tüketilen sumak	10
Şekil II.8 Fesleğen bitkisinin yaprak ve çiçekleri	12
Şekil II.9 Fesleğende bulunan flavonoidler	12
Şekil II.10 Fesleğende bulunan fenolik asitler	13
Şekil II.11 Baharat olarak tüketilen fesleğen	14
Şekil II.12 Zahter bitkisinin görünümü	15
Şekil II.13 Baharat olarak tüketilen zahter	16
Şekil II.14 Ökseotu bitkisinin görünümü	17
Şekil II.15 Ökseotu bitkisinin kurutulmuş yaprakları	18
Şekil II.16 Serbest radikallerin hücreye etkileri	19
Şekil II.17 Reaktif oksijen türlerinin yararlı ve zararlı etkileri	22
Şekil II.18 Antioksidanın serbest radikali nötralize etmesi	24
Şekil II.19 BHT, BHA ve TBHQ'nun kimyasal yapıları	26
Şekil II.20 PG ve NDGA'nın kimyasal yapıları.....	27
Şekil II.21 C vitamini ve E vitamininin kimyasal yapıları.....	27
Şekil II.22 β -karotenin kimyasal yapısı	28
Şekil II.23 Flavonoidlerin genel yapısı	28
Şekil II.24 ASE cihazı şematik gösterimi	30
Şekil II.25 ASE cihazı	30
Şekil IV.1 CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı troloks derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiği	42
Şekil IV.2 CUPRAC yöntemi ile 25 °C deki distile su ile hazırlanan ekstrelerin derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiği	43

Şekil IV.3 CUPRAC yöntemi ile 100 °C deki distile su ile hazırlanan ekstrelerin	
derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı	44
Şekil IV.4 CUPRAC yöntemi ile metanol ile hazırlanan ekstrelerin derişimlerine	
karşı elde edilen absorbans grafiğı	45
Şekil IV.5 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı troloks	
derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı	46
Şekil IV.6 FRAP yöntemi ile 25 °C deki distile su ile hazırlanan ekstrelerin	
derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı	47
Şekil IV.7 FRAP yöntemi ile 100 °C deki distile su ile hazırlanan ekstrelerin	
derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı	48
Şekil IV.8 FRAP yöntemi ile metanol ile hazırlanan ekstrelerin derişimlerine karşı	
elde edilen absorbans grafiğı	49
Şekil IV.9 Gallik asit standart çalışma grafiğı	50
Şekil IV.10 Biberiye bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı.....	53
Şekil IV.11 Zahter bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı	54
Şekil IV.12 Adaçayı bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı	54
Şekil IV.13 Fesleğen bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı	55
Şekil IV.14 Ökseotu bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı	55
Şekil IV.15 Sumak meyve bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı.....	56
Şekil IV.16 Sumak yaprak bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı	56
Şekil IV.17 Kolonda ilerleyen maddenin görünümü	61

TABLolar

SAYFA NO

Tablo II.1 Antioksidanların etkili olduğu hastalıklar	29
Tablo III.1 CUPRAC tayini çalışma tablosu	35
Tablo III.2 FRAP tayini çalışma tablosu	36
Tablo III.3 Toplam fenolik madde miktarı tayini çalışma tablosu	37
Tablo III.4 DPPH radikali giderme aktivitesi çalışma tablosu	38
Tablo III.5 Süperoksit anyonu giderme aktivitesi çalışma tablosu.....	39
Tablo III.6 Hidroksil radikali giderme aktivitesi çalışma tablosu	41
Tablo IV.1 Oda sıcaklığındaki su ile ekstre edilen (25 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları (SS).....	43
Tablo IV.2 Kaynar su ile ekstre edilen (100 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları	44
Tablo IV.3 Metanol ile ekstre edilen örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)	45
Tablo IV.4 Standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri	46
Tablo IV.5 Oda sıcaklığındaki su ile ekstre edilen (25 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri ve standart sapmaları (SS).....	47
Tablo IV.6 Kaynar su ile ekstre edilen (100 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri ve standart sapmaları (SS).....	48
Tablo IV.7 Metanol ile ekstre edilen örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)	49
Tablo IV.8 Standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri	50
Tablo IV.9 Bitki ekstrelerinin gallik asit eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri ve standart sapmaları (SS)	51

Tablo IV.10 Bitkilerin tüm ekstralarının DPPH radikalini inhibe etme yüzdeleri ve standart sapmaları (SS)	52
Tablo IV.11 Bitkilerin tüm ekstralarına ait IC ₅₀ değerleri ve standart sapmaları (SS)	57
Tablo IV.12 Standart antioksidanlara ait % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	58
Tablo IV.13 Bitkilerin tüm ekstralarının süperoksit anyonunu inhibe etme yüzdeleri ve standart sapmaları (SS)	59
Tablo IV.14 Bitkilerin tüm ekstralarının hidroksil radikalini inhibe etme yüzdeleri ve standart sapmaları (SS)	60

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Reaktif oksijen türleri (ROT) ve süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\bullet OH$) gibi serbest radikaller insan vücudunun normal metabolik faaliyetleri sonucu sürekli olarak oluşmaktadır. Bu radikaller, kanser, yaşlanma, diyabet, ateroskleroz gibi hastalıkların patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Serbest radikaller, antioksidan bileşikler ve enzimleri içeren antioksidan savunma sisteminin dengesini bozmaktadır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese sebep olmaktadır. Oksidatif stresin de hücre hasarına ve hücre ölümüne yol açtığı ve hastalıkların büyük bir çoğunluğu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikaller ile ilgili yapılan çalışmalar, antioksidanlar açısından zengin gıdaların kalp ve damar hastalıkları, kanserler ve nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Chen ve ark., 2007).

Meyvelerde, sebzelerde, otlarda ve diğer bitkilerde bulunan yaygın biyoaktif bileşiklerin, antioksidan, antikanserojen, ateroskleroz ve antimutajen inhibitör etkinlikleri ile olası sağlık sorunlarını engelledikleri tespit edilmiştir. Birçok bitkinin, iyi bilinen C vitamini, E vitamini ve karotenoidler dışında büyük miktarlarda fenolik antioksidanlar içerdiği bilinmektedir. Bitkilerdeki fenolik antioksidanlar, temel olarak, fenolik asitler, flavonoidler ve kateşinlerden oluşmaktadır. Bitkilerdeki bazı fenolik bileşikler, lipid peroksidasyonunu giderme, DNA'daki oksidatif hasarı önleme ve reaktif oksijen türlerini süpürme kapasitesine sahiptirler (Yoo ve ark., 2008).

Polifenolik bileşikler, hem tüketilen hem de tüketilemeyen bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bitkilerin antioksidan aktivite de dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bitkiler, tıp, beslenme, aroma, içecek, boya, böcek kovucu, kozmetik gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Birçok türün, tıbbi özellikleri ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu kabul edilmiştir. Bu olumlu etkiler arasında, antioksidan aktivite, sindirimi kolaylaştırma,

antienflamatuar, antimikrobiyel, lipit düşürücü, antimutajenez ve antikanserojen etkileri sayılabilir. Ayrıca, antioksidan bileşikler bakımından zengin bitkiler, oksidatif hasara karşı gıda muhafazasında kullanılabilmektedir (Hossain ve ark., 2010).

Fenolik bileşiklerce zengin, baharatların ve diğer bitki materyallerinin özütlerine gıda endüstrisinde her geçen gün ilgi artmaktadır. Bunun nedeni; fenolik bileşiklerin lipitlerin oksidatif bozulmasını geciktirmesi ve böylece gıdaların kalitesini ve besin değerini artırmasıdır (Wojdylo ve ark., 2007). Bu nedenle, lipit peroksidasyonunu önlemek ya da serbest radikallerin zararlarından korunmak için doğal antioksidanların kullanımı üzerinde daha çok durulmaktadır (Chen ve ark., 2007).

Yaşayan tüm organizmalar, reaktif oksijen türleri nedeniyle meydana gelen lipit peroksidasyonu, DNA hasarı, hücre iletişim inhibisyonu gibi her türlü oksidatif hasara karşı endojen savunma sistemlerine sahiptirler.

Başlıca iki antioksidan savunma mekanizması vardır:

1. Enzimlerle antioksidan savunma: Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, süperoksit anyonlarının hidrojen perokside dönüşümünü katalizler. Katalaz (CAT) enzimi ise, hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya dönüştürür.
2. Enzimatik olmayan bileşenlerle antioksidan savunma: Polifenoller, askorbik asit ve karotenoidler bu gruba örnek olarak verilebilir (Yoo ve ark., 2008).

Son zamanlarda, fitokimyasallar ve bunların insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili araştırmalar artmıştır (Chen ve ark., 2007). Ancak, bitkilerin fenolik içerikleri, biyoaktiviteleri ve oksidatif strese karşı antioksidan aktiviteleri üzerine sınırlı sayıda karşılaştırmalı çalışma vardır (Yoo ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda özellikle, sebze, meyve, çay, baharat ve tıbbi bitkilerden elde edilen antioksidan, hipoglisemik ve antikanserojen ajanlar üzerinde durulmuştur (Chen ve ark., 2007).

İnsanların doğal antioksidanları ilaçlardan daha fazla tercih ettikleri gerçeği göz ardı edilmemelidir. Çünkü özellikle gıda endüstrisinde, yağlı gıda mamullerinin oksidasyonunu ve lipit peroksidasyonunu önlemek amacıyla kullanılmakta olan bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT), gallat türevleri ve tersiyer bütill hidro kinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidan maddelerin toksik etkilerinden kuşku duyulmaktadır. Günümüzde, antioksidan ihtiyaçların karşılanması konusunda doğal ürünler daha çok tercih edilmektedir (Ardağ, 2008). Bu doğrultuda insanların yaygın olarak tükettiği gıdalardan bir grup olan bitkilerin

antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ile daha bilinçli olarak tüketilmesi sağlanarak yeni alternatif tedavilere ışık tutulabilir.

Hatay yöresi kaynak olarak seçilmiş olup, ülkemizde tüketilen adaçayı (*Salvia officinalis* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), ökseotu (*Viscum album* L.), sumak (*Rhus coriaria* L.) ve zahter (*Thymbra spicata* L.) bitkileri üzerinde çalışılmıştır. Çalışmamızda bu bitkilerin antioksidan aktivitelerini saptamayı ve içlerinde en fazla antioksidan aktiviteye sahip olanları belirlemeyi ve tüketilmelerini amaçlamaktayız. Serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesinde; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali, hidroksil radikali ve süperoksit anyonunu giderme yöntemleri kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanmış ve ferrik indirgeme antioksidan kapasite (FRAP) ve bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemleri ile oksidasyonun ne kadarının önlendiği saptanarak antioksidan kapasiteleri tayin edilmiştir. Aktivite tayininden sonra en yüksek aktivite gösteren sumak yaprağı kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılmış ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyon tespit edilmiştir.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II.1 BİBERİYE

II.1.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasına ait değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisidir (Sasikumar, 2004). Türkiye’de doğal olarak yetişen biberiye, rosmarin, kuşdili, hasalban, pürem, akpüren, süpürge çalısı gibi yöresel isimlerle de bilinmektedir ve tıbbi, aromatik bir bitki türüdür (Aysel, 2008). *Rosmarinus* adı Latince kökenlidir ve “denizin çiği” anlamına gelir. Genellikle deniz kenarlarında çok yaygın bulunmasından dolayı bu ismi almıştır. (Sasikumar, 2004). Yaz-kış yeşil kalan, kış aylarında yapraklarını dökmeyen, çalı görünümünde, çiçekleri soluk mavi renkli en fazla 200 cm kadar boylanabilen çok yıllık bir bitkidir (Şekil II.1). Kökleri çok dallanmıştır. Yabani olarak Akdeniz ikliminin hakim olduğu her yerde yetişebilir (Ceylan, 1997).

Genellikle maki florası içinde bulunan bu tür Güney ve Kuzey Anadolu ve adalarda yaygın olarak yetişir. Mersin ve Adana yöresinde, orman içi boşluklarda, tarla ve üzüm bağı kenarlarında, özellikle de koruma altındaki ağaçlandırma sahaları içinde yayılış göstermektedir (Aysel, 2008).

II.1.2 Kimyasal Özellikleri

Kullanılan bitki kısımları yaprakları (Folia Rosmarini) ve çiçekleri (Flores Rosmarini)’dir. Yapraklarında uçucu yağ %1-2,5 oranında bulunmaktadır. Uçucu yağın başlıca bileşenleri; %20 1,8-sineol, %20 α -pinen, %6 β -pinen, %18 kamfur, %3 bornil asetat, %7 kamfen, %5 borneol, %5 mirsen, %2 α -terpineol, karyofillen, linalol ve limonendir.

Etken bileşenler incelendiğinde; %0,3 diterpen bileşikler, %3 rosmarinik asit, flavonlar (luteolin, diosmetin, genkvanin-4'-O-glikozit), karnosol, karnosik asit, triterpen ve steroid bileşikler içerdiği görülmektedir (Bayrak, 2006).



Şekil II.1 Biberiye bitkisinin doğadaki görünümü

II.1.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Biberiye, yiyecek muhafazasında etkili bir baharattır (Şekil II.2). Et ve et ürünleri, yağ içeren gıdaların uzun süreli muhafazasında gıdaların bozulmadan dayanmasında etkili bileşiklerdir. Şarapta tatlandırıcı olarak, balık ve et yemeklerinde, salatalarda, sebze yemeklerinde de baharat olarak tüketilmektedir (Sasikumar, 2004). Bununla beraber biberiye, ilaç sanayi ve Avrupa’da aroma terapide de kullanılmaktadır. (Banyai ve ark., 2003).



Şekil II.2 Baharat olarak tüketilen biberiye

Önemli ölçüde tüketimi olan biberiye uçucu yağı, kozmetik ürünlerin içinde yer alan şampuanlar, vücut losyonları, kolonyalar ve kremlerin içine konulmuştur. Terapi etkisi antik çağlardan beri bilindiğinden, hasta odalarında yakılmak suretiyle havanın temizlenmesinde kullanılmıştır.

Biberiye hücre yenileyici etkisi de bulunmaktadır. İçerdiği karnosol, karnosik asit, ursolik asitler nedeniyle kanser oluşumunu engelleyici özelliğe sahiptir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada serbest radikallerin yol açtığı DNA hasarından hücreyi koruduğu görülmüştür.

Biberiye içerdiği flavonoidler ile gaz giderici, uçucu yağı ile antidepresan ve diterpenler ile antimikrobiyel etkilere sahiptir. Biberiye ekstrelerini oluşturan karnosol ve karnosik asit HIV'in bulaşmasını engelleme konusunda da etkilidir. Kuru yapraklarının infüzyon olarak kullanımında kan şekerini düşürdüğü ve toksik etkisinin olmadığı ortaya konmuştur.

Doğal koruyucu ve antioksidan olarak A.B.D ve Avrupa'da kullanımı olan bir bitkidir. İçerdiği karnosol ve karnosik asit, fenolik diterpenlerden olan isorosmanol, rosmaridifenol, rosmarikinon ve rosmarinik asit antioksidan etki göstermektedir (Sasikumar, 2004). En güçlü antioksidan etkiye ise karnosik asit sahiptir ve bu etki yaklaşık karnosoldan üç kat, BHT ve BHA'dan yedi kat daha fazladır. Bu amaçla bitki ve ekstrelerinin et ve yağ oksidasyonuna karşı kullanıldığı bilinmektedir (Aysel, 2008).

II.2 ADAÇAYI

II.2.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Halk arasında adaçayı (*Salvia officinalis* L.) olarak bilinen *Salvia* cinsi, *Lamiaceae* familyasının en büyük genusudur. Dünyada *Salvia* cinsine ait yaklaşık 900 tür, çoğunlukla Amerika ve Güney-Batı Asya kıtalarında yayılış göstermektedir (Başer, 2002).

Adaçayı (Şekil II.3); Akdeniz kökenli, çok yıllık, çalimsı, 50-100 cm kadar boylanabilen, basit yapraklı ve denizden 800 m yüksekliğe kadar görülen bir bitkidir (Sezgin, 2006). Saçak köklü ve kuraklığa dayanıklıdır. Yapraklarının tüylülüğü, kuraklığa dayanıklılığını artırmaktadır (Ceylan ve ark., 1990).

Ilıman iklimlerde yabani olarak yetişir veya yetiştirilir. Yaprak şeklinde olan baharatı ise; 3-7 cm uzunluk ve 1-3 cm genişlikte, iki yüzü çok tüylü, grimsi yeşil renklidir (Sezgin, 2006).



Şekil II.3 Adaçayı bitkisinin doğadaki görünümü

II.2.2 Kimyasal Özellikleri

Salvia türleri fitokimyasal analizlere göre fenolik asitler, fenolik glikozidler, flavonoidler, antosiyanidinler, kumarinler, polisakkaritler, terpenoidler ve esansiyel yağları içermektedir (Amiri, 2007).

Adaçayının kullanılan kısmı herbası, yaprakları ve uçucu yağdır. Bileşiminde tanen, acı madde ve uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağın ana bileşenleri, %1-27 α -thujon, %1-36 β -thujon, %1-20 1,8-sineol, %1-6 borneol, %14-35 kafur, %2-10 kamfen, %1-18 α -humulen, %1-13 β -pinen, α -pinen, β -karyofilen, viridiflorol, seskiterpenler, limonen ve bornil asetatıdır (Akgül ve ark., 1999).

Yapısındaki en önemli fenolik bileşikler karnosol, karnosik asit, rosmadial, rosmanol, epirosmanol ve metil karnosattır (Cuvelier ve ark., 1994).

II.2.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Oldukça geniş bir tüketim alanı olan adaçayı; çok eski ve önemli bir baharat bitkisi olması nedeni ile gıda sanayinde, eczacılık ve parfümeride kullanılmaktadır (Şekil II.4). Bu özelliklerinin yanında koroner kalp hastalıkları, kronik bronşit, astım, siroz ve alzheimer hastalığı gibi çeşitli klinik durumlarda bitkisel ilaç olarak tüketilmektedir (İpek, 2007).



Şekil II.4 Baharat olarak tüketilen adaçayı

Ülkemizde yüzyıllardır bitki çayı olarak tüketilen çeşitli *Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağların ve ekstraktların antimikrobiyel, antioksidan, antidiabetik ve antitümör özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Adaçayı, üzerinde önemle durulan antioksidan etkiye sahip bir aromatik bitkidir. Antioksidan özelliği esas olarak, karnosik asit, karnosol ve rosmarinik asite bağlanmaktadır.

Yiyecekler ve bazı doğal gıdaları koruyarak ve bozulmalarını önleyerek raf ömrünü uzatmak için, adaçayı antioksidanları, bu konuda oldukça iyi bilinen biberiye antioksidanlarına alternatif oluşturmuştur (Durling ve ark., 2007).

II.3 SUMAK

II.3.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Sumak (*Rhus coriaria* L.), *Anacardiaceae* familyasından *Rhus* cinsi, 250 civarında türüyle dünyanın değişik bölgelerinde yetişmekte olup, Türkiye’de yaygındır (Olchowik ve ark., 2011).

Ilıman ve sıcak iklimlerde; Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Ortadoğu ve Batı Asya’da yaygın olarak yetişmektedir. Türkiye’de ise, güney ve batı bölgelerde yaygın olarak yetişmektedir.

Baharat olarak sumak, ‘*R. coriaria* L. türüne giren bitkilerin meyvelerinin tekniğine uygun kurutulduktan sonra belirli oranda sofr tuzu katılarak öğütölmüş hali’ olarak tanımlanmaktadır (Ünver, 2006).

Sumak, doğal olarak kendiliğinden yetişebilen, yüksekliğı 1 ile 4 m arasında değışen çalı veya küçük ağaçtır (Şekil II.5). 4-6 mm çaplı meyveleri, tek tohumlu ve küremsi, tüylü ve olgunlukta kırmızı renklidir (Bursal ve Köksal, 2011).



Şekil II.5 Sumak bitkisinin doğadaki görünümü

II.3.2 Kimyasal Özellikleri

Meyveleri daha çok tanen, uçucu yağ, organik asit, antosiyanidin ve sabit yağ içermektedir (Koşar ve ark., 2007). Bu bitki ile yapılan önceki fitokimyasal çalışmalar ise, yapraklarının gallotanen, gallik asit, flavonoid, bi-flavonoid, şeker, vaks ve uçucu yağ bakımından zengin olduğunu göstermişlerdir.



Şekil II.6 Sumak bitkisinin meyve ve yaprakları

Tanenler, çeşitli bitkilerden ekstraksiyonla ayrılarak elde edilebilir. Hidrolize olabilen tanenlerden en önemli grup gallotanenlerdir. Meyveler olgunlaştıkça tanen miktarının azalması bitkinin bu maddeyi kullandığını gösterir. Tanenler iki gruba ayrılır:

- a) Hidrolize tanenler: Fenolik asitlerin şekerlerle yaptıkları esterlerdir. İki grupta incelenirler:
 - a. Gallotanenler
 - b. Elajitanenler
- b) Kondanse tanenler: Hidrolize olmayan bu tanenlere “kateşik tanenler” de denir. Genellikle kateşol türevi bileşiklerdir (Ünver, 2006).

II.3.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Sumak yaprak ve meyvelerinin, içerdikleri çeşitli etken madde gruplarından dolayı uzun yıllardan bu yana ilaç hammaddesi olarak kullanıldığı ifade edilmektedir. Yaprakların; ishal, hemoroit, ağız yaralarında, göz hastalıklarında, el ve ayak çatlaklarında, meyve ve yapraklarının ise şeker hastalığına karşı halk ilacı olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Kurucu ve ark., 1993).

Kurutulmuş ve öğütülmüş yaprakları yüksek tanen içeriği nedeniyle bir bronzlaşma ajanı olarak kullanılmaktadır. Ancak, tipik olarak bitkinin meyvesi kurutma ve öğütme sonrası baharat olarak tüketilmektedir (Koşar ve ark., 2007).

Kurutulmuş sumak meyveleri Yakın Doğu ve Batı Asya’da iyi bilinen bir çeşnidir. Baharat olarak, kızartılmış etlerin çeşnilendirilmesinde kullanılır (Şekil II.7). Sumak meyvesinin perikarpı özellikle Anadolu’da ekşi tat verici olarak kullanılmaktadır.



Şekil II.7 Baharat olarak tüketilen sumak

Sumak bitkisinin içerdği kimyasal bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerinin yanı sıra fizyolojik etkileri düşünüldüğünde yeni bir terim olan ‘fonksiyonel gıdalar’ kavramı içinde de değerlendirilmesi mümkündür. *In vitro* olarak yapılan çalışmalarda sumak ekstrelerinin iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği rapor edilmiştir. Baharatlarda antioksidan etkili başlıca bileşikler fenolik karakterlidir. Bunlardan flavonoidler ve fenolik asitler en fazla bulunanlarıdır (Ünver, 2006).

II.4 FESLEĞEN

II.4.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), *Lamiaceae* (ballıbabagiller) familyasına ait, tek veya çok yıllık otsu ve odunsu formda gelişen dünyanın popüler ve hoş kokulu bitkilerinden biridir. Farklı bölgelerde fesliyen, peslan, reyhan, ırhan ve rahan bu bitkinin diğer isimlerindendir.

Anadolu orijinli bitki değildir ve kökeni Güney Asya, özellikle Hindistan ve bazı kaynaklara göre de İran orijinli olduğu bildirilmektedir (Daneshian ve ark., 2009). Güzel kokulu, nane ailesinden, tatlımsı, anasonsu, aromatik, linalolsü, çiçeksi kokuda; baharlı, hafif yakıcı ve acımsı bir baharattır (Akgül, 1993).

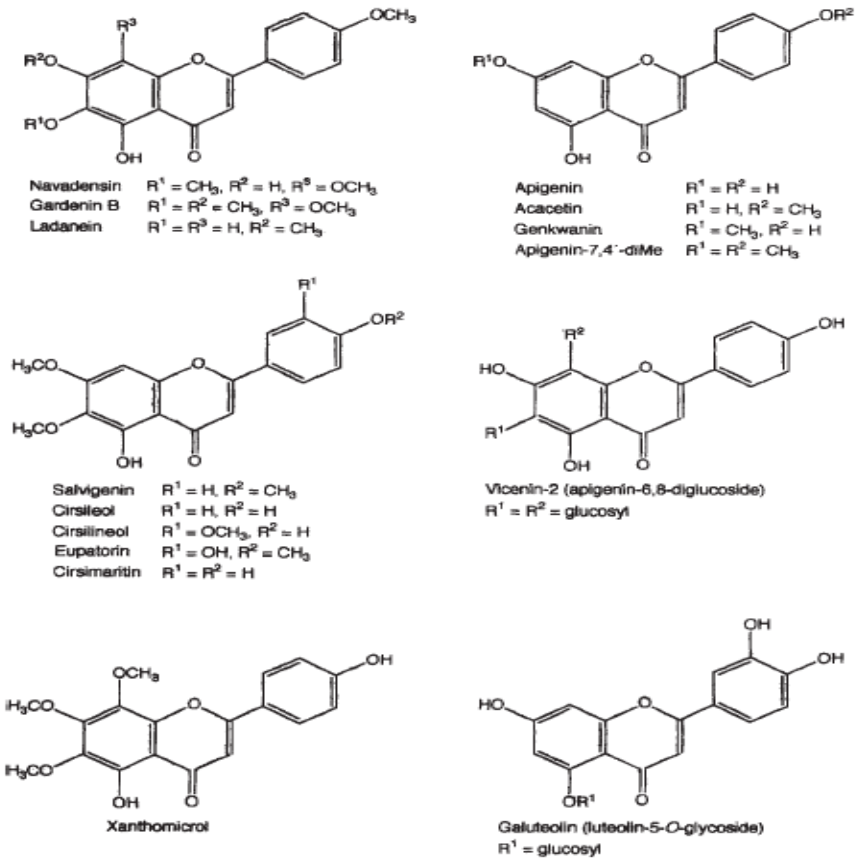
Fesleğen 20-60 cm boyunda, oldukça sık çatallaşan, tüylü, gövdesi çatallı ve piramidimsi yükselen ve dört köşeli bir bitkidir (Çelebi, 2010). Yaprak renkleri açık yeşilden koyu yeşile kadar ve bazen mor renkli olup, 1-5 cm arasında uzunlukta ve 1-3 cm arasında genişlikte olurlar (Şekil II.8). Bitkinin çiçekleri çok değişik renklere sahip olup, beyaz ve koyu yeşil, mor ve eflatun renkler göstermektedir (Daneshian ve ark., 2009).

II.4.2 Kimyasal Özellikleri

Bitki fenolik bileşikleri yüksek antioksidan etkinliğine sahip ikincil ara maddelerdir ve ballıbabagiller türleri içinde yaygın olarak bulunurlar. Doğal yoldan çokça bulunan antioksidanlar, alkaloidler, flavonoidler ve fenolik asitlerin de aralarında olduğu ikincil ara maddelerdir (Şekil II.9, Şekil II.10) (Çelebi, 2010).



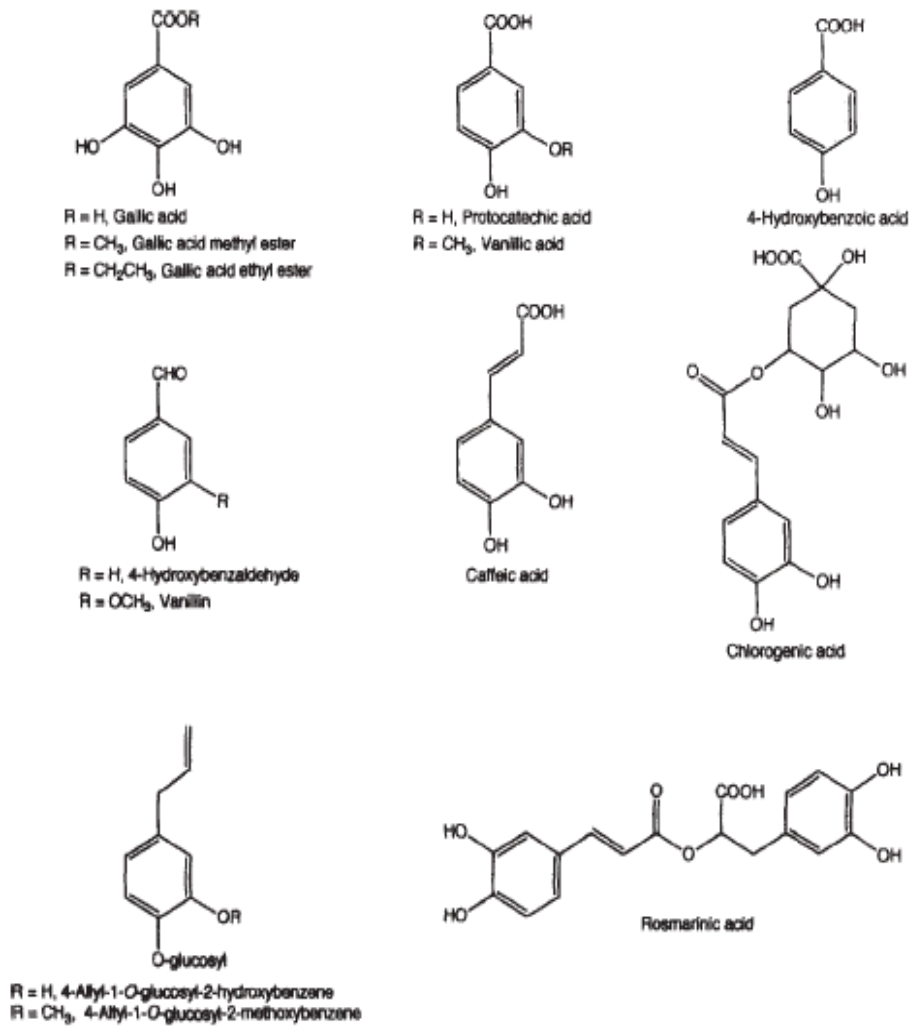
Şekil II.8 Fesleğen bitkisinin yaprak ve çiçekleri



Şekil II.9 Fesleğende bulunan flavonoidler

Uçucu yağ, tanen, saponin içermektedir. Fesleğenin esansiyel yağları; d-linalol, metil kavikol ve diğerleri; öjenol, sineol ve jeraniol içermektedir. Fesleğen bitkisinde uçucu yağ oranı %0,62-%1,00 arasında değişmektedir (Daneshian ve ark., 2009).

En önemli aroma bileşikleri 1,8 sineol, linalool, sitral, metil kavikol, eugenol, metil sinnamattır. Afrikalı türler genelde kamfur içermektedir. Ayrıca monotерpenler, seskiterpenler ve fenilpropanoidler çeşitli miktarlarda bulunur ve aromayı önemli ölçüde etkiler (Çelebi, 2010).



Şekil II.10 Fesleğende bulunan fenolik asitler

II.4.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Fesleğenin yaprak ve çiçekleri salata, pizza, et, omlet, pilav, çorba, sirke, sos, türlü baharat karışımlarında, bazı likör ve içkilerin yapımında ve insektisit olarak kullanılmaktadır (Akgül, 1993). Akdeniz mutfağında yaygın olarak kullanılan bir baharattır (Şekil II.11).

Fesleğen aynı zamanda aromatik bileşenlere sahip olup, böcek kaçıрма, antibakteriyel ve antifungal gibi özelliklere sahiptir. Fesleğen tıbbi bitki olarak, baş ağrısı, şişkinlik, hazmı kolaylaştırıcı, mide rahatsızlıklarında, spazm çözücü, ishal, ateşlenme, kurt düşürücü, öksürük giderici, balgam ve gaz söktürücü, böbrek rahatsızlıkları, stres giderici ve idrar yolları antiseptiği olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ilaç sanayinde, gıda endüstrisinde, konserve yiyeceklerde ve içkilerde, çeşitli çayların bileşiminde kullanılır ve bakterilere karşı koruyucu bir özelliği vardır. Fesleğenin uçucu yağı, gıda sanayinde, baharatlarda, parfümeri ve tıpta da büyük ölçüde kullanılmaktadır (Daneshian ve ark., 2009).



Şekil II.11 Baharat olarak tüketilen fesleğen

II.5 ZAHTER

II.5.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Türkiye’de kekiğe benzer kokularından dolayı, genel olarak “Kekik” olarak bilinen bu bitkiler, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Coridothymus capitatus* cinslerine ait çeşitli türleri içermektedir (Kızıl, 2010).

Thymbra spicata L., ballıbabagiller ailesine ait ıtırly bir cinstir (Şekil II.12). Yaprakları yumurta şeklinde, pembe-beyaz çiçekleri olan güzel kokulu bir bitkidir (Doğan ve ark., 2006).

T.spicata, Güneydoğu Anadolu’da doğal olarak, Türkiye’de Trakya, Ege ve Akdeniz kıyı bölgelerinde bulunmaktadır. Bitki, Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde “Zahter” ve “Karabaş kekik” olarak bilinmektedir (Kızıl, 2010). Ayrıca, *T.spicata* “Karakekik” (black kekik) adı altında işlem görmektedir (Aşkun ve ark., 2009). *T. spicata* var. *spicata* ve *T. spicata* var. *intricata* olarak isimlendirilen iki türü mevcuttur (Kızıl, 2010). *Thymbra* ticaret için önemli, verimli bir cins kekiktir (Aşkun ve ark., 2009).



Şekil II.12 Zahter bitkisinin görünümü

II.5.2 Kimyasal Özellikleri

Bitkinin flavonoidler, terpenoidler; timol ve karvakrol gibi isoprenoidler bakımından zengin olduğu bilinmektedir (Akkol ve ark., 2009).

Thymbra spicata L. uçucu yağı acı aromalı ve çok konsantredir. Uçucu yağın bileşimi, kimyasal olarak tanımlanmıştır. Uçucu yağın % 80’den fazlasını karvakrol oluşturmaktadır. Karvakrol, γ -terpinen, p-simen bileşenleri uçucu yağın % 70’ini oluşturmaktadır. Benzer şekilde, diğer bileşenler *T.spicata* uçucu yağında çok düşük miktarlarda bulunmaktadır. Ayrıca, α -pinen, myrcene, α -terpinen, β -terpinen, γ -terpinen, 1,8-sineol, p-simen, β -karyofillen, α -terpineol ve timol esansiyel yağın diğer bileşenleridir. Karvakrol, güçlü bir analjezik özelliğe sahiptir (Kızıl, 2010).

Rutin, hesperidin, apigenin glukozit, rosmarinik asit, eriodiktiyol, quercetin, naringenin, luteolin, apigenin bitkide bulunan diğerkimyasallardır (Aşkun ve ark., 2009).

II.5.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Thymbra spicata L. Doğu Akdeniz ülkelerinin tıpta kullandığı bir bitkidir. Kuru ya da taze yaprakları ve çiçekleri çay şeklinde tüketilmekte veya salata yapımında kullanılmaktadır (Şekil II.13). Kurutulmuş bitki bölgeleri, Türkiye'nin çeşitli yerlerinde bitkisel çay, baharat olarak; astım, kolik, bronşit, öksürük, ishal ve romatizma tedavisinde kullanılmaktadır.



Şekil II.13 Baharat olarak tüketilen zahter

Genellikle gıda endüstrisinde aroma ajanı olarak kullanılmaktadır. Güçlü antibakteriyel ve antifungal özelliklerine bağlı olarak, romatizmaya karşı haricen kullanılmaktadır. Böcek ilacı, bitki büyüme inhibitörü olarak ve akciğer kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (Kızıl, 2010).

Fazla yağlı beslenme, kolesterol ve hücre zarında üretilen serbest radikal türleri artan oksidatif stres ile ilişkilendirilebilir. Bu bitkinin yaprakları hiperkolesterolemiye ile mücadelede kullanılarak son zamanlarda büyük popülarite kazanmıştır (Avcı ve ark., 2006). Yüksek kolesterolle beslenen farelerde hipokolesterolemik aktivite ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Aşkun ve ark., 2009). Timol, karvakrol ve iyonon gibi izoprenoidlerin, tavuklarda plazma kolesterol konsantrasyonunu düşürdüğü görülmüştür (Avcı ve ark., 2006).

II.6 ÖKSEOTU

II.6.1 Orijini, Yapısı ve Özellikleri

Santatales takımının Viscaceae (Loranthaceae) familyasında yer alan *Viscum album* L., Kuzey Avrupa'dan, Kuzeybatı Afrika'ya; Avrupa'dan Doğu'ya; Güneybatı ve Orta Asya'dan Japonya'ya kadar geniş bir alanda yaşamaktadır. Türkiye'de de çok geniş bir dağılım göstermekte ve bütün bölgelerde yetişmektedir.

Viscum album L. ormanlık alanlarda çeşitli ağaçların ve çalıların üzerinde yarı parazit olarak yaşayan odunsu bir bitkidir (Şekil II.14). Dallar üzerinde kümeler oluşturur. Meyveleri yaklaşık 1 cm çapında, küre veya armut şeklinde, etli, beyazımsı, şeffaf ve tek tohumludur. Hava şartlarına bağlı olarak değişik zamanlarda çiçek açabilir (Önay, 2002).

Viscum album ismi, Latince olarak meyvelerinin yapışkan ve viskoz özelliği nedeniyle, beyaz renkli olmasından dolayı verilmiştir (Ergun ve Deliorman, 1995). Yaygın olarak kullanılan ökseotu ismi, eski zamanlarda bu bitkinin meyvelerindeki yapışkan maddeden yapılan ve kuş tuzağı olarak kullanılan ökseden gelmektedir. Ökseotunun meyvelerinin etli ve yumuşak olması, kuşlar tarafından beğenilerek yenmesine neden olmaktadır. Bu meyveleri yiyen kuşların dışkılarıyla birlikte ağaç dalları üzerine düşen tohumlar dallara yapışmakta ve ortamdaki ürik asit sayesinde çimlenip, gelişmektedir (Önay, 2002).



Şekil II.14 Ökseotu bitkisinin görünümü

II.6.2 Kimyasal Özellikleri

V. album'un içerdği etken maddeler yapılarına göre farklı gruplar altında toplanabilir.

Alkaloitler ve diğer azotlu bileşikler, lektinler, viskotoksinler, poliholozitler, organik asitler, şekerler ve türevleri, terpenler ve glikozitler, fenilpropan ve glikozitleri, lignanlar, flavonoidler, vitaminler, aminoasitler ve türevleri *V. album*'da bulunan etken gruplardır (Önay, 2002; Ergun ve Deliorman, 1995).

II.6.3 Fonksiyonel Özellikleri ve Tüketimi

Şarap içinde bekletilen kuru yapraklarının sinirsel rahatsızlığı olan kişilere verildiği rapor edilmiştir. Bilinen özellikleri arasında antiseptik, kasılmaları giderici, kanamayı durdurucu, kalp hastalıklarından koruyucu, kalbi güçlendirici, sindirimi kolaylaştırıcı, sinir yatıştırıcı, idrar artırıcı, kusturucu, süt salgısını artırıcı, uyuşturucu, uyarıcı ve damar genişletici etkileri sayılmaktadır (Şekil II.15).

V. album'un ilaç sanayisindeki kullanım alanlarının incelendiği bir araştırmada, kurutulmuş meyve ve yapraklı dallarının kabızlığı önleyici, idrar arttırıcı, kusturucu, kuvvet verici ve tansiyon düşürücü etkilerinin olduğu belirtilmektedir.



Şekil II.15 Ökseotu bitkisinin kurutulmuş yaprakları

Uluslararası tıp yayınlarına göre ökseotu, kanserin ve AIDS'in tedavisinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Ökseotundan elde edilen Iscador ilacının, Almanya'da HIV'e yakalanan 40 kişi üzerindeki doz denemelerinde, hem anti-HIV hem de bağışıklığı düzenleyici etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Yüksel ve ark., 2005).

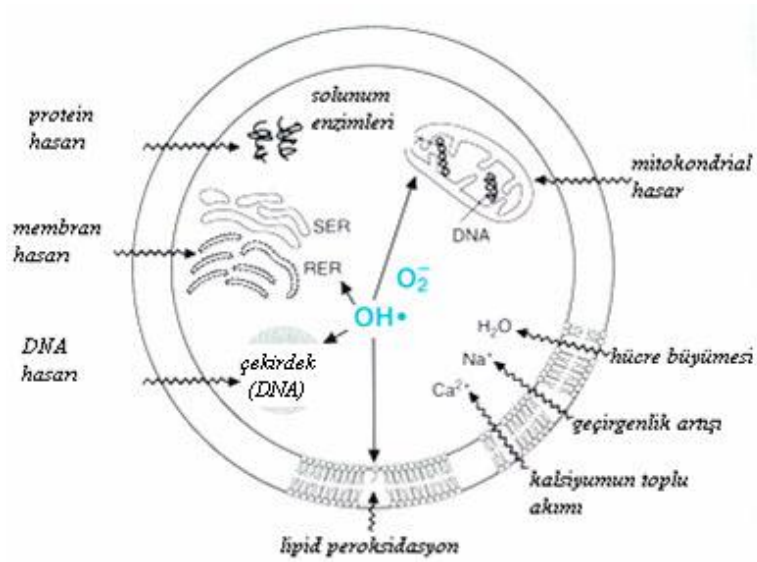
II.7 SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES

II.7.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanmaktadır (Mercan, 2004).

Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır.

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar (Şekil II.16) (Altan ve ark., 2006).



Şekil II.16 Serbest radikallerin hücreye etkileri

II.7.1.1 Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller üç yolla meydana gelir (Altan ve ark., 2006):

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu bu bağ parçalanmasıdır (II.1).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar (II.2).



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar (II.3).



II.7.1.2 Serbest Radikallerin Etki Mekanizması

1. Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu: Serbest radikaller hücrenin membranına saldırdıklarında gerçekleşir. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar.

2. Disülfid Bağ Oluşumu: Glutasyon, tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Glutasyon gibi tiyollerin oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir ve proteinlerdeki homolitik fisyon reaksiyonları disülfid bağını oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller.

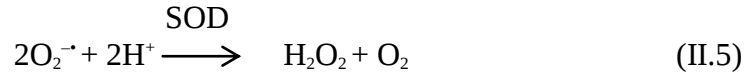
3. DNA Hasarı: DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının ROT ile indüklenen hücresel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir (Tekcan, 2009).

II.7.2 Reaktif Oksijen Türleri ve Özellikleri

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Hemen hemen bütün aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu kararsız bir yapı olan süperoksit radikali oluşur (II.4) (Buonocore ve ark., 2010).



Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olur. Çünkü süperoksit dismutaz enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit'e çevrilir (II.5). Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır (Naidu, 2003).



Hidrojen peroksit (H₂O₂): Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması (II.6) veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir (II.7).

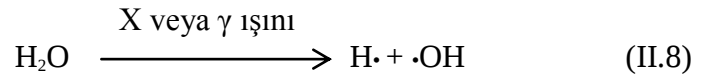


H₂O₂ serbest bir radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (Malo ve Wilson, 2000).

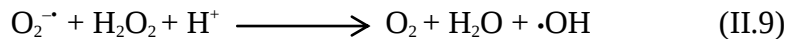
Hidroksil (•OH) radikali: Hidroksil radikali oksidan gücü son derece yüksek olan bir radikaldir. Olasılıkla reaktif oksijen türlerinin en tehlikelisi. 10⁻⁹ saniyeden daha kısa yarılanma ömrüne sahiptir.

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali (•OH) canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir (Buonocore ve ark., 2010).

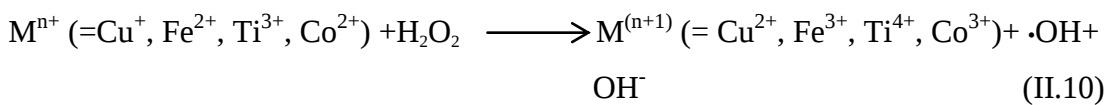
1. İyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile gerçekleşir (II.8).



2. a) Haber-Weiss reaksiyonu: Hidrojen peroksit süperoksit radikali ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur (II.9).



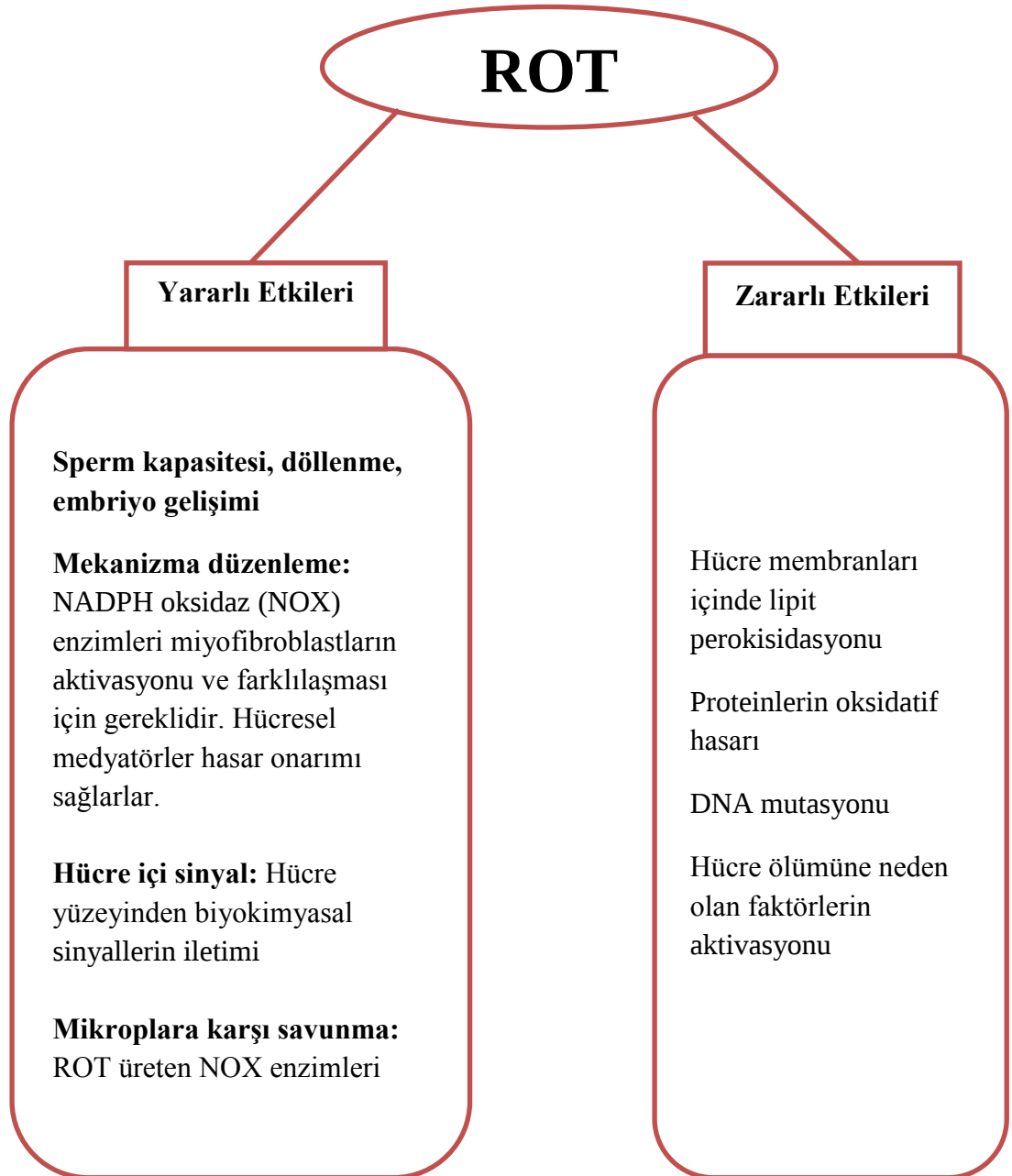
- b) Fenton reaksiyonu: Hidrojen peroksit Fe⁺² ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek •OH radikali oluşur (II.10).



c) H_2O_2 'nin UV ışığına maruz kalması ile $\cdot\text{OH}$ oluşabilir (II.11).



II.7.2.1 Reaktif Oksijen Türlerinin Etkileri



Şekil II.17 Reaktif oksijen türlerinin yararlı ve zararlı etkileri (Buonocore ve ark., 2010).

II.7.3 Oksidatif Stres

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir.

Serbest radikaller hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipitlere saldırarak zarar verir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlerse, hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları oksidatif hasara 'oksidatif stres' denir (Tekcan, 2009). Bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Altan ve ark., 2006).

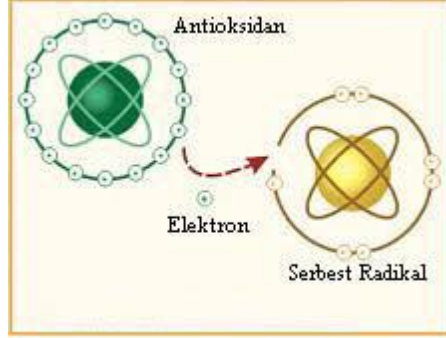
Dejeneratif hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Nöronlar, yani sinir/beyin hücrelerindeki oksidatif stres kendini Alzheimer, Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar olarak göstermektedir. Damar iç yüzeyindeki hücrelerde oksidatif hasar, damar sertliği gelişiminde rol oynamakta, dolayısıyla kalp-damar, beyin-damar ve diğer damar hastalıklarına neden olmaktadır. Hücre DNA'sına toksinlerin verdiği hasar kanser gelişimine yol açabilmektedir (Tekcan, 2009).

II.8 ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Antioksidanlar gıdalarda, "çok az miktarları bile yağ gibi kolay okside olabilen maddelerin oksidasyonunu büyük ölçüde yavaşlatan veya önleyebilen maddeler" olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik sistemlerde ise, "çok düşük konsantrasyonlarda bile lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen substrat ile karşılaştığında substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen madde" olarak tanımlanmaktadır (Frankel ve Meyer, 2000).

Bir diğer tanıma göre; antioksidanlar lipit oksidasyonunda serbest radikal içeren yağlara elektron veya hidrojen vererek veya yağ zinciri ile bir serbest radikal arasında kompleks oluşturarak serbest radikal zincirine son veren bileşiklerdir.

Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize eder ve elektron verdikleri halde kendileri serbest radikallere dönüşmezler (Şekil II.18), çünkü antioksidanlar her iki formda da kararlıdırlar (Kaur ve Kapoor, 2001).



Şekil II.18 Antioksidanın serbest radikali nötralize etmesi

II.8.1 Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

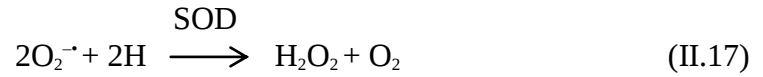
1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi
 - a) Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
 - b) Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
 - c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi
 - a) **Toplayıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme etkisidir. Antioksidan enzimler ve moleküller bu yolla etki etmektedir.
 - b) **Bastırıcı etki:** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme etkisidir. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki etmektedir.
 - c) **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendilerine bağlamakta ve inaktive etmektedir.
 - d) **Onarıcı etki:** Serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onarma etkisidir. Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarmaktadırlar (Frankel ve Meyer, 2000).

II.8.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

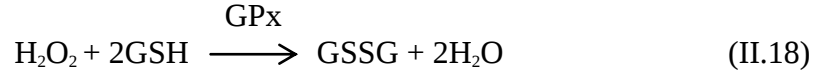
Antioksidanlar birçok farklı aktivite mekanizmaları göstermektedir. Bu mekanizmalar arasında serbest radikal süpürme, reaktif oksijen türlerini inaktive etme, metallerle şelat oluşturma ve sekonder lipid oksidasyon ürünlerinin etkilerini giderme sayılabilmektedir. Antioksidanlar aktivite mekanizmalarına göre enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılmaktadır.

II.8.2.1 Enzimatik Antioksidanlar

- a) **Süperoksit dismutaz (SOD):** Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir (II.17). Bu sistem sayesinde hücre kompartmanlarındaki $O_2^{\cdot-}$ düzeyleri kontrol altında tutulur.



- b) **Glutasyon peroksidaz (GPx):** GPx, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG, glutasyon disülfür) oksidasyonunu katalize ederken, hidrojen peroksiti de suya dönüştürür (II.18).



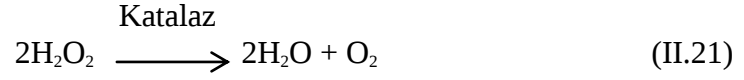
- c) **Glutasyon redüktaz (GR):** GPx tarafından H_2O_2 ve diğer lipid peroksitlerin indirgenmesi esnasında glutasyon yükseltgenmiş glutatyona dönüşmektedir. Bu yükseltgenmiş halin tekrar indirgenmiş GSH'a dönüştürülmesi gereklidir. GR, NADPH varlığında glutasyon disülfiti (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) çevirir (II.19).



- d) **Glutasyon-S-transferaz (GST):** Lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST'lar Se-bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi gösterirler (II.20).

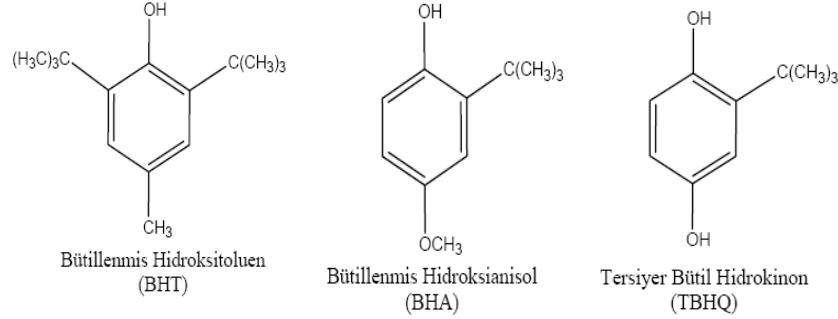


- e) **Katalaz:** Katalaz, peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Katalaz hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar (II.21) (Ardağ, 2008).



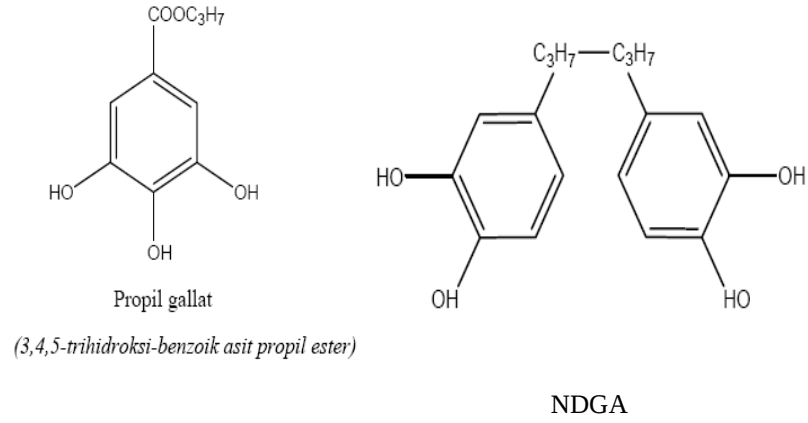
II.8.2.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

a) **Sentetik Antioksidanlar:** Besinlerin tat, renk ve vitamin değerlerinin korunması için antioksidan ilavesi gerekir. Besinlere doğal antioksidanlar ilave edilebilse de endüstride daha çok sentetik antioksidanlar kullanılır. Gıdalarda kullanılan antioksidanlar genellikle sentetik antioksidanlardır. Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), propil gallat (PG) ve tersiyer bütıl hidro kinon (TBHQ), nordihidroguareyetik asit (NDGA) kullanılan sentetik antioksidanlardır (Şekil II.19, Şekil II.20).



Şekil II.19 BHT, BHA ve TBHQ'nun kimyasal yapıları

Fenolik sentetik antioksidanlardan olan, BHA ve BHT gıdada en çok tercih edildiklerinden büyük öneme sahiptir. Sıcağa karşı oldukça dayanıklı ve termal olarak işlenmiş gıdalar için uygundur. Diğer yandan, TBHQ sıcağa karşı dayanıklı bir antioksidandır ve özellikle kızartma uygulamalarında kullanılır. BHT ve BHA'dan daha etkilidir ve sitrik asit ile iyi bir sinerji gösterir. Gallatların kullanılmasında toplum sağlığı ve gıda hijyeni açısından olumsuz hiçbir bilgi ileri sürülmemektedir. NDGA, toksik etkisi yüksek, yağdaki çözünürlüğü az olan bir antioksidandır (Arcan, 2005; Ardağ, 2008).

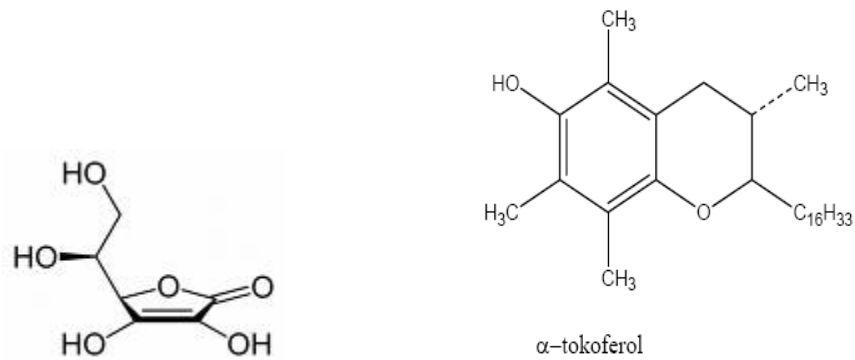


Şekil II.20 PG ve NDGA'nın kimyasal yapıları

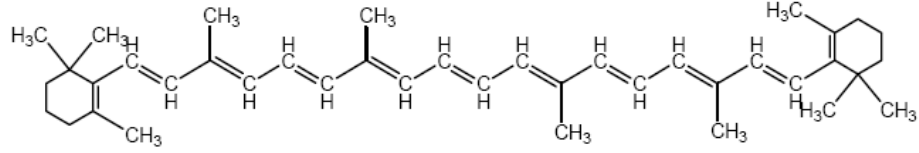
b) Doğal Antioksidanlar: C vitamini (askorbik asit) bir keto laktondur (Şekil II.21). Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan C vitamini, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Doku yapımında ve onarımında rol alır, bağışıklık sistemini güçlendirir, kanserin önlenmesinde etkilidir, demirin vücutta kullanılmasına yardımcı olur ve sigaranın olumsuz etkilerini azaltır.

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini (α -tokoferol) hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır (Şekil II.21). Radikalleri temizler ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

Karotenoidler yağda çözünebilir doğal antioksidanlardır (Şekil II.22). Karotenoidlerin çoğunun temel yapısı poliizoprenoidden oluşmaktadır. Karotenoidler, oldukça etkili ROT süpürücüleridir. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, yapısındaki konjuge çifte bağlardan ileri gelmektedir (Ardağ, 2008).



Şekil II.21 C vitamini ve E vitamininin kimyasal yapıları

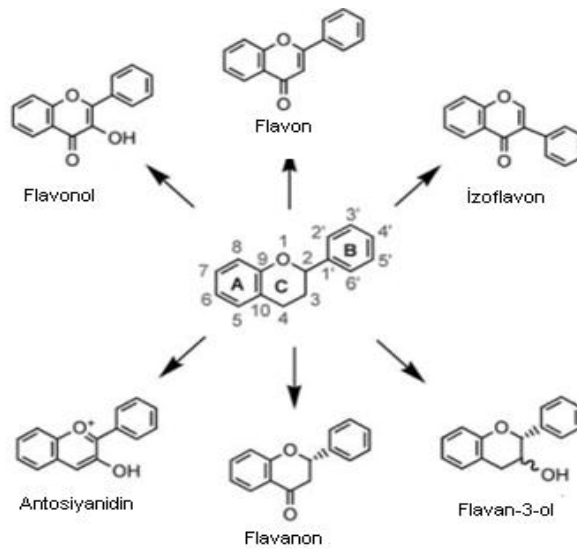


Şekil II.22 β-karotenin kimyasal yapısı

Bir kanser önleyici ajan olarak bitki fenolik bileşikleri büyük ilgi görmektedir. Bu etkinin antioksidan ve şelat yapma aktivitelerine bağlı olduğu kabul edilmektedir. Antioksidan etki, özellikle flavonoidler ve fenol karbonik asitlerden ileri gelir.

Flavanoidler üye sayısı itibari ile en büyük grubu oluşturup, bugüne kadar bitkilerin yaprak, tohum, kabuk ve çiçeklerinde 4000'in üzerinde flavonoid tespit edilmiştir ve sayıları gün geçtikçe artmaktadır. Meyve, sebze, tahıl, çay, kahve ve kırmızı şarap oldukça fazla miktarda flavonoid içerir (Heim ve ark., 2002). Flavonoid ve fenolik antioksidanlar anomerik hidroksil grubundan lipid radikallerine bir hidrojen atomu vererek lipid oksidasyonunu engeller. Bileşiğin yapısı ile antioksidan kapasitesi ilişkilidir, fenolik bileşiklerde –OH grubu sayısı, flavonoidlerde B halkasının 5-OH, 3-OH ve 4-OH grupları olması antioksidan aktivite üzerinde etkilidir (Cotelle ve ark., 1996).

Flavonoidler; yapısal farklılıklara göre flavonlar, flavonoller, flavan 3-oller, izoflavonlar, flavanonlar ve antosiyanidinler olmak üzere altı alt sınıfa ayrılırlar (Şekil II.23) (Ardağ, 2008).



Şekil II.23 Flavonoidlerin genel yapısı

II.8.3 Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri

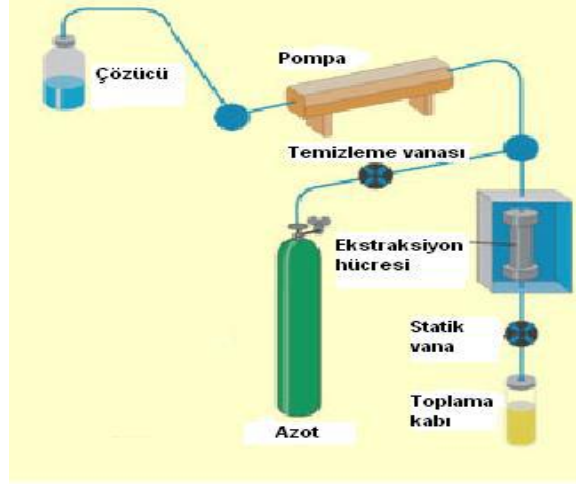
Başlıca antioksidanların etkili olduğu hastalıklar tabloda verilmiştir (Ali ve ark., 2008).

Tablo II.1 Antioksidanların etkili olduğu hastalıklar

Bileşikler	Hastalıklar
Katalaz (CAT)	Kanser, diyabetik retinopati
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Nörodejeneratif hastalıklar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Nörodejeneratif hastalıklar
Kateşinler	Nörodejeneratif hastalıklar
Alkaloidler	Kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kronik inflamasyon
Karotenoidler	Kanser, diyabetik retinopati, kronik inflamasyon
α - tokoferol	Kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kronik inflamasyon
Ferulik asit	Diyabet
Glutasyon	Kanser
Proantosiyanidin (GSPE)	Kardiyovasküler bozukluklar
Tanenler	Kardiyovasküler bozukluklar
Fenolik bileşikler	Kanser, diyabetik retinopati, kronik inflamasyon
Quercetin, kamferol, genistein, resveratrol	Kolon kanseri

II.9 HIZLANDIRILMIŞ ÇÖZÜCÜ EKSTRAKSİYONU (ASE)

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonunun temeli, katı ve yarı katı örneklerden analitlerin tam ekstraksiyonunu kısa zamanda elde etmek için yüksek sıcaklık ve basınç altında, daha az çözücü tüketimine dayanır (Şekil II.24) (Richter, 2000). Yüksek basınç çözücüyü kaynama noktasının altında tutarken artmış sıcaklık ekstraksiyon kinetiğini hızlandırır, böylece hızlı ekstraksiyon gerçekleştirilir. Ayrıca yüksek basınç, çözücünün, deney materyalinin iç kısımlarına kadar nüfuz etmesini sağlamaktadır (Lou ve ark., 1997). Bundan dolayı ASE klasik ekstraksiyon tekniklerinin yerine geçerek geliştirilmiştir (Yarita, 2001).



Şekil II.24 ASE cihazı şematik gösterimi

II.9.1 Cihazın Çalışma Prensibi

ASE’de, çelik bir kap içerisine yerleştirilen katı ya da yarı-katı örneğin çözücü ile bir fırın içerisinde 50-200 °C arasında değişen sıcaklıklarda ısıtılması ile başlar ve ısıtma sırasında fırına 500-3000 psi değerleri arasında basınç uygulanır. Ekstraksiyonun 5-10. dakikalarında ortama çözücü pompalanarak örneğin ve kabın yıkanması sağlanmaktadır. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle azot gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır (Şekil II.25) (Lou ve ark., 1997).



Şekil II.25 ASE cihazı

II.10 KROMATOĞRAFİ

Kromatografi, bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Yöntem karışımın gözenekli bir ortamda, hareketli bir çözücü yardımıyla, karışım bileşenlerinin katı faz ile etkileşimlerindeki farklılıktan dolayı birbirinden ayrılması olgusuna dayanır.

II.10.1 Kolon Kromatografisi

Ayrılacak bileşenlerin sabit katı faz üzerinde adsorplanmaları esasına dayanır. Burada hareketli faz, adsorban üzerinde sıvı olarak hareket eder. Bileşenler birbirlerinden katı yüzeye olan farklı derecede ilgileri nedeniyle ayrılırlar. Adsorpsiyon denge sabiti büyük olan bileşen yüzeyde daha uzun kalırken, küçük olan daha kısa sürede kalmakta, hiç adsorplanmayan bileşen ise hareketli faz ile taşınarak kolondan dışarı çıkmaktadır.

Kolon kromatografisinde sabit faz olarak adsorplama yapabilecek alümina ve silikajel gibi katılar kullanılır. Sabit faz olarak genellikle polar katılar kullanıldığından, hareketli faz olarak benzen, oktan, kloroform gibi apolar veya çok az polar sıvılar kullanılır. Kolon kromatografisi, polarlıkları farklı bileşenlerden oluşan karışımların ayrılmasında çok iyi sonuç verir (Armstrong, 1969).

BÖLÜM III

ÇALIŞMALAR

III.1 ARAŞTIRMA ARAÇLARI

III.1.1 Deneyisel Çalışmada Kullanılan Cihazlar

<i>SPEKTROFOTOMETRE</i>	THERMO SCIENTIFIC HELIOS ZETA UV-VIS SPECTROPHOTOMETER
<i>SPEKTROFOTOMETRE KÜVETLERİ</i>	TECHNICAL PRODUCTION QUARTZ
<i>HASSAS TERAZİ</i>	a. AND $\pm 0,0001$ Dijital Terazî b. ADAM PW 124 $\pm 0,0001$ Dijital Analitik Terazî
<i>HIZLANDIRILMIŞ ÇÖZÜCÜ EKSTRAKTÖRÜ</i>	DIONEX ASE 100
<i>SANTRİFÜJ</i>	DENLEY BS 400 Masaüstü Santrifüj
<i>SU BANYOSU</i>	HEIZBAD Termostatlı Su Banyosu, 0-110°C
<i>DESTİLE SU CİHAZI</i>	MILLIPORE RiOs-DI 3
<i>VORTEKS KARIŞTIRICI</i>	FISONS Whirli Mixer
<i>SU ISITICISI</i>	TEFAL Vitesse Kettle
<i>ETÜV</i>	GENLAB MIDI/2/AL, 0-100°C
<i>OTOMATİK PİPETLER</i>	GILSON
<i>ISITICI VE MANYETİK KARIŞTIRICI</i>	Wisestir MSH-20 A
<i>ÖĞÜTÜCÜ</i>	SIEMENS KM 13
<i>BUZDOLABI</i>	a. ARÇELİK b. REGAL

VAKUMLU EVAPORATÖR

HEIDOLPH Hei-VAP

Precision ML/G3

VAKUM CİHAZI

KNF LAB, Laboport

pH METRE

Mettler Toledo Inlab Expert Pro

Electrode

III.1.2 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan bakır klorür, amonyum asetat, sodyum dihidrojenfosfat dihidrat, sodyum dihidrojenfosfat monohidrat, metanol, etanol, Folin-Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, neokuproin (Nc), DMSO (Dimetil sülfoksit), DMF (Dimetil formamid) **Merck** firmasından; potasyum ferrisiyanür, askorbik asit, disodyum hidrojenfosfat dodekahidrat, hidrojen peroksit, TBA (2-tiyobarbitürik asit), BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (Bütillenmiş hidroksi tolüen), α - tokoferol, troloks **Sigma-Aldrich Co.** firmasından; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), TCA (trikloroasetik asit), demir (III) klorür, demir (II) sülfat heptahidrat, EDTA (etilendiamintetraasetik asit) **Alfa Aesar** firmasından; 2-deoksiriboz, galik asit, NBT (Nitro blue tetrazolium klorür), PMS (Fenazin metasülfat) **Sigma** firmasından; disodyum hidrojenfosfat dodekahidrat **Carlo Erba Reagenti** firmasından; NADH (Nikotinamid adenin dinükleotid) **Amresco** firmasından temin edilmiştir.

III.1.3 Deneysel Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Temin Edilmeleri

Biberiye ve zahter bitkileri Hatay'ın Samandağ ilçesinde bulunan aktarlardan temin edildi. Adaçayı bitkisi Batıayaz Köyü'nden toplandı. Batıayaz, Samandağ ilçesine bağlı bir köydür. Fesleğen, sumak, ökseotu bitkileri ise Hatay ilinin Samandağ ilçesinin bir köyü olan Vakıflı Köyü'nden toplandı.

Ticari olarak temin edilen biberiye ve zahter çalışmanın yapıldığı senenin ürünüdür. Diğer bitkiler ise, Ağustos ayında etken maddelerinin doruğa ulaştığı öğle saatlerinde, sap ve çiçekli kısımlarıyla birlikte toplandı. Gölge ve havadar bir yerde kurumaya bırakıldı. İyice kurutulduktan sonra, hava almayacak şekilde saklandı.

III.1.4 Ekstraksiyon İşlemleri

Kurutulan bitkilerin yaprak ve meyve kısımları saplarından ayıklandı ve kahve öğütücüsü kullanılarak öğütüldü. Öğütülen bitkiler; 25 °C deki su, 100 °C deki su ve metanol ile ekstre edildi.

ASE Çalışma Koşulları: Her bir bitkiden 1,000 g $\pm$ 0,0001 g ve 1,000 g $\pm$ 0,0001 g diatom toprak tartılarak filtre kağıdıyla sarıldı, 10 mL' lik ekstraksiyon hücresine yerleştirildi. Çözücü olarak metanol kullanılarak bitkilerin metanol ekstraktları; sıcaklık 23-25 °C de sabit tutularak, cihazın 10'ar dakika, 3 devir yapması ile hazırlandı. Hazırlanan ekstraktlar cam şişelere alındı ve deneme boyunca buzdolabında (+4 °C) saklandı.

Su ekstraktları için ise, her bir bitkiden 1,000 g $\pm$ 0,0001 g tartılarak beherlere konuldu, 10 mL oda sıcaklığındaki distile suda ve 100 °C deki distile suda 45 dakika bekletildi. Beherlerde bulunan çözeltiler daha sonra tüplere alındı ve 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Sıvı kısım alınıp, tekrar 10 dakika boyunca santrifüjlendi ve bitki kalıntılarının tam olarak çökmesi sağlandı. Son olarak süzgeç kağıdı ile süzülde ve homojen sayılabilecek ekstraktlar elde edildi. Ekstraktların bulunduğu tüpler parafilmle kapatıldı ve deneme boyunca buzdolabında (+4 °C) saklandı.

III.2 GENEL YÖNTEMLER

III.2.1 Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

0,01 M CuCl₂ çözeltisi: 0,0336 g CuCl₂ tartıldı, 25 mL'lik balon jofeye konularak distile su ile hacim tamamlandı.

Amonyum asetat çözeltisi (pH=7): 1,927 g amonyum asetat tartıldı, 25 mL'lik balon jofeye konularak distile su ile hacim tamamlandı.

7,5.10⁻³ M Neokuproin çözeltisi: 0,039 g neokuproin tartıldı, 25 mL'lik balon jofeye konularak etanol ile hacim tamamlandı. Her tayin öncesi çözelti taze olarak hazırlandı.

Standart antioksidan olarak troloks, askorbik asit, gallik asit, BHA, BHT, ve α -tokoferolün DMSO içindeki çözeltileri kullanıldı.

b. Yöntem

Kromojenik oksidan olan Cu(II)-neokuproin reaktifi kullanılarak, geniş alanda uygulanabilen bir antioksidan kapasite tayin yöntemi uygulandı. CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi Özyürek ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Özyürek ve ark., 2011). Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir. Denemede kullanılan sulu ekstraktlar distile su ile 1:5 oranında seyreltildi. Su ve metanol ekstraktlarından 5, 10 ve 25 μ L alınarak,

toplam hacim distile su ile 275 μL 'ye tamamlandı. Standart antioksidan çözeltilerden de bir seri standart hazırlandı ve distile su ile hacim 275 μL 'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilere Tablo III.1'de belirtilen miktarlar ependorf tüplere ilave edildi ve vorteks karıştırıcıda karıştırıldı. Örneklerin reaksiyonu tamamlanıncaya kadar karanlıkta ve oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Standart ve örneklerin 450 nm'deki absorbansları fotometrik olarak örnek içermeyen kör çözeltilisine karşı okundu, değerler kaydedildi. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. Troloks için elde edilen grafiğin eğimi ile örnekler için elde edilen doğruların eğimleri oranlanarak CUPRAC aktivitesi $\text{TEAC}_{\text{CUPRAC}}$ (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) olarak ifade edildi.

Tablo III.1 CUPRAC tayini çalışma tablosu

	Kör	Standart	Örnek
Toplam hacim	275 μL su	275 μL	275 μL
CuCl_2	250 μL	250 μL	250 μL
NH_4Ac	250 μL	250 μL	250 μL
Nc	250 μL	250 μL	250 μL

III.2.2 Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite (FRAP) Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

Fosfat tamponu (pH=6,6): 0,906 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 100 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. 0,284 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 100 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. İki çözelti karıştırılıp fosfat tamponu hazırlandı.

% 1' lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisi: 0,5 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ tartıldı, 50 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

% 10'luk TCA çözeltisi: 10 mL % 100'lük TCA' dan alınarak 100 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

% 0,1'lik FeCl_3 çözeltisi: 0,025 g FeCl_3 tartıldı, 25 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. Her tayin öncesi çözelti taze olarak hazırlandı. Çözelti karanlıkta muhafaza edildi.

Standart antioksidan olarak troloks, askorbik asit, gallik asit, BHA, BHT, ve α -tokoferolün DMSO içindeki çözeltileri kullanıldı.

b. Yöntem

Bitki ekstralarının indirgeme kapasitesi Pulido ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Pulido ve ark., 2000). Ortamdaki indirgen madde Fe^{3+} iyonlarını Fe^{2+} iyonlarına indirger ve FeCl_3 ilavesiyle oluşan Prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbansı ölçülür. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir. Denemede kullanılan sulu ekstralar distile su ile 1:5 oranında seyreltilir. Su ve metanol ekstralarından 5, 10, 25, 50 μL alınarak, toplam hacim distile su ile 300 μL 'ye tamamlandı. Standart antioksidan çözeltilerden de bir seri standart hazırlandı ve distile su ile hacim 300 μL 'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilere Tablo III.2'de belirtilen miktarlarda fosfat tamponu, % 1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisi tüplere ilave edildi ve vorteks karıştırıcıda karıştırıldı. 50°C 'de 30 dakika inkübe edildikten sonra %10'luk TCA çözeltisi eklenerek karışım 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Daha sonra üstteki fazdan alınarak % 0,1'lik FeCl_3 eklendi ve 700 nm'deki absorbansları fotometrik olarak örnek içermeyen kör çözeltilisine karşı okundu ve değerler kaydedildi. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. Troloks için elde edilen grafiğin eğimi ile örnekler için elde edilen doğruların eğimleri oranlanarak FRAP aktivitesi $\text{TEAC}_{\text{FRAP}}$ olarak ifade edildi.

Tablo III.2 FRAP tayini çalışma tablosu

	Kör	Standart	Örnek
Toplam hacim	300 μL su	300 μL	300 μL
Fosfat tamponu	750 μL	750 μL	750 μL
% 1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	750 μL	750 μL	750 μL
%10'luk TCA	750 μL	750 μL	750 μL
Üst fazdan 750 μL alınır.			
% 0,1'lik FeCl_3	150 μL	150 μL	150 μL

III.2.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

% 10'luk Folin-Ciocalteu reaktifi: 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifinden alınarak 10 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

% 6'lık Na_2CO_3 çözeltisi: 6 g sodyum karbonat tartıldı, 100 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

Gallik asit çözeltisi (Standart çözelti): 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 mg gallik asit tartıldı, 100 mL'lik balon jojelere konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

b. Yöntem

Bitkilerin içerdikleri fenolik madde miktarları Ismail ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Ismail ve ark., 2004). 1 mg/mL konsantrasyonunda ekstrelerin hazırlanması için her bir sulu ekstreten ependorf tüpleri içerisine 10 µL alındı ve distile su ile 1 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan örnek ve standart çözeltilerden 100 µL alındı ve Tablo III.3'te belirtilen miktarlar ilave edildi ve vorteks karıştırıcıda karıştırıldı. Örneklerin reaksiyonu tamamlanincaya kadar karanlıkta ve oda sıcaklığında 90 dakika bekletildi. Standart ve örneklerin 725 nm'deki absorbansları fotometrik olarak örnek içermeyen kör çözeltilisine karşı okundu. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileriyle "Gallik Asit Standart Eğrisi" hazırlandı ve örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı gallik aside eşdeğer (GAE) olarak hesaplandı.

Tablo III.3 Toplam fenolik madde miktarı tayini çalışma tablosu

	Kör	Standart	Örnek
Toplam hacim	100µL su	100µL	100µL
% 10'luk FC reaktifi	750µL	750µL	750µL
% 6'lık Na₂CO₃	750µL	750µL	750µL

III.2.4 DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

DPPH çözeltisi: 0,0098 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 250 mL'lik balon jojeye konularak metanol ile hacim tamamlandı. Her tayin öncesi çözelti taze olarak hazırlandı.

Standart antioksidan olarak troloks, askorbik asit, gallik asit, BHA, BHT, ve α-tokoferolün DMSO içindeki çözeltileri kullanıldı.

b. Yöntem

DPPH serbest radikali giderme aktivitesi Parejo ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Parejo ve ark., 2000). Metod ekstrelerin bir proton veya elektron

verebilme yeteneğinin, mor renkli DPPH çözeltisinin rengini açması esasına dayanır. Denemede kullanılan sulu ekstratlar distile su ile 1:5 oranında seyreltilti. Elde edilen su ve metanol ekstratlarının ortama ilave edilen 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini giderme etkisini saptamak için ependorf tüplerinin içerisinde 5-50 µL arasında bir seri seyreltmeler hazırlandı ve toplam hacim metanol ile 250 µL'ye tamamlandı. Standart antioksidan çözeltilerden de bir seri standart hazırlandı ve metanol ile hacim 250 µL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilere Tablo III.4'te belirtilen miktarlar eklendi ve vorteks karıştırıcıda karıştırıldı. Örneklerin reaksiyonu tamamlanuncaya kadar karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Standart ve örneklerin 517 nm' deki absorbanları fotometrik olarak metanole karşı okundu. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. DPPH radikalini süpürme aktivitesi, reaksiyonu inhibe etme yüzdesi şeklinde ifade edilmek üzere aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [A_K - A_0 / A_K] \times 100$$

A_K : Kontrol (antioksidan içermeyen) örneğin absorbanı

A_0 : Örneğin (antioksidan içeren) absorbanı

Antioksidan derişimlerine karşı hesaplanan % inhibisyon değerleri ile çizilen grafikten % 50 inhibisyonu sağlayan antioksidan derişimleri (IC_{50}) okundu, sonuçlar $IC_{50} = \mu\text{g/mL}$ olarak verildi.

Tablo III.4 DPPH radikali giderme aktivitesi çalışma tablosu

	Neg. kontrol	Standart	Örnek
Toplam hacim	250µL metanol	250µL	250 µL
DPPH çözeltisi	1000µL	1000µL	1000µL

III.2.5 Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

Fosfat tamponu (pH=7,4): 0,1558 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 250 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. 1,3855 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 250 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. İki çözelti karıştırılıp fosfat tamponu hazırlandı.

78 mM NBT çözeltisi: 0,0016 g NBT tartıldı, 25 mL'lik balon jojeye konuldu ve hazırlanan fosfat tamponu ile hacim tamamlandı.

468 mM NADH çözeltisi: 0,0089 g NADH tartıldı, 25 mL'lik balon jojeye konuldu ve hazırlanan fosfat tamponu ile hacim tamamlandı.

60 mM PMS çözeltisi: 0,00046 g PMS tartıldı, 25 mL'lik balon jojeye konuldu ve hazırlanan fosfat tamponu ile hacim tamamlandı.

Standart antioksidan olarak BHA'nın DMF içindeki çözeltisi kullanıldı.

b. Yöntem

Süperoksit anyonu giderme aktivitesi Nishikimi ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edildi (Nishikimi ve ark., 1972). Deney koşullarında NADH/PMS/O₂ sistemi ile üretilen süperoksit radikali sarı renkli NBT'yi mavi-mor renkli formazon türevine indirger. Süperoksit radikali giderme aktivitesi olan bileşikler varlığında düşük absorbans değerleri elde edilir. Ependorf tüplerine Tablo III.5'te belirtilen miktarlar ilave edildi ve vorteks karıştırıcıda karıştırıldı. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Standart ve örneklerin 560 nm' deki absorbansları fotometrik olarak fosfat tamponuna karşı okundu. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. Süperoksit anyonunu süpürme aktivitesi, reaksiyonu inhibe etme yüzdesi şeklinde ifade edilmek üzere aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [A_K - A_Ö / A_K] \times 100$$

A_K: Kontrol (antioksidan içermeyen) örneğin absorbansı

A_Ö: Örneğin (antioksidan içeren) absorbansı

Tablo III.5 Süperoksit anyonu giderme akitivitesi çalışma tablosu

	Neg. kont.	Standart	Örnek
NBT	350µL	350µL	350µL
NADH	350µL	350µL	350µL
PMS	140µL	140µL	140µL
Fosfat tamponu	350µL	----	----
Örnek	----	----	350µL
Standart	----	350µL	----

III.2.6 Hidroksil Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

a. Kullanılan Çözeltiler

20 mM fosfat tamponu (pH=7,4): 0,1558 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 250 mL' lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. 1,3855 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, 250 mL' lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı. İki çözelti karıştırılıp fosfat tamponu hazırlandı.

10 mM D-deoksiriboz çözeltisi: 0,03353 g D-deoksiriboz tartıldı, 25 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

10 mM FeSO_4 -EDTA çözeltisi: 1,39 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ve 1,46 g EDTA tartıldı, 500 mL'lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

H_2O_2 çözeltisi: 0,1021 mL H_2O_2 alınarak 100 mL' lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

% 2,8'lik TCA çözeltisi: 1,4 mL % 100' lük TCA'dan alınarak 50 mL' lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

TBA çözeltisi: 0,5 g TBA tartıldı, 50 mL' lik balon jojeye konuldu ve distile su ile hacim tamamlandı.

Standart antioksidan olarak troloksun DMSO içindeki çözeltisi kullanıldı.

b. Yöntem

Hidroksil radikali giderme aktivitesi Liu ve Ng metoduna göre tayin edildi (Liu ve Ng, 2000). Hidroksil radikali giderme aktivitesi olan bileşikler varlığında düşük absorbans değerleri elde edilir. Tüplere Tablo III.6'da belirtilen miktarlar ilave edildikten sonra 100 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Standart ve örneklerin 525 nm' deki absorbansları fotometrik olarak fosfat tamponuna karşı okundu. Deney iki paralel olarak tekrarlandı. Hidroksil radikalini giderme aktivitesi, reaksiyonu inhibe etme yüzdesi şeklinde ifade edilmek üzere aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [A_K - A_O / A_K] \times 100$$

A_K : Kontrol (antioksidan içermeyen) örneğin absorbansı

A_O : Örneğin (antioksidan içeren) absorbansı

Tablo III.6 Hidroksil radikali giderme aktivitesi çalışma tablosu

	Neg. kont.	Standart	Örnek
Fosfat tamponu	450µL	450µL	450µL
D-deoksiriboz çöz.	150µL	150µL	150µL
FeSO₄-EDTA çöz.	150µL	150µL	150µL
Örnek	----	----	10µL
Standart (Troloks)	----	10µL	----
Su	600µL	590µL	590µL
H₂O₂ çözeltisi	150µL	150µL	150µL
37 °C’de 4 saat inkübe edildi.			
TCA çözeltisi	750µL	750µL	750µL
TBA çözeltisi	750µL	750µL	750µL

III.3 Değerlendirme

Tüm deneylerde iki paralel ölçüm yapıldı. İstatistiksel çalışmalar “Analyse-it Free Trial Programı” ile “Two Tail t-testi” kullanılarak gerçekleştirildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak aritmetik ortalama±SS değerleri ile verildi.

III.4 Kolon Kromatografisi ile Ayırma

Tüm antioksidan aktivite tayini ve radikal süpürme etkisi yöntemlerinde yüksek aktivite gösteren sumak yaprağı kolon kromatografisi ile fraksiyonlarına ayrıldı ve aktivitenin hangi fraksiyondan kaynaklandığı tespit edildi.

Bu amaçla, sumak yaprakları metanolde bekletildi ve vakum evaporatöründe çekilerek maddenin kuruması sağlandı. Silikajel petrol eterinde çözülerek 2x40 cm boyutundaki kolon hazırlandı ve kurutulan madde kolona katı olarak tatbik edildi. Bileşenlerine ayrılacak olan madde adsorbana aktarılana kadar yavaş ve dikkatli bir şekilde petrol eteri ile elue edildi. Maddenin kolonda ilerlemesine bağlı olarak kolonun çözücü sisteminin polaritesi değiştirildi. Petrol eterinden sonra kloroform ve % 5’lik metanol karışımı ile devam edildi ve maddenin kolonda ilerlemesi sağlandı. Kolonda farklı hızlarda ilerleyen fraksiyonlar ayrı ayrı elüe edildi ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyon tespit edildi.

BÖLÜM IV

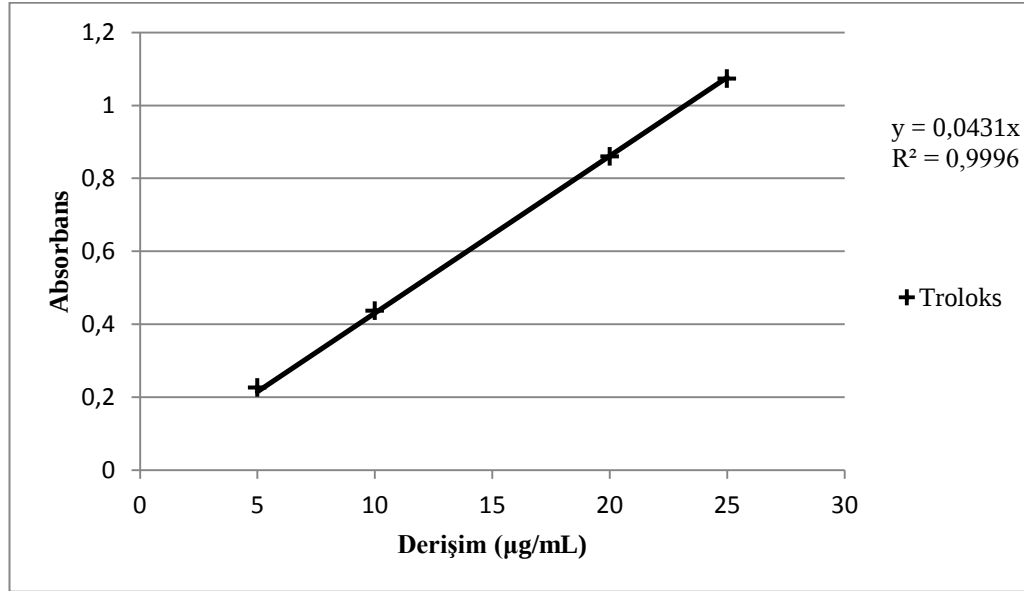
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

IV.1 SONUÇLAR

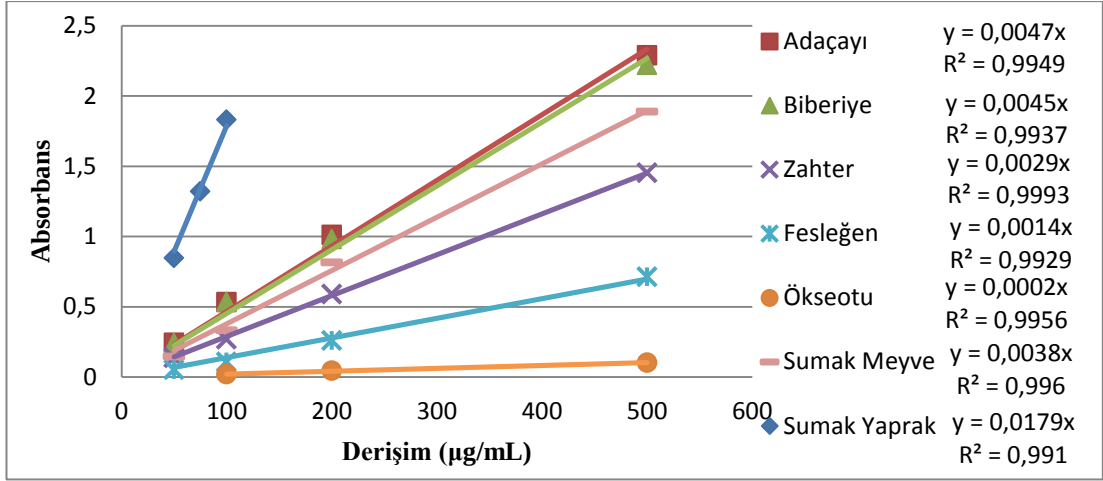
IV.1.1 Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

CUPRAC yöntemi ile çalışılan örnek ekstraktları ve standart antioksidanlardan olan troloksun derişime karşı absorbands grafikleri çizildi. Grafikteki her bir doğrunun eğimi troloks için elde edilen doğru denkleminin eğimine oranlandı ve $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri elde edildi. Bu çalışmada troloks için elde edilen grafik Şekil IV.1’de gösterilmiştir.

Örneklerin derişimine karşı CUPRAC yöntemi ile verdikleri absorbands grafikleri Şekil IV.2, Şekil IV.3 ve Şekil IV.4’te topluca gösterilmiştir.



Şekil IV.1 CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı troloks derişimlerine karşı elde edilen absorbands grafiğı



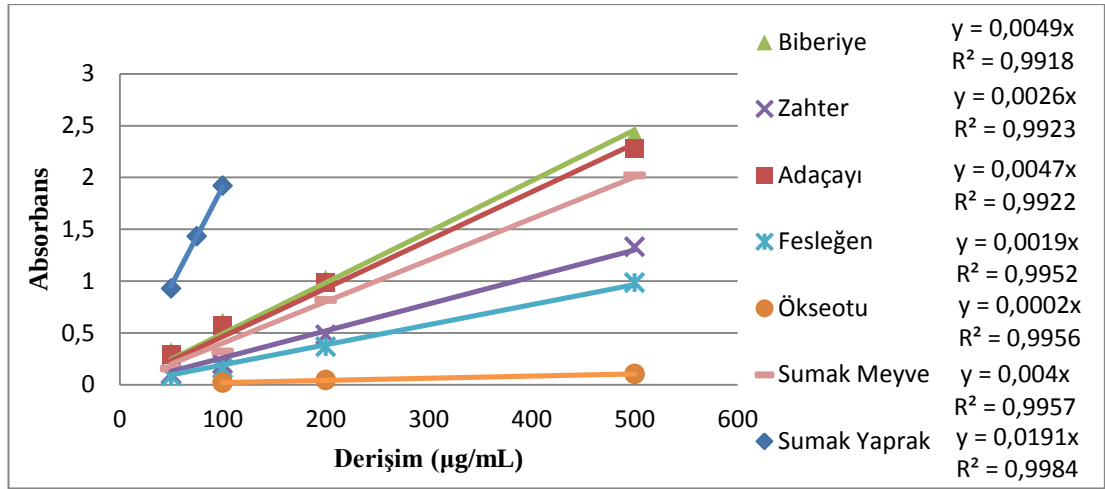
Şekil IV.2 CUPRAC yöntemi ile 25 °C deki distile su ile hazırlanan ekstrelerin derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı

Tablo IV.1 Oda sıcaklığındaki su ile ekstre edilen (25 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	$TEAC_{CUPRAC}$
Troloks	0,0431	1±0,02
Biberiye	0,0045	0,1044±0,21
Zahter	0,0029	0,0673±0,56
Adaçayı	0,0047	0,1091±0,02
Fesleğen	0,0014	0,0325±0,14
Ökseotu	0,0002	0,0046±0,68
Sumak yaprak	0,0179	0,4153±0,45
Sumak meyve	0,0038	0,0882±0,06

Tablo IV.1’de görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak alınan troloksun yaklaşık % 42’si kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Biberiye, adaçayı ve sumak meyvesi ise eşdeğer miktarda troloksun gösterdiği antioksidan aktivitenin yaklaşık % 10’u; zahter ise yaklaşık % 6,7’si kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Fesleğen ve ökseotu bitkilerinin $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri sırasıyla; % 3,25 ve % 0,46 olarak bulunmuştur.

Şekil IV.2’ye göre 25 °C deki su ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Adaçayı > Biberiye > Sumak meyve > Zahter > Fesleğen > Ökseotu şeklindedir.



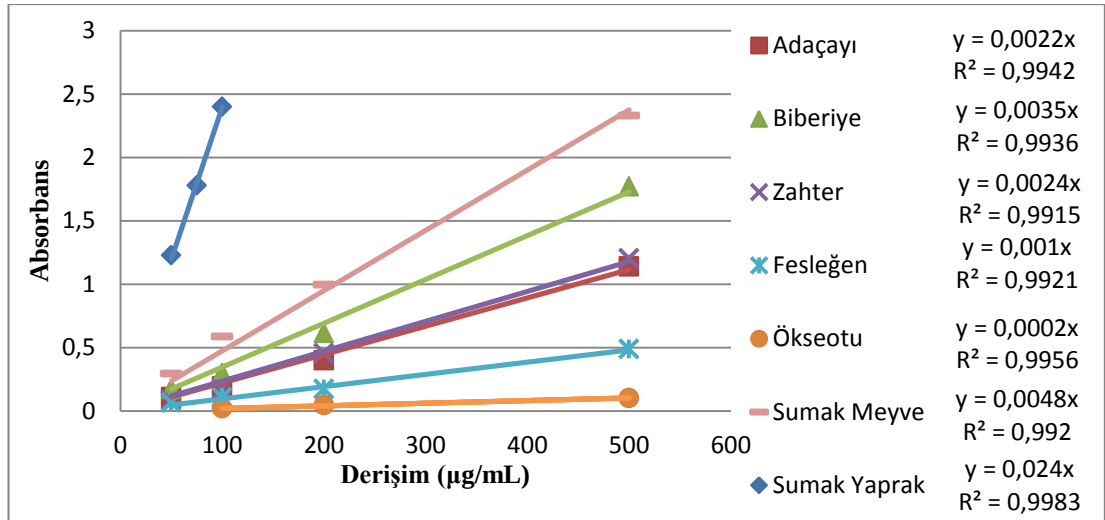
Şekil IV.3 CUPRAC yöntemi ile 100 °C deki distile su ile hazırlanan ekstraktların derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı

Tablo IV.2 Kaynar su ile ekstre edilen (100 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	$TEAC_{CUPRAC}$
Troloks	0,0431	1±0,02
Biberiye	0,0049	0,1137±0,16
Zahter	0,0026	0,0603±0,82
Adaçayı	0,0047	0,1090±0,17
Fesleğen	0,0019	0,0441±0,05
Ökseotu	0,0002	0,0046±0,22
Sumak yaprak	0,0191	0,4432±1,03
Sumak meyve	0,004	0,0928±0,07

Tablo IV.2’de görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak alınan troloksun yaklaşık % 45’i kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Biberiye, adaçayı ve sumak meyvesi ise eşdeğer miktarda troloksun gösterdiği antioksidan aktivitenin yaklaşık % 10’u; zahter ise yaklaşık % 6’sı kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Fesleğen ve ökseotu bitkilerinin $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri sırasıyla; % 4,41 ve % 0,46 olarak bulunmuştur.

Şekil IV.3’e göre 100 °C deki su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Biberiye > Adaçayı > Sumak meyve > Zahter > Fesleğen > Ökseotu şeklindedir.



Şekil IV.4 CUPRAC yöntemi ile metanol ile hazırlanan ekstraktların derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı

Tablo IV.3 Metanol ile ekstre edilen örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	$TEAC_{CUPRAC}$
Troloks	0,0431	1±0,02
Biberiye	0,0035	0,0812±0,62
Zahter	0,0024	0,0557±0,24
Adaçayı	0,0022	0,0510±0,74
Fesleğen	0,001	0,0232±0,04
Ökseotu	0,0002	0,0046±0,32
Sumak yaprak	0,024	0,5568±0,08
Sumak meyve	0,0048	0,1137±0,44

Tablo IV.3’de görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak alınan troloksun yaklaşık % 56’sı kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Biberiye ve sumak meyvesi, eşdeğer miktarda troloksun gösterdiği antioksidan aktivitenin yaklaşık % 10’u; adaçayı ve zahter ise %5’i kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Fesleğen ve ökseotu bitkilerinin $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri sırasıyla; % 2,32 ve % 0,46 olarak bulunmuştur.

Şekil IV.4’e göre metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Sumak meyve > Biberiye > Zahter > Adaçayı > Fesleğen > Ökseotu şeklindedir.

Tablo IV.4'te ise kullanılan standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri gösterilmiştir ve aktiviteleri bitki ekstraktları ile karşılaştırılmıştır.

Tablo IV.4 Standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri

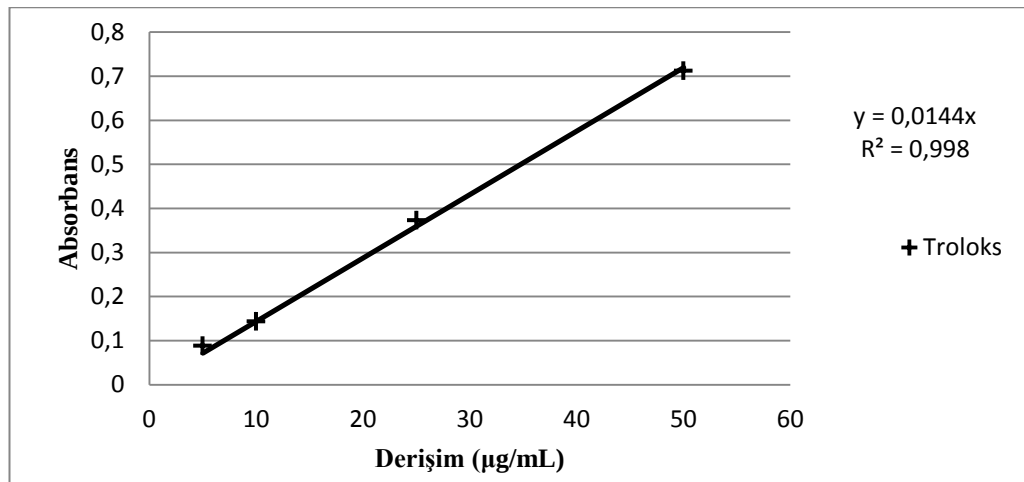
	Troloks	Askorbik asit	BHA	BHT	Gallik asit	α -tokoferol
Eğim	0,0431	0,0513	0,07	0,0191	0,1947	0,0163
$TEAC_{CUPRAC}$	1	1,1903	1,6241	0,4432	4,5174	0,3782

Tablo IV.4'te gallik asit, askorbik asit, BHA ve troloksun bitki ekstraktlarından daha etkili olduğu görülmektedir. Ancak yüksek aktivite gösteren sumak yaprağının α -tokoferolden daha etkili olduğu saptanmıştır ($p < 0,01$).

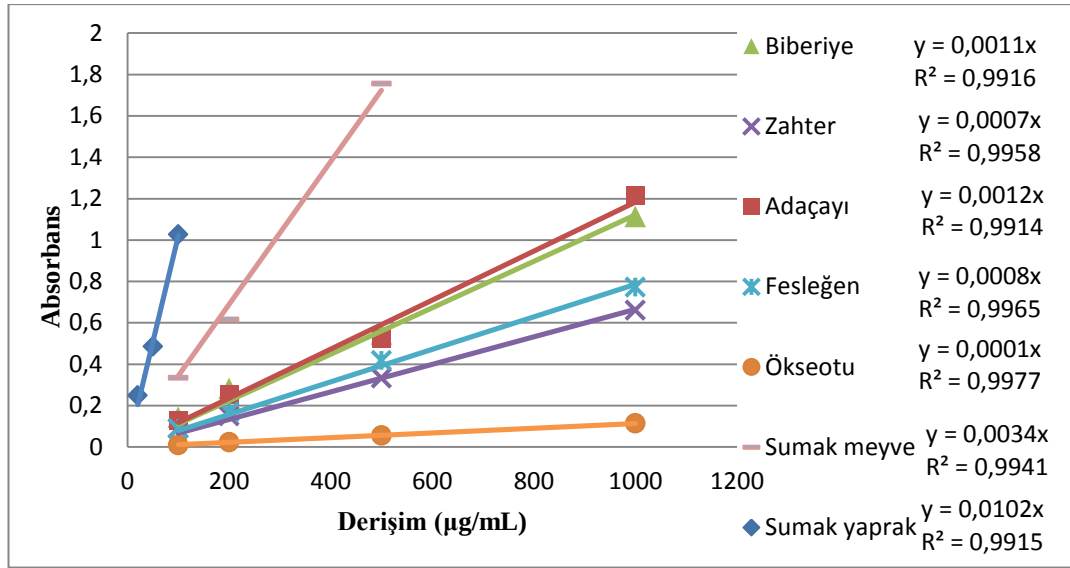
IV.1.2 Ferrik İndirgeme Antioksidan Kapasite (FRAP) Tayini

FRAP yöntemi ile çalışılan örnek ekstraktları ve standart antioksidanlardan olan troloksun derişime karşı absorbans grafikleri çizildi. Grafikteki her bir doğrunun eğimi troloks için elde edilen doğru denkleminin eğimine oranlandı ve $TEAC_{FRAP}$ değerleri elde edildi. Bu çalışmada troloks için elde edilen grafik Şekil IV.5'de gösterilmiştir.

Örneklerin derişimine karşı FRAP yöntemi ile verdikleri absorbans grafikleri Şekil IV.6, Şekil IV.7 ve Şekil IV.8'de topluca gösterilmiştir.



Şekil IV.5 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı troloks derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiği



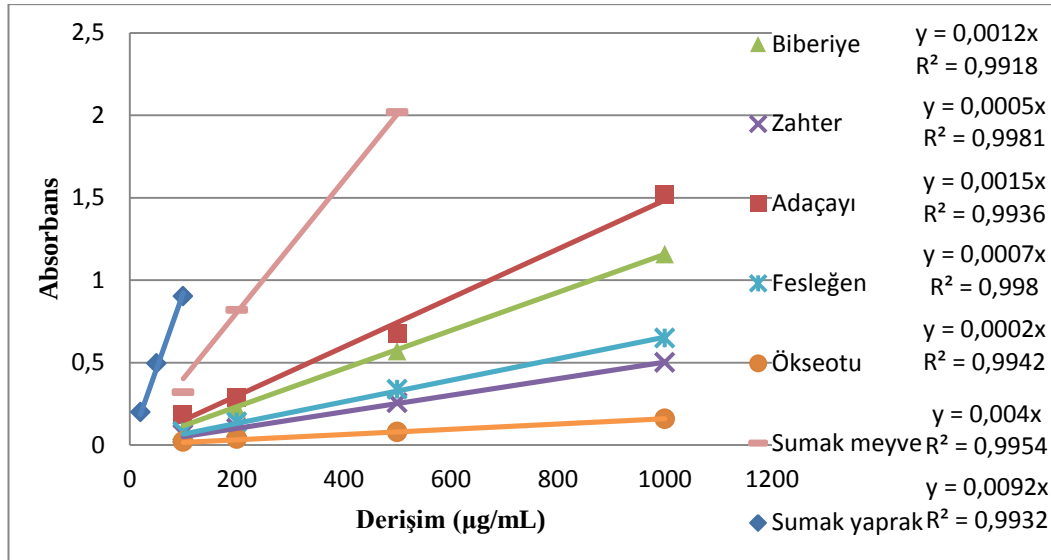
Şekil IV.6 FRAP yöntemi ile 25 °C'deki distile su ile hazırlanan ekstraktların derişimlerine karşı elde edilen absorbands grafiğı

Tablo IV.5 Oda sıcaklığındaki su ile ekstre edilen (25 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan TEAC_{FRAP} değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	TEAC _{FRAP}
Troloks	0,0144	1±0,08
Biberiye	0,0011	0,0764±0,48
Zahter	0,0007	0,0486±0,14
Adaçayı	0,0012	0,0833±0,44
Fesleğen	0,0008	0,0555±0,08
Ökseotu	0,0001	0,0069±0,19
Sumak yaprak	0,0102	0,7083±0,36
Sumak meyve	0,0034	0,2361±1,05

Tablo IV.5'te görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak kullanılan troloksun yaklaşık % 70'i kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Sumak meyvesi yaklaşık % 24'ü; adaçayı ve biberiye yaklaşık % 8'i; zahter ve fesleğen yaklaşık % 5'i; ökseotu ise % 0,7'si kadar antioksidan aktivite göstermektedir.

Şekil IV.6'ya göre 25 °C'deki su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Sumak meyve > Adaçayı > Biberiye > Fesleğen > Zahter > Ökseotu şeklindedir.



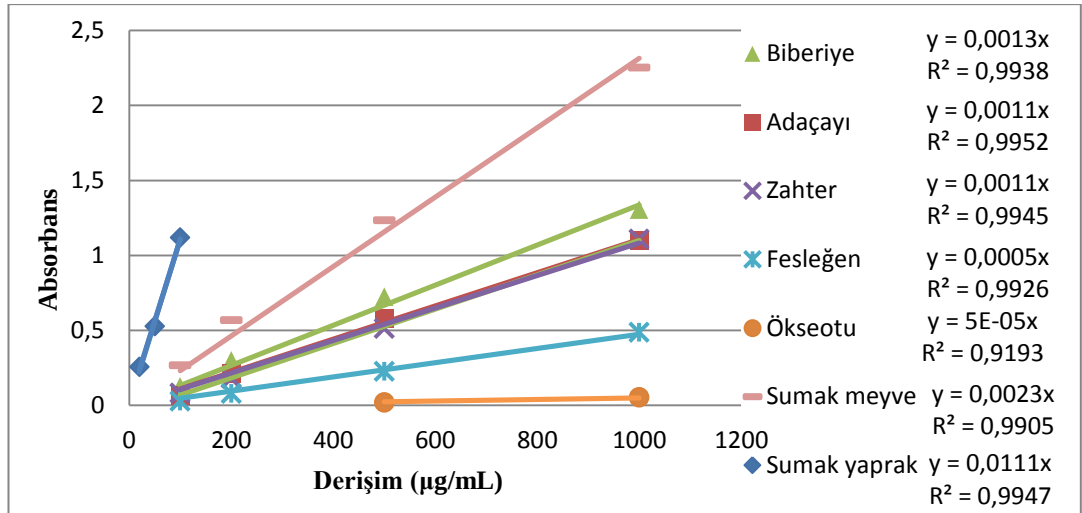
Şekil IV.7 FRAP yöntemi ile 100 °C'deki distile su ile hazırlanan ekstraktların derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı

Tablo IV.6 Kaynar su ile ekstre edilen (100 °C) örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	$TEAC_{FRAP}$
Troloks	0,0144	1±0,08
Biberiye	0,0012	0,0833±0,41
Zahter	0,0005	0,0347±0,11
Adaçayı	0,0015	0,1042±0,51
Fesleğen	0,0007	0,0486±0,84
Ökseotu	0,0002	0,0138±0,24
Sumak yaprak	0,0092	0,6388±0,29
Sumak meyve	0,004	0,2777±0,97

Tablo IV.6'da görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak alınan troloksun yaklaşık % 65'i kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Sumak meyvesi eşdeğer miktarda troloksun yaklaşık % 28'i; adaçayı ve biberiye yaklaşık % 10'u; zahter ve fesleğen yaklaşık % 4'ü; ökseotu ise % 1'i kadar antioksidan aktivite göstermektedir.

Şekil IV.7'ye göre 100 °C'deki su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Sumak meyve > Adaçayı > Biberiye > Fesleğen > Zahter > Ökseotu şeklindedir.



Şekil IV.8 FRAP yöntemi ile metanol ile hazırlanan ekstraktların derişimlerine karşı elde edilen absorbans grafiğı

Tablo IV.7 Metanol ile ekstre edilen örneklerin doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri ve standart sapmaları (SS)

	Eğim	$TEAC_{FRAP}$
Troloks	0,0144	1±0,08
Biberiye	0,0013	0,0903±0,41
Zahter	0,0011	0,0764±0,11
Adaçayı	0,0011	0,0764±0,52
Fesleğen	0,0005	0,0347±0,80
Ökseotu	----	----
Sumak yaprak	0,0111	0,7708±0,29
Sumak meyve	0,0023	0,1597±0,97

Tablo IV.7’de görüldüğü üzere sumak bitkisinin yaprak bölgesi eş değer miktardaki standart antioksidan olarak alınan troloksun % 77’si kadar antioksidan aktivite göstermektedir. Sumak meyvesi, eşdeğer miktarda troloksun yaklaşık % 15’i; biberiye % 9’u, adaçayı ve zahter yaklaşık % 8’i; fesleğen % 3,47’si kadar antioksidan aktivite göstermektedir.

Şekil IV.8’e göre metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri; Sumak yaprak > Sumak meyve > Biberiye > Zahter > Adaçayı > Fesleğen > Ökseotu şeklindedir.

Tablo IV.8’de ise kullanılan standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri gösterilmiştir ve aktiviteleri bitki ekstraktları ile karşılaştırılmıştır.

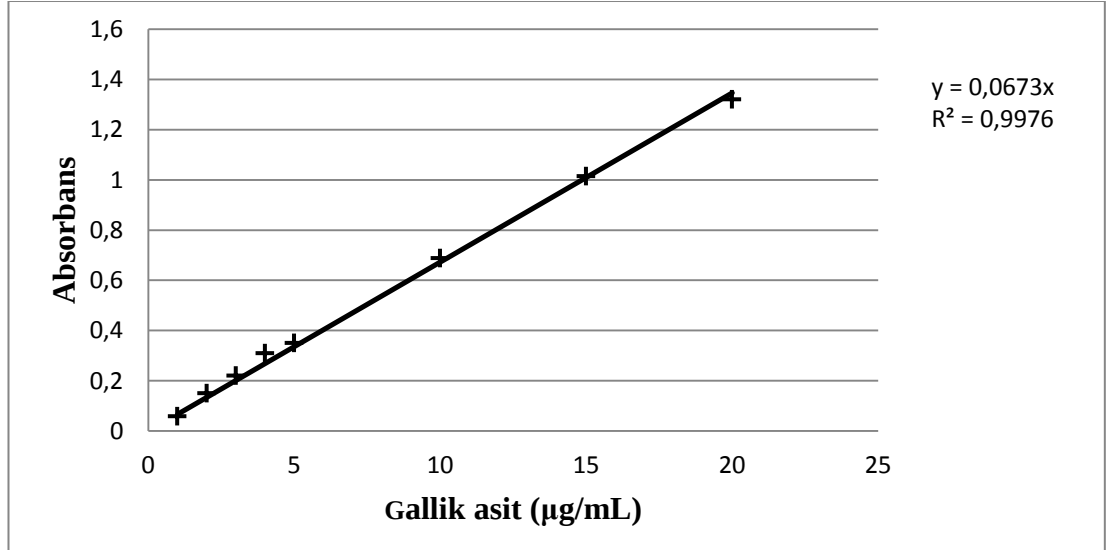
Tablo IV.8 Standart antioksidanların doğru eğimlerinin troloksun eğimine oranlanmasıyla bulunan $TEAC_{FRAP}$ değerleri

	Troloks	Askorbik asit	BHA	BHT	Gallik asit	α -tokoferol
Eğim	0,0144	0,0889	0,0806	0,0144	0,1106	0,0101
$TEAC_{FRAP}$	1	6,1736	5,5972	1	7,6805	0,7014

Tablo IV.8’de gallik asit, askorbik asit, BHA, BHT ve troloksun bitki ekstraktlarından daha etkili olduğu görülmektedir. Ancak yüksek aktivite gösteren sumak yaprağının α -tokoferolden daha etkili olduğu saptanmıştır ($p<0,01$).

IV.1.3 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı değerleri gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Gallik asit kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği Şekil IV.9’da verilmiştir.



Şekil IV.9 Gallik asit standart çalışma grafiği

Gallik asit standart grafiğinden elde edilen doğru denklemi kullanılarak bitkilerin su ve metanol ekstraktlarının GAE değerleri hesaplanmıştır. Tüm örneklerin Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri olarak elde edilen toplam

fenolik madde miktarı değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo IV.9’da verilmiştir.

Tablo IV.9 Bitki ekstralarının gallik asit eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri ve standart sapmaları (SS)

Bitkiler	Toplam fenolik madde miktarları ($\mu\text{g GAE/mL}$)		
	25 °C su	100 °C su	Metanol
Biberiye	3,0461 $\pm$ 0,0051	3,2095 $\pm$ 0,0684	2,8692 $\pm$ 0,0338
Zahter	1,8425 $\pm$ 0,2348	1,4858 $\pm$ 0,0701	1,0147 $\pm$ 0,0185
Adaçayı	3,8335 $\pm$ 0,03625	3,8930 $\pm$ 0,0444	2,1053 $\pm$ 0,0532
Fesleğen	1,8127 $\pm$ 0,0946	1,6047 $\pm$ 0,0741	1,0282 $\pm$ 0,0045
Ökseotu	0,9064 $\pm$ 0,0334	0,8024 $\pm$ 0,0145	0,5412 $\pm$ 0,0148
Sumak yaprak	14,7102 $\pm$ 0,0047	11,3967 $\pm$ 0,106	15,1473 $\pm$ 0,0144
Sumak meyve	4,1902 $\pm$ 0,0448	2,8232 $\pm$ 0,0105	5,8692 $\pm$ 0,0582

Bitkilerin tüm ekstralarına ait fenolik madde miktarı değerleri kendi grubu içerisinde karşılaştırılmıştır. Bitkilerin karşılaştırılması için Two Tail t-testi yapılmıştır. Sumak yaprağının diğer bitkilerden anlamlı olarak farklı ($p < 0,001$) ve fenolik madde içeriğinin oldukça yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo IV.9’a göre 25 °C deki su ekstralarında; Sumak yaprak > Sumak meyve > Adaçayı > Biberiye > Zahter > Fesleğen > Ökseotu; 100 °C deki su ekstralarında; Sumak yaprak > Adaçayı > Biberiye > Sumak meyve > Fesleğen > Zahter > Ökseotu; metanol ekstralarında ise; Sumak yaprak > Sumak meyve > Biberiye > Adaçayı > Fesleğen > Zahter > Ökseotu şeklinde azalan bir sıralama saptanmıştır.

IV.1.4 DPPH Serbest Radikalı Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH• kararlı bir serbest radikaldir. Antioksidan ile DPPH•’in oluşturduğu reaksiyon karışımının gösterdiği absorbans ne kadar düşük ise antioksidanın serbest radikal giderme aktivitesi o kadar yüksek demektir. Absorbansın düşmesinin sebebi radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucu hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesidir.

Tablo IV.10’da bitki ekstralarının tüm konsantrasyonlar için % inhibisyon değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri verilmiştir.

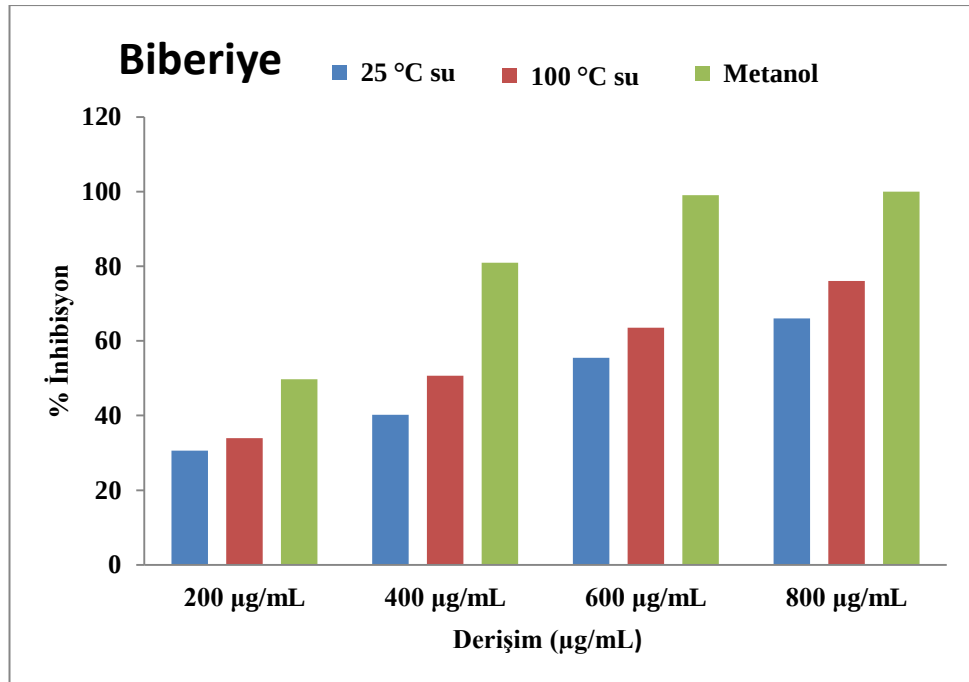
Tablo IV.10 Bitkilerin tüm ekstralarının DPPH radikalini inhibe etme yüzdeleri
ve standart sapmaları (SS)

Bitki ekstraları	% İnhibisyon			
	200 µg/mL	400 µg/mL	600 µg/mL	800 µg/mL
Biberiye 25 °C su	30,64±0,61	40,22±0,89	55,45±0,69	66,05±0,15
Biberiye 100 °C su	33,95±0,60	50,65±0,09	63,57±0,84	76,04±0,08
Biberiye metanol	49,73±0,22	80,94±0,68	99,02±0,72	99,99±1,05
Zahter 25 °C su	11,24±0,31	17,65±0,59	29,86±0,32	39,68±0,63
Zahter 100 °C su	9,49±0,48	17,15±0,02	29,02±0,72	39,06±0,69
Zahter metanol	22,81±0,38	38,71±0,46	55,57±0,09	72,43±0,19
Adaçayı 25 °C su	43,58±0,10	63,52±0,38	77,09±2,78	91,73±0,49
Adaçayı 100 °C su	43,24±0,27	67,64±0,59	86,18±0,11	99,23±0,08
Adaçayı metanol	25,35±0,28	48,92±0,20	74,29±0,78	99,67±1,07
Fesleğen 25 °C su	21,74±0,45	38,86±0,37	56,32±0,04	69,64±0,05
Fesleğen 100 °C su	6,51±0,03	27,38±0,82	47,51±1,05	60,68±0,13
Fesleğen metanol	16,52±0,49	33,56±0,41	51,76±0,55	65,44±0,24
	500 µg/mL	1000 µg/mL	2000 µg/mL	3000 µg/mL
Ökseotu 25 °C su	27,72±0,21	35,12±0,81	47,03±0,62	56,46±0,02
Ökseotu 100 °C su	26,04±0,29	33,84±0,05	46,27±0,46	55,66±0,01
Ökseotu metanol	24,50±0,28	32,75±0,19	44,73±0,29	55,27±0,20
	20 µg/mL	40 µg/mL	60 µg/mL	80 µg/mL
Sumak y. 25 °C su	29,64±0,39	39,02±0,92	56,60±0,12	95,86±0,28
Sumak y. 100 °C su	29,65±0,61	39,13±0,55	55,61±0,52	95,72±1,02
Sumak y. metanol	32,64±0,62	47,78±0,64	66,64±0,65	99,85±0,06
	40 µg/mL	80 µg/mL	120 µg/mL	160 µg/mL
Sumak m. 25 °C su	27,24±0,46	44,69±0,33	58,27±0,19	64,64±0,03
Sumak m.100 °C su	27,58±0,86	47,91±1,06	64,06±0,55	78,62±0,90
Sumak m. metanol	45,59±0,09	50,13±0,02	54,66±1,03	59,20±1,11

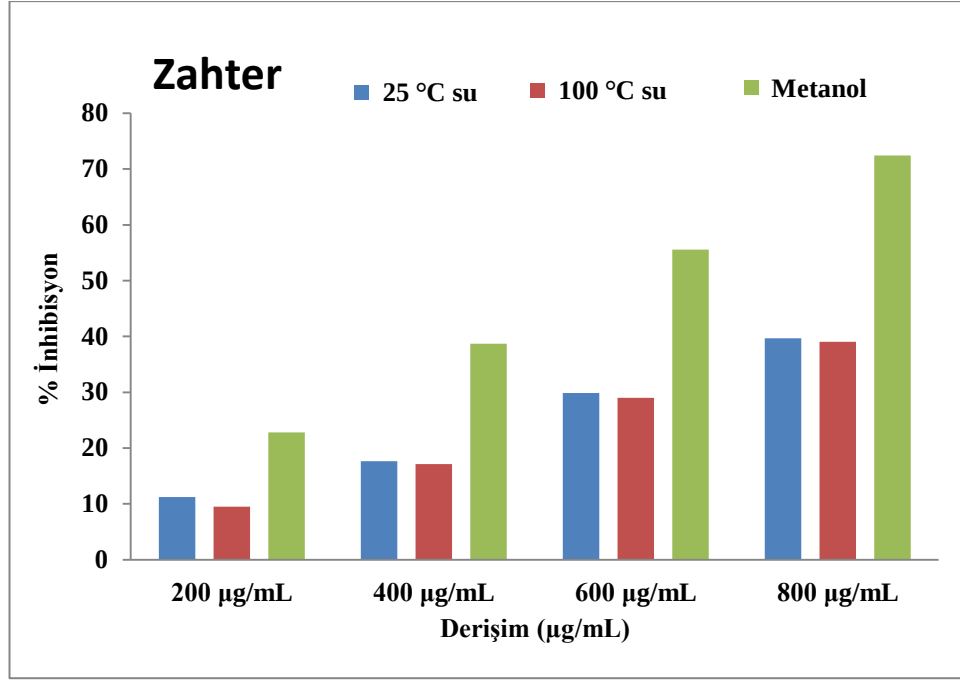
Bitkilerin tüm konsantrasyonlar için % inhibisyon değerleri kendi grubu içerisinde karşılaştırılmıştır. Bitkilerin karşılaştırılması için Two Tail t-testi yapılmıştır. Çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır; $p < 0,01$.

Tablo IV.10'a göre 25 °C deki su ekstrlerinde; Sumak yaprak > Sumak meyve> Adaçayı > Biberiye > Fesleğen > Zahter > Ökseotu; 100 °C deki su ekstrlerinde; Sumak yaprak > Sumak meyve > Adaçayı > Biberiye > Fesleğen > Zahter > Ökseotu; metanol ekstrlerinde ise; Sumak yaprak > Sumak meyve > Biberiye > Adaçayı > Zahter > Fesleğen > Ökseotu şeklinde azalan bir sıralama saptanmıştır.

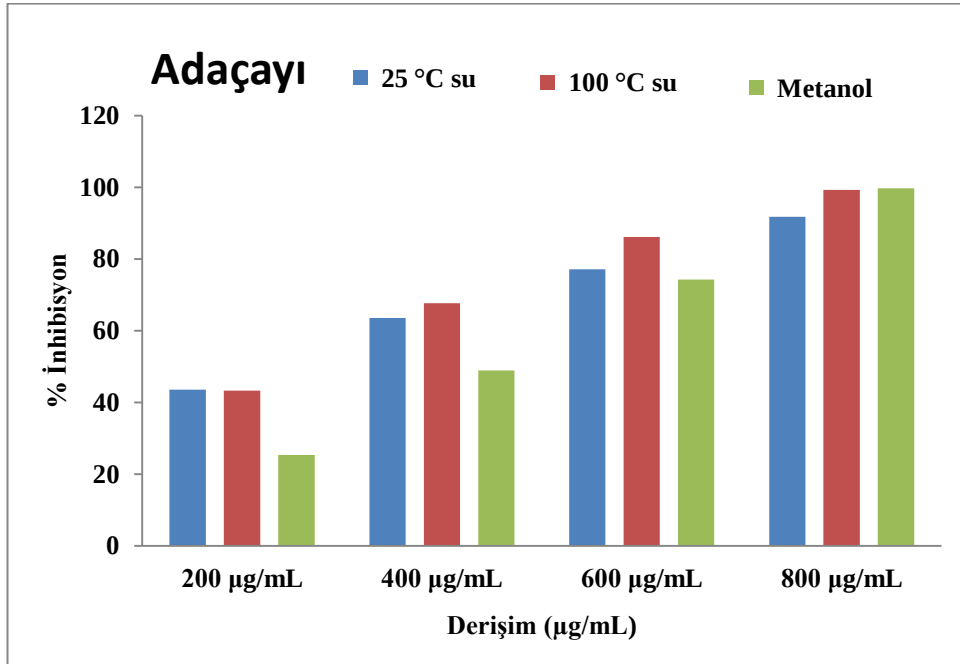
Bitkilerin derişime karşı % inhibisyon grafikleri ise Şekil IV.10-Şekil IV.16 arasında gösterilmiştir.



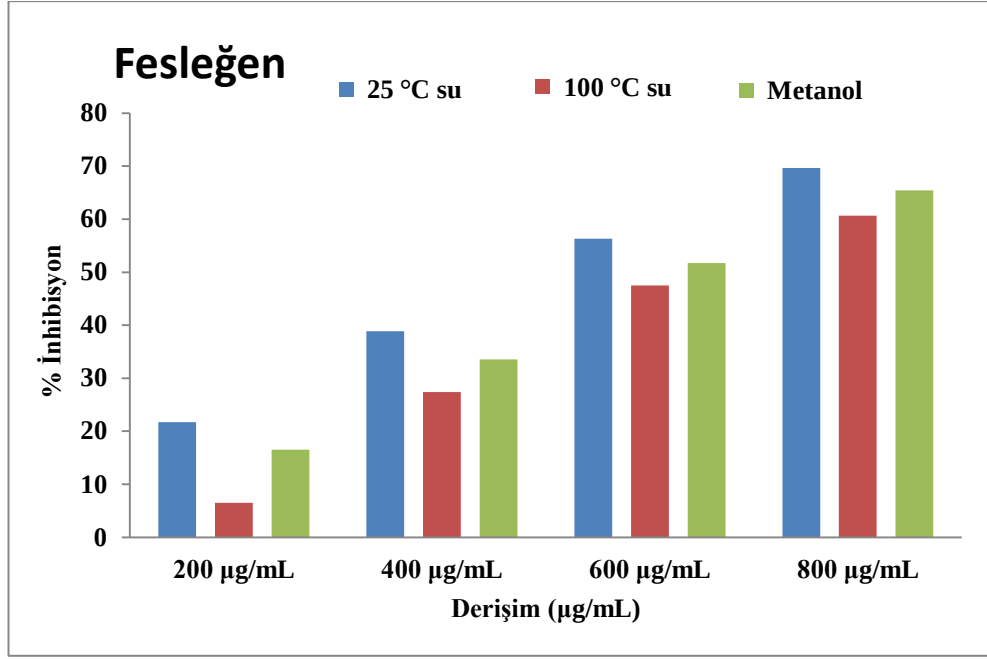
Şekil IV.10 Biberiye bitkisinin tüm ekstrler için derişim-% inhibisyon grafiğı



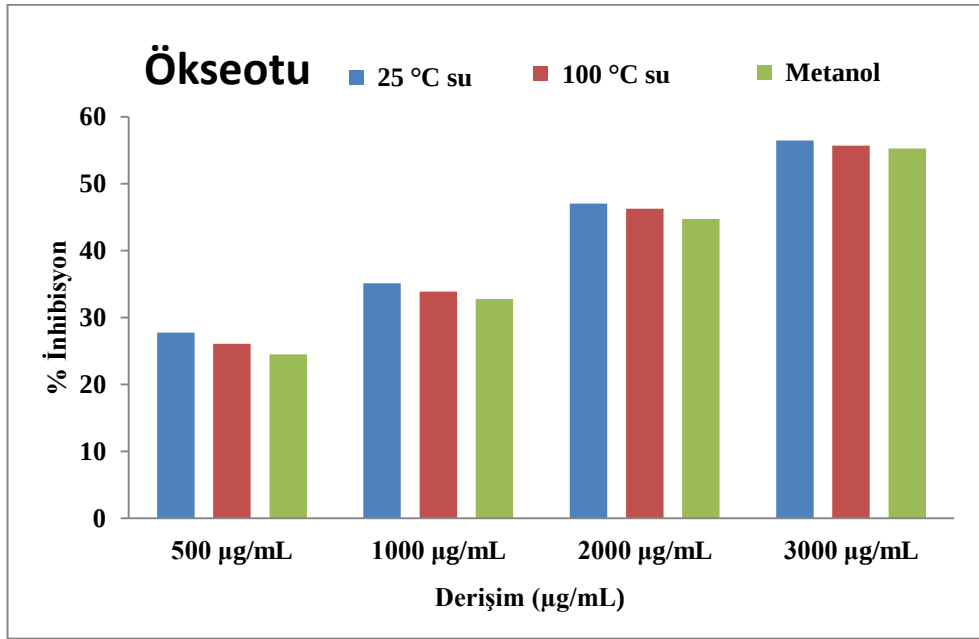
Şekil IV.11 Zahter bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı



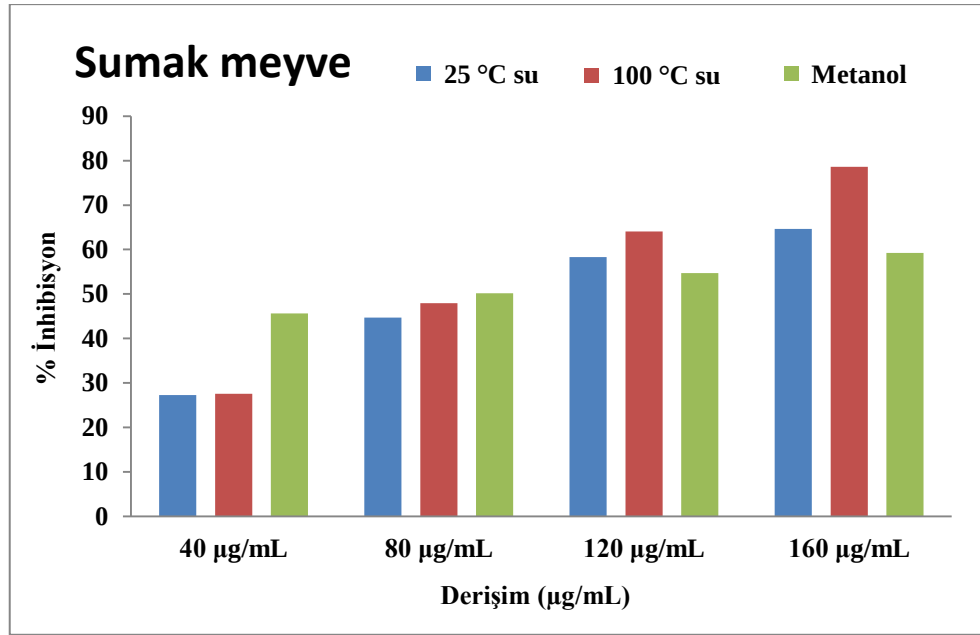
Şekil IV.12 Adaçayı bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı



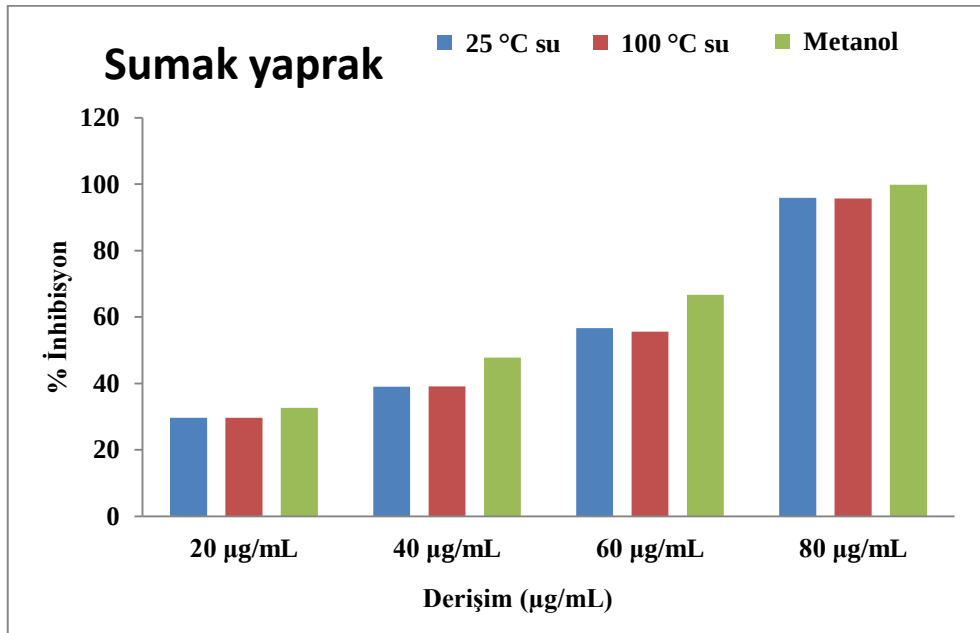
Şekil IV.13 Fesleğen bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı



Şekil IV.14 Ökseotu bitkisinin tüm ekstreler için derişim-% inhibisyon grafiğı



Şekil IV.15 Sumak meyve bitkisinin tüm ekstraller için derişim-% inhibisyon grafiğı



Şekil IV.16 Sumak yaprak bitkisinin tüm ekstraller için derişim-% inhibisyon grafiğı

DPPH radikali absorbansını % 50 düşüren konsantrasyon değeri olarak ifade edilen ekstrallere ait IC₅₀ değeri ve istatistiksel değeri Tablo IV.11’de verilmiştir.

Tablo IV.11 Bitkilerin tüm ekstrelerine ait IC₅₀ değerleri ve standart sapmaları (SS)

Bitkiler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)		
	25 °C su	100 °C su	Metanol
Biberiye	531,6474±0,34	413,1034±0,08	207,5933±0,86
Zahter	992,6556±0,12	970,9508±0,35	533,8837±0,21
Adaçayı	259,8101±0,54	258,0512±0,04	408,5311±0,79
Fesleğen	541,5968±0,32	658,6966±0,71	596,3943±0,62
Ökseotu	2367,2807±0,81	2431,0169±0,09	2432,8452±0,98
Sumak yaprak	50,2660±0,29	45,1369±0,31	42,3461±0,14
Sumak meyve	100,1079±0,07	89,2556±0,45	78,8448±0,06

Bitkilerin tüm ekstrelerine ait IC₅₀ değerleri kendi grubu içerisinde karşılaştırılmıştır. Bitkilerin karşılaştırılması için Two Tail t-testi yapılmıştır. Çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur; p< 0,01. Ayrıca, biberiye, zahter ve adaçayı bitkilerinin su ve metanol ekstreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır; p< 0,05.

Tablo IV.11'e göre 25 °C deki su ekstrelerinde; Sumak yaprak < Sumak meyve< Adaçayı < Biberiye < Fesleğen < Zahter < Ökseotu; 100 °C deki su ekstrelerinde; Sumak yaprak < Sumak meyve < Adaçayı < Biberiye < Fesleğen < Zahter < Ökseotu; metanol ekstrelerinde ise; Sumak yaprak < Sumak meyve < Biberiye < Adaçayı < Zahter < Fesleğen < Ökseotu şeklinde artan bir sıralama saptanmıştır.

Standart antioksidanlara ait % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri ise Tablo IV.12'de verilmiştir. Standart antioksidanlar IC₅₀ değerlerine göre, Gallik asit < Askorbik asit < Troloks < BHA < α-tokoferol < BHT şeklinde artan bir sıralama yapılabilir. Sumak yaprağının tüm ekstrelerinin BHT sentetik antioksidanına yakın bir antioksidan aktivite gösterdiği söylenebilir.

Tablo IV.12 Standart antioksidanlara ait % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Standart antioksidanlar	% İnhibisyon			IC₅₀ değerleri (µg/ml)
Troloks	2 µg/mL 24,8179	4 µg/mL 57,9057	6 µg/mL 87,1046	3,6028
Askorbik asit	2 µg/mL 33,4284	4 µg/mL 66,2944	6 µg/mL 99,1604	3,0084
BHT	25 µg/mL 23,9659	50 µg/mL 33,9416	100 µg/mL 54,3795	89,2931
BHA	4 µg/mL 37,4696	6 µg/mL 46,1071	10 µg/mL 64,8418	6,7819
Gallik asit	1 µg/mL 40,3893	2 µg/mL 53,525	4 µg/mL 89,5010	1,8040
α-tokoferol	10 µg/mL 36,6180	20 µg/mL 69,7080	30 µg/mL 85,2798	14,2998

IV.1.5 Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi Tayini

Bitki ekstralarının süperoksit radikali giderme aktivitesi *in vitro* koşullarda süperoksit radikali oluşturularak çalışılmış ve ekstraların bu radikali etkisizleştirebilme kapasiteleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo IV.13'te gösterilmiştir.

Tablo IV.13 Bitkilerin tüm ekstralarının süperoksit anyonunu inhibe etme yüzdeleri ve standart sapmaları (SS)

Bitkiler	% İnhibisyon (1000 µg/mL)		
	25 °C su	100 °C su	Metanol
Biberiye	77,1047±0,02	77,2074±0,08	36,9610±0,48
Zahter	43,0185±1,43	11,4989±0,68	7,5975±0,03
Adaçayı	80,6982±0,14	69,1992±0,46	11,4989±0,68
Fesleğen	51,7454±0,66	28,6448±0,16	1,0266±0,04
Ökseotu	6,1602±0,04	-1,8480±1,15	-4,8255±0,27
Sumak yaprak	93,1211±1,32	85,0103±0,56	91,1704±0,54
Sumak meyve	55,4415±0,21	53,9014±0,01	32,0329±0,54
BHA standart antioksidanı	800 µg/mL 98,6442		

Bitkilerin tüm konsantrasyonlar için % inhibisyon değerleri kendi grubu içerisinde karşılaştırılmıştır. Bitkilerin karşılaştırılması için Two Tail t-testi yapılmıştır. Çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur; $p < 0,01$. Ayrıca, su ve metanol ekstraları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır; $p < 0,05$.

Tablo IV.13'e göre 25 °C deki su ekstralarında; Sumak yaprak > Adaçayı > Biberiye > Sumak meyve > Fesleğen > Zahter > Ökseotu; 100 °C deki su ekstralarında; Sumak yaprak > Biberiye > Adaçayı > Sumak meyve > Fesleğen > Zahter > Ökseotu; metanol ekstralarında ise; Sumak yaprak > Biberiye > Sumak meyve > Adaçayı > Zahter > Fesleğen > Ökseotu şeklinde azalan bir sıralama saptanmıştır.

Standart antioksidan olan BHA'nın yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiği görülmektedir. BHA'ya en yakın aktiviteyi gösteren bitki ise sumak yaprağı olmuştur.

IV.1.6 Hidroksil Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

Tüm ekstrelerin hidroksil radikalini etkisizleştirebilme kapasiteleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo IV.14’de gösterilmiştir.

Tablo IV.14 Bitkilerin tüm ekstrelerinin hidroksil radikalini inhibe etme yüzdeleri ve standart sapmaları (SS)

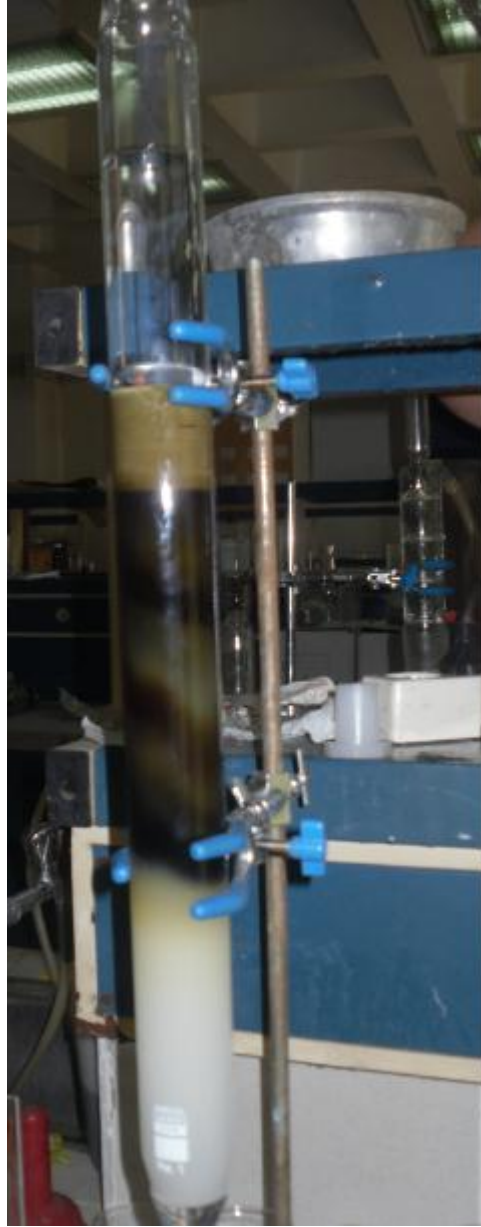
Bitkiler	% İnhibisyon (200 µg/mL)		
	25 °C su	100 °C su	Metanol
Biberiye	1,3884±0,08	2,1764±0,28	4,9581±0,12
Zahter	1,3508±0,20	0,0563±0,02	6,6677±0,05
Adaçayı	8,1426±0,17	0,3377±0,06	6,6806±0,01
Fesleğen	2,9644±0,12	0,8630±0,19	5,9586±0,21
Ökseotu	1,9699±0,05	2,4390±0,02	7,2112±0,12
Sumak yaprak	1,2945±0,09	1,2946±0,11	3,7763±0,22
Sumak meyve	0,7879±0,15	1,4634±0,28	2,6614±0,06
Troloks standart antioksidanı	100 µg/mL 78,5641		

Bitkilerin tüm konsantrasyonlar için % inhibisyon değerleri kendi grubu içerisinde karşılaştırılmıştır. Bitkilerin karşılaştırılması için Two Tail t-testi yapılmıştır. Çalışılan yedi bitki türü arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır; $p>0,05$.

Standart antioksidan olan troloksun 100 µg/mL konsantrasyon için yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiği görülmektedir.

IV.1.7 Kolon Kromatografisi

Çalışılan yöntemlerde görüldüğü üzere en yüksek aktiviteyi gösteren bitki sumak yaprağı olmuştur. Sumak yaprağına kolon kromatografisi yöntemi uygulanarak kolonda farklı hızlarda ilerleyen fraksiyonlar ayrı ayrı elüe edildi ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyon tespit edildi. Şekil IV.17’de kolona tatbik edilmiş maddenin ilerlemesi görülmektedir.



Şekil IV.17 Kolonda ilerleyen maddenin görünümü

IV.2 TARTIŞMA

Birçok araştırmacı bitkileri su, metanol, etanol, aseton, petrol eteri, etil asetat, kloroform, diklorometan gibi çeşitli çözücü veya çözücü karışımları ile oda sıcaklığında bekleterek, çözücü ile kaynatarak veya Sokslet cihazı ile ekstre elde etmişlerdir (Miliauskas ve ark., 2004). Antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerin içecek, şifalı bitkiler, besin ekstraktları gibi farklı ortamlara uygulandığı birçok çalışma vardır. Çalışılan bitkilerin kendi aralarında ve benzer literatürlerdeki veriler ile kıyaslanarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Ekstraksiyon için kullanılan çözücülerin radikal giderme aktivitesinde etkili olduğu bilinmektedir. Aseton, metanol ve etil asetat çözücülerini arasında DPPH serbest radikalini gidermede en etkili çözücünün metanol olduğu bildirilmiştir (Miliauskas ve ark., 2004). Yapılan diğer bir çalışmada da sıcak su ve metanol ekstraktlerinin bütanol, etil asetat ve kloroform ekstraktlerine göre daha iyi DPPH radikalini giderdiği tespit edilmiştir (Shon ve ark., 2003). Bu çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiş, metanol ekstraktlerinin DPPH radikalini gidermede çok etkin olduğu tespit edilmiştir.

CUPRAC tayini ile yapılan çalışmalara, Bursal ve Köksal tarafından yapılan bir araştırma örnek verilebilir. Bursal ve Köksal tarafından, sumak meyvelerinin su ve etanol ekstraktlerinin CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktivitesi hesaplanmıştır. 30 µg/mL konsantrasyonda ekstraktler ve standart antioksidanlar için BHT > BHA > troloks > α-tokoferol > sumak su ekstresi > sumak etanol ekstresi şeklinde bir sıralama saptanmıştır (Bursal ve Köksal, 2011). Çalışmamızda, sumak meyvesi için benzer bir sıralama gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında biberiye ve fesleğen ekstraktleri; 100 °C deki su ekstresi > 25 °C deki su ekstresi > metanol ekstresi şeklinde sıralanmıştır. Zahter ve adaçayı için; 25 °C deki su ekstresi > 100 °C deki su ekstresi > metanol ekstresi şeklinde bir sıralama saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, bu bitkilerin etken maddelerinin yüksek sıcaklığın etkisiyle bozunduğu düşünülmektedir. Sumak meyvesi ve sumak yaprağı ekstraktleri; metanol ekstresi > 100 °C deki su ekstresi > 25 °C deki su ekstresi şeklinde sıralanmıştır. Bu sonuçlara göre, etken maddelerinin metanoldeki çözünürlüğünün daha fazla olduğu düşünülmektedir. En düşük aktiviteyi gösteren okseotunun ekstraktleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

FRAP tayini ile yapılan çalışmalara birkaç örnek verilebilir. Bursal ve Köksal tarafından, sumak meyvelerinin su ve etanol ekstraktlerinin antioksidan kapasitesi hesaplanmıştır. 30 µg/mL konsantrasyonda ekstraktler ve standart antioksidanlar için BHA > troloks > BHT > α-tokoferol > sumak su ekstresi > sumak etanol ekstresi şeklinde bir sıralama saptanmıştır (Bursal ve Köksal, 2011). Wojdylo ve arkadaşları tarafından 32 bitkinin antioksidan aktiviteleri FRAP yöntemiyle hesaplanmıştır. Adaçayı bitkisinin TEAC_{FRAP} değeri 167±1,01, biberiye bitkisinin TEAC_{FRAP} değeri 662±4,66 µM Troloks/100 g bitki olarak bulunmuştur (Wojdylo ve ark., 2007). Hossain ve arkadaşları tarafından adaçayı, biberiye, kekik ve fesleğen bitkilerinin aralarında bulunduğu *Lamiaceae* familyasına ait altı bitkinin antioksidan

kapasiteleri araştırılmıştır. FRAP değerlerinin 1,51-22,9 g Troloks/100 g bitki aralığında değiştiği saptanmıştır (Hossain ve ark., 2010).

Tez çalışmamızda, biberiye ekstreleri; metanol ekstresi > 100 °C deki su ekstresi > 25 °C deki su ekstresi şeklinde sıralanmıştır. Adaçayı ve ökseotu için; 100 °C deki su ekstresi > 25 °C deki su ekstresi > metanol ekstresi şeklinde bir sıralama yapılabilir. Fesleğen için; 25 °C deki su ekstresi > 100 °C deki su ekstresi > metanol ekstresi; zahter için; metanol ekstresi > 25 °C deki su ekstresi > 100 °C deki su ekstresi şeklinde bir sıralama yapılabilir. Sumak meyve için; 100 °C deki su ekstresi > 25 °C deki su ekstresi > metanol ekstresi; sumak yaprak için ise, metanol ekstresi > 25 °C deki su ekstresi > 100 °C deki su ekstresi şeklinde bir sıralama yapılabilir.

CUPRAC ve FRAP yöntemlerinden elde edilen sonuçlar ekstreler açısından farklılık gösterse de, bitkilerin genel sıralaması her iki yöntemde de paralellik göstermiştir. Sumak yaprağının metanol ekstreleri, her iki yöntemde de en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Sonuç olarak, etken maddelerinin metanoldeki çözünürlüğünün daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Toplam fenolik madde miktarı tayini ile yapılan çalışmalara birkaç örnek verilebilir. Baharatların antioksidan etkileri, özellikle fenolik bileşenlerinden; en fazla da flavonoidler ve fenol karbonik asitlerden ileri gelmektedir. *Lamiaceae* familyasına ait adaçayı ve biberiyede özellikle apigenin, luteolin, kamferol, kuersetin gibi flavonlar olduğu belirlenmiştir. Karnosol ve karnosik asitlerin adaçayı ve biberiyede bulunan antioksidan etkili fenolik bileşikler olduğu saptanmıştır (Akgül, 1993). Domuz etinden yapılmış sosislerin raf ömrü, et rengi, koku ve yağ oksidasyonu üzerinde, biberiye, askorbik asit, sodyum laktat ve şeker pancarının etkilerinin incelendiği bir araştırmada, biberiye bitkisinde bulunan karnosol, karnosik asit, rosmarinik asit ve askorbik asitin et ürünleri üzerinde etkili olduğunu ve raf ömrünü uzattığını belirtmişlerdir (Martinez ve ark., 2006). Kimyon ve biberiye uçucu yağlarının antimikrobiyel ve antioksidan özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada, kimyonun antimikrobiyel aktivitesinin biberiyeden üstün olduğu, ancak serbest radikalleri engelleme konusunda, biberiyenin kimyondan daha etkili bir özellik gösterdiği belirlenmiştir (Latif ve ark., 2007). Biberiye, adaçayı ve kekik bitkileri üzerinde yapılan bir başka çalışmada, bu bitkilerin etkili bir antioksidan olduğu belirlenmiştir. Biberiyenin karnosol, karnosik asit, rosmanol, 7-metil-epirosmanol, isorosmanol, rosmadial, kafeik asit, 1,8 sineol, kamfur ve α -pinen içermesinden dolayı, antimikrobiyel ve antioksidan aktivite gösterdiğinin altı çizilmiştir. Bu

bileşenlerden karnosik asidin en etkili antioksidan aktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır (Govaris ve ark., 2007). Cuvelier ve arkadaşları adaçayı ile yaptıkları bir çalışmada, hazır olarak temin ettikleri adaçayı ekstresini önce kolon kromatografisiyle fraksiyonlarına ayırıp her bir fraksiyonu HPLC’de saflaştırmış ve IR, MS ve NMR’da tanımlamışlardır. Bulunan 6 temel bileşenin; karnosol, karnosik asit, rosmadial, rosmanol, epirozmonol ve metil karnosat olduğu saptanmıştır (Cuvelier ve ark.,1994). Sumak bitkisi ile yapılan önceki fitokimyasal çalışmalar, yapraklarının gallotanen, gallik asit, flavonoid, bi-flavonoid, şeker, vaks ve uçucu yağ bakımından zengin olduğunu göstermişlerdir (Kurucu ve ark., 1993). Sumak yaprakları ve tanen içeren bazı bitkilerle yapılan bir çalışmada, fare derilerinde tümörün engellenip engellenmediği araştırılmış, en etkili deri tümörü inhibitörü olarak tespit edilmiştir (Gali ve ark. 1993). Aşkun ve arkadaşları tarafından zahter bitkisi ile yapılan bir çalışmada, bitkinin fenolik bileşimi tespit edilmiş ve antibakteriyel, antimikrobiyel aktiviteleri saptanmıştır. Bitkinin metanol ekstresi ile çalışılmış ve karvakrol, rosmarinik asit, hesperidin ve naringenin gibi fenolik bileşikler tanımlanmıştır (Aşkun ve ark., 2009).

Tavassoli ve Djomeh’in yaptığı bir araştırmada, biberiye yapraklarının metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı $4,99 \pm 0,054$ g GAE/100g olarak bulunmuştur (Tavassoli ve Djomeh, 2011). Çalışmamızda, biberiye metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı $2,8692 \pm 0,0338$ μ g GAE/mL olarak hesaplanmıştır. Bursal ve Köksal tarafından, sumak meyvelerinin su ve etanol ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır. Etanol ekstresinin fenolik madde miktarı 15 μ g GAE, su ekstresininki ise 63 μ g GAE olarak bulunmuştur (Bursal ve Köksal, 2011). Çalışmamızda, sumak meyve 25 °C su ekstresinin toplam fenolik madde miktarı $4,1902 \pm 0,0448$ μ g GAE/mL, 100 °C su ekstresinin $2,8232 \pm 0,0105$ μ g GAE/mL, metanol ekstresinin ise $5,8692 \pm 0,0582$ μ g GAE/mL olarak hesaplanmıştır. Etken maddelerinin metanoldeki çözünürlüğünün daha fazla olduğu, bu nedenle toplam fenolik madde miktarının yüksek bulunduğu düşünülmektedir. Çelebi tarafından yapılan çalışmada araştırma materyali olarak kullanılan fesleğenlerde % 33,95-% 65,55 arasında nevadensin saptanmıştır. Ladanein oranı % 11,79-% 30,07, pilosin oranı % 1,99-% 7,24, genkwanin oranı % 2,38-% 5,16, salvigenin oranı % 2,29-% 4,32, cirsiliol oranı % 1,42- 26,01, apigenin oranı % 4,5-% 5,35 arasında tespit edilmiştir. Buradan da fesleğen bitkisinin fenolik maddelerce oldukça zengin olduğu görülmüştür (Çelebi, 2010).

Tez çalışmamızda, en yüksek fenolik madde miktarını gösteren sumak yaprağı olmuştur. Ancak sumak ekstreleri kıyaslandığında, ekstreler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir.

DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi tayini ile yapılan çalışmalara birkaç örnek verilebilir. Gülçin ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, fesleğenin su ve etanol ekstrelerinin DPPH radikal giderme aktivitesi belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlar için % 23-67 aralığında bulunmuştur (Gülçin ve ark., 2007). Çalışmamızda, fesleğen ekstrelerinin farklı konsantrasyonları için DPPH radikal giderme aktivitesi benzer şekilde % 16-69 aralığında bulunmuştur. Önay'ın çalışmasında ise, farklı konakçı ağaç türleri üzerinde yaşayan ökseotu bitkileri kimyasal içerik ve biyolojik aktivite açısından karşılaştırılmıştır. Bu amaçla aynı dönemde farklı konakçı ağaç türleri üzerinden toplanmış ökseotu bitkilerinden hazırlanmış çeşitli ekstreler incelenmiştir. DPPH radikalini en yüksek oranda inhibe eden (% 91,34) ekstrenin akasya ağacı üzerinde yetişen ökseotu yapraklarından elde edildiği saptanmıştır. Ökseotu yapraklarından hazırlanan metanol ekstrelerinin radikal süpürücü etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Önay, 2002). Çalışmamızda, ökseotu ekstrelerinin farklı konsantrasyonları için DPPH radikal giderme aktivitesi % 24-56 aralığında bulunmuştur. Su ve metanol ekstreleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Koşar ve arkadaşları tarafından sumak meyveleriyle yapılan bir çalışmada, metanol ekstrelerinin antioksidan etkileri incelenmiştir. Bu amaçla sumaktan elde edilen metanol ekstreleri kolonda fraksiyonlandırılarak her bir fraksiyonun serbest radikal süpürücü etkileri belirlenmiştir. Fraksiyonların IC₅₀ değerlerinin 0,71-12 µg/mL aralığında olduğu saptanmıştır (Koşar ve ark., 2007). Bursal ve Köksal tarafından, sumak meyvelerinin su ve etanol ekstrelerinin radikal süpürme kapasiteleri hesaplanmıştır. Sumak meyvelerinin su ekstrelerinin serbest radikal süpürmede etanol ekstrelerinden daha etkili olduğu bulunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 30 µg/mL) çalışılan sumak meyvesinin su ekstrelerinin radikal süpürme aktivitesi % 15,8, % 23,2, % 41,2 olarak hesaplanmıştır. DPPH radikalinin % 50'sini süpüren IC₅₀ değeri ise 36,4 µg/mL olarak bulunmuştur (Bursal ve Köksal, 2011). Çalışmamızda, sumak meyvelerinin 100 °C'deki su ekstrelerinin DPPH radikalini gidermede en etkili ekstre olduğu saptanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (40, 80, 120, 160 µg/mL) çalışılan sumak meyvesinin su ekstrelerinin radikal süpürme aktivitesi % 27,5, % 47,9, % 64, % 78,6 olarak hesaplanmıştır. DPPH radikalinin % 50'sini süpüren IC₅₀ değeri ise 89,2 µg/mL

olarak bulunmuştur. Tavassoli ve Djomeh'in yaptığı bir araştırmada, biberiye metanol ekstresinin DPPH radikalini % 50'sini süpüren IC_{50} değerinin $0,024 \pm 0,005$ mg/mL olduğu hesaplanmıştır (Tavassoli ve Djomeh, 2011). Çalışmamızda, biberiye metanol ekstresinin DPPH radikalini gidermede diğer ekstrlerine göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Biberiye bitkisinden elde edilen ekstrlerin DPPH giderme aktiviteleri 200 µg/mL bitki konsantrasyonu için; metanol ekstresinde % $49,73 \pm 0,22$; 100°C deki su ekstresinde % $33,95 \pm 0,60$ ve 25 °C deki su ekstresinde % $30,64 \pm 0,61$ olarak bulunmuştur. IC_{50} değerleri ise sırasıyla; $207,59 \pm 0,86$ µg/mL, $413,10 \pm 0,08$ µg/mL ve $531,65 \pm 0,34$ µg/mL şeklinde hesaplanmıştır.

Zahter ve sumak yaprak ekstrleri içinde, en etkilisi metanol ekstrleri olmuştur. Ancak sumak yaprakta su ekstrleri ve metanol ekstrleri arasındaki inhibisyon farkı daha azdır. IC_{50} değerleri de buna paralel olarak, metanolde daha düşük hesaplanmıştır. Adaçayı ve sumak meyvede ise inhibisyon konsantrasyonlara göre değişiklik göstermiştir. Düşük konsantrasyonda adaçayı bitkisinin su ekstrleri daha etkilidir. Yüksek konsantrasyonda ise ekstrler arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Düşük konsantrasyonda sumak meyvesinin metanol ekstrleri daha etkilidir. Yüksek konsantrasyonda ise, su ekstrleri daha etkili olmuştur. Adaçayında IC_{50} değerleri su ekstrlerinde daha düşükken, sumak meyvesinde metanol ekstrlerinde daha düşüktür. Fesleğen ve ökseotunun ekstrleri arasında ise anlamlı bir farklılık yoktur.

Süperoksit anyonunu giderme aktivitesi tayini kullanılarak, Gülçin ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, fesleğenin su ve etanol ekstrlerinin süperoksit anyonu giderme aktivitesi olduğu belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlar için % 30,3-42,2 aralığında bulunmuştur (Gülçin ve ark., 2007). Çalışmamızda, süperoksit anyonu gidermede fesleğenin 25 °C deki su ekstresinin % $51,7454 \pm 0,66$ inhibisyonla kendi içinde en etkili ekstre olduğu görülmüştür.

Tez çalışmamızda, bitkilerin metanol ekstrleri su ekstrlerine göre daha düşük inhibisyon göstermiştir. Biberiye ve sumak meyvesinin 25 °C deki su ekstrleri ile 100 °C deki su ekstrlerinin inhibisyon değerleri arasında fark görülmemiştir. Zahter, adaçayı, fesleğen ve ökseotu bitkilerinin 25 °C deki su ekstrleri ise, süperoksit radikalini gidermede diğer ekstrlere göre daha fazla aktivite göstermiştir. % $93,12 \pm 1,32$ inhibisyon ile en yüksek süpürme aktivitesini gösteren sumak yaprağında ise, ekstrler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Hidroksil radikalini giderme aktivitesi tayini yönteminde metanolün girişim yaptığı saptanmıştır. Bu nedenle, kullandığımız yöntemde metanolün girişimini saptamak için sadece metanol için ölçüm yapılmış ve metanol için elde edilen absorbans ölçümlerinden metanol ekstralarının absorbans ölçümleri çıkarılmıştır. Tüm bitki ekstralarının % inhibisyon değerleri oldukça düşük ve birbirine yakın bulunmuştur. Adaçayının 25 °C deki su ekstresi % $8,14 \pm 0,17$ inhibisyon ile en yüksek süpürme aktivitesini göstermiştir. Serbest radikal gidermede adaçayının su ekstraları genel olarak en etkili ekstre olmuştur. Metanol ekstraları içinde ise, ökseotu bitkisi $7,21 \pm 0,12$ inhibisyon ile en yüksek değeri vermiştir. Çalıştığımız bitkiler ile ilgili hidroksil radikalini giderme aktivitesi tayini yöntemini kullanan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

BÖLÜM V

SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında Hatay yöresinden temin edilmiş adaçayı, biberiye, fesleğen, ökseotu, sumak ve zahter bitkileri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu bitkilerin antioksidan aktiviteleri farklı yöntemlerle saptanmış ve içlerinde en fazla antioksidan aktiviteye sahip olanlar belirlenmiştir. Toplam antioksidan aktivitenin saptanmasında FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılmıştır. Serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesinde; DPPH serbest radikali, hidroksil radikali ve süperoksit anyonunu giderme aktiviteleri ve % inhibisyon değerleri belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanmış, bitkilerin içerdiği fenolik bileşiklerin varlığı antioksidan kapasitelerini etkilediği görülmüştür.

Fenolik bileşik miktarı yüksek olan ekstrelerin, radikal süpürücü etkilerinin ve yüzde inhibisyon değerlerinin de yüksek olduğu görülmüştür. Fenolik bileşik miktarı ile radikal süpürücü etki arasında ve fenolik bileşik miktarı ile toplam antioksidan aktivite arasında bir korelasyon olduğu saptanmıştır.

Tüm sonuçlar incelendiğinde, sumak bitkisinin yaprak bölgesinin en etkili olduğu belirlenmiştir. α -tokoferol ve BHT standart antioksidanlarından daha etkili olduğu saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı açısından da yüksek değerlere sahiptir. DPPH serbest radikalini gidermede % 100'e yakın bir etkinliği söz konusudur. Süperoksit radikalini giderme aktivitesinde de sumak yaprağı en yüksek inhibisyon aktivitesini göstermiştir. Bu nedenle, aktivite tayininden sonra en yüksek aktivite gösteren sumak yaprağı kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılmış ve antioksidan aktivite gösteren fraksiyon tespit edilmiştir.

Özellikle gıda endüstrisinde, yağlı gıda mamullerin oksidasyonunu ve lipit peroksidasyonunu önlemek amacıyla kullanılan sentetik antioksidan maddelerin toksik etkilerinden kuşku duyulmasından dolayı, günlük tüketimde bu bitkilere daha çok yer verilmesi önerilir ve tüketilmeleri sağlanır ise yeni alternatif tedavilerin ortaya çıkmasına katkıda bulunulabilir.

KAYNAKLAR

- Akgül, A.: *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye, **(1993)** 67-81.
- Akgül, A.; Özcan, M.; Chialva, F.; Monguzzi, F.: “Essential Oils Four Turkish Wild-growing Labiate Herbs”, *Journal of Essential Oil Research*, 11(2) **(1999)** 209-214.
- Akkol, E.K.; Avcı, G.; Küçükkurt, İ.; Keleş, H.; Tamer, U.; İnce, S.; “Cholesterol-reducer, Antioxidant and Liver Protective Effects of *Thymbra spicata* L. var. *spicata*”, *Journal of Ethnopharmacology*, 126 **(2009)** 314-319.
- Ali, S.S.; Kasoju, N.; Luthra, A.; Singh, A.; Sharanabasava, H.; Sahu, A.; Bora, U.: “Indian Medicinal Herbs as Sources of Antioxidants”, *Food Research International*, 41 **(2008)** 1-15.
- Altan, N.; Dinçel, A.S.; Koca, C.: “Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres”, *Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2) **(2006)** 51-56.
- Amiri, H.: “Quantative and Qualative Changes of Essential Oil of *Salvia bracteata* Bank et Sol. in Different Growth Stages”, *Daru*, 15 (2) **(2007)** 79-82.
- Arcan, İ.: “Characterization and Modification of Antioxidant Proteins from Plant Materials”, *Yüksek Lisans Tezi*, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, **(2005)** 8-12.
- Ardağ, A.: “Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması”, *Yüksek Lisans Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye, **(2005)** 6-14.
- Armstrong, D.J.; Burrows, W.J.; Evans, P.K.; Skoog, F.: “Isolation of Cytokinins from tRNA”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 37 (3) **(1969)** 451-456.
- Aşkun, T.; Tümen, G.; Satıl, F.; Ateş, M.: “*In vitro* Activity of Methanol Extracts of Plants Used as Spices Against *Mycobacterium tuberculosis* and Other Bacteria”, *Food Chemistry*, 116 **(2009)** 289-294.
- Avcı, G.; Küpeli, E.; Eryavuz, A.; Yeşilada, E.; Küçükkurt, İ.: “Antihypercholesterolaemic and Antioxidant Activity Assessment of Some

Plants Used as Remedy in Turkish Folk Medicine”, *Journal of Ethnopharmacology*, 107 (2006) 418-423.

- Aysel, M.B.: “Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve Mercanköşk (*Origanum Onites* L.) Bitkilerindeki Antioksidan Aktivite Potansiyellerinin Araştırılması”, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, (2008) 16-18.
- Banyai, E.S.; Tulok, M.H.; Hegedüs, A.; Renner, C.; Varga, I.S.: “Antioxidant Effect of Various Rosemary Clones”, *Acta Biologica Szegediensis*, 47 (2003) 111-113.
- Başer K.H.C.: “Aromatic Biodiversity Among the Flowering Plant Taxa of Turkey”, *Pure and Applied Chemistry*, 74 (4) (2002) 527-545.
- Bayrak, A.: “Gıda Aromaları”, *Gıda Teknolojisi Dergisi*, Ankara, Türkiye, (2006) 268-273.
- Buonocore, G.; Perrone, S.; Tataranno, M. L.: “Oxygen Toxicity: Chemistry and Biology of Reactive Oxygen Species”, *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 15 (2010) 186-190.
- Bursal, E.; Köksal, E.: “Evaluation of Reducing Power and Radical Scavenging Activities of Water and Ethanol Extracts from Sumac (*Rhus coriaria* L.)”, *Food Research International*, 44 (2011) 2217-2221.
- Ceylan, A.: *Tıbbi Bitkiler II*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, İzmir, Türkiye, 481 (1997) 12.
- Ceylan, A.; Kaya, N. ve Çelik, N.: “Tıbbi Adaçayının (*Salvia officinalis* L.) Kültürü Üzerinde Araştırmalar”, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, İzmir, Türkiye, 26 (1990) 127-142.
- Chen, H.Y.; Lin, Y.C.; Hsieh, C.L.: “Evaluation of Antioxidant Activity of Aqueous Extract of Some Selected Nutraceutical Herbs”, *Food Chemistry*, 104 (2007) 1418-1424.
- Cotellet, N.; Bernier, J.L.; Catteau, J.P.; Pommery, J.; Wallet, J.C.; Gaydou, E. M.: “Antioxidant Properties of Hydroxy-flavones”, *Free Radical Biology and Medicine*, 20 (1) (1996) 35-43.
- Cuvelier, M.E.; Berset, C.; Richard, H.: “Antioxidant Constituents in Sage (*Salvia officinalis*)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (1994) 665-669.

- Çelebi, Ç.: “Fesleğenin (*Ocimum basilicum*) Fenolik Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, **(2010)** 3-12.
- Daneshian, A.M.; Gürbüz B.; Coşge B.; İpek A.: “Chemical Components of Essential Oils from Basil (*Ocimum basilicum* L.) Grown at Different Nitrogen Levels”, *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 3(3) **(2009)** 8-12.
- Doğan, S.; Turan, P.; Doğan, M.: “Some Kinetic Properties of Polyphenol Oxidase from *Thymbra spicata* L. var. *spicata*”, *Process Biochemistry*, 41 **(2006)** 2379-2385.
- Durling, N.E.; Catchpole, O.J.; Grey, J.B.; Webby, R.F.; Mitchell, K.A.; Foo, L.Y.; Perry, N.B.: “Extraction of Phenolics and Essential Oil From Dried Sage (*Salvia officinalis*) Using Ethanol-Water Mixtures”, *Food Chemistry*, 101 **(2007)** 1417-1424.
- Ergun, F.; Deliorman, D.: “*Viscum album* L. (Ökseotu) Bitkisinin Kimyasal Bileşimi”, *Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Ankara, Türkiye, 24 **(1995)** 95-107.
- Frankel, E.N.; Meyer, A.S.: “The Problems of Using One-Dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food and Biological Antioxidants”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 **(2000)** 1925-1941.
- Gali, H.U.; Perchellet, E.M.; Gao, X.M., Bottari, V.; Perchellet, J.P.: “Antitumor Promoting Effects of Gallotannis Extracted from Various Sources in Mouse Skin *in vivo*”, *Anticancer Research*, 13 **(1993)** 915-922.
- Govaris, A.; Florou-Paneri, P.; Botsoglou, E.; Giannenas, I.; Amvrosiadis, I.; Botsoglou, N.: “The Inhibitory Potential of Feed Supplementation With Rosemary and/or α -Tocopheryl Acetate on Microbial Growth and Lipid Oxidation of Turkey Breast During Refrigerated Storage”, *LWT-Food Science and Technology, Phytochemistry*, 68 (6) **(2007)** 840-852.
- Gülçin, İ.; Elmasta, M.; Aboul-Enein, H.Y.: “Determination of Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) Assayed by Different Methodologies”, *Phytotherapy Research*, 21 **(2007)** 354-361.

- Heim, K.E.; Tagliaferro, A.R.; Bobilya, D.J.: “Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships”, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (2002) 572-584.
- Hossain, M.B.; Barry-Ryan, C.; Martin-Diana, A.B.; Brunton, N.P.: “Effect of Drying Method on the Antioxidant Capacity of Six Lamiaceae Herbs”, *Food Chemistry*, 123 (2010) 85-91.
- Ismail, A.; Marjan, Z.M.; Foong, C.W.: “Total Antioxidant Activity and Phenolic Content in Selected Vegetables”, *Food Chemistry*, 87 (2004) 581-586.
- İpek, A.: “Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis*) Hatlarında Azotlu Gübrelemenin Herba Verimi ve Bazı Özellikler Üzerine Etkileri”, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, (2007) 3.
- Kaur, C.; Kapoor, H.C.: “Antioxidants in Fruits and Vegetables- The Millennium’s Health”, *International Journal of Food Science and Technology*, 36 (2001) 703-725.
- Kızıl, S.: “Determination of Essential Oil Variations of *Thymbra spicata* var. *spicata* L. Naturally Growing in the Wild Flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia Regions of Turkey”, *Industrial Crops and Products*, 32 (2010) 593-600.
- Koşar, M.; Bozan, B.; Temelli, F.; Başer, K.H.C.: “Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Sumac (*Rhus coriaria* L.) Extracts”, *Food Chemistry*, 103 (2007) 952-959.
- Kurucu, S.; Koyuncu, M.; Güvenç, A.: “The Essential Oils of *Rhus coriaria* L. (sumac)”, *Journal of Essential Oil*, 5 (1993) 481-486.
- Latif, G.; Yadegari, D.; Rezaei, M. B.; Taghizadeh, M.; Astaneh, S.A.; Rasooli, I.: “Chemical and Biological Characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils”, *Food Chemistry*, 102 (3) (2007) 898-904.
- Liu, F.; Ng, T.B.: “Antioxidative and Free Radical Scavenging Activities of Selected Medicinal Herbs”, *Life Sciences*, 66 (8) (2000) 725-735.
- Lou, X.; Janssen H.G.; Cramers C.A.: “Parameters Affecting the Accelerated Solvent Extraction of Polymeric Samples”, *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 1598-1603.

- Malo, C.; Wilson, J.X.: “Glucose Modulates Vitamin C Transport in Adult Human Small Intestinal Brush Border Membrane Vesicles”, *Journal of Nutrition*, 130 (2000) 63-69.
- Martinez, L.; Cilla, I.; Beltran, J.A.; Roncales, P.: “Combined Effect of Modified Atmosphere Packaging and Addition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), Ascorbic Acid, Red Beet Root (*Beta vulgaris*), and Sodium Lactate and Their Mixtures on the Stability of Fresh Pork Sausages”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (13) (2006) 4674-4680.
- Mercan, U.: “Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi”, *Yüzyüncü yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (1-2) (2004) 91-96.
- Miliauskas, G.; Venskutonis P.R.; Van Beek, T.A.: “Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extracts”, *Food Chemistry*, 85 (2004) 231-237.
- Naidu, K.A.: “Vitamin C in human health and disease is still a mystery?”, *Journal of Nutrition*, 2 (2003) 1-10.
- Nishikimi, M.; Rao, N.A., Yagi, K.: “The Occurance of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Molecular Oxygen”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46 (2) (1972) 849-854.
- Olchowik, E.; Sciepek, A.; Mavlyanov, S.; Abdullajanova, N.; Zamaraeva, M.: “Antioxidant Capacities of Polyphenols From Sumac (*Rhus typhina* L.) Leaves in Protection of Erythrocytes Against Oxidative Damage”, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2 (2012) 99-105.
- Önay, E.: “Farklı Konakçı Ağaçlar Üzerinde Yaşayan Ökseotu Bitkisinde Biyokimyasal Analizler”, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (2002) 1-2.
- Özyürek, M.; Güçlü, K.; Apak, R.: “The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30 (4) (2011) 652-664.
- Parejo, I.; Codina, C.; Petrakis, C.; Kefalas, P.: “Evaluation of Scavenging Activity Assessed by Co(II)/EDTA Induced Luminol Chemiluminescence and DPPH’ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Free Radical Assay”, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44 (2000) 507-512.

- Pulido, R.; Bravo, L.; Saura-Calixto, F.: “Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols as Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 48 (8) **(2000)** 3396-3402.
- Richter, B.E.: “Extraction of Hydrocarbon Contamination from Soils Using Accelerated Solvent Extraction”, *Journal of Chromatography A*, 874 **(2000)** 217-224.
- Sasikumar, B.: “Rosemary”, *Hand Book of Herbs and Spices*, 2 nd Edition; Peter, K.V. Editor; CRC, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, **(2004)** 243-255.
- Sezgin, N.: “Adaçayı (*Salvia* spp.) Bitkisinde Antioksidan Maddelerin Araştırılması”, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, **(2006)** 7-17.
- Shon, M.Y.; Kim, T.H.; Sung, N.J.: “Antioxidants and Free Radical Scavenging Activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) Extracts”, *Food Chemistry*, 82 **(2003)** 593-597.
- Tavassoli, S.; Djomeh, Z.E.: “Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)”, *Global Veterinaria*, 7 (4) **(2011)** 337-341.
- Tekcan, M.: “Oksidatif Stres-Antioksidan Sistemler ve Testis”, *Derleme*, **(2009)** 131-136.
- Ünver, A.: “Sumak (*Rhus coriaria* L.) Meyvelerinden Oleorezin Üretimi Üzerine Araştırma”, *Doktora Tezi*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye, **(2006)** 1-6.
- Wojdylo, A.; Oszmianski, J.; Czemerys, R.: “Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs”, *Food Chemistry* , 105 **(2007)** 940-949.
- Yarita, T.: “Extraction Behavior of Accelerated Solvent Extraction of DDT Metabolite from Fish Matrix”, *Analytical Sciences*, 17 **(2001)** 913-915.
- Yoo, K.M.; Lee, C.H.; Lee, H.; Moon, B.; Lee, C.Y.: “Relative Antioxidant and Cytoprotective Activities of Common Herbs”, *Food Chemistry*, 106 **(2008)** 929-936.
- Yüksel, B.; Akbulut, S.; Keten, A.: “Çam Ökseotu (*Viscum album* ssp. *austriacum* (wiesb.) vollman)’nun Zararı, Biyolojisi ve Mücadelesi”,

Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, Isparta, Türkiye, 2
(2005) 111-124.

ÖZGEÇMİŞ

26 Nisan 1988’de İstanbul’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi 2006 yılında Özel Esayan Ermeni Lisesi’nde tamamlayarak, aynı yıl kazandığım Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nde lisans öğrenimime devam ettim. 2010 yılında Fen Edebiyat Fakültesi’nden mezun olup, aynı yıl Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı’nda yüksek lisans öğrenimime başladım. 26-29 Haziran 2012 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde düzenlenen 10. Uluslararası Farmasötik Bilimler Sempozyumu’na tezimin konusu olan “Hatay Yöresindeki Çeşitli Bitkilerden Elde Edilen Doğal Bileşiklerin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi” isimli poster bildirisi ile katıldım.