

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**SİNİR OTU (*Plantago major L.*) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ,
BAZI İZ ELEMENTLER (Cu, Zn, Fe ve Mn) VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Zeki YİĞİT

Danışman : Doç. Dr. Suat EKİN

VAN-2013

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**SİNİR OTU (*Plantago major L.*) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ, BAZI
İZ ELEMENTLER (Cu, Zn, Fe ve Mn) VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Zeki YİĞİT

VAN-2013

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Doç.Dr.Suat EKİN danışmanlığında, Zeki YİĞİT tarafından sunulan Sinir otu (*Plantago major L.*) bitkisinin antioksidan kapasitesi, bazı iz elementler (Cu, Zn, Fe ve Mn) ve vitamin C düzeylerinin araştırılması” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:

İmza:

Prof. Dr. Vedat TÜRKOĞLU

Üye:

İmza:

Doç. Dr. Suat EKİN

Üye:

İmza:

Yrd. Doç. Dr. Gökhan OTO

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza
Prof. Dr. Turgut AYGÜN
Enstitü Müdürü

ÖZET

SİNİR OTU (*Plantago major L.*) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ, BAZI İZ ELEMENTLER (Cu, Zn, Fe ve Mn) VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YİĞİT, Zeki

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Suat EKİN

Şubat 2013, 78 sayfa

Bazı bitkiler, serbest radikal temizleme özellikleri sayesinde antioksidan savunma sistemini düzenleyerek, serbest radikallerin neden olduğu zararlı etkileri önler. Bu çalışmanın amacı, *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstraktlarında antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ayrıca bazı iz elementler (Cu, Zn, Fe ve Mn), mineraller (Ca, K, Mg) ve vitamin C düzeylerini tesbit etmektir.

Yapılan çalışmada, bitkinin antioksidan aktivitesi su ve etanol ekstraktlarında DPPH ve süperoksit serbest radikal temizleme, hidrojen peroksit temizleme aktivitesi, toplam fenolik bileşen ve flavonoid miktarı spektrofotometrik olarak belirlendi. Bulunan sonuçlar, referans antioksidanlar troloks, α -tokoferol ve BHT ile karşılaştırıldı. Serbest radikal temizleme özelliğini, DPPH yöntemine göre belirlerken DPPH radikalini % 50 inhibe eden konsantrasyon değerleri (IC₅₀) hesaplandı.

Elde edilen değerlerin bir sonucu olarak *Plantago major L.* bitkisinin etanol ekstraktı yüksek DPPH ve hidrojen peroksit temizleme aktivitesi, fenol ve flavonoid içeriğine sahip olduğu, *Plantago major L.* bitkisinin su ekstraktı bu yönden daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği, bulunan antioksidan vitamin C değeri bu bitkinin antioksidan özellikte olduğunu göstermektedir. Bulunan verilerin ileride yapılacak çalışmalarda referans değer olarak ve deneysel olarak oluşturulacak oksidatif stresin sonucunda hayvan modellerinde oluşan serbest radikallere karşı antioksidan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan kapasite, İz element, Vitamin C, *Plantago major L.*

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY OF (*Plantago major L.*) LEVELS OF SOME TRACE ELEMENTS (Cu, Zn, Fe and Mn) AND VITAMIN C

YİĞİT, Zeki

Master of Science Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc.Prof. Dr. Suat EKİN

February 2013, 78 pages

Some Plants regulates antioxidant defense system in due to the effects of free radical scavenging properties, also prevents the harmful effects caused by free radicals. The purpose of this study was to determine the antioxidant and antiradical activities in water and ethanol extracts of *Crataegus meyeri*, in addition, to examine trace elements (Cu, Zn, Mn, Cd ve Mn) and minemerals (Ca, K, Mg) at the same time is to compare the antioxidant and antiradical activities of the plant.

In this study, levels of Vitamin C was measured with spectrophotometer. In ethanol and water extracts of *Plantago major L.* antioxidant and antiradical properties, with DPPH and superoxide free radical, hydrogen peroxide scavenging activity, the total phenolic and flavonoid compounds were determined using spectrophotometer. The results are compared with the reference antioxidants such as trolox, α -tocopherol and BHT. When determining free radical scavenging property according to the method DPPH, the concentration values that inhibits 50 % of DPPH radical (IC₅₀) was calculated.

The results of this study showed that ethanol extract of *Plantago major L.* has a high scavenging activity of DPPH, hydroxyl radicals and includes total phenolic and flavonoid compounds. In this aspect, water extract of *Plantago major L.* indicated by a lower antioxidant and antiradical activity, also vitamin levels were shown antioxidant properties of this plant. *Plantago major L.* is thought to be used as an antioxidant in future studies of experimental animal models, against free radicals generated in response to oxidative stress and also, it is thought that these data will be reference for future studies.

Key Words: *Plantago major L.*, Antioxidant capacity, Trace Element, Vitamin C

ÖNSÖZ

İnsan metabolizmasında vücudun oksijen kullanımındaki normal işlemler sırasında çevre kirliliği, sigara, dengesiz beslenme, gelişen teknolojiye bağlı endüstriyel kirlilik ve radyoaktif madde miktarındaki artışlar v.b. etmenlerin etkisiyle aktif oksijen formları oluşmaktadır. Oluşan aktif oksijen formları engellenmediğinde, DNA, protein, karbonhidrat ve lipitlerde yapısal bozulmalara yol açmaktadır. Dolayısıyla, hücre membranının hem yapısını hem de fonksiyonlarını bozarak, birçok dejeneratif hastalıklara neden olmaktadır. Antioksidanlar vücutta çok kısa ömürlü fakat saldırgan olan serbest radikaller diye adlandırılan moleküllerle savaşırlar ve etkisiz hale getirirler. Bu nedenle bu konuyu çalışmam için öneride bulunan, çalışmalarımı bilimsel etiğe uygun çalışmam ve bana yol gösteren, maddi manevi her türlü desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Suat EKİN' e, laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Mahire BAYRAMOĞLU'na, Hatice KIZILTAŞ'a, Ahmet GÖKTAŞOĞLU'na ve bu yorucu süreçte hiçbir desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan aileme, eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2010-FBE-YL043 No'lu ve "Sinir Otu (*Plantago Major L.*) bitkisinin Antioksidan Kapasitesi, Bazı İz Elementler (Cu, Zn, Fe ve Mn) ve Vitamin C Düzeylerinin Araştırılması" isimli proje olarak desteklenmiştir. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Zeki YİĞİT

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE/VEYA KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Plantago Major	1
1.1.1 Plantago major yapısındaki ana etken maddeler ve kimyasal yapıları.	1
1.2. Serbest Radikaller	2
1.2.1 Serbest radikallerin oluşumu	3
1.3. Serbest Oksijen Radikaller	3
1.3.1. Oksijen (O ₂)	3
1.3.2. Reaktif oksijen türleri (ROT)	4
1.3.3. Süperoksit radikali (O ₂ ⁻)	6
1.3.4. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	7
1.4. Serbest Radikallerin Organizmaya Etkileri	9
1.4.1. Lipitlere etkileri	9
1.4.2. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri	9
1.4.3. Serbest radikallerin proteinlere etkileri	10
1.4.4. Serbest radikallerin enzimlere etkileri	10
1.4.5. Serbest radikallerin nükleik asitlere etkileri	10
1.4.6. Serbest Radikallerin Hücreler ve Dokulara Etkileri	11
1.5. Serbest Radikallere Karşı Hücrel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar)	11
1.6. Antioksidan Sistem	12
1.6.1. Endojen antioksidanlar	14
1.6.2. Eksojen Antioksidanlar	15
1.7. Oksidatif Stres	16
1.8. İz Elementler ve Minareller	17
1.8.1. Bakır	19
1.8.2. Çinko	19
1.8.3. Demir	21
1.8.4. Mangan (Mn)	22
1.8.5. Magnezyum (Mg)	23
1.8.6. Kalsiyum (Ca)	24
1.8.7. Potasyum (K)	24
1.9. Vitaminler	25
1.9.1. Vitaminlerin Genel Özellikleri	25
1.9.2. C Vitamini (Askorbik Asit)	26
1.9.3. Vitamin C Sentezi	27

2. MATERYAL VE METOD	29
2.1. Bitki Materyali	29
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
2.3. Kullanılan Çözeltiler	30
2.4. Yaralanılan Alet ve Cihazlar	31
2.5. Su Ekstrelerinin Hazırlanması	31
2.6. Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması	32
2.7. Element Analizi	32
2.8. Vitamin C Analizi	33
2.9. Total Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	33
2.10. Ekstrelerin DPPH üzerinden Serbest Radikali Süpürücü Aktivitesinin Belirlenmesi	34
2.11. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti testi	34
2.12. DMPD ⁺ giderme aktivitesi tayini	35
2.13. Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi tayini	36
2.14. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini	36
2.15. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	37
2.16. Total flavonoit miktarı tayini	37
2.17. Ferröz iyonları (Fe^{2+}) şelatlama aktivitesi tayini	38
2.18. İstatistiksel Analizler	38
3. BULGULAR	39
3.1. İz Elementler, Mineraller ve Askorbik Asit Miktarı Analiz Sonuçları	39
3.2. Total Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	41
3.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları	43
3.3.1. Trolox DPPH inhibisyon grafiği	45
3.3.2. Etanol DPPH inhibisyon grafiği	46
3.3.3. Su DPPH inhibisyon grafiği	47
3.4. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti	48
3.5. DMPD ⁺ giderme aktivitesi	52
3.6. Süperoksit Anyon Radikali Giderme	54
3.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi	56
3.8. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	58
3.9. Toplam Flavanoid Miktarı	58
3.10. Metal Şelatlama Miktarı	59
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	63
5. KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.1. Serbest radikalın nötralizasyonu.
- Şekil 1.2. Oksidatif stres.
- Şekil.3.1. *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısmı iz element (Mn, Zn, Cu, ve Fe) düzeyleri.
- Şekil 3.2. *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısmı mineral (Ca, K, Mg) düzeyleri
- Şekil 3.3. Vitamin C kalibrasyon grafiği.
- Şekil 3.4. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT ve α-tokoferol ile karşılaştırması ve *Plantago major L.* bitkisinin linoleik asit peroksidasyonunun zamanla değişimi.
- Şekil.3.5. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının 36.saat sonundaki % inhibisyon değerlerinin kendi aralarında ve BHT ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.
- Şekil.3.6. DPPH radikali inhibisyonunun troloks konsantrasyonlarıyla değişimi.
- Şekil.3.7. DPPH radikali inhibisyonunun *Plantago major L.* bitkisi etanol ekstresinin konsantrasyonlarıyla değişimi.
- Şekil 3.8. DPPH radikali inhibisyonunun *Plantago major L.* bitkisi su ekstresinin konsantrasyonlarıyla değişimi.
- Şekil 3.9. *Plantago major L.* (15-45 µg/ml) su ve etanol ekstralarının indirgeme gücü ölçümünde 700 nm absorbans değerlerinin kendi aralarında ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.
- Şekil 3.10. *Plantago major L.* (15-45 µg/ml) su ve etanol ekstralarının indirgeme gücü ölçümünde 700 nm absorbans değerlerinin kendi aralarında ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.
- Şekil 3.11. DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi tayininde kullanılan standart grafiği.
- Şekil 3.12. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (15-45 µg/ml) DMPD⁺⁺ giderme aktivitelerinin standart antioksidan olan troloks ile karşılaştırması.
- Şekil 3.13. *Plantago major L.* bitkisinin 45 µg/ml konsantrasyonunda DMPD⁺⁺ giderme aktivite yüzdesinin standart antioksidan olan troloks ile karşılaştırması.
- Şekil 3.14. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraları ile bir standart antioksidan olan trolox'un aynı konsantrasyonunda (60 µg/ml) süperoksit anyon radikalleri giderme aktiviteleri.
- Şekil 3.15. *Plantago major L.* 30 µg/ml konsantrasyonunda hidrojen peroksit giderme aktivitesinin bir standart antioksidan olan α-tokoferol ile karşılaştırması.
- Şekil 3.16. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/ml) ferröz iyonları (Fe²⁺) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan α-tokoferol ile karşılaştırması
- Şekil 3.17. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarında α-tokoferolün 30 µg/ml konsantrasyonunda ferröz iyonları (Fe²⁺) şelatlama aktivite yüzdeleri.

ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 1.1. Reaktif oksijen türleri
- Çizelge.3.1. *Plantago major L.* bitkisinde iz element (Cu, Zn, Mn ve Fe) bazı minareller (Ca, K, ve Mg) ve Vitamin C düzeyleri
- Çizelge 3.2. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin (α - tokoferol, BHT) total antioksidan aktivite (% İnhibisyon) değerleri
- Çizelge 3.4. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ve DPPH radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri
- Çizelge 3.5. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin indirgenme kuvveti aktivitelerinin inhibisyon değerleri
- Çizelge 3.6. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 45 $\mu\text{g/ml}$ 'de $\text{DMPD}^{+\bullet}$ giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri
- Çizelge 3.7. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 60 $\mu\text{g/ml}$ 'de süperoksit anyon radikali giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri
- Çizelg 3.8. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 30 $\mu\text{g/ml}$ 'de hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri
- Çizelge 3.9. *Plantago major L.* bitkisinde toplam flovanooid ve fenolik bileşik miktarı
- Çizelge 3.10. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 100 $\mu\text{g/ml}$ 'de metal-şelat aktivitelerinin inhibisyon değerleri

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cm	Santimetre
°C	Santigrat derece sıcaklığı
dk	Dakika
eV	Elektrovolt
g	Gram
km	Kilometre
lt	Litre
m	Metre
M	Molarite
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
nM	Nanomolar

Kısaltmalar

BHA	Bütillenmiş hidrokdiانىsol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoulen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DMPD	N,N-dimetil-p fenilendiamin
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktifi
GSSSG-Rx	Glutasyon redüktaz
GPOD	Glutasyon peroksidaz
G6PD	6-fosfat dehidrogenaz
GR	Glutasyon redüktaz
GS·	Tiyil radikali
GSH	Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş glutasyon
POD	Peroksidaz
PG	Propil gallat
RDA	Tavsiye edilen günlük alım
SOD	Süperoksit dismutaz
NT	Tehdide açık teklike katagorisi
NBT	Nitroblue
UV	Utraviyole
TCA	Trikloroasetik asit
TBHQ	Terbütillhidrokinon

1. GİRİŞ

1.1. *Plantago major L.*

Plantago major L. plantaginaceae familyasına ait bitkidir. Bu bitki yaklaşık olarak 15 cm yüksekliğinde olabilir. Ancak boyutu yaşam alanlarına bağlı olarak değişir. Yaprakları oval, kısa saplı, kenarları dişli veya dalgalıdır. Birçok etnofarmakolojik çalışmalar *Plantago major L.* bitkisinin dünyanın çoğu yerlerinde deri hastalıkları, bulaşıcı hastalıkları, sindirim hastalıkları, tümörlerle ilgili hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı gösterilmiştir. *Plantago major L.* polisakkaridler, lipidler, kafeik asit ve türevleri flavonoidler, glikozitler ve terpenoidler gibi biyolojik aktiviteye sahip birçok bileşikler içermektedir (Samuelsen, 2000).

1.1.1 *Plantago major L.* yapısındaki ana etken maddeler ve kimyasal yapıları

Aucubin: Monoterpen sınıfı iridoit glikozitidir. Antiinflamatuvar ve antibiyotik etkilidir. Antibiyotik etkisini Aucubin'in Aucubigenin'e dönüşmesi ile gösterir. Antiinflamatuvar etkisini tromboksan sentetaz enzimini inhibe ederek gerçekleştirir (<http://www.telefarma.com.tr>).

Ursolic Acid: Tıpta kullanımı olan pek çok bitkiden elde edilen ursolic acid'in çok fazla farmakolojik etkisi vardır. Bunlardan başlıcaları; Antiinflamatuvar, antiülser, antimikrobiyal ve antiviral etkileridir. Ursolic acid potansiyel bir Antiinflamatuvar ajandır. *Plantago major L.*'dan elde edilen Ursolic acid selektif olarak prostaglandin sentezi aşamasında inhibe ederek inflamasyonu giderdiği saptanmıştır (<http://www.telefarma.com.tr>).

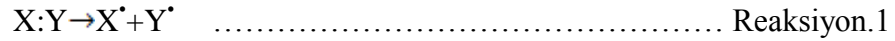
Plantagomajoside: En önemli caffeic acid türevidir. Antiinflamatuvar etkili olup bu etkisini araşidonik asit metabolizmasını inhibe ederek gösterir. Bu işlemi 5-lipoksijenaz üzerinden gerçekleştirir. *Plantago major L.* AOM (anti orta kulak iltihabı) 'da

inflamasyonun giderilmesini sağlayarak kulakta meydana gelen ağrıyı rahatlatır (<http://www.telefarma.com.tr>).

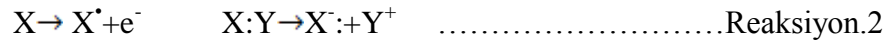
1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektronlardan dolayı reaktif oksijen parçalarıyla reaksiyona girerek serbest radikalleri oluşturur ve bu olayda vücut hücrelerinde devamlı oluşur. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir.

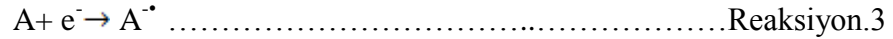
1.Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi



2.Normal bir molekülde tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelir.



3.Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler (Çalışkan, 2007).

1.2.1 Serbest radikallerin oluşumu

- (1) İyonize radyasyon, UV, Çevre kirliliği, Sigara dumanı, hiperoksi, aşırı egzersiz sırasında.
- (2) Enfeksiyonların neden olduğu reaksiyonlarda, fagositler tarafından hücre içine alınan bakteri ve diğer canlıların öldürülmesi amacıyla.
- (3) Normal hücre metabolizma esnasındaki oksijen içeren biyokimyasal reaksiyonlarda serbest radikaller oluşur (Çalışkan, 2007).

1.3. Serbest Oksijen Radikaller

1.3.1. Oksijen (O₂)

Total oksijen tüketimimizin % 90'ından fazlasından elektron transport zinciri (solunum zinciri), % 5-10'undan da diğer oksijen gerektiren reaksiyonlar sorumludur. Elektron transport zincirinde moleküler oksijen, yakıtlardan (glukoz, yağ asidi ve amino asitlerin karbon iskeleti) türeyen NADH ve FADH₂'den elektronları alarak suya indirgenir. Bu yolda oksijen molekülünün kuvveti oksitleyici gücü, ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağı haline dönüştürülür. (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

Moleküller oksijen gerektiren fakat ATP'nin oluşumu reaksiyonuyla eşleşmeyen diğer reaksiyonlar, aminoasitlerin katabolizması, ilaçların detoksifikasyonu ve steroid hormonların sentezi gibi spesifik metabolik yollar için önemlidirler. Bu reaksiyonlarda diğer oksidazlar (oksijen suya veya hidrojen peroksida indirgeyen enzimler) ve oksijenazlar (oksijeni okside olan moleküle bağlayan enzimler) görev alırlar. (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

Moleküler oksijen (O₂), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşlenmemiş) elektrona sahiptir. Eşleşmemiş elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest

radikal olarak tanımlanır. Ancak Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilemezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organizmada geçiş metallerini (Fe^{3+} ve Cu^{2+} gibi metaller) içeren enzimler vasıtasıyla moleküller oksijene tek elektronların transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijen, biradikal (diradikal) doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturma eğilimindedir (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

1.3.2. Reaktif oksijen türleri (ROT)

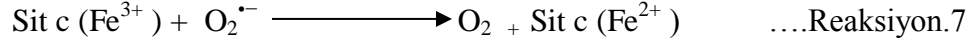
ROT oksijenden türemiş kimyasal olarak reaktif bir çok molekülü içermektedir (Halliwell, 1999; Nordberg ve Arner, 2001). Bu moleküllerin bazıları son derece reaktiftir, örneğin, hidroksil radikali; bazıları ise daha az reaktiftir (süperoksit ve hidrojen peroksit gibi). İntrasellüler serbest radikaller, örneğin, eşleşmemiş elektronu bulunan serbest, düşük moleküller ağırlıklı moleküller genellikle reaktif oksijen türleridir veya bunun tam terside geçerlidir. Bu iki terim bu nedenle genellikle birbirinin eşdeğeri olarak kullanılmaktadır (Nordberg ve Arner, 2001).

Çizelge 1.1. Reaktif oksijen türleri (Nordberg ve Arner, 2001)

ROT Molekülü	Oluşum kaynakları	Enzimatik savunma Sistemleri	Ürün(ler)
Superoksit ($O_2^{\bullet -}$)	- Elektron iletim zincirinden elektronların 'sızıntısı' - Aktive edilmiş fagositler - Ksantin oksidaz - Flavoenzimle	Superoksit (SOD) Superoksit (bazı Bakterilerde)	dismutaz reduktaz $H_2O_2 + O_2$ H_2O_2
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	- Superoksit dismutaz (SOD) yoluyla $O_2^{\bullet -}$ den - NADPH-Oksidaz (notrofiller) - Glukoz oksidaz - Ksantin oksidaz	Glutasyon peroksidaz Katalazlar Peroksiredoksinler (Prx)	$H_2O + GSSG$ $H_2O + O_2$ H_2O
Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	Geciş metalleri (Fe veya Cu) yoluyla $O_2^{\bullet -}$ ve H_2O_2 'den		
Nitrik oksit ($NO\cdot$)	- Nitrik oksit sentetazlar	Glutasyon/TrxR	GSNO

Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluşturduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller ($R\cdot$), peroksit radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksi radikaller ($RO\cdot$), tiyil radikalleri ($RS\cdot$), sülfenil radikalleri ($RSO\cdot$), tiyil peroksit radikalleri ($RSO_2\cdot$) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

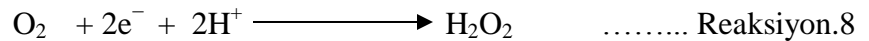
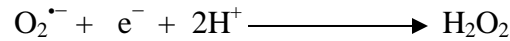
Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.



Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO^{\bullet}) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO^-) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO_2^{\bullet}), hidroksil radikali (OH^{\bullet}), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksit ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin (NO^{\bullet}) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

1.3.4. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

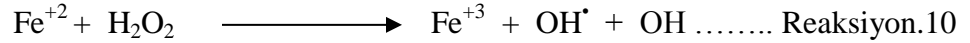


Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.

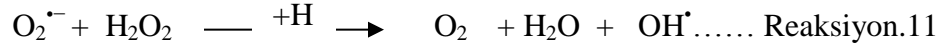


Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROT) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallere varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O_2^-) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH^\bullet) oluşturur.

Fenton reaksiyonu;

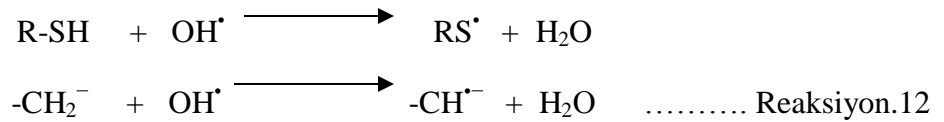


Haber-weiss reaksiyonu;



Süperoksit radikalininin yağda çözünürlüğü sınırlı olduğu halde hidrojen peoksit yağda çözünür. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe^{2+} içeren membranlarda hasar oluşturabilir (Daw ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROT) en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS^\bullet), karbon merkezli organik radikaller (R^\bullet), organik peroksitler ($RCOO^\bullet$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).



1.4. Serbest Radikallerin Organizmaya Etkileri

1.4.1. Lipitlere etkileri

Bütün biyolojik moleküller içerisinde serbest radikallere karşı en hassas olan ve onlardan en çok etkilenen lipidlerdir. Yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Ayrıca reaktif oksijen türleri karakteristik etkileriyle diğer bileşiklerde olduğu gibi lipidlerdende elektron kopararak lipid radikalleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına “lipid peroksidasyonu” denilmektedir. Bu durum yeni radikaller üreterek zincir reaksiyonlara neden olduğu için çok zararlıdır ve meydana gelen hasar dönüşümsüzdür (Yöntem ve Ünaldı, 2011).

1.4.2. Serbest radikallerin karbohidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda peroksitler, hidrojen peroksit, gliksal ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Yöntem ve Ünaldı, 2011).

Bağ dokunun önemli mukopolisakkariti olan hiyalüronik asit, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalinin etkisi altında parçalanmaktadır. Bu durumda hiyalüronik asidin bol bulunduğu yerlerde patolojik lezyonlar meydana gelir. (Enflamatuar eklem hastalıkları ve katarakt) (Yöntem ve Ünaldı, 2011).

1.4.3. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler de serbest radikallerin hedefleridirler. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve – SH grubu içeren proteinler kolayca okside olabilirler (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin sistein). Proteinler üzerine serbest radikal hücumuyla, farklı aminoasitler arasında eletron transferi olabilir veya aminoasit kalıntılarında radikaller şekillenebilir. (Yöntem ve Ünalı, 2011).

1.4.4. Serbest radikallerin enzimlere etkileri

Serbest radikaller proteolitik ve katabolik enzimleri arttırırlar. Proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi enzimleri aktifleştirir. α -1-antitripsini inaktive ederler (Yöntem ve Ünalı, 2011).

1.4.5. Serbest radikallerin nükleik asitlere etkileri

Bütün antioksidan savunma sistemlerine rağmen vücutta bazen serbest radikaller açığa çıkarak hasara sebep olabilir. Serbest radikallerin özellikle DNA üzerine yaptıkları hasar önemlidir. DNA'nın nükleotitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller DNA dizisinde çatlaklar meydana getirebilir ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açabilir. Oksidatif stres sonucu hücre içi kalsiyum seviyesinin aşırı derecede artışı, endonükleazı aktive ederek DNA fragmentasyonuna sebep olabilir. (Yöntem ve Ünalı, 2011).

1.4.6. Serbest Radikallerin Hücreler ve Dokulara Etkileri

Serbest radikallerin hücrelerde; potasyum ve fosfolipid kaybının artması, kapiller permeabilitenin ve mitokondride aerobik solunumun bozulması, hücrede kalsiyum ve demir girişiyle trombosit agregasyonunun artması şeklinde zararlı etkileri vardır. Ayrıca kalsiyum dengesinin bozulması hücrenin ölümüne yol açar.

Serbest radikallerin hücre ve dokularda yol açtığı zararlar şöyledir.

- DNA'nın tahrip olması
- Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı
- Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonların bozulması ve hücre ortamının tiol\disülfit oranının değişmesi
- Protein ve lipidlere kovalent bağlanması
- Mukopolisakaritlerin yıkımı
- Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler
- Proteinlerin tahrip olması ve turnoverin artması
- Lipid peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyon değişmesi
- Zar proteinlerin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü bileşiklerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması (Yöntem ve Ünalı, 2011).

1.5. Serbest Radikallere Karşı Hücrel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar)

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar 'antioksidan savunma sistemleri' veya kısaca 'antioksidanlar' olarak bilinirler.

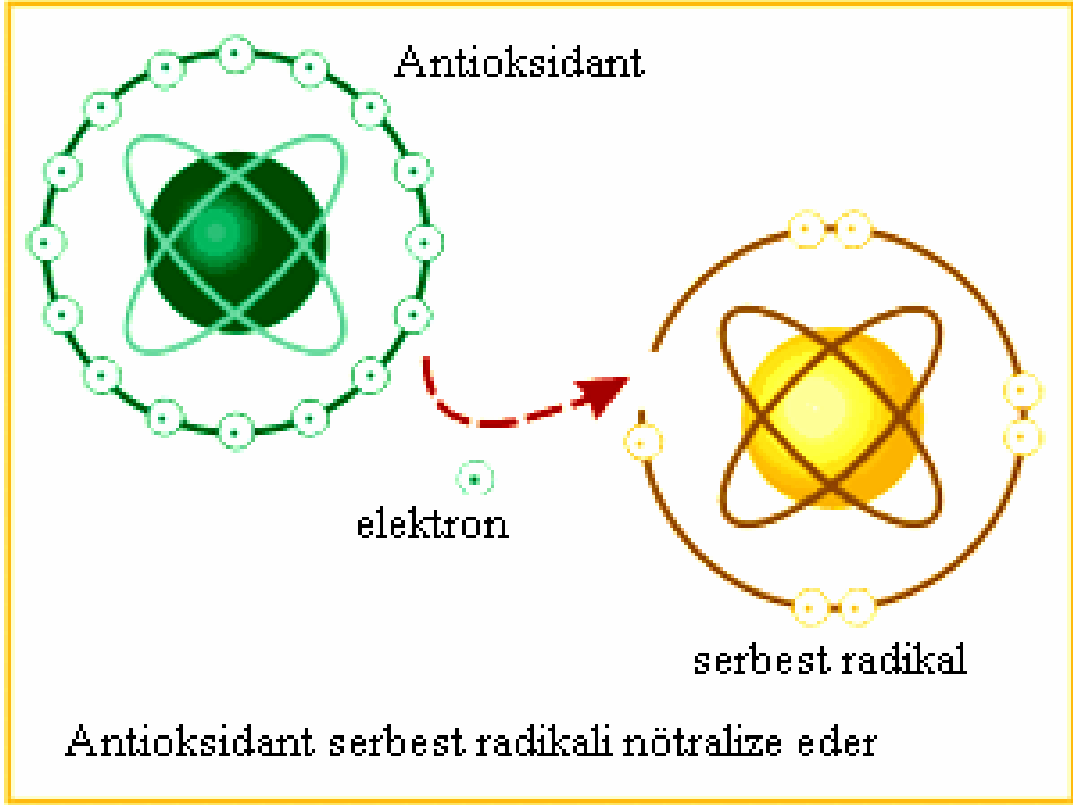
Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.

1.6. Antioksidan Sistem

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere 'antioksidan' adı verilir (Elliot, 1999). Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedir (Diplock 1998). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou ve ark., 2002).

Antioksidan sistem; serbest radikalleri hücre zarına, nükleik asitlere (DNA) ve hücre bileşenlerine saldırmadan kendine çeker ve bağlar.



Şekil 1.1. Serbest radikalin nötralizasyonu (Engin, 2007)

Günümüzde antioksidanların gıda sanayinde kullanımı oldukça yaygın olup hemen hemen tükettiğimiz her ürüne antioksidan maddeler katılmaktadır. Bunlar gıdaları bozulmaya karşı korumakta olup onların daha uzun süreli saklanması sağlar, Bunlardan bazıları bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) bileşikleridir. Ancak bunların toksik etkilerinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle son yıllarda yeni, daha güvenli ve ucuz antioksidan maddelerin bulunması için doğal ürünler üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

Antioksidanlar vücutta çok kısa ömürlü fakat saldırgan olan serbest radikaller diye adlandırılan moleküllerle savaşırlar. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler.

Sürekli gelişmekte olan teknoloji, oluşan çevre kirliliği, sigara, UV vb. pek çok diğer etken sürekli olarak çeşitli toksik maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden

olmaktadır. Bu etkiler kendini serbest radikal oluşumuyla gösterir. Tüm bu nedenlerden dolayı dış etkilere oluşan hastalıklar artmakta, genetik hastalıkların da çevresel etkilere daha çok belirginleşmesine neden olmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle bu hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. Bunun için de ilaçlardan öte alınan besinler önem kazanmaktadır. Serbest radikallerin etkilerini önleyen ve gıdalarda bol miktarda bulunması gereken C vitamini ve E vitamini kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkların oluşumunu önlemektedir. Besinlerin dışında dışarıdan yapılacak takviyelerin de yararlı olduğu yapılan doz tespit çalışmalarıyla anlaşılmıştır. Ancak vücudun hassas dengesi alınacak aşırı dozlarla bozulabilmekte, bunun sınırının konabilmesi gerekmektedir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

1.6.1. Endojen antioksidanlar

Endojen Antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:

1. Süperoksit dismutaz (SOD)
2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
3. Glutasyon S-Transferazler (GST)
4. Katalaz (CAT)
5. Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
6. Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Melatonin
- 2) Seruloplazmin
- 3) Transferrin
- 4) Miyogloblin

- 5) Hemoglobin
- 6) Ferritin
- 7) Bilirubin
- 8) Glutasyon
- 9) Sistein
- 10) Metiyonin
- 11) Ürat
- 12) Laktoferrin
- 13) Albümin

1.6.2. Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) α - tokoferol (vitamin E)
- 2) β -karoten
- 3) Askorbik asit (vitamin C)
- 4) Folik asit (folat)

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, dipfenilin iodonium)
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4) Trolox-C (vitamin E analogu)
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mammitol, albümin)
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri
- 9) Sitokinlar (TNF ve IL-1)
- 10) Barbitüratlar
- 11) Demir şelatörleri

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)
- 2) Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)
- 3) Sodyum benzoat
- 4) Etoksikuin
- 5) Propilgallat
- 6) Fe-superoksit dismutaz (SOD)

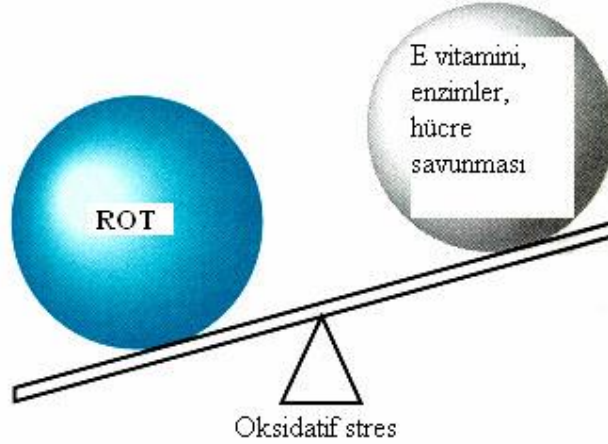
1.7. Oksidatif Stres

Oksidatif stress reaktif oksijen türlerinin şekillenmesiyle, antioksidan savunma aktivitesi arasındaki dengesizliği ifade eder. Bu durum reaktif oksijen türlerinin artması veya antioksidan savunma yetersizliği şeklinde yada her ikisinin birden gelişmesiyle ortaya çıkar. Oksidatif stres hücrelerdeki pekçok fizyolojik olayı etkilemektedir. Ağır oksidatif stres, hücrelerin hasar görmesine ve hatta ölümüne bile sebep olmaktadır.

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluştuğunu biliyoruz. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızmakta, moleküler oksijenle kazara etkileşerek serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadır.

Hücrede normal reaktif oksijen türleri (ROT), “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılır. Ancak bazen hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen

türleri (ROT) oluşabilir. Organizmada Hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılandan daha fazla reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana gelmesine yol açar.



Şekil 1.2. Oksidatif stress.(Engin, 2007).

Oksidatif stresin, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarıyla birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsis, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, down sendromu, yaşlanma, retroental fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumların patogenezinde oksidatif stresin rolünden söz edilmektedir. (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

1.8. İz Elementler ve Minareller

İz elementler, vücuttaki toplam ağırlığı 4 mg'dan az olduğu halde insanda biyolojik fonksiyonlar için gerekli olan metallerdir. Bunlar vücutta sayısız enzimatik reaksiyondaki enzimlerin en az yarısının kofaktörüdürler (Yaylalı ve Sözer, 1995).

İnsan ve hayvan organizmasında metallerin başlıca birikim yeri böbrek ve karaciğerdir. Vücudun diğer kısımlarında ve ette daha az miktarlarda bulunur. Bitkiler, yetiştiği alanda toprakta bulunan metal kalıntılarını biriktirme özelliği gösterir. Metal kalıntıları en yüksek oranda bitkinin yeşil kısımlarında (yaprak, kök ve gövdesinde) bulunur. Bu durum hayvanların, özellikle bitkilerin yeşil kısımlarını yemeleri nedeniyle önem taşır. Sanayinin gelişmesi sonucu çevrenin kirlenmesi yoluyla Cd, Pb, Cu, Zn gibi bir takım metallerin vücutta birikime yol açtığı bildirilmektedir (Browning, 1969; Sonal, 1986; Alexandris, 1990; Connell ve Miller, 1984; Friberg ve ark.; Underwood, 1977).

Çevre kirlenmesine paralel olarak, gıda kaynakları da kirlenmeye uğramakta ve insanlar için önemli sağlık sorunları oluşturabilmektedir. İnsan açısından ekolojik döngü kavramının önemli bir uygulaması, biyolojik birikim denilen bir olaydır. Kirlenici maddelerin bir kısmı besin zincirinde birikirken, bir kısmı ise birikmez. Bazı kirleniciler besin zincirinin ilk halkalarında düşük düzeylerde bulunsalar bile, birbirini izleyen halkalarda artan yoğunluklarda bulunabilirler ki, bu olay biyolojik birikimdir. Bazı metal iyonları da biyolojik olarak birikebilen maddelerdendir. Bitkiler; atmosferden, atık su ve çamurlardan toprağa bulaşmış olan ağır metalleri derişimlerine bağlı olarak biriktirme eğilimindedir. Bitkiler, özellikle kadmiyum gibi bazı elementlere çok geniş sınırlar içinde tolerans göstermektedirler. Bundan dolayı tarım ürünlerinde, insan ve hayvan beslenmesinde olumsuzluk oluşturacak düzeyde metal birikimi söz konusudur (Müller ve ark., 1994; Demet ve Baş, 1992).

Atomik absorpsiyon, bir elementin serbest atomlarının bu element için spesifik dalga boyunda ışığı absorplamasına bağlı olan fiziksel bir işlemdir. Işık kaynağı olarak her elemente özgü monokromatik ışınım veren lambalar kullanılır. Işık kaynağından çıkan elektromanyetik dalganın atom buharı ile etkileşmesi sonucu şiddetindeki azalma ölçülür (Genç ve ark., 1988; Greenberg ve ark., 1986; Munoz, 1968; Varma, 1983). Bu çalışmada iz element ve mineral analizleri, Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntem iz element analizlerinde yaygın olarak kullanılır.

1.8.1. Bakır

4. periyotta yer alan ve molekül ağırlığı 64 g olan bir geçiş elementidir. +1, +2 değerlikte bulunabilir (Erdik ve Sarıkaya, 2002). Vücuttaki toplam miktarı 80 mg'dır (World Health Organization, 1996).

Normal insan metabolizmasının devamı için günde 2 mg bakır gereklidir. Bu doz bebeklerde 80 mg/kg, çocukta 40 mg/kg, yetişkinde 30 mg/kg dır (Browning, 1969).

Bakırın bitkisel ve hayvansal dokularda varlığı, uzun yıllardan beri bilinmektedir. Karaciğer, et, kabuklu deniz ürünleri, fındık, ceviz ve sebzelerde oldukça yaygındır. Süt, daha az bakır içerir. İçilen sudaki bakır miktarı, kaynağına bağlıdır. Deniz ürünleri, kuru sebzeler bakırca zengindir (Üstdal ve ark., 1991).

Omurgalılarda oynadığı en önemli rolü anemiyi önlemesidir. Son yıllarda kan pıhtılaşmasında da bakırın rolü olduğu ortaya çıkmıştır (Üstdal ve ark., 1991). Vücut içindeki bakırın direkt olarak bakır içeren sitokrom oksidaz, seruloplazmin, süperoksitdismutaz, monofenolmonoksinegaz tirozinaz, dopamin β -monoksigenaz, ürikaz gibi metaloenzimlerde de fizyolojik fonksiyonu vardır (Sandstead ve ark., 1970; Mooradian ve ark., 1994 ; World Health Organization,1996).

Yüksek düzeyde bakır içeren besinler; kabuklular, kabuklu kuruyemişler, baklagiller, kakao ve etlerdir. Düşük düzeyde bakır içeren besinler ise margarin, bal, şeker, peynir, tereyağı ve süttür (Sandstead ve ark.,1970).

1.8.2. Çinko

Çinko 4. periyotta yer alan ve molekül ağırlığı 65 g olan bir geçiş elementidir. +2 değerlik alabilir (Erdik ve Sarıkaya., 2002).

Çinko normal gelişim, üreme ve hayvanların yaşam sürelerinin devamı için esansiyel bir elementtir (Perry, 1990).

Çinko tüm doku ve vücut sıvılarında mevcuttur. Yetişkin bir insan bedeni 2 g dolayında Çinko içerir (Üstdal ve ark., 1991; Underwood, 1977).

Bitki ve hayvan kaynaklı besinlerde çok yaygındır. Başka bir deyişle, büyüme ve gelişme gösteren her biyolojik materyalde yeter miktarda bulunur. Çinko pratik olarak tüm bitkilerde çeşitli miktarlarda mevcuttur. Sebzelerde 1'den 10 ppm'e kadar, tahıllarda 140 ppm'nin üstünde, buğday endospermi, ıstiridye ve bira mayası zengin kaynaklarıdır (Browning, 1969; Yenson, 1988).

Çinko başlıca nükleik asit ve protein metabolizmasında ve bu nedenle hücre replikasyonunun temel işlemine karışır. Başka türlü ifade edilirse kollagen sentezinde, DNA ve RNA içinde ve beyindeki protein oluşumunda çinkonun rolü vardır (Browning, 1969, Underwood, 1977).

Çinko, sığır eritrositinde karbonik anhidraz, inek pankreasında karboksipeptidaz, at ve sığır karaciğerinde alkol dehidrogenaz ve glutamik dehidrogenaz, tavşan iskelet kasında laktik dehidrogenaz; domuz böbreğinde alkalın fosfataz gibi birtakım enzimlerin yapısında olduğu saptanmıştır (Browning, 1969, Underwood, 1977; Plunkett, 1996;).

Çinko metalloenzimlerinde metal, aktif yere yakın bağlıdır ve katalitik olayda görev alır. Metal atomları proteine sıkı bir şekilde bağlanır. Çinko kaybında metalloenzim aktiviteleri, farklı Zn-metalloenzimlere göre değişir. Aktivite kaybı şiddeti, enzimin çinkoya afinitesiyle ilgilidir. Pankreatik karboksipeptidaz A, timidin kinaz ve alkalın fosfataz aktivitesi çinko eksikliğine ilgili olarak önemli derecede düşerken, bazı dehidrojenazlar pek etkilenmez. Çinko eksikliği olan hayvanlarda kan, mide, bağırsak karbonik anhidraz aktivitesinde düşme görülür. Orak hücre anemisi olan kişilerde de bu enzim düşüktür ki, bu şahısların eritrositleri düşük çinko içerirler. Bu enzimlerin aktiviteleri çinko eksikliği için bir gösterge sayılabilmektedir. Çinko eksikliğine bağlı olarak, çeşitli hayvan dokularında RNA/DNA oranı etkilenmektedir. Düşük RNA seviyeleri ve RNA/DNA oranları polinükleotidlerin hem artan yıkımı (yükselen plazma ribonükleaz aktivitesi), hem de azalan biyosentez sonucudur (Underwood, 1977; Üstdal ve ark., 1991).

Çinko birçok büyük metabolik döngülerdeki enzimlerin bileşiminde esansiyeldir (Mooradin ve ark., 1994). Karbonik anhidraz, alkoldehidrogenaz, alkalınfosfataz, karboksipeptidazlar, laktik dehidrogenaz metalloenzimlerinin yapısında bulunur (Sandstead ve ark., 1970; Underwood, 1977; Browning, 1969; Plunkett, 1996). Metalloproteinin bir çinko proteini olarak rol oynadığına inanılmaktadır (Üstdal ve ark., 1991).

Çinkonun biyokimyasal rolü, enzimlerin büyük bir çoğunluğu ile olan ilişkisi veya membranların ve subsellüler bileşimlerinin molekül yapısının dayanıklılığı ve stabilitesi şeklindedir. Çinko karbohidrat, lipid, protein ve nükleik asitlerin sentezine ve dehidrasyonuna katılır. Son zamanlarda polinükleotid transkripsiyon ve translasyonunda görev yaptığı bu yolla genetik ifade işleminde esansiyel bir rol oynadığı gözlemlenmiştir (World Health Organization, 1996).

Bitki ve hayvan kaynaklı besinlerde çinko çok yaygındır. Sebzeler, tahıllar, buğday, ıstiridye, bira mayası zengin çinko kaynaklarıdır (Browning, 1969; Yenson, 1988).

1.8.3. Demir

Demir 4. periyotta bulunan molekül ağırlığı 56 g bir geçiş elementidir. +2 ve +3 değerlik alabilir (Erdik ve Sarıkaya., 2002).

Vücutta 4-5 g bulunur. Bunun 2-3 g'ı hemoglobinde bulunur, 1-1.5 g'ı ise ferritin ve hemosiderin halinde depo edilir geri kalan miyogloblin, solunum enzimleri ve plazmada yer alır (Akalin ve ark., 1989).

Demir başta hemoglobin olmak üzere vücutta oksidasyon-redüksiyon, H_2O_2 kullanılması, oksijen taşıma, depolama, enzim aktivasyonu gibi bir çok metabolik olaylarda rol oynayan bir elementtir (Üstdal ve ark., 1991).

Hem sentezi, globuline bağlı olarak kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin son safhasında yer alır. Hem biyosentezinde δ -aminolevülinik asidin iki molekülünün ALAD (amino levilnik asit dehidrataz) enziminin etkisiyle porfobilinojen şekline dönüşür (Browning, 1969, Underwood, 1977).

Yumurta sarısı, kakao, midye, maydanoz, demir açısından zengin kaynaklardır. Balık, fındık, yeşil sebzeler orta derecede demir içeren besinlerdir. Süt, süt ürünleri, şeker, un, prinç, patates ve tüm taze meyveler az miktarda demir içeren besinlerdir (Üstdal ve ark., 1991).

Fitat ve absorbe olmayan kelat yapıcı ajanlar, demir emilimini inhibe eder. Yüksek seviyede fosfat demir absorpsiyonunu azaltır. Fazla alınmış Zn, Cd, Cu, Mn elementleri

demir absorpsiyonunu önler. Bu durumun intestinal mukozada emilme esnasında protein bağlanma yerinde yarışma ile olduğu sanılmaktadır. Yeterli miktarda diyet kalsiyumu da, demirin yerine fosfat ve fitat gibi yapılara bağlama, demirin daha çok emilmesini sağlar (Underwood, 1977).

Enzimlerdeki demir, demir kompartmanları içerisinde en az olmasına rağmen, yaşam için çok önemli rol oynar. Demirli enzimler şöyle sınıflandırılabilir; Hem-protein yapısında olanlar; sitokromlar, sitokrom c oksidaz, lipoksidaz, katalaz, triptofan pirrolaz, homogentizat oksidaz, peroksidaz (Underwood, 1977; Üstdal ve ark., 1991).

Demir-flavoprotein yapısında olanlar; sitokrom c redüktaz, süksinat dehidrogenaz, açıl CoA dehidrogenaz, ksantin oksidaz. Kofaktör olarak demire ihtiyaç duyan enzimler; Akonitaz, süksinat dehidrogenaz (Underwood, 1977; Üstdal ve ark., 1991).

Serbest demir toksiktir. Normal şekilde demir transferrine bağlı olarak ferritin ve hemosiderin için proteine depo edilmesinde ve hemoglobin ile birleşerek eritrosit içinde proteine bağlıdır (Zilva ve ark., 1992).

1.8.4. Mangan (Mn)

Mangan birçok enzimin hem bir aktivatörü hem de bir bileşenidir. Mangan tarafından aktive olan bu enzimlere hidrolazlar, kinazlar, dekarboksilazlar ve transferazlar örnektir ve çoğu diğer metaller özellikle magnezyum tarafından da aktive edilebilir. Mangan metaloenzimlerine arjinaz, piruvat karboksilaz, glutamin sentaz ve mangan süperoksid dismutaz dahildir. Bu enzimler nükleik asit sentezi, glukoz kullanımı ve glukoneogenezis, intermediyer metabolizma ve endokrin bez fonksiyonlarında rol oynar. Polisakkarid ve glikoprotein sentezinde gerekli glikozil transferaz aktivasyonu için de Mn bir faktördür (World Health Organization, 1996).

Mangan, cevizde, fındıkta, bütün tahıllarda ve sebzelerde oldukça yaygındır. Fakat et, balık gibi besinlerde düşük düzeydedir. Bu bakımdan insan ve öteki memeliler manganı daha çok bitkisel besinlerden almak durumundadırlar. Özellikle çay mangan yönünden zengindir (Underwood, 1977).

1.8.5. Magnezyum (Mg)

İnsan vücudunda kalsiyum, sodyum, potasyumdan sonra en çok bulunan hücre içi katyonu olan magnezyum, glukoz kullanımı yağ, protein ve nükleik asit sentezi, adenozin trifosfat (ATP) metabolizması, kas kasılması ve bazı membran taşıma sistemleri gibi 300'den fazla enzimatik reaksiyon ile yakından ilişkilidir (Sürücüoğlu, 1992; Joslyn ve ark., 1990; Tosiello, 1996; Lima ve ark., 1998; White ve Campbell 1993; Elin, 1970; Djurhuus ve ark., 1999; American Diabetes Association, 1992). Magnezyum kas kontraksiyonunda miyozin ATPaz'ını inhibe eder. Buna karşılık aktomyozin adenozin trifosfatazi stimule eder. Magnezyum, hücre büyümesi ve membran yapısının düzenlenmesi, yaraların iyileşmesi, nöromusküler iletim, miyokard aktivitesi gibi birçok fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda görev alır. Mg, kalp mitokondrisinde oksidatif fosforilasyonu stimule etmekte ve kalp membranlarının geçirgenliğini de etkilemektedir. Ayrıca kalpte adenil siklaz ve Na-K ATP'azın fonksiyonlarına da yardımcı olmaktadır (Sürücüoğlu, 1992; Akyüz ve ark., 1993; Ryan, 1991).

Magnezyum için tavsiye edilen günlük alım erkeklerde 350 mg ve hamile olmayan kadınlarda ise 300 mg'dır. Besinsel magnezyumun % 30'u barsaktan emilir. Magnezyum, geniş olarak yiyeceklerde dağılmıştır. Besin maddelerindeki magnezyum içeriği farklılıklar gösterir. Deniz ürünleri, et, hububat, fındık ve yeşil sebzeler magnezyum açısından zengin besinlerdir. Magnezyumun en iyi kaynakları bütün tohumlar, değirmenden geçmeyen tahıllar, karaciğer, kabuklu kuruyemiş, baklagillerdir. Balık, et, süt ve meyveler genellikle Mg'un zayıf kaynaklarıdır. Ayrıca, içilen ve pişirme işleminde kullanılan su ile alınan magnezyumun daha iyi ve daha hızlı emilebileceği belirtilmektedir (American Diabetes Association, 1992; Ryan, 1991; Saris ve ark., 2000).

1.8.6. Kalsiyum (Ca)

Vücutta en bol bulunan mineral kalsiyumdur. Kalsiyum büyük oranda kemik yapısında bulunmakta, küçük bir kısmı ise kemik yapısı dışında ve önemli fonksiyonların başarılmasında aracı rolü oynamaktadır. Pek çok enzim aktivite göstermek için kalsiyuma gereksinme duymakta, bazı hormonal fonksiyonların başarılmasında ve kan pıhtılaşmasında önemli roller oynamaktadır. Ayrıca kas kasılması ve sinir kas uyarılmasında da kalsiyum önemli ödevler yapmaktadır. Normal bir hayat için kalsiyum serumda her zaman belirli oranlarda bulunmalıdır. Serumda kalsiyum düzeyinin düşmesi 1,25-dihidroksikolekalsiferol'un yapımını arttırmakta, bu durumda Ca^{++} un barsaklardan absorbe edilmesini hızlandırmaktadır. Eğer gıdalar ile Ca^{++} alınması yetersiz ise serumda konsantrasyonunu arttırmak için 1,25-dihidroksikolekalsiferol ve parathormon kalsiyumun kemikler tarafından emilmesini arttırmaktadır. Eğer uzun süre Ca^{++} eksikliği görülürse bu durum her zaman kemiklerden kalsiyumun yıkılması ile el ele gitmektedir. İhtiyaç duyulan ve besinlerle alınan Ca^{2+} diğer faktörlere bağlı olarak şahıstan şahısa değişmektedir. Örneğin kalsiyumun kullanılması için D vitaminine ihtiyaç vardır. Besinlerle fazla alınan protein, Ca^{2+} dengesini sağlamakta ve çabukça atılmasına neden olmaktadır. Egzersiz yapılması Ca^{2+} un kemiklere inkorpore olmasını sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar 60 yaşının üzerindeki insanların % 34 ile % 47 sinin gerekli olandan daha az Ca^{++} aldığını ortaya koymuştur. Bu grup insanların kemiklerinde osteoporozis, organik matriks kaybı ve tedrici seyreden demineralizasyon gözlenmektedir. Son yapılan çalışmalar az Ca^{++} alan insanlarda tam tarif edilmemekle beraber yüksek tansiyonun ortaya çıktığını göstermiştir (Gözükara, 2011).

1.8.7. Potasyum (K)

Potasyum, vücudun protein ve karbohidrat metabolizmasında etkili bir rol oynayan önemli bir mineraldir. Müsküler kontrol için esansiyeldir (Rajurkar ve Pardeshi, 1997).

K iyonları, hücre içi osmolariteyi sağlayan en önemli katyondur. Hücre içinde su tutulması, asit-baz dengesinin sürdürülmesi etkilerinin yanı sıra piruvat kinaz, karbomil fosfat sentetaz gibi bazı enzim reaksiyonlarında aktivatör rolü vardır. Diüretik etkisi de önemlidir. Başlıca fonksiyonlarından biri kas aktivitesi, özellikle kalp kası üzerine etkisidir (Rajurkar ve Pardeshi, 1997; Üstdal ve ark., 1991).

1.9. Vitaminler

Vitamin, iz ölçüde etkir ve biyokatalizör özelliği taşır. Canlıdaki normal fizyolojik olaylarda gereklidir. Vitaminler, doğal olarak, besinler içerisinde yer alan, büyük çoğunluğu ile dış kaynaklı, büyüme, çoğalma ve sağlığın sürekliliği için gerekli organik maddelerdir. Yapı taşı veya enerji kaynağı olarak kullanılmazlar. Genellikle ısıya dayanıklı maddelerdir (Üstdal, 1983).

1.9.1. Vitaminlerin Genel Özellikleri

Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri:

Bu özelliklerden en önemlisi çözünürlüğe, ışığa, yükseltgenmeye ve iyonlaşan ışınlarla duyarlılıkla ilgilidir.

Çözünürlüklerine göre ikiye ayrılırlar:

- Suda çözünen vitaminler (C,B grubu)
- Yağda çözünen vitaminler (A,D,E,K) (Üstdal, 1983).

Fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı vitaminlerin duyarlılıkları ortama ve çeşitli etkenlere göre değişir. Şöyle ki, vitamin C oksijensiz ortamda kaynamaya duyarlı iken, hava varlığında dayanıklılığı azdır; Vitamin A ışıkta çok daha hızlı yükseltgenir; Vitamin B₁ baz ortamda, aside göre, ısıya daha duyarlıdır. Vitamin C'nin de, yükseltgen maddeler için, aynı özelliği vardır (Üstdal, 1983).

Yağda çözünen vitaminler lipidlerin yapı-taşlarıdır ve aşağıdaki türevleri içerir:

- Terpenler; vitamin A ve karotenoidler,
- Steroller; Vitamin D ve ön maddeleri,
- Heterosiklik türevleri; vitamin E ve K

Yağda çözünen vitaminler bağırsak mukozasınca emilir. Yağların iyi emildiği durumlarda, bunların sindirimi yüksektir. O halde, emilmeleri safra tuzlarının varlığı ve lipidlerin uygun bir sindirimi ile olur (Üstdal, 1983).

1.9.2. C Vitamini (Askorbik Asit)

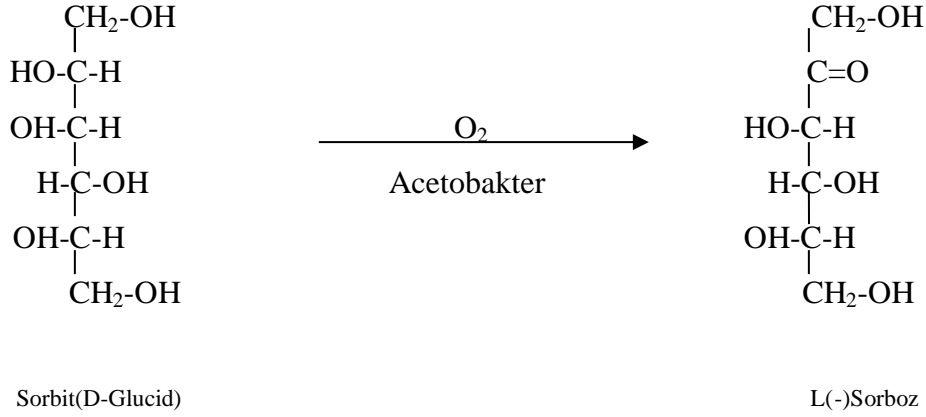
Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Yapısı karbohidratlardan heksozlara benzer. Heksoik asidin laktonudur. Hayvanların çoğu C vitamini sentezini kendisi yapabilir. Fakat insanlar yapamazlar. C vitamini vücutta hidroksilasyon reaksiyonları, demir emilimi antioksidan olarak görev alır. Kollojen sentezi için gereklidir. Kollojen glisin, (%33), prolin (%10), Hidroksiprolin (%10), hidroksilizin (%5) den oluşur. C vitamini kollojen yapısında yer alan hidroksiprolin sentezini sağlayan prolin hidroksilazdaki demirin indirgenmesinde görev alır. Hidroksilasyon bozukluğunda; kıkırdak, dentin, kemiklerdeki intrasekiler bağ doku proteinlerinin sentezi bozulur.

Vitamin C doğada hayvansal ve bitkisel hücrelerde serbest halde ve bitkilerde hemen hemen tüm taze meyvelerde, sebzelerde, aynı zamanda askorbigen ismiyle proteine bağlı olarak farklı oranlarda bulunur.

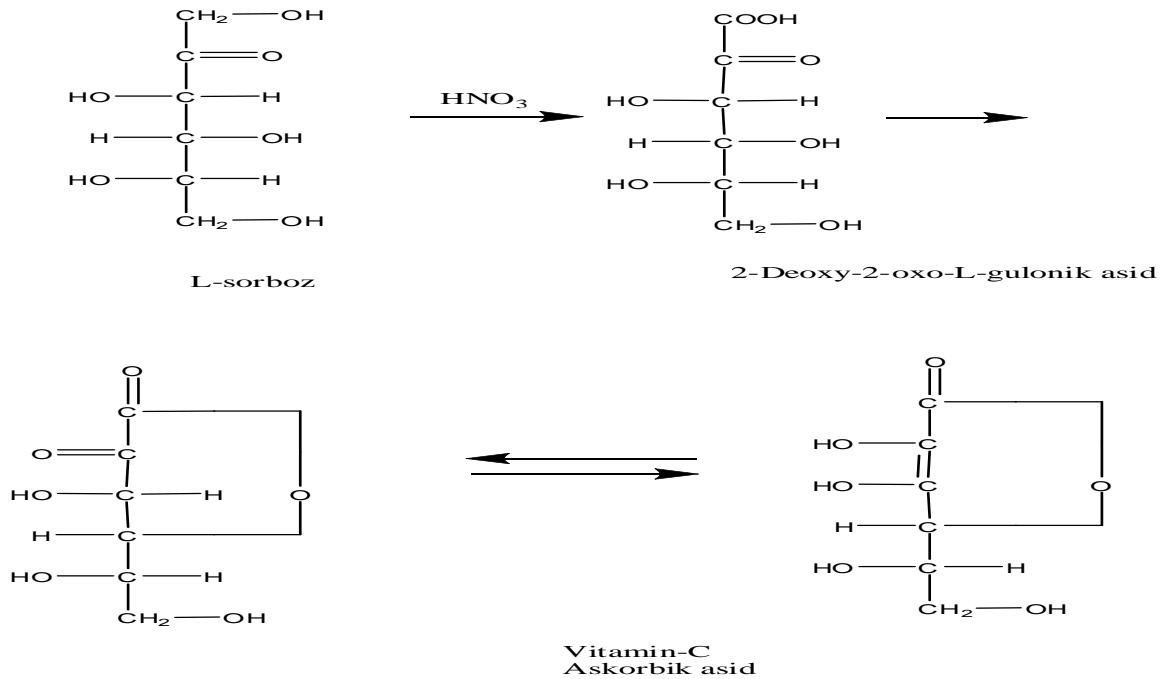
Kimyasal yapı olarak Vitamin C 3-keto-1-gulon asidinin enol şeklinin 4 laktonudur. Vitamin C beyaz kristaller halinde 190 C'de eriyen kokusuz ve sitrik asid lezzetindedir; oldukça kuvvetli asid olup suda kolay çözünür. Hidrofob çözücülerde çözünmez (Pauling, 1986).

1.9.3. Vitamin C Sentezi

Vitamin C nin sentezinde önemli ara ürün L-Sorbozdur. L-Sorboz doğada çok bulunan bir şekerdir. Aynı zamanda sarboz bakterilerinin (aceto-bakter xlinum, acetobakter suboxydans) sorbit üzerine etkisiyle elde edilebilir (Baykut, 2005).



Sorboz, nitrat asidi yardımı ile 2-Deoksi-2-oxo-L-gulonik aside okside edilir. Bu madde suda kaynatılarak 1,4-Laktone dehidrate edilir. Bu Laktonun en-diol şekli Vitamin C' dir.



C vitamini eksikliğinde; Kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbit hastalığı oluşur. Yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur. Diş eti kanamaları olur. Kapiler damarların zedelenmesine bağlı petesi ve ekimozlar görülür. C vitamini hayvansal besinlerde bulunmakla beraber en çok yabani gül tohumu, limongiller, kuş üzümünde bulunur. Taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal greyfurt, turunçgillerde, çiğ lahana, domates ve şalgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir (Halliwell, 1995).

Besinlerle alınan Askorbik asit, % 80 ile % 90 nı bağırsaklardan absorbe edilmektedir. Vitamin C'ye duyulan günlük ihtiyaç çevreye, psikolojik duruma, yaşa, cinsiyete, sigara içmeye, ilaç kullanmaya ve doğum kontrol hapı kullanmaya bağlı olarak değişmekle birlikte yinede belli bir miktarın alınmasında bir anlaşma söz konusudur. Uluslararası gıda ve beslenme cemiyeti 1980 yılında herkesin günde 60 mg vitamin almasının gerekli olduğunu kabul etmiştir. Yeni doğanlar için 35 mg, çocuklar için 45 mg ve gençler için 50 mg'ın yeterli olduğuda belirtilmiştir. Keza hamilelik döneminde günde 80 mg ve emzirme döneminde günde 100 mg alınmasının uygun olacağı belirtilmiştir.

Yıllardan beri yapılan pek çok araştırma C vitamininin etkili bir antikanser ajanı olduğu bulunmuştur. Çalışmalar C vitamininin antioksidan özelliğinin kanseri önlemede birkaç yolla olduğunu savunmaktadır. Lipidlerin peroksidasyonunu önleyerek dejenerasyon ve yaşlanmayı önlemede etkilidir. Vitamin C aynı zamanda DNA ya verilebilecek serbest radikal hasarlarının da savunabilmektedir (Gözükara, 2011).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Bitki Materyali

Araştırmada bitki materyali olarak sinir otu (*Plantago major L.*) kullanılmıştır. Bitki 2010 yılı Mayıs ayında toplandı, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü herbaryumunda botanik tanımlama (13885) ve adlandırılması Yrd. Doç. Dr. Fevzi Özgökçe tarafından yapıldı. Bitki örnekleri serin ve gölgelik ortamda kurutulduktan sonra blender ile parçalanarak öğütülmüş ve analize hazır hale getirilmiştir. Bitki örnekleri, analiz çalışmalarına kadar temiz kavanozlarda ve ışıktan etkilenmeyecek şekilde kapalı dolaplarda muhafaza edilmişlerdir

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

N,N-dimetil-p fenilendiamin (DMPD), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH \cdot) radikali riboflavin, nitroblue tetrazolium (NBT), metiyonin, 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (ferrozin), linoleik asit, α - tokoferol, trikloroasetik asit (TCA), amonyum tiyosiyanat, asetik asit (glasiyal), sodyum fosfat, dibazik dihidrat, sodyum fosfat monobazik dihidrat, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, demir klorür, potasyum dihidrojen fosfat, sodyum karbonat, dipotasyum hidrojen fosfat, folin ciocalteu ayıracı, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), hidrojen peroksit, demir (II) klorür, troloks (6-hidroksil- 2,5,7,8-tetrametil crom-2-karboksilik asit), kuersetin, alüminyum nitrat, gallik asit, 2,4-dinitrofenilhidrazin, tiyoüre, metafosforik asit, okzalik asit ve sülfirik asit gibi kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim ve Merck firmalarında temin edildi.

2.3. Kullanılan Çözeltiler

1. 0,04 M' lik, pH:7,0 fosfat tamponu
2. 0,017 M' lik linoleik asit çözeltisi
3. % 3,5' luk HCl çözeltisi
4. 20 mM' lik FeCl_2 çözeltisi
5. % 30' luk NH_4SCN çözeltisi
6. 0,2 M' lik pH:6,6 fosfat tamponu
7. % 1' lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisi
8. % 10' luk TCA çözeltisi
9. % 1' lik FeCl_3 çözeltisi
10. 0,1 M' lik pH:5,25 asetat tamponu
11. 0,1 M' lik DMPD çözeltisi
12. 0,001 M' lik DMPD^+ çözeltisi
13. 0,05 M' lik FeCl_3 çözeltisi
14. 2 mM' lik FeCl_2 çözeltisi
15. 5 mM' lik ferrozin çözeltisi
16. 0,1 M' lik pH:7,4 fosfat tamponu
17. 43 mM' lik hidrojen peroksit çözeltisi
18. 0,05 M' lik pH:7,8 fosfat tamponu
19. $1,33 \times 10^{-5}$ M' lik riboflavin çözeltisi
20. $4,46 \times 10^{-5}$ M' lik metiyonin çözeltisi
21. $8,15 \times 10^{-8}$ M' lik NBT çözeltisi
22. % 2' lik Na_2CO_3 çözeltisi
23. Gallik asit çözeltisi
24. % 4' luk metafosforik asit çözeltisi
25. % 10' luk tiyoüre çözeltisi
26. % 0,5' lik okzalik asit çözeltisi
27. % 85 H_2SO_4 çözeltisi
28. 2,4-dinitrofenilhidrazin çözeltisi

29. Standart kuersetin çözeltisi
30. % 10' luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ çözeltisi
31. 1 M' lık CH_3COOK çözeltisi
32. 3N HCl çözeltisi

2.4. Yaralanılan Alet ve Cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre: UNICAM UV/Vis

Derin Dondurucu: Ultra low temperature freezer

Vortex: IKA MS 3 baxis

Santrifuj: Hettich zentrifugen EBA 20

Su Banyosu: WiseBath

pH Metre: Hanna Instrument

Otomotik Pipetler: Eppendorf

Rotary Evapotör: Ika Werke RV 05-ST

Saf Su Cihazı: Firstreem Calypso MK 1 Glass Still

Manyetik Karıştırıcı: Stuart Scientific

UV-Spektrofotometre Küveti: 3 ml'lik kuartz küvet

Hassas Terazî: Denver Instrument S1-234

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi : Thermo Elektron Comparison, Solar House, Cambridge, England

2.5. Su Ekstrelerinin Hazırlanması

Sinir otu (*Plantago major L.*) bitkisinin yaprak kısımlarından 50 g tartılarak blender cihazı ile öğütüldü. İlk olarak blenderde öğütülmüş ve toz haline getirilmiş *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısımlarından 20 g ayrı ayrı alındı ve 1 L'lik ağzı kapalı beherlerde

numunenin yirmi katı kadar saf su ile (400 ml) manyetik karıştırıcıda ve suyun kaynama sıcaklığında on dakika boyunca karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına getirilerek soğutuldu, whatman süzgeç kağıdında süzüldü. Süzülmüş ekstreler birleştirilerek evaporatörde 40 °C’de su uzaklaştırıldı (Gülçin 2005)

2.6. Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması

Sinir otu (*Plantago major L.*) bitkisinin yaprak kısımlarının etanol ekstrelerinin hazırlanmasında (Gülçin, 2005) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Etanol ekstresi için yine blenderde öğütülmüş ve toz haline getirilmiş *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısımlarından 20 g alındı ve 1 L’lik ağzı kapalı erlenlerde numunenin yirmi katı etanol ile (400 ml) manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen etanol ekstresi whatman süzgeç kağıdında süzüldü. Süzülmüş ekstreler birleştirilerek evaporatörde 40 °C’de etanol uzaklaştırıldı.

2.7. Element Analizi

Element analizi kuru yakma metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Kuru yakma metodunda, 5 gram örnek tartıldı ve krozeeye konuldu. Örnekler 105° C’lik etüvde 4-5 saat bekletildikten sonra kuruyan örnekler iyice temizlenmiş porselen havanlarda ezildi. Elde edilen ekstraktan 0.25 g madde tartıldı ve her örnek üzerine etil alkol-sülfirik asit karışımından 2 ml ilave edildi ve 250 °C’ye ayarlanmış kül fırınına bırakıldı. Fırının sıcaklığı 550° C’ye ulaşınca kadar sıcaklık saat başı 100 °C artırıldı. Kül fırınından çıkarılan örnekler üzerine hazırlanan 3N HCl’den 1.25 ml ilave edildi ve distile su ile 12.5 ml’ye tamamlandı. Hazırlanan örnekler atomic absorpsiyon spektrofotometresinde okundu (Zurera ve ark.1987).

2.8. Vitamin C Analizi

Vitamin C spektrofotometrik metod kullanılarak gerçekleştirildi. Spektrofotometrik metod; askorbik asit tayini için, 500 mg'lık her numuneye, soğuk 2 ml okzalik asit ve 2 ml asetik asit eklenip vortex ile 5 dakika homojenize oluncaya kadar vortekslendi. Bundan 2 ml alınıp üzerine tiyoüre ayırıcından damlatılır. Üzerine 0.5 ml 2,4-Dinitrofenilhidrazin eklenip, 5 dakika 90 °C su banyosunda bekletildi. Buza konmuş numune, standart ve kontrol üzerlerine yoğun H₂SO₄ den yavaşça eklendi. Tüpler 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra alt üst edilerek spektrofotometrede kontrol ile sıfırlanarak 521 nm de absorbansları okundu. numune konsantrasyonları, standart konsantrasyonlardan elde edilen kalibrasyon eğrisine göre tesbit edildi (Brewster, 1984; Golubkina ve ark. 1989).

2.9. Total Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Bitki ekstraktının antioksidan aktivitesini belirlemek için tiyosiyanat metodu kullanıldı. 1 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde bitki su ve etanol stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltiden değişik konsantrasyonlarda numuneler hazırlandı. Numunelerin üzerine 2,5 ml linoleik asit ve 0.04 M, fosfat tamponu eklendi. Bu işlemler standartlar (α -tokoferol, BHT ve Troloks) içinde yapıldı. Karışımlar 37 °C de 5 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra bu numunelerden 100 μ l alındı, üzerine 4.7 ml ml alkol eklendi, 100 μ l FeCl₂ ve 100 μ l amonyum tiyosiyanat eklendi. Kontrol çözelti olarak 2,5 ml linoleik asit üzerine 2,5 ml tampon çözelti konuldu ve 500 nm de absorbans okundu. Aynı işlemler 12 saat ara ile ölçülerek kaydedildi. (Mitsuda ve ark., 1996).

$$\text{Antioksidan aktivite (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(2.1)$$

2.10. Ekstrelerin DPPH üzerinden Serbest Radikali Süpürücü Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitki su ve etanol ekstralarının serbest radikal giderme aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) kullanılarak belirlendi. (Cuendet ve ark., 1997; Kirby ve Schmidt, 1997). Ekstrelerin DPPH üzerinden serbest radikali süpürücü aktivitesinin belirlenmesi amacı ile 1mg/mL'lik stok ekstre çözeltisinden metanolle seyreltilerek hazırlanan ekstraların, farklı konsantrasyonları hazırlandı. Metanolde hazırlanan DPPH çözeltisinden (% 0.004) 4 mL eklenerek 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü.

Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı (1 mL çözücü) değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak, antioksidan olarak kullanılan trolox kullanıldı. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı: (Duh ve Yen, 1997).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(2.2)$$

Elde edilen bu inhibisyon değerlerinden % 50 inhibisyon sağlayan bitki ekstraksiyon konsantrasyonları, IC₅₀ değeri olarak hesaplandı (Burtis ve ark., 2001). DPPH'nin grafiğinden faydalanılarak IC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin yarısını süpüren örnek konsantrasyonu) hesaplandı.

2.11. Ferrik iyonlarını (Fe³⁺) ferröz iyonlarına (Fe²⁺) indirgeme kuvveti testi

Bu testte *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktının ortama eklenen Fe⁺³,ü Fe⁺²,ye indirgeme kapasitesi araştırıldı. Stok çözeltiden 15, 30 ve 45 µg/mL olacak şekilde alındı Bitki su etanol ekstraları toplam hacim 1 mL olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra her bir tüpe 2,5 mL 0,2 M fosfat tampon (pH: 6,6 ve 2,5 ml % 1'lik potasyumferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆]) ilave edildikten sonra karışım 50 °C'de 20 dk inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 mL % 10'luk triklorasetik asit (TCA) ilave edildi.

Çözeltinin üst fazından 2,5 mL alındı ve bunun üzerine de 2,5 mL destile su ve % 0,1'lik 0,5 ml FeCl₃ ilave edildikten sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okundu Standart olarak Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT) kullanıldı (Yen ve Chen (1995)).

2.12. DMPD^{•+} giderme aktivitesi tayini

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarının N,N'-dimethyl-*p*-fenilendiamin (DMPD^{•+}) giderme aktivitesi spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlendi. Bu amaçla *Plantago major L.* yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarının veya standart antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri (15–45 µg/mL) deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 0,5 ml ye tamamlandı. Bunun üzerine 1 mL DMPD^{•+} çözeltisi eklendi. DMPD radikali, 100 ml 0,1 M DMPD çözeltisine (pH 5,3), 0,05 M 0,2 ml FeCl₃ ilavesiyle elde edildi. 50 dakikalık bir inkübasyondan sonra absorbans değerleri 505 nm'de ölçüldü. Reaksiyon ortamında giderilen DMPD^{•+} miktarı hazırlanan grafikten elde edilen denklemden hesaplandı. DMPD^{•+} giderme kapasitesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplandı:

$$\text{DMPD}^{\bullet+} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = \left\{ 1 - \frac{A_s}{A_c} \right\} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2.3)$$

Burada A_C, DMPD^{•+}'nin başlangıç konsantrasyonu ve A_S, *plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının varlığında DMPD^{•+}'nin kalan konsantrasyonunun absorbansdır (Fogliano ve ark., 1999)

2.13. Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi tayini

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarının süperoksit anyon radikallerini giderme etkisi, nitroblue tetrazolium (NBT) ürünün spektrofotometrik ölçümüyle belirlendi. Numune belirli konsantrasyonlardaki

denemelerden sonra elde edilen uygun konsantrasyon olan 60 µg/ml ve karşılaştırılacak standart antioksidan troloksun konsantrasyonları aynı olacak şekilde 0.05 M'lık ve pH'sı 7,8 olan fosfat tamponu ile hazırlandı. Numune içeren tampon çözeltiye 1,5 ml riboflavin, 1,5 mL L-metiyonin ,1,5 mL Nitrotolue tetrazolium (NBT) ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 40 dakika boyunca 20 W'lık floresan ışığı ile uyarıldı. *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarının ekstralarının süperoksit anyon radikallerini giderme etkisi antioksidant özelliğe sahip olan troloks maddesi ile karşılaştırıldı. Absorbans, sudan oluşan köre karşı 560 nm'de kaydedildi. (Zhishen ve ark., 1999) Kontrolün absorpsiyonundaki değişime göre inhibisyon değerleri belirlendi.

$$O_2^- \text{ Giderme etkisi (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(2.4)$$

2.14. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini

Plantago major L. bitkisinin su ve etanol ekstralarının hidrojen peroksit giderme aktivitesi spektrofotometrik olarak 230 nm'de belirlendi. Bunun için pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda 40 mM'lık hidrojen peroksit çözeltisi hazırlandı. 30 µg/mL konsantrasyonunda alınan *Plantago major* bitkisinin su ve etanol ekstralarının ve çalışmada kullanılan standart antioksidan madde olan α-tokoferol'un hacmi 4 mL'ye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Daha sonra 0,6 mL hidrojen peroksit (43 mM) çözeltisi ilave edildi. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra hidrojen peroksitin azalan miktarı 230 nm'de azalan absorbans olarak kaydedildi. Kör olarak tampon çözelti kullanıldı. . Karışımın absorbansı 5 dk aralıklarla 5. ve 10. dk olmak üzere 2 kez daha okundu (Ruch, 1989). Kontrolün absorpsiyonundaki değişime göre inhibisyon değerleri belirlendi.

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(2.5)$$

2.15. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı FCR metodu ile belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstralarından 500 µg destile su ile 12 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 500 µL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra % 2 lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1,5 mL ilave edildi. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okutuldu. Kontrol için numune yerine destile su kullanıldı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar hesaplandı (Singleton ve ark., 1999).

2.16. Total flavonoit miktarı tayini

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısımlarının su ve etanol ekstresinde bulunan toplam flavonoit miktarı spektrofotometrik olarak 415 nm'de belirlendi. Standart flavonoit bileşik olarak kuersetin kullanıldı. Bunun için 25 mg kuersetin 25 ml destile suda çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiliden 25-150 µg kuersetin içeren çözelti deney tüplerine aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 0,1 mL (1 M) suda hazırlanmış CH₃COOK ve 0,1 mL (% 10) Al(NO₃)₃ çözeltilerini içeren 4,3 ml etanol çözeltisi ile seyreltildi ve vorteksde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbansları etanolden oluşan köre karşı kaydedildi (Park ve ark., 1997).

2.17. Ferröz iyonları (Fe²⁺) şelatlama aktivitesi tayini

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısmı su ve etanol ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi spektrofotometrik olarak 562 nm'de belirlendi (Dinis ve ark., 1994). Bu işlem için 100 µg konsantrasyonu *Plantago major* L. bitkisinin su ve etanol ekstrelerini ihtiva eden 0,2 ml'lik çözeltiliye 50 µl FeCl₂ (2 mM) ve 200 µl ferrozin (5 mM) konularak 10 dakika bekletildi. Son hacim 4 ml olacak şekilde etanol ilave edildi. Reaksiyon 0,2 ml ve 5 mM'lık ferrozin çözeltilisi ilave edilmesiyle başlatıldı. Çözelti vorteksde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'deki absorbansı köre karşı kaydedildi.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = \left\{ 1 - \frac{Abs_{\text{örnek}}}{Abs_{\text{kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(2.6)$$

2.18. İstatistiksel Analizler

İstatiksel analizlerin sonuçları $\bar{x} \pm SEM$ olarak belirtildi. Antioksidan ve antiradikal ile ilgili yapılan analizler ayrı ayrı yapılmış olan üç analizin ortalamasıdır *Plantago major* L. bitkisinin su ve etanol ekstrelerinin ve standart antioksidant maddelerin (troloks ve α-tokoferol) antioksidant aktivitesi, indirgeme gücü, DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi, metal şelatlama, süperoksit ve hidrojen peroksit giderme aktiviteleri değerlerinin ortalamaları arasındaki istatistiksel anlamlılık One Way Analysis of Variance kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin analizleri SPSS (version 11,5 Windows, SPSS Inc.) programı ile yapıldı (Vildan ve ark., 2012).

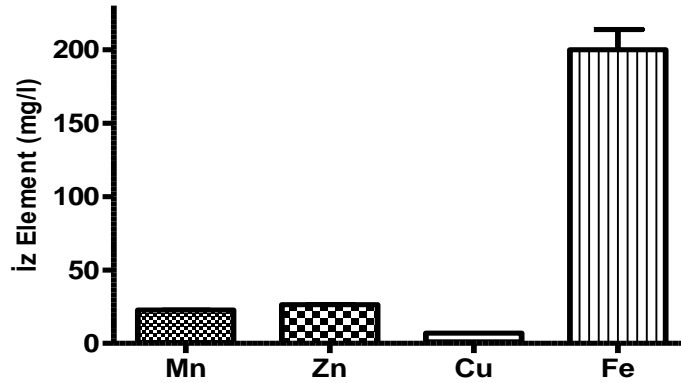
3. BULGULAR

Antioksidan aktivite analizleri, tıbbi bitkilerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından sıklıkla kullanılmaktadır.

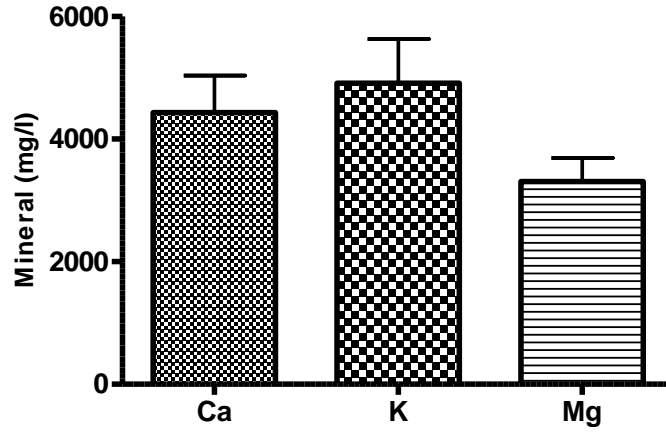
3.1. İz Elementler, Mineraller ve Askorbik Asit Analiz Sonuçları

Çizelge 3.1. *Plantago major L.* bitkisinde iz element (Cu, Zn, Mn, ve Fe) bazı mineraller (Ca, K, ve Mg) ve Vitamin C düzeyleri

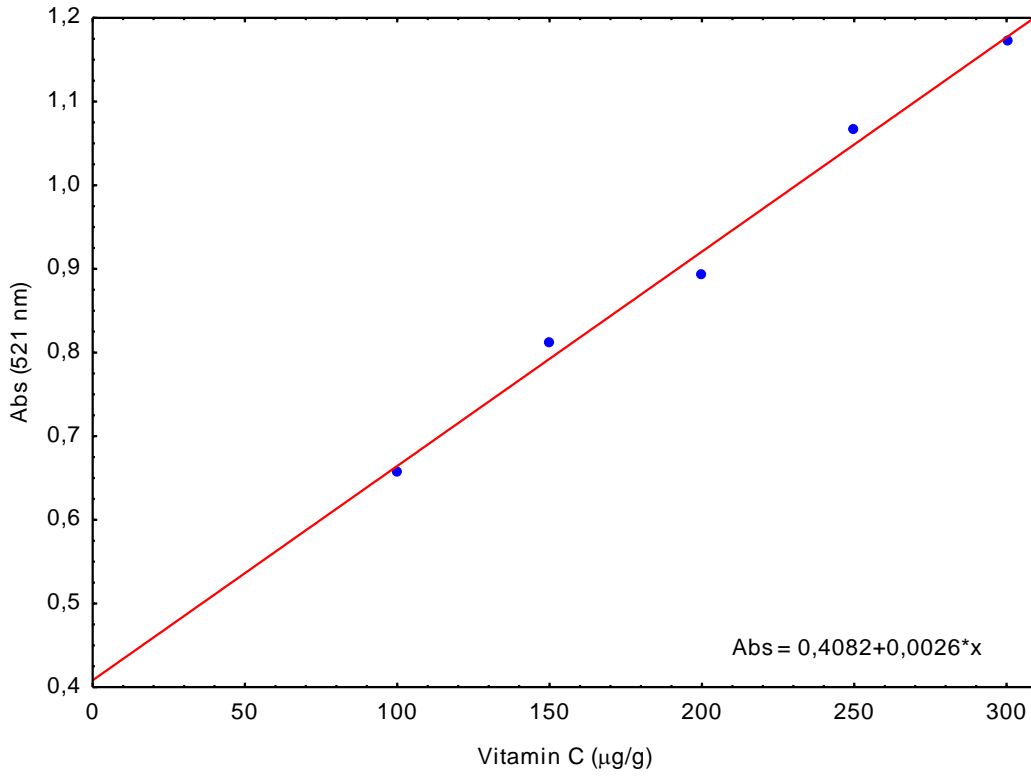
Parametre	($\bar{x} \pm \text{SEM}$)
Cu (mg/l)	6,97 \pm 0,16
Zn (mg/l)	26,44 \pm 0,54
Mn (mg/l)	22,76 \pm 0,34
Fe (mg/l)	199,93 \pm 13,82
Ca (mg/l)	4434,44 \pm 602,15
K (mg/l)	4913,69 \pm 720,94
Mg (mg/l)	3309,57 \pm 385,01
Vitamin C (mg/100g)	141,40 \pm 12,66



Şekil.3.1. *Plantago major L.* bitkisinin yaprak kısmı iz element (Mn, Zn, Cu, ve Fe) düzeyleri.

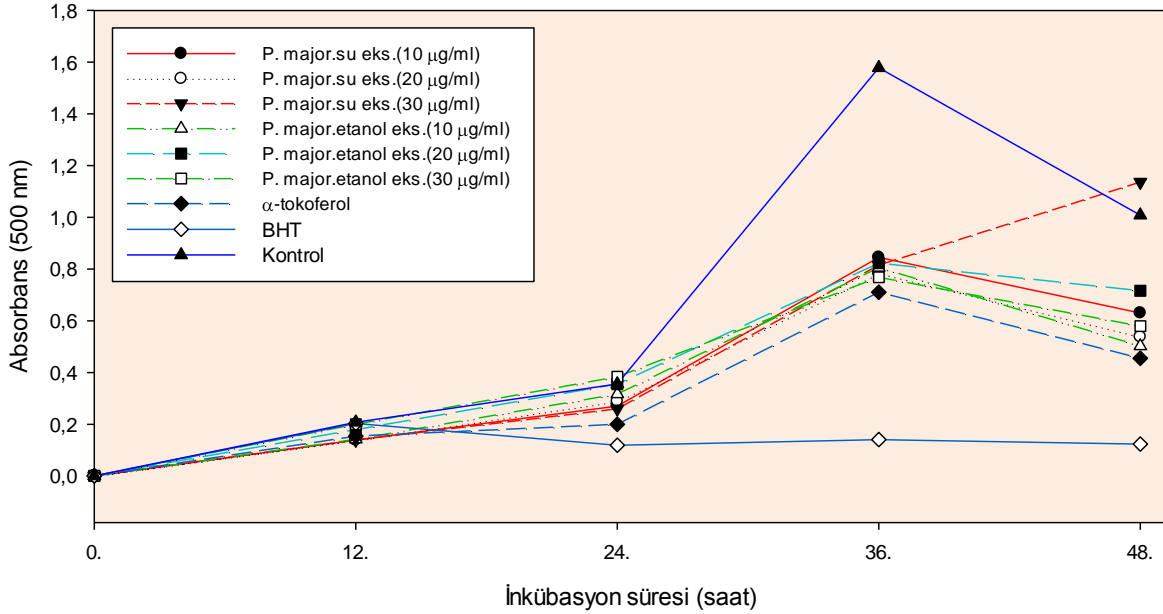


Şekil 3.2. *Plantago major L.* Bitkisinin yaprak kısmı mineral (Ca, K, Mg) düzeyleri.



Şekil 3.3. Vitamin C kalibrasyon grafiği.

3.2. Total Antioksidan Aktivitenin Belirlenm



Şekil 3.4. *Plantago major L.* Bitkisinin su ve etanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (10-30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT ve α-tokoferol ile karşılaştırması ve *Plantago major L.* linoleik asit peroksidasyonunun zamanla değişimi.

Plantago major L. ve kullanılan standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunu inhibe etme yüzdeleri, kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anı olan 36. saat baz alınarak hesaplandı. Hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı. Linoleik asit peroksidasyonunun inhibisyon yüzdesi antioksidan aktivitenin bir ölçüsü olarak kabul edilir.

$$\text{Antioksidan aktivite (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \quad \dots\dots\dots(3.1)$$

Burada A_{Numune} kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki nümünenin verdiği absorbans değeri, A_{Kontrol} ise kontrolün maksimuma ulaştığı inkübasyon anındaki kontrolün verdiği absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHT ve α-tokoferol kullanıldı.

Doymamış yağ asidi olarak linoleik asit kullanıldı. Bu metoda göre serbest radikallerin çoklu doymamış bir yağ asidi olan linoleik aside saldırması ile başlayacak lipid peroksidasyonunun bitki ekstireler kullanılarak ne derece peroksidasyonu engellediği 234 nm de absorbansları ölçülerek belirlendi.

Çizelge 3.2. *Plantago major L.* Bitkisinin su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin (α -tokoferol, BHT) total antioksidan aktivite (% İnhibisyon) değerleri

Konsantrasyon (36.saat)	% İnhibisyon ($\bar{x} \pm SEM$)
<i>P major</i> su eks. (10 $\mu\text{g/ml}$)	46,44 \pm 3,29
<i>P major</i> su eks. (20 $\mu\text{g/ml}$)	50,39 \pm 0,92
<i>P major</i> su eks. (30 $\mu\text{g/ml}$)	48,42 \pm 2,64 ^{a,c}
<i>P major</i> etanol eks. (10 $\mu\text{g/ml}$)	49,62 \pm 0,18
<i>P major</i> etanol eks. (20 $\mu\text{g/ml}$)	47,87 \pm 3,70
<i>P major</i> etanol eks. (30 $\mu\text{g/ml}$)	51,32 \pm 3,99
α -tokoferol (30 $\mu\text{g/ml}$)	55,01 \pm 1,86 ^c
BHT (30 $\mu\text{g/ml}$)	23,58 \pm 9,02 ^a

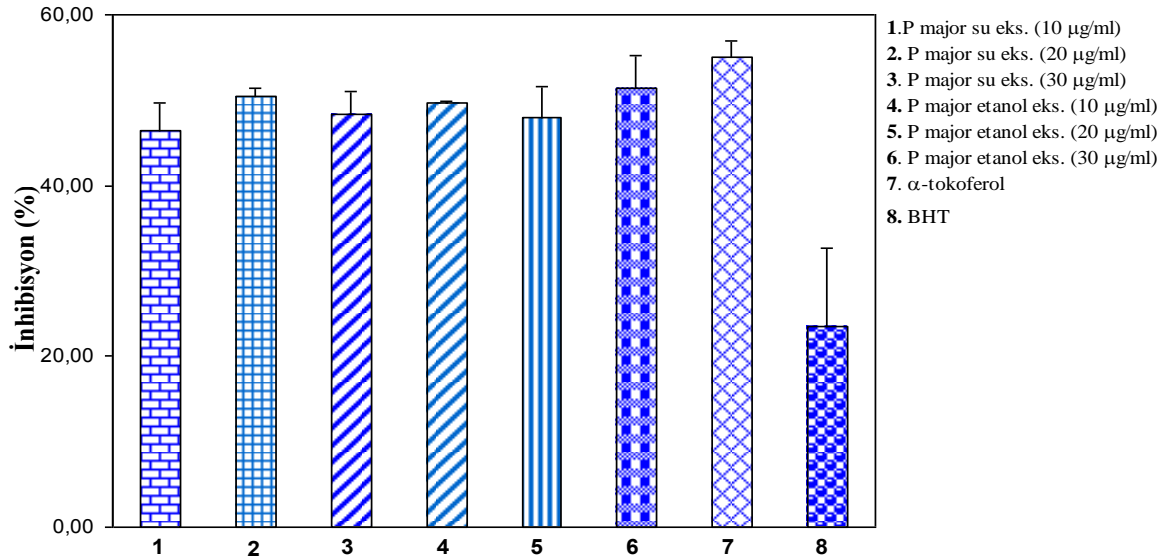
a: $p < 0,001$, b: $p < 0,01$, c: $p < 0,05$

30 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda *Plantago major L.* su ekstresi total antioksidan aktivite standartlar ile karşılaştırıldığında, α -tokoferol ile istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) düzeyinde daha düşük, BHT ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) düzeyinde daha yüksek bulundu. *Plantago major L.* etanol ekstresi total antioksidan aktivite α -tokoferol için istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) düzeyinde daha düşük, BHT ile istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) düzeyinde daha yüksek bulundu.

Elde edilen sonuçlar 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda ki değerleri sırası ile şu şekildedir; α -tokoferol > *Plantago major L.* Etanol ekstresi > *Plantago major L.* su ekstresi > BHT olarak bulunmuştur. Elde edilen değerler % Antioksidan aktivite olarak sırasıyla; 55,01 \pm 1,86, 51,32 \pm 3,99, 48,42 \pm 2,64, ve 23,58 \pm 9,02 olarak belirlendi.

Çalışmada kullanılan *Plantago major L.* Bitkisinin su ve etanol ekstralarının total antioksidan aktivitesi Ferrik Tiyosiyanat Metoduna göre belirlendi. Bu metot da linoleik asit emülsiyonunda oksidasyonun sonucu oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak 500 nm'de ölçülmesi esasına dayanır.

Buna göre linoleik asit sisteminin lipid peroksidasyonunda *Plantago major L.* Etanol ekstraktı lipid peroksidasyonu standart antioksidant maddeye (α -tokoferol) yakın bir değerde bulunmuştur. *Plantago major L.* Etanol ekstraktı etkili bir antioksidant aktivite göstermiştir.



Şekil.3.5 *Plantago major L.* Bitkisinin su ve etanol ekstralarının 36.saat sonundaki % inhibisyon değerlerinin kendi aralarında ve BHT ve α -tokoferol ile karşılaştırılması.

3.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları

Serbest radikallerin lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir. DPPH kararlı bir serbest radikaldir ve elektron veya hidrojen kabul eder.

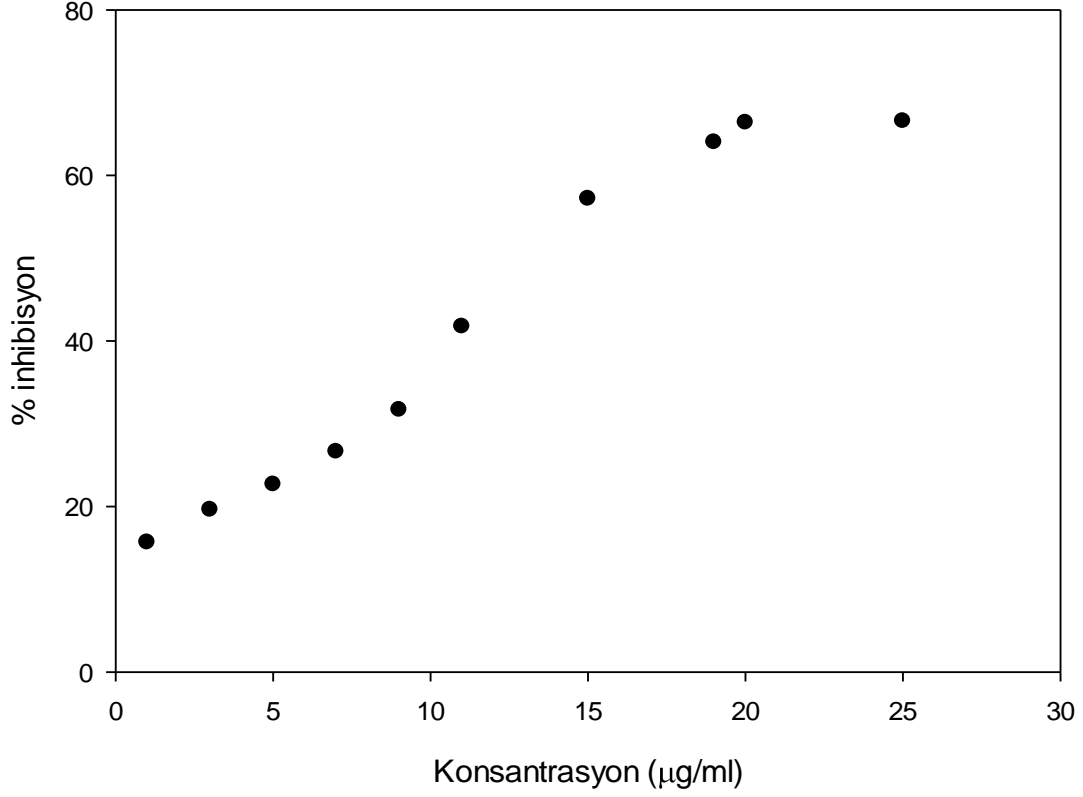
Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(3.2)$$

DPHH radikali yakalama metodu ile yapılan antioksidan aktivitesi ölçümünde ilk olarak *Plantago major L.* Su ve etanol ekstraktlarının IC₅₀ değeri hesaplanmış ve daha sonra troloks standartı için IC₅₀ değeri hesaplanmıştır Toplam antioksidan aktivitesinde hesaplanan IC₅₀ değeri ne kadar düşükse *Plantago major L.* Su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi o kadar yüksektir. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının IC₅₀ değeri ve troloks eşdeğeri çizelgede gösterilmiştir.

Hesaplanan IC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin yarısını süpüren ekstre konsantrasyonu), her bir ekstre için Şekil.3.6, Sekil.3.7 ve şekil.3.8'de yer almaktadır.

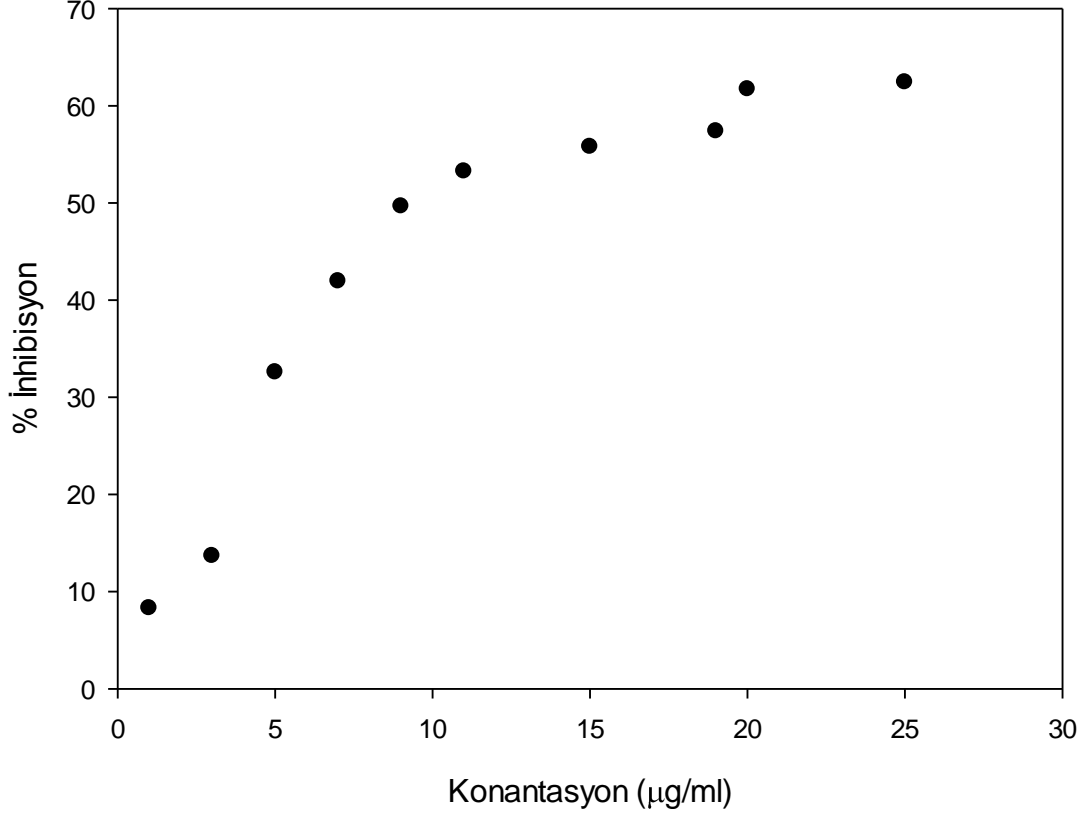
3.3.1. Troloks DPPH inhibisyon grafiği



Şekil.3.6. DPPH radikali inhibisyonunun Troloks konsantrasyonlarıyla değişimi.

DPPH radikalinin % 50' sini süpüren standart antioksidan olan Troloks IC_{50} değerinin $14,25 \pm 0,81$ ($\mu\text{g/mL}$) olduğu tespit edildi.

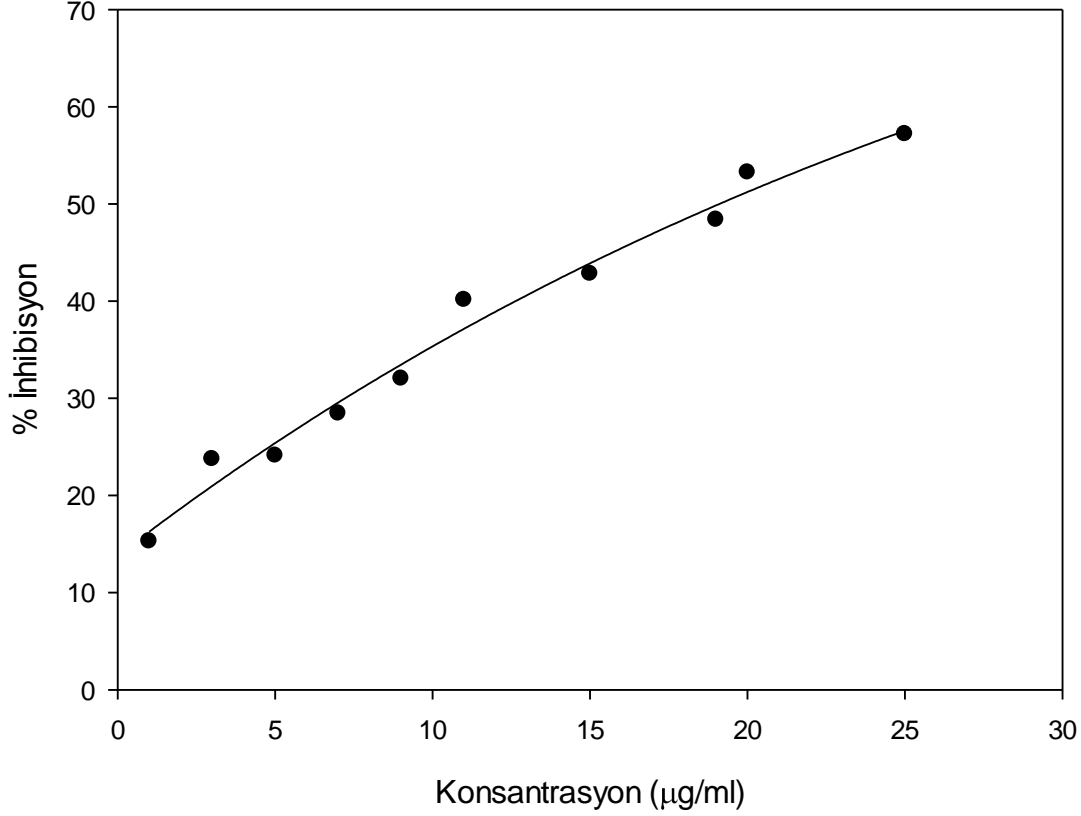
3.3.2. Etanol DPPH inhibisyon grafiği



Şekil.3.7 DPPH radikali inhibisyonunun *Plantago major L.* bitkisi etanol ekstresinin konsantrasyonlarıyla değişimi.

DPPH radikalinin % 50' sini süpüren *Plantago major L.* bitkisinin etanol ekstraktı IC_{50} değerinin $19,08 \pm 1,79$ ($\mu\text{g/ml}$) olarak belirlendi.

3.3.3. Su DPPH inhibisyon grafiği



Şekil.3.8. DPPH radikali inhibisyonunun *Plantago major L.* bitkisi su ekstresinin konsantrasyonlarıyla değişimi.

DPPH radikalinin % 50' sini süpüren *Plantago major L.* bitkisinin su ekstraktı IC_{50} değerinin $19,08 \pm 1,79$ ($\mu\text{g/mL}$) olduğu tespit edildi.

IC_{50} değeri belirli bir DPPH derişiminde mevcut DPPH'in yarısının süpürülmesi için gerekli olan antioksidan miktarı olarak verilir ve antioksidan miktarına karşı % inhibisyon değerlerinin işlendiği grafikten elde edilen denklemde hesaplandı (Brand–Williams ve ark., 1995). *Plantago major L.* su ve etanol ekstrelerinin serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi. Farklı derişimlerdeki ekstrelerinin ve standartların serbest radikal giderim aktiviteleri Çizelge 3.4 te verilmektedir.

Çizelge.3.4 *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ve DPPH radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri

Bitki ve Antioksidan	% İnhibisyon	IC₅₀ (µg/ml)
<i>Plantago major L.</i> su ekstresi	57,19 ± 0,45	19,08± 1,79
<i>Plantago major L.</i> etanol ekstresi	62,41 ± 2,21	10,33 ± 1,75
Troloks	66,55 ± 1,12	14,25 ± 0,81

Plantago major L. etanol ekstresi DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değeri, 10,3342 ± 1,75 µg/ml olup, bu değerin *Plantago major L.* su ekstresine 19,0872± 1,79 µg/mL göre yüksek olduğu görülmektedir.

3.4. Ferrik iyonlarını (Fe³⁺) ferröz iyonlarına (Fe²⁺) indirgeme kuvveti

Burada ki belirleyici faktör absorbanstır. En yüksek absorbans en iyi indirgeme gücünü göstermektedir.

Çizelge.3.5. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin indirgenme kuvveti aktivitelerinin inhibisyon değerleri

Konsantrasyon	Abs. ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)
<i>P major</i> su eks. (15 $\mu\text{g/ml}$)	0,134 \pm 0,002
<i>P major</i> su eks. (30 $\mu\text{g/ml}$)	0,143 \pm 0,003
<i>P major</i> su eks. (45 $\mu\text{g/ml}$)	0,151 \pm 0,003 ^a
<i>P major</i> etanol eks. (15 $\mu\text{g/ml}$)	0,173 \pm 0,008
<i>P major</i> etanol eks. (30 $\mu\text{g/ml}$)	0,201 \pm 0,004
<i>P major</i> etanol eks. (45 $\mu\text{g/ml}$)	0,228 \pm 0,005
α -tokoferol (15 $\mu\text{g/ml}$)	0,159 \pm 0,001
α -tokoferol (30 $\mu\text{g/ml}$)	0,194 \pm 0,003
α -tokoferol (45 $\mu\text{g/ml}$)	0,232 \pm 0,006 ^a
Kontrol	0,126 \pm 0,003

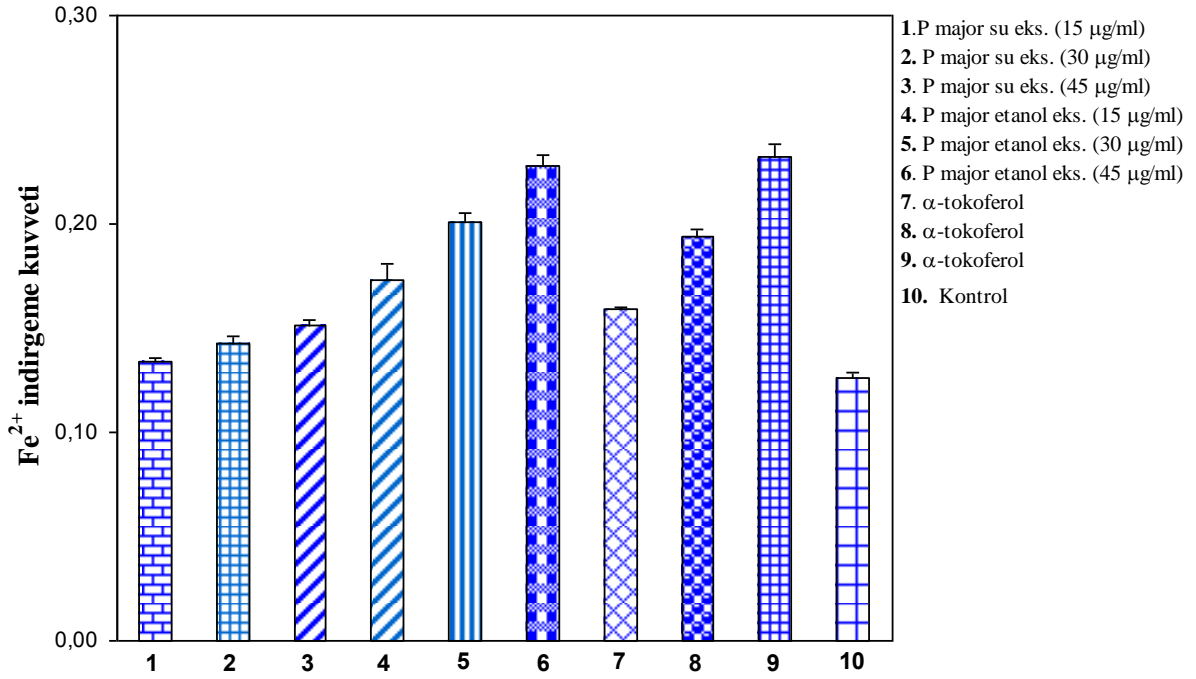
a: $p < 0,001$, b: $p < 0,01$, c: $p < 0,05$

45 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda *Plantago major L.* Su ekstresi indirgeme gücü standartlar ile karşılaştırıldığında, α -tokoferol ($p < 0,001$) düzeyinde daha düşük bulundu.

Plantago major L. Su ve etanol ekstrelerinin ve standartların indirgeme güçleri 45 $\mu\text{g/ml}$ 'de şu şekilde sıralanmıştır; α -tokoferol $>$ *Plantago major L.* Etanol ekstresi $>$ *Plantago major L.* Su ekstresi.

Elde edilen değerler indirgenme gücü olarak sırasıyla; $0,232 \pm 0,0060 > 0,228 \pm 0,005 > 0,151 \pm 0,003$ olarak belirlendi.

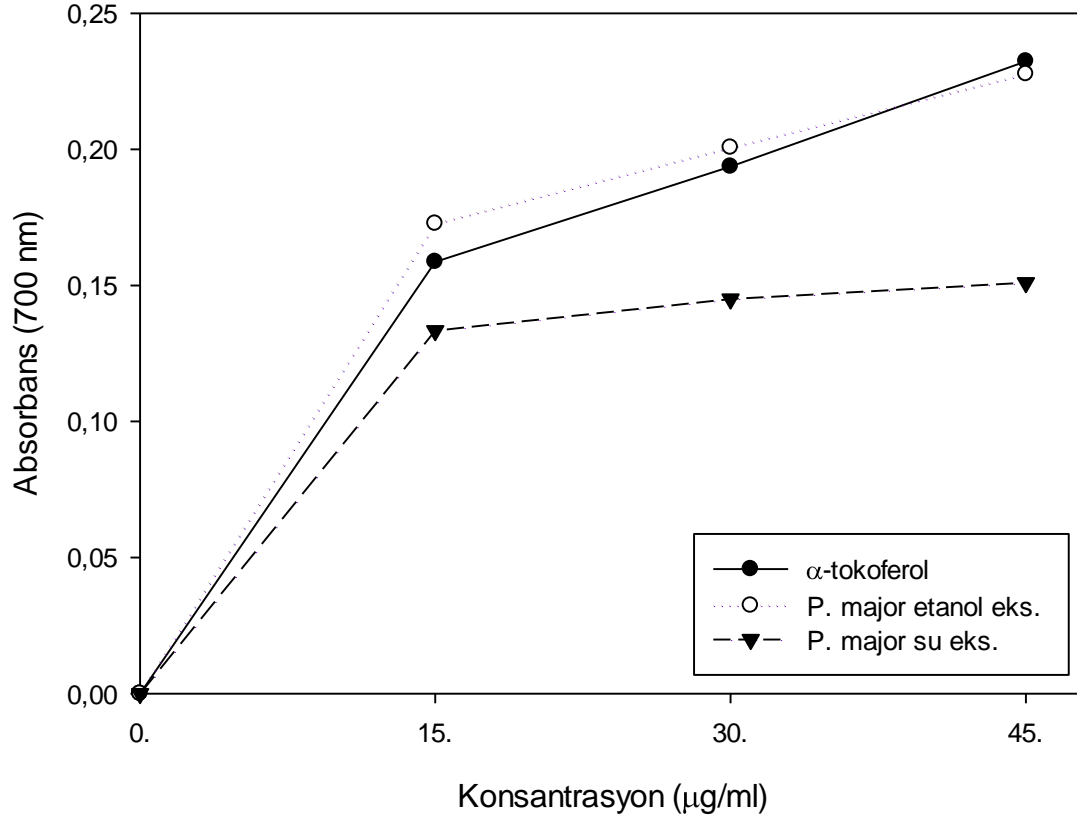
Bitki ekstraktlarının standart antioksidant maddelerden daha düşük indirgeme gücüne sahip olmalarına rağmen etkili bir indirgeme güçleri olduğu düşünülebilir.



Şekil.3.9. *Plantago major L.*(15-45 µg/mL) Su ve etanol ekstralarının indirgeme gücü ölçümünde 700 nm absorbans değerlerinin kendi aralarında ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.

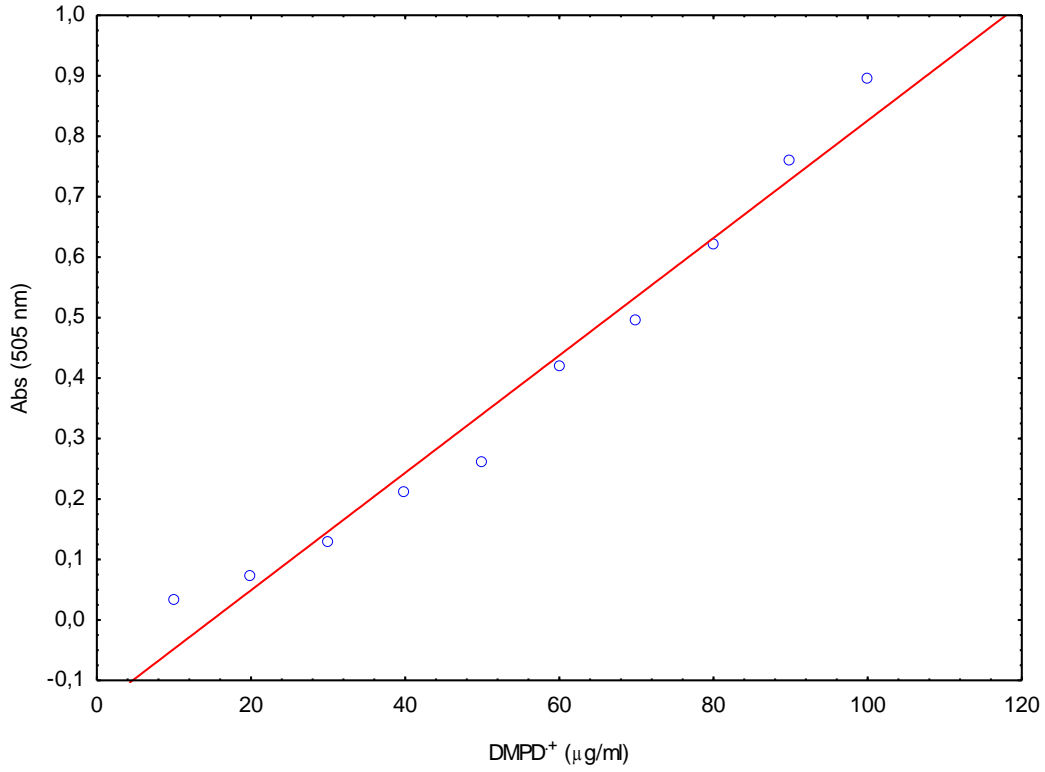
Şekil.3.9. den de görülebileceği gibi *Plantago major L.* bitkisinde indirme gücü konsantrasyon artıka paralel bir şekilde artığı görülmektedir.

Plantago major L. bitkisinde Şekil.3.9. da görüldüğü gibi indirgenme gücü konsantrasyon artıka paralel bir şekilde artığı görülmektedir.



Şekil.3.10. *Plantago major L.* (15-45 µg/mL) su ve etanol ekstraktlarının indirgeme gücü ölçümünde 700 nm absorbans değerlerinin kendi aralarında ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.

3.5. DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi



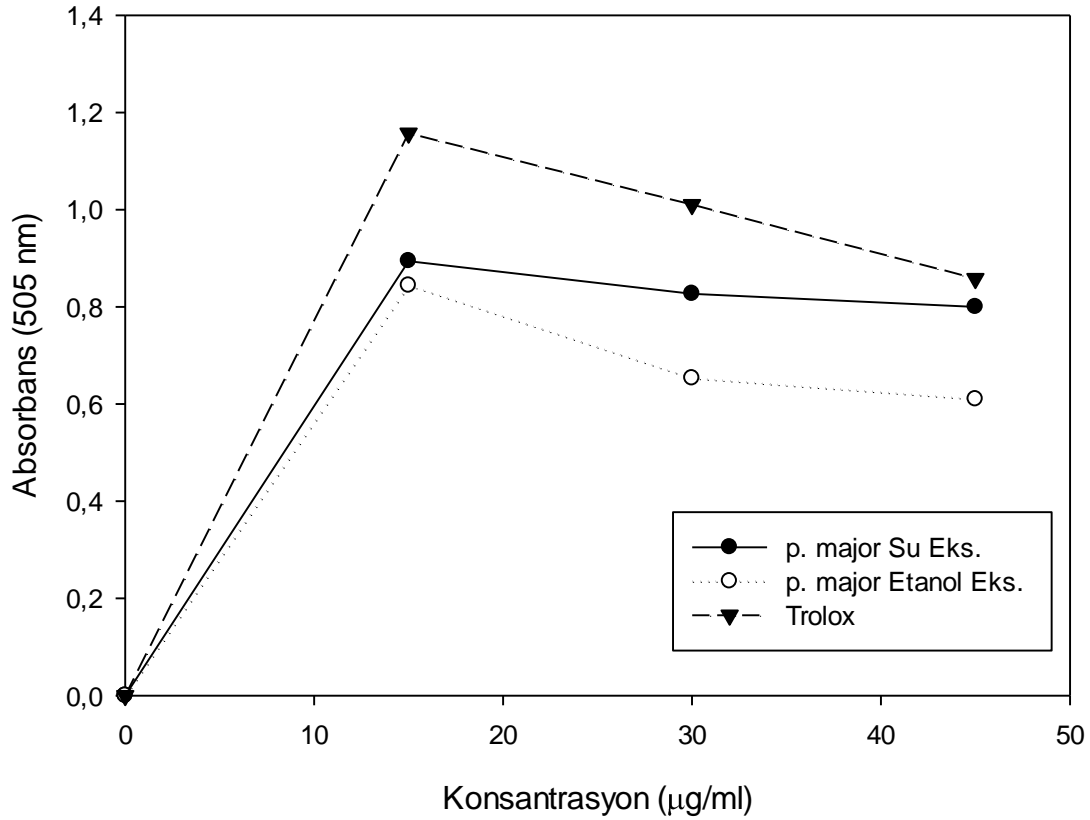
Şekil.3.11. DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi tayininde kullanılan standart grafiği.

Plantago major L. bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstreleriyle ilgili yapılan çalışmalarda kullanılan ekstreler ile troloks standart antioksidan bileşiğın DMPD⁺⁺ giderme aktiviteleeri tayini için standart grafik hazırlandı.

DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan DMPD⁺⁺ miktarı standart grafikten elde edilen denklemden hesaplandı. DMPD⁺⁺ miktarındaki azalma yüzde olarak aşağıda verilen eşitlikten bulundu.

$$\text{DMPD}^{++} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = \left[1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right] \times 100 \quad \dots\dots\dots(3.3)$$

Burada A_{Numune} DMPD⁺⁺ çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, A_{Kontrol} ise sadece DMPD⁺⁺ çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbansını ifade eder. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı



Şekil.3.12. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (15–45 µg/ml) DMPD⁺⁺ giderme aktivitelerinin standart antioksidan olan troloks ile karşılaştırması.

Çizelge.3.6. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 45 µg/mL’de DMPD⁺⁺ giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri

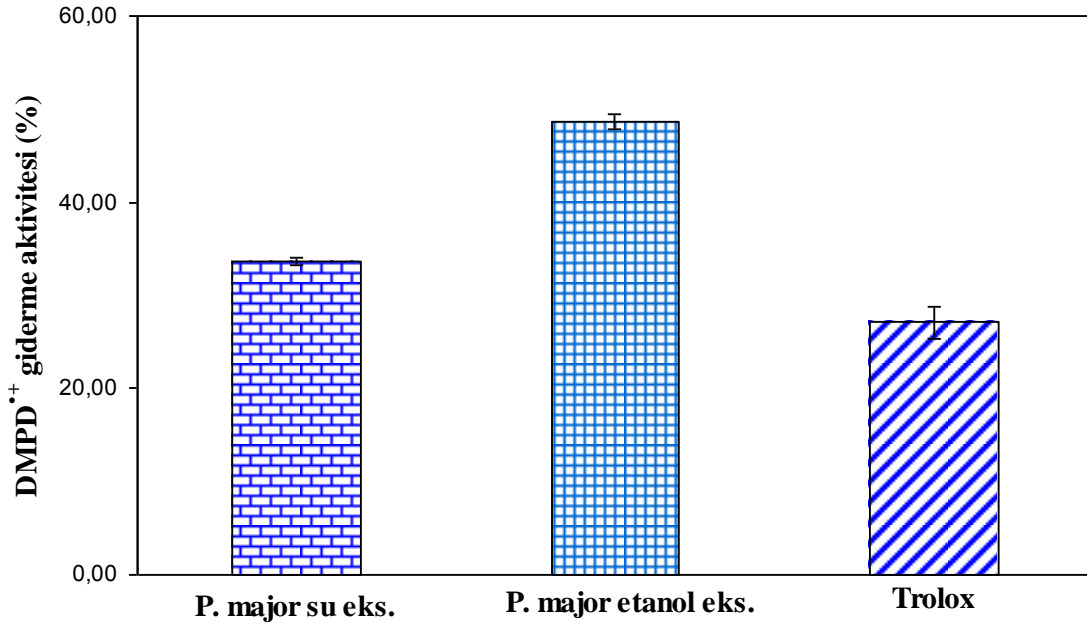
Konsantrasyon (45 µg/mL)	DMPD ⁺⁺ giderme aktivitesi % ($\bar{x} \pm SEM$)
P. major su ekstresi	33,63 ± 0,45 ^a
P. major etanol ekstresi	48,59 ± 0,83 ^a
Troloks	27,08 ± 1,76 ^a

a: p<0,001, b: p<0,01, c: p<0,05

Plantago major L. su ekstresi DMPD⁺⁺ giderme radikali giderme aktivitesi standart madde ile karşılaştırıldığında, troloks ($p < 0,001$) düzeyinde daha yüksek bulundu, *Plantago*

major etanol eks . DMPD⁺ giderme radikali giderme aktivitesi troloks'tan ($p < 0,001$), istatistiksel olarak yüksek bulundu.

Plantago major L. bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen su ve etanol ekstreleri ile standart bir antioksidan olan troloks 45 µg/mL konsantrasyonunda sırasıyla DMPD⁺ giderme aktivitesi gösterdiler: *Plantago major L.* etanol ekstresi > *Plantago major L.* su ekstresi > Troloks şeklindedir. Bu değerler yine sırasıyla % 48,59 ± 0,83, % 33,63 ± 0,45, % 27,08 ± 1,76 olarak belirlendi.



Şekil.3.13. *Plantago major L.* bitkisinin 45 µg/mL konsantrasyonunda DMPD⁺ giderme aktivite yüzdesinin standart antioksidan olan troloks ile karşılaştırması.

3.6. Süperoksit Anyon Radikali Giderme

Bu metotta süperoksit anyon radikalleri riboflavin/metiyonin/ışık sisteminde çözünen oksijenden elde edildi. Ortamdan giderilen süperoksit anyon radikalleri aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplandı.

$$O_2^- \text{ Giderme etkisi (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \dots\dots\dots(3.4)$$

Formülde verilen A_{Kontrol} kontrol nümunesinin absorbands değeridir. A_{Numune} ise çalışmada kullanılan standart antioksidan maddelerin absorbands değeridir (Gülçin ve ark., 2004)

560 nm`de yapılan ölçümlerde absorbandsın azalma derecesi ne derece süperoksit (O_2^-) anyonunun temizlendiğinin bir ölçüsüdür.

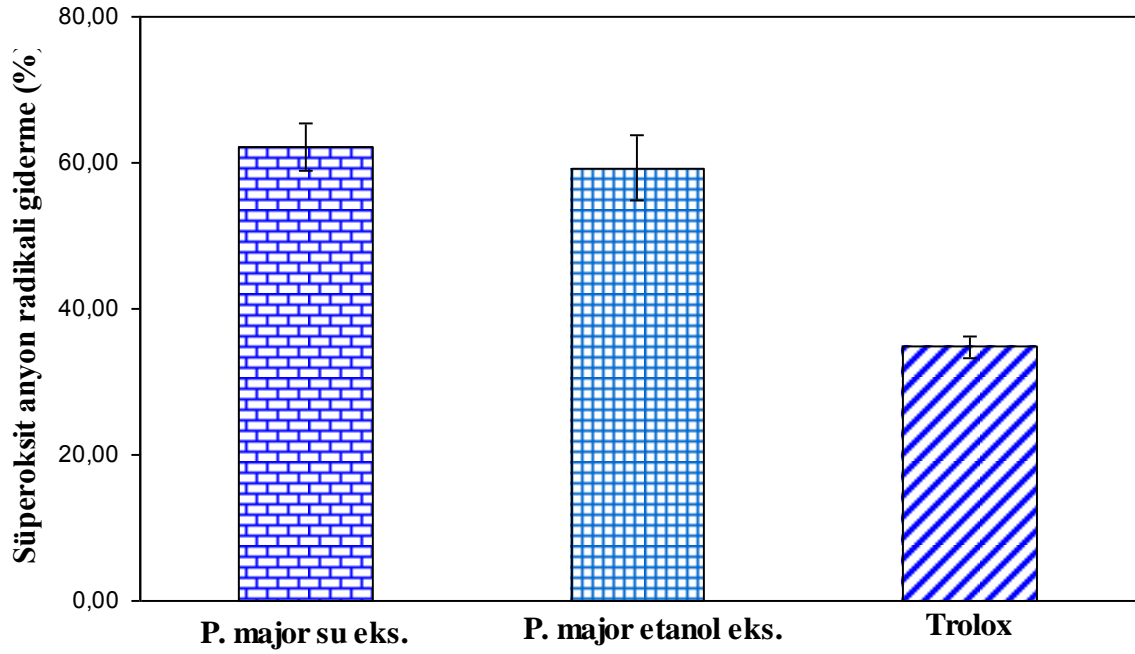
Çizelge.3.7. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 60 $\mu\text{g/mL}$ 'de süperoksit anyon radikali giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (60 $\mu\text{g/ml}$)	Süperoksit anyon radikali giderme % ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)
P. major su ekstresi	62,24 \pm 3,19 ^b
P. major etanol ekstresi	59,32 \pm 4,44 ^b
Troloks	34,74 \pm 1,56 ^b

a: $p < 0,001$, b: $p < 0,01$, c: $p < 0,05$

Plantago major L. su ekstresi süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi standartlar ile karşılaştırıldığında, Troloks ($p < 0,01$) düzeyinde daha düşük bulundu, *Plantago major L.* Etanol ekstresi süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi troloks ile ($p < 0,001$), istatistiksel olarak düşük bulundu.

Plantago major L. Su ekstresi $>$ *Plantago major L.* Etanol ekstresi $>$ troloks şeklindedir *Plantago major L.* su ve etanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standart antioksidan maddenin (troloks) 60 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi sırasıyla % 62,24 \pm 3,19 , 59,32 \pm 4,44, % 34,74 \pm 1,56 ve olarak bulundu. Sonuçlar standartlar ile karşılaştırıldığında *Plantago major L.* su ekstreleri etkili bir şekilde süperoksit anyon radikallerini giderdiği gözlemlendi.



Şekil.3.14. *Plantago major L.* Su ve etanol ekstreleri ile bir standart antioksidan olan troloks'un aynı konsantrasyonunda (60 µg/mL) süperoksit anyon radikalleri giderme aktiviteleri.

3.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

Çizelge.3.8. *Plantago major L.* Su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 30 µg/mL'de hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin inhibisyon değerleri

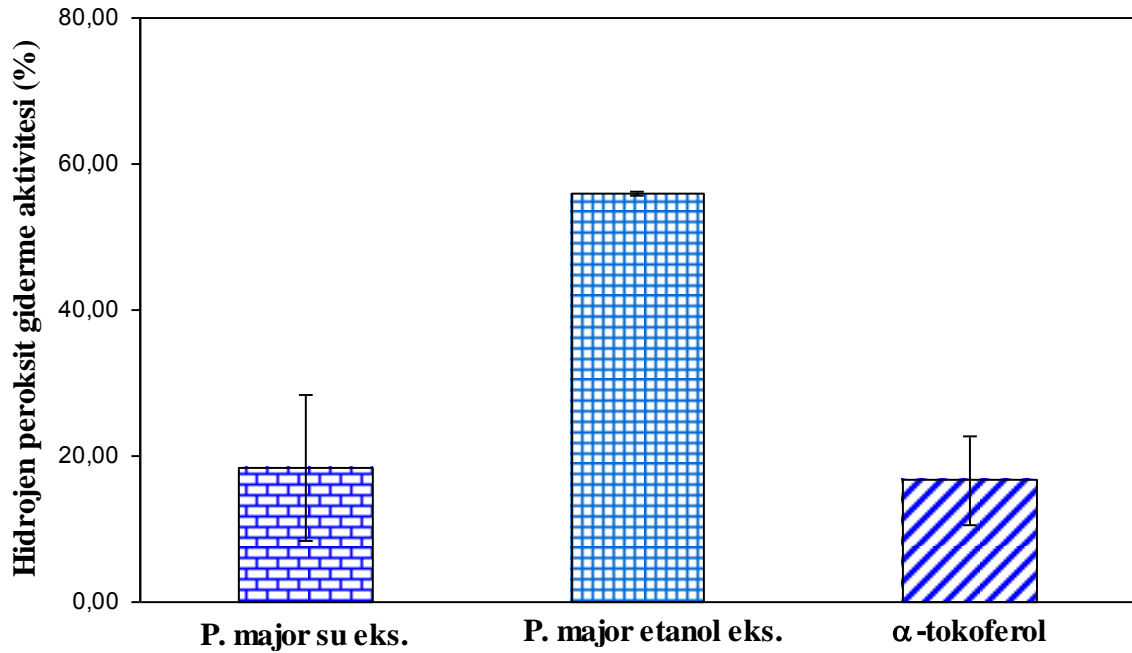
Konsantrasyon (30 µg/mL)	Hidrojen peroksit giderme aktivitesi % ($\bar{x} \pm SEM$)
P. major su ekstresi	18,36 ± 9,94
P. major etanol ekstresi	55,87 ± 0,23 ^a
α-tokoferol	16,73 ± 6,07 ^a

a: p<0,001, b: p<0,01, c: p<0,05

Plantago major L. Etanol ekstresi hidrojen peroksit giderme aktivitesi standartlar ile karşılaştırıldığında, α -tokoferol ($p < 0,001$) daha düşük bulundu.

Plantago major L. Su ve etanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standart antioksidan maddeler (α -tokoferol) 30 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda Hidrojen peroksit giderme aktivitesi sırasıyla $\% 18,36 \pm 9,94$, $\% 55,87 \pm 0,23$, $\% 16,73 \pm 6,07$ olarak bulundu.

Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin 230 nm deki absorbans değerlerine göre bitki ekstraktlarından *Plantago major L.* Etanol ekstraktı $55,87 \pm 0,23$ Standart antioksidan maddeden α -tokoferol $16,73 \pm 6,07$ hidrojen peroksit giderme aktivitesinin daha yüksek olduğu bulundu *Plantago major L.* Etanol ekstraktı standart antioksidan maddeden daha etkili hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahiptir.



Şekil.3.15 *Plantago major L.* 30 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda hidrojen peroksit giderme aktivitesinin bir standart antioksidan olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.

3.8. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Çizelge.3.9. *Plantago major L.* bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstrelerinin toplam fenolik bileşik miktarı

Bitki Ekstreleri	Toplam Fenolik Bileşik Mik.(mg/g)
<i>Plantago major L.</i> su ekstresi	9,99 ± 0,58
<i>Plantago major L.</i> etanol ekstresi	18,47 ± 0,69

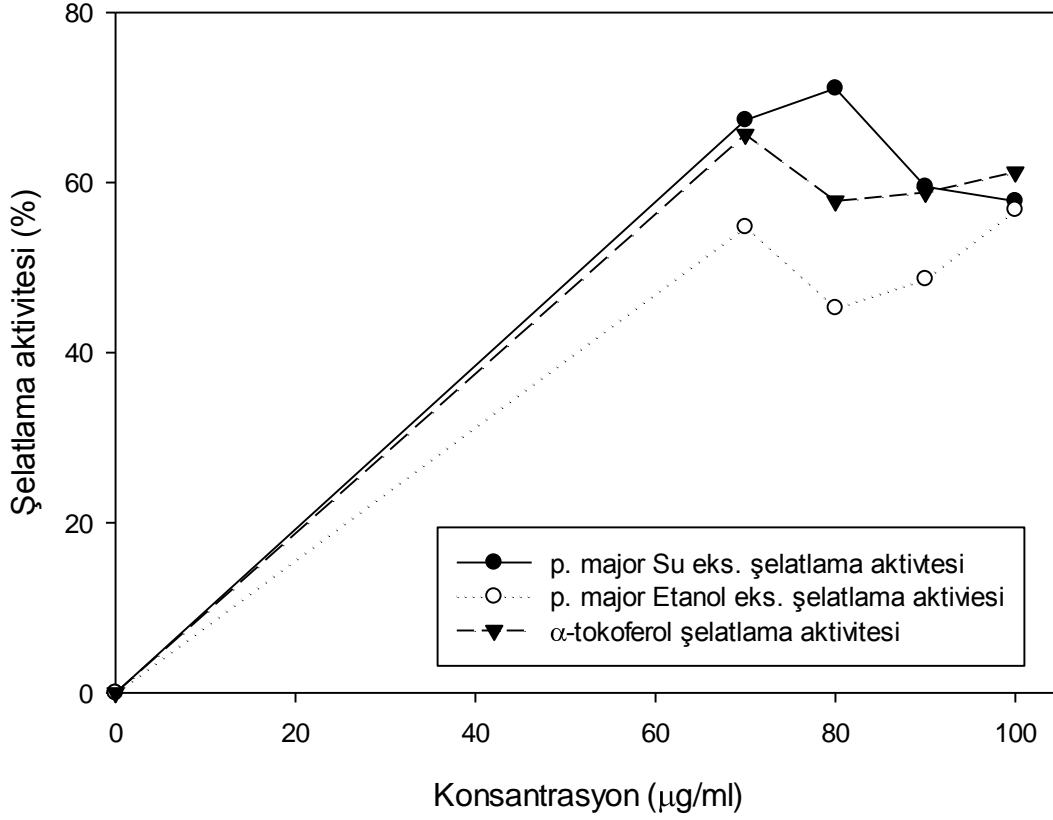
3.9. Toplam Flavanoid Miktarı

Plantago major L. bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstrelerinin toplam Flavanoid miktarı.

Çizelge.3.10. *Plantago major L.* bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstrelerinin toplam flavanoid miktarı

Bitki Ekstreleri	Toplam Flavanoid Mik.(mg/g)
<i>Plantago major L.</i> su ekstresi	5,34 ± 0,07
<i>Plantago major L.</i> etanol ekstresi	7,85 ± 0,03

3.10. Metal şelatlama etkisi



Şekil 3.16. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarında (10-30 µg/mL) ferröz iyonları (Fe^{2+}) şelatlama aktivitesinin standart birer antioksidan olan α-tokoferol ile karşılaştırılması.

Metal iyonları şelatlama aktivitesi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarını engellemek veya geciktirmek için sıklıkla kullanılan önemli bir antioksidan metottür.

Çizelge 3.11. *Plantago major L.* su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 100 µg/ml’de metal-şelat aktivitelerinin inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (100 µg/ml)	metal şelatlama aktivitesi % ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)
P. major su ekstresi	57,82 ± 0,68
P. major etanol ekstresi	56,80 ± 0,59
α-tokoferol	61,23 ± 0,69

a: p<0,001, b: p<0,01, c: p<0,05

Plantago major L. su ekstresi şelatlama aktivitesi standartlar ile karşılaştırıldığında, α-tokoferolden ($p > 0,05$) daha düşük bulundu *Plantago major L.* etanol ekstresi şelatlama aktivitesi α-tokoferolden ($p > 0,05$) istatistiksel olarak düşük bulundu.

% metal şelatlama aktivitesi, *Plantago major L.* su ekstresi, *Plantago major L.* etanol ekstresi, α-tokoferol’un 100 µg/ml konsantrasyonda sırasıyla 57,82 ± 0,68, 56,80 ± 0,59, 61,23 ± 0,69 olarak bulundu.

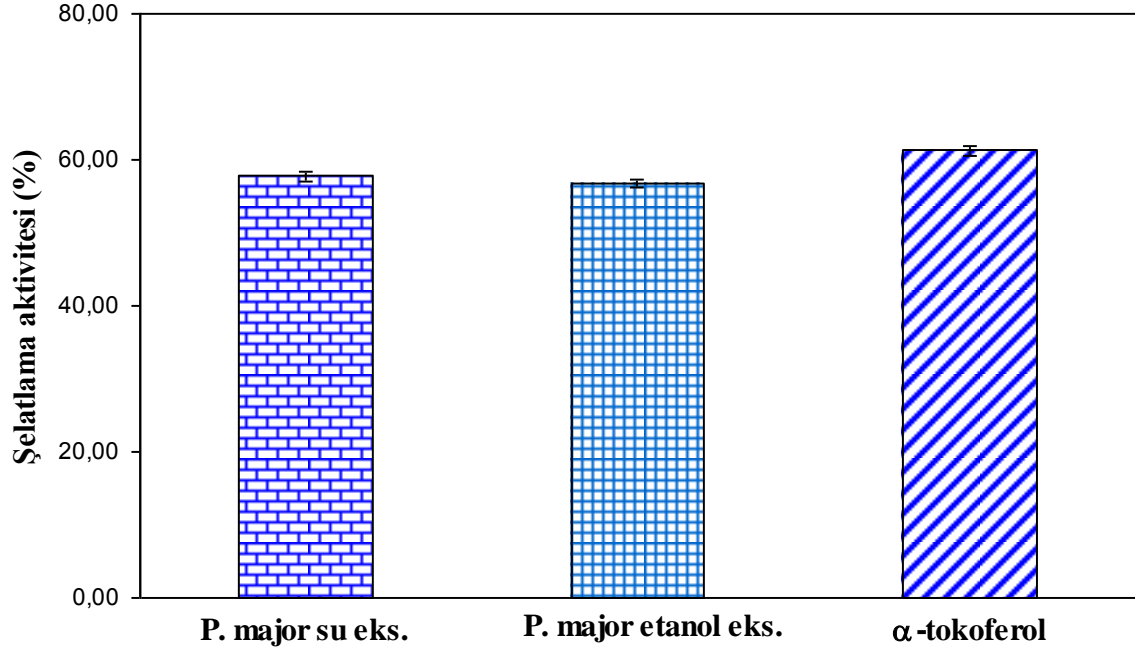
Metal şelatlama aktivite değerleri α-tokoferol > *Plantago major L.* su ekstresi > *Plantago major L.* etanol ekstresi şeklinde değişmektedir.

Metal şelatlama aktivitesinde azalan absorbans ferrozün bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını gösterir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplandı.

$$\text{Ferröz İyonları (Fe}^{2+}\text{) Şelatlama Etkisi (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right\} \times 100 \quad \dots(3.5)$$

Formülde verilen A_{Kontrol} kontrol nümunesinin absorbans değeridir. A_{Numune} ise *Plantago major L.* Su ve etanol ekstresi ya da çalışmada kullanılan standart antioksidan maddelerin absorbans değeridir (Gülçin ve ark., 2004).

Bu yöntemde ferrozün ile Fe^{+2} kompleks oluşturarak, ortama kırmızı renk verir. Şelatlama ajanlarının ilavesiyle, kompleks oluşumu bozulur ve kırmızı renk azalır. Metal şelatlama ajanlarının, demir iyonlarını ferrozünden önce yakalayarak kompleks oluşumu engellenerek renkteki azalma üzerinden hesaplanmaktadır (Gülçin ve ark., 2004).



Şekil 3.17. *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarında α -tokoferolün 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ferröz iyonları (Fe^{2+}) şelatlama aktivite yüzdeleri.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektronlardan dolayı reaktif oksijen parçalarıyla reaksiyona girerek serbest radikalleri oluşturur ve bu olayda vücut hücrelerinde devamlı oluşur.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu, Fe, Mn ve Mo gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar.

Sürekli gelişmekte olan teknoloji, oluşan çevre kirliliği, sigara, UV vb. pek çok diğer etken sürekli olarak çeşitli toksik maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden olmaktadır. Bu etkiler kendini serbest radikal oluşumuyla gösterir. Tüm bu nedenlerden dolayı dış etkilerle oluşan hastalıklar artmakta, genetik hastalıkların da çevresel etkilerle daha çok belirginleşmesine neden olmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle bu hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. Bunun içinde ilaçlardan öte alınan besinler önem kazanmaktadır. Serbest radikallerin etkilerini önleyen ve gıdalarda bol miktarda bulunması gereken C vitamini ve E vitamini kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkların oluşumunu önlemektedir. Besinlerin dışında dışarıdan yapılacak takviyelerin de yararlı olduğu yapılan doz tespit çalışmalarıyla anlaşılmıştır. Ancak vücudun hassas dengesi alınacak aşırı dozlarla bozulabilmekte, bunun sınırının konabilmesi gerekmektedir (Dawn ve ark., 1996; Akkuş, 1995; Tietz, 1995; Burtis ve Aswood, 1999).

İz elementlerin metabolik fonksiyonlarının birçoğu benzerdir. Bazı durumlarda bunlar özellikle proteinler ve diğer moleküllerin konformasyonel durumuna etki ederken, bazıları da organik moleküller arasında koordinasyon kuvvetleri olarak çalışırlar. Ayrıca enzimlerin integral kısımları (metalloenzimler) ve enzimlerin fonksiyonu için esansiyeldirler (Sandstead ve ark., 1970).

İz elementler, genellikle bağırsakta iyonik halde bulunmazlar. Diğer besinlerle birlikte kompleks haldedirler. Bir metalin besinlerle olan etkileşimi emilme yeteneğini tayin eder. Metal ve karboksilik asitlerin suda çözünür kompleksleri çok daha iyi bir intraluminal difüzyon sağlar. Metal kısım emilim bölgeleri ile daha kolay etkileşir. Tersine metalin fosfatlarla kompleksler yapması metalden faydalanmayı azaltır. Birçok besinin işlenmesi sırasında ilave edilen inorganik fosfatın büyük bir kısmı bitkisel formdadır (fitat). İntestinal pH'da bu fitat çinko, bakır gibi metallerin çökmesine neden olur (Sandstead ve ark., 1970). Diyetle alınan kalsiyum ve hayvansal proteinler fitat ile yarışa girerek metallerin kullanılabilirliğini artırır. Fitat içindeki bitkisel kaynaklı proteinler de eser elementlerin alınımını azaltırlar. Bu tür biyokimyasal etkileşimler metallerin klinik olarak eksiklik durumlarını oluştururken hücreler tarafından emilimini de etkiler (Yaylalı ve Sözer, 1995).

İz elementler bütün bitkiler için esansiyeldir. İz elementlerin bir çoğunun birkaç tür için gerekli olduğu ve diğerlerinin bitki üzerinde sitimüle edici bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. İz elementler yüksek konsantrasyonlarda hücreler üzerinde toksik etkiye sahiptirler. bitkiler için esansiyel olan iz elementler solunum, fotosentez ve fikzasyon gibi metabolik yollarda anahtar rol oynarlar. iz elementlerin (bakır, alüminyum, kobalt, molibden, mangan ve çinko) bir çoğu bazı bitki türlerinin koruma ve savunma mekanizmasında yer aldığı belirtilmiştir (Kataba ve ark., 2001).

Antioksidan maddeler ya da antioksidan yönüyle zengin yiyecekler, serbest radikaller ve aktif oksijen tarafından oluşturulan insan vücudunda oluşabilecek oksidatif hasarı azaltmada yardımcı olarak kullanılabilirler (Halliwell ve Gutteridge,1984; Mau ve ark.,2001; Gülçin ve ark.,2003).

Antioksidan enzimler optimum katalitik aktiviteyi sağlamak için bakır, çinko, demir ve selenyum gibi elementlere ihtiyaç duyarlar. Bir antioksidan olan çinko hücrel gelişim koruyucu olarak hareket eder ve yetersizliğinde malignant transformasyonun birçok safhasında olduğu bildirilmiştir (Kalpana, 2004; Baltacı 2004). Çinkonun antioksidan rolü muhtemelen ROS oluşumunun inhibisyonu ve oksidasyona karşı -SH gruplarının korunumundan ileri geldiği öne sürülmüştür (Kulikowska-Karpinska ve ark 2001). Bakır,

birçok enzimin yapısında, enerji metabolizması, protein sentezi ve serbest radikallere karşı koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir (Brouns, 2002).

Antioksidan vitaminler (A, C ve E vitaminleri), süperoksitdismutaz (SOD), katalaz, glutatyon (GSH), seruloplazmin ve glutasyon peroksidaz gibi antioksidan sistemler çoğu patolojik oluşumların temeli olan lipit peroksidasyonuna karşı hücreyi korumaktadır (Bray ve Bettger, 1990).

Plantago major L. 'un tohum ve yaprakları yüzyıllardır yara, ülser ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Araştırmalar, yaprakların anti-komplementer aktiviteye sahip pektin ve arabinogalaktan içerdiğini göstermektedir (Samuelsen, 1999).

Plantago major L., polisakkaridler, lipidler, fenolik bileşikler, flavonoidler, iridoid glikozidler, terpenler, benzoik bileşikler (vanilik asit), taninler, saponinler ve steroller gibi biyolojik aktif maddeleri içerir. Biyolojik aktiviteleri bilinen *Plantago major L.* bitkisinden izole edilen apigenin, baicalein, baicalin, luteolin, hispidulin, plantagin, skutellarein, nepetin ve homoplantagin gibi flavonoidler, kanser hücre yıkımına neden olmalarının yanında, antialerjenik, antiviral, anti-inflamasyon ve vazodilasyon etkileri olduğu da belirlenmiştir.

Bu çalışmada *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarında dokuz farklı yöntemle *in vitro* deneyler yapılarak antioksidan özelliğe sahip olup olmadıkları araştırıldı. Yapılan deneylerin genel bir değerlendirilmesi yapılacak olursa: *Plantago major L.* bitkisinin su ve etanol ekstralarının belirli yüzdelerde antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Total antioksidan aktivite ile 30 µg/ml konsantrasyonda *Plantago major L.* su ekstresi total antioksidan aktivite standartlar ile karşılaştırıldığında, α-tokoferol ile istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) düzeyinde daha düşük, BHT ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) düzeyinde daha yüksek bulundu *Plantago major L.* etanol ekstresi total antioksidan aktivite α-tokoferol için istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) düzeyinde daha düşük, BHT ile istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) düzeyinde daha yüksek bulundu.

Elde edilen sonuçlar 30 µg/ml konsantrasyonda ki değerleri sırası ile şu şekildedir; α-tokoferol > *Plantago major L.* etanol ekstresi > *Plantago major L.* su ekstresi > BHT

olarak bulunmuştur. Elde edilen değerler % Antioksidan aktivite olarak sırasıyla; $55,01 \pm 1,86$, $51,32 \pm 3,99$, $48,42 \pm 2,64$, ve $23,58 \pm 9,02$ olarak belirlendi.

Samuelsen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada DPPH IC₅₀ değeri $0,85 \pm 0,02$ µg/µg elde edilmiştir.

DPPH radikali inhibisyonunun değişiminde her iki bitki ekstraksiyonu için % 50 inhibisyon gösteren derişimleri belirlenmiş ve standart sentetik antioksidan olan troloks ile karşılaştırılmıştır. *Plantago major L.* etanol' nın IC₅₀ değeri $10,33 \pm 1,75$ (µg/ml), troloks $14,25 \pm 0,81$ (µg/ml) *Plantago major L.* su $19,08 \pm 1,79$ (µg/ml) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *Plantago major L.* Etanol ekstraktının iyi bir DPPH serbest radikal giderici olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmada Samuelsen ve arkadaşlarının verileri ile uyum göstermemektedir.

Plantago major L. etanol, su ekstresi ve troloks ile karşılaştırıldığında DPPH radikali süpürme aktivitelerinde daha aktif olduğu belirlendi.

45 µg/ml konsantrasyonda *Plantago major L.* su ekstresi indirgeme gücü standartlar ile karşılaştırıldığında, α-tokoferol ($p < 0,001$) düzeyinde daha düşük bulundu.

Plantago major L. su ve etanol ekstrelerinin ve standartların indirgeme güçleri 45 µg/ml'de şu şekilde sıralanmıştır; α-tokoferol > *Plantago major L.* etanol ekstresi > *Plantago major L.* Su ekstresi.

Elde edilen değerler indirgenme gücü olarak sırasıyla; $0,232 \pm 0,0060$, $0,228 \pm 0,005$ ve $0,151 \pm 0,003$ olarak belirlendi

İndirgenme gücü deneyinde bir bileşiğin indirgeme gücü onun potansiyel antioksidan aktivitesinin bir ölçüsüdür. İndirgeme gücü deneyinde en yüksek değeri standart maddeden sonra *Plantago major L.* Etanol ekstraktı $0,228 \pm 0,005$ değeri ile göstermiştir.

Bitki ekstraktlarının standart antioksidant maddelerden daha düşük indirgeme gücüne sahip olmalarına rağmen etanol ekstresinin etkili bir indirgeme gücüne sahip olduğu düşünülebilir.

Plantago major L. Su ekstresi DMPD⁺ giderme radikali giderme aktivitesi standart madde ile karşılaştırıldığında, troloks ($p < 0,001$) düzeyinde daha yüksek bulundu, *Plantago*

major etanol eks . DMPD⁺ giderme radikali giderme aktivitesi troloks'tan ($p < 0,001$), istatistiksel olarak yüksek bulundu.

Plantago Major L. Bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen su ve etanol ekstreleri ile standart bir antioksidan olan troloks 45 µg/ml konsantrasyonunda sırasıyla DMPD⁺ giderme aktivitesi gösterdiler: *Plantago major L.* Etanol ekstresi > *Plantago major L.* Su ekstresi > Troloks şeklindedir. Bu değerler yine sırasıyla % 48,59 ± 0,83, % 33,63 ± 0,45, % 27,08 ± 1,76 olarak belirlendi.

Plantago major L. su ekstresi süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi standartlar ile karşılaştırıldığında, troloks ($p < 0,01$) düzeyinde daha yüksek bulundu, *Plantago major L.* etanol ekstresi süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi Trolokstan ($p < 0,001$), istatistiksel olarak düşük bulundu.

Plantago major L. su ekstresi > *Plantago major L.* etanol ekstresi > Troloks şeklindedir *Plantago major L.* su ve etanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standart antioksidan maddenin (troloks) 60 µg/ml konsantrasyonunda süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi sırasıyla % 62,24 ± 3,19 , 59,32 ± 4,44, % 34,74 ± 1,56 ve olarak bulundu. Sonuçlar standartlar ile karşılaştırıldığında *Plantago major L.* Su ekstreleri etkili bir şekilde süperoksit anyon radikallerini giderdiği gözlemlendi.

Plantago major L. Su ve etanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standart antioksidan maddeler (α-tokoferol) 30 µg/mL konsantrasyonunda Hidrojen peroksit giderme aktivitesi sırasıyla % 18,36 ± 9,94, % 55,87 ± 0,23 , % 16,73 ± 6,07 olarak bulundu.

Plantago major L. Etanol ekstresi hidrojen peroksit giderme aktivitesi standartlar ile (α-tokoferol) karşılaştırıldığında, ($p < 0,001$) daha düşük bulundu.

Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 230 nm deki absorbans değerlerine göre bitki ekstraktlarından *Plantago major L.* Etanol ekstraktı 55,87 ± 0,23 Standart antioksidant maddeden α-tokoferol 16,73 ± 6,07 hidrojen peroksit giderme aktivitesinin daha yüksek olduğu bulundu *Plantago major L.* Etanol ekstraktı standart antioksidant maddeden daha etkili hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahip olduğu kanaatine varıldı.

% metal şelatlama aktivitesi, *Plantago major L.* Su ekstresi, *Plantago major L.* Etanol ekstresi, α -tokoferol'un 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda sırasıyla $57,82 \pm 0,68$, $56,80 \pm 0,59$, $61,23 \pm 0,69$ olarak bulundu.

Plantago major L. su ekstresi şelatlama aktivitesi standartlar ile karşılaştırıldığında, α -tokoferolden ($p>0,05$) daha düşük bulundu *Plantago major L.* etanol ekstresi şelatlama aktivitesi α -tokoferolden ($p> 0,05$) istatistiksel olarak düşük bulundu.

Sonuç olarak metal şelatlama aktivite degerleri sırasıyla α -tokoferol > *Plantago major L.* su ekstresi > *Plantago major L.* etanol ekstresi şeklinde değişmektedir.

Polifenolik bileşikler, potansiyel bir antioksidant olduğu için antioksidant aktivite belirlemede, toplam fenolik madde miktarlarının bilinmesi önemlidir.

Samuelsen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Plantago major L.* Etanol ekstraktı ile yapılan analizlerde total fenolik içerik $60,9 \pm 0,1$ mg/g flavonoid içerik ise $40,0 \pm 0,9$ mg/g olarak, Ivana ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *plantago major* yaprak kısmında su ekstraktı ile yapılan analizlerde total fenolik bileşiklerde $13,05 \pm 0,10$ mg gallik asid/g ve total flavonoid bileşiminde ise $6,41 \pm 0,04$ mg kuarsetin/g olarak tespit edilmiştir.

Fenolik bileşiklerin toplamının tayini deneyinde ise en yüksek fenolik bileşik konsantrasyonuna sahip *Plantago major L.* Etanol ekstresi $18,47 \pm 0,69$ mg/gr değeri bulundu. Toplam Flavonoid miktarında , *Plantago major L.* Etanol ekstresinde $7,85 \pm 0,03$ mg/g olarak su ekstresinden daha yüksek bulundu. Yapılan çalışmada bulunan sonuçlar samuelsen ve arkadaşlarının bulgularına göre düşük bulunmuştur. Bu sonuç Samuelsen ve arkadaşlarına paralellik göstermemektedir. Fakat ivana ve arkadaşlarının yaptıkları sonuçlara yakın değerler tespit edildi.

Bulunan değerlerin farklı iklim ve toprak durumundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Samuelsen, 1999).

Genel olarak analiz sonuçlarında görüldüğü gibi verilen toplu bulgulara bakıldığında etanol ekstresinin su ekstresinden daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi.

Yapılan çalışmada, *Plantago major L.* Su ve etanol ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak ortamda bulunan serbest radikalleri süpürdüğü, standart antioksidan maddeler ile karşılaştırıldığında da etkin bir antioksidan aktivitesinin olduğu tespit edildi.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bitkilerin içerdiği biyolojik aktif maddeler farklı metodlar kullanılarak kimyasal analizleri yapılabilir ve farmakolojik özellikleri incelenebilir. Bulunan sonuçların *in vivo* çalışmalar ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi biyoyararlılığın belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Elde edilen değerlerin bir sonucu olarak *Plantago major L.*'nin etanol ekstraktı yüksek DPPH ve hidrojen peroksit temizleme aktivitesi, DMPD⁺ giderme aktivitesi, indirgenme gücüne, fenol ve flavonoid içeriğine sahip olduğu, *Plantago major L.*'nin su ekstraktı bu yönden daha düşük antioksidan ve antiradikal aktivite gösterdiği, bulunan antioksidan vitamin değerleri ile bu bitkinin antioksidan özellikte olduğunu göstermektedir. *Plantago major L.*'nin istatistiksel olarak yapılan analizlerde anlamlı şekilde hem serbest radikal süpürücü hem de antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bulunan verilerin ileride yapılacak çalışmalarda referans değer olarak ve deneysel olarak oluşturulacak oksidatif stresin sonucunda hayvan modellerinde oluşan serbest radikallere karşı antioksidan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Akalın, E., Açıkgöz, B., Aksungur, P., Alp, M., Alpaslan, M., 1989. **Özet Temel Ve Klinik Bilimler**. Güneş yay. Ankara. 238.
- Akkuş., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. **Mimoza Yayınları**.Konya.
- Akyüz, F., Ekin, Ö., Erden, M., 1993. Evaluation of serum magnesium, zinc, copper and ascorbic acid levels in patients with hypertension and atherosclerotic heart diseases, **Turkish Journal of Medical Research, 11 (6)**, 273-276.
- Alexandris, V.S., 1990. Die Luftverunreinigungen in Griechenland und dieimmissionstoleranz **Mediterraner Koniferen, Jahrang Haft, 107, 4**, 233-240.
- American Diabetes Association., 1992. **Magnesium Supplementation in the Treatment of Diabetes, Diabetes Care, 15,8**.1065-67.
- Baltacı, A. K, Mogulkoc, R, Turkoz, Y, Bediz, C. S. Ozugurlu, F., 2004. The effect of pinealectomy and zinc deficiency on nitric oxide levels in rats with induced *Toxoplasma gondii* infection. **Swiss Med Wkly., 134**, 359–363.
- Baykut. F., 2000 **Vitamin-C L(-) Askobik Asid**, Istanbul üniversitesi biyomedikal mühendislik uygulama ve araştırma merkezi.nobel kitap evi ANKARA
- Bray,T.M., Bettger,W.J., 1990. The physiological role of zinc as an antioxidant, **Radic. Biol.Med., 8** :281-291.
- Brewster, M. A., 1984. **Vitamins. In Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation**. Edited by L. A. Kaplan and A. J. Pesce. Th. C. V. Mosby Company, St., Louis. USA. 656-685.
- Brouns, F, Cargill, C., 2002. **Essentials of Sports Nutrition**. John Wiley & Sons: England,; 100-101.
- Browning, E., 1969. **Toxicity of Idustrial Metals, 2. nd ed. Butterworths**. London. 144-150, 348-353.
- Burits, M., Asres, K., Bucar, F. 2001. The antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. **Phytotherapy Research, 15**: 103-108.

- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- Connell, D. W. and Miller, G. J., 1984. *Chemistry And Ecotoxicology of Pollution*, John Wiley & Sons Inc. New York.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., 1997. iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv Chim Acta*, **80**: 1144-1152.
- Çalışkan E., 2007. *İğde Çiçeği (Elaeagnus Angustifolia) Ve Kedi Nanesi (Nepeta Catoria) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi*.(Yüksek Lisans Tezi), Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tokat.
- Dawn, B.M., Allan D.M., Colleen M.S., 1996. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Demet, Ö. ve Baş, A. L., 1992. Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller, *Çevre Dergisi*, **5**, 42-46.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., and Almeida, L.M., 1994. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys*, **315**, 161–169.
- Diplock, A. 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, **59 p.**, Belgium.
- Djurhuus, M.S., Henriksen, J.E., Klitgaard, N.A.H., Blaabjerg, O., 1999. Effect of Moderate Improvement in Metabolic Control on Magnesium and Lipid Concentrations in Patients with Type 1 Diabetes, *Diabetes Care*, **22**,4,546.
- Duh Pin-Der, Yen Gow-Chin., 1997. Antioxidative activity of three herbal water extracts. *Food Chemistry*, **60**: 639-645.
- Elin, R.J., 1970. Assessment of Magnesium Status, *Clinical Chemistry*, **33**,**11**,1965-1970.
- Elliot A. J., Scheiber S. A., Thomas C., Pardini R. S., 1992. Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. A structure activity study. *Biochem. Pharmacol.*,**443** (8), 1603-1608.
- Engin, M.S., 2007. *Taflan (Laurocerasus Officinalis Roem.) bitkisinin meyve, çekirdek ve yapraklarının mevsim değişikliğine göre antioksidan aktivitelerinin*

- belirlenmesi ve fenolik bilesik tayini,(yüksek lisans tezi).* Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tokat.
- Erdik, E., Sarıkaya, Y., 2002. *Temel Üniversite Kimyası*. Gazi yay. Ankara. 1161
- Fantel, A.G., 1996. Reactive oxygen species in developmental toxicity: **Review and hypothesis. *Teratology*, 53: 96–217.**
- Fogliano V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A., 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035–1040.**
- Friberg, L., Piscator, M., Nordberg, G.F. and Kjellström, T., ***Cadmium in the Environment***, CRC Press Inc, Ohio.
- Genç, Ö., Volkan, M., Canpolat, Ü ve Sanlı, M., 1988. Atomik Spektrokopi, ***TMMOB Kimya Mühendisleri Odası***, Ankara.
- Golubkina, N.A., Prudnik, OV., 1989. Vitamin C determination in food products. *Journal of Analytical Chemistry of the USSR*. 1989, 44: 8, 1091-1100 Nutrition-Abstracts-and-Reviews.-Series-A 1992 062-00028.
- Gözükara, E.M., 2011.Biyokimya.***Nobel Tıp Kitap Evleri***, s.852;874;897.
- Greenberg, A. E., Trusell, R. R. and Clesceri, L. S., 1986. Standart Methods For the Examination of Water and Wastewater, 60. th Ed. ***Amerikan Public Health Assocation***, Washington.
- Gülçin, I., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ.Aslan, A., 2003. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L.) ***Ach.Journal of Ethnopharmacology*, 79:325-329.**
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M. and Büyükkuroğlu, M.E., 2004c. **Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *J. Ethnopharmacol.*, 90, 205-215.**
- Gülçin, İ., 2005. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. ***International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 : 491-499.**
- Hallıwell, B., 1999. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). ***Free Radic. Res.*, 31: 261-272.**

- Halliwell B. 1995. Oxygen radicals, nitric oxide and Human inflammatory joint disease. *Ann Rheum dis* ; **54** : 505-10.
- Halliwell, B.,Gutteridge,J.M.C.,1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease.*Biochemistry Journal*. **219**, 3-16.
- Ívana, T.S., Sosa, S.S., Dragan, T.V., Miodray, L.L., vladu, B.V., 2008. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from plantain (plantago majör L.) Leaves. *Separation science and teknology*, **43**:3652-3662.
- Joslyn, S., Lynch, C., Wallace, R., Olson, D., Hoasen, V.C., 1990. Relationship between Diabetes Mellitus Mortality Rates and Drinking Water Magnesium Levels in Iowa, *Magnesium and Trace Elements*, 9,94-100.
- Kalpana, C. and Menon, P. V., 2004. Protective Effect of Curcumin on Circulatory Lipid Peroxidation and Antioxidant Status During Nicotine-Induced Toxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*.**14**, 339-343.
- Kataba-Pendias, A. and Pendias, H. 2001. Trace elements in soils and plants. *Third Edition, CRC Press LLC*, Washington, USA.
- Kirby, A.J., Schmidt, R.J., 1997. *The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs – I. J. Ethnopharmacol*,56: 103-108.
- Kulikowska-Karpinska, E., Moniuszko-Jukoniuk, J., 2001. Lead and Zinc influence on Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde concentrations. *Polish Journal of Environmental Studies*, **10**, 161-165.
- Lima, M.L., Cruz, T., Pousada, J.C., Rodrigues, L.E., 1998. *The Effect of Magnesium Supplementation in Increasing Doses on the Control of Type 2 Diabetes, Diabetes Care*, **21**,5,682.
- Mau,J.L., Chao,G.R., Wu,K.T.,2001.Antioxidant properties of methanolic extracts from several mushrooms..*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**:5461-5467.
- Mitsuda H., Yuasumoto K., Iwami K., 1996. Antioxidation action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Journal of Japanese Society of Food and Nutrition (Eiyo to Shokur)*,**19**, 210,214.
- Mooradian, A.D., Failla, M., Hoogwerf, B., Maryniuk, M., Wylierosett, J., 1994. *Selected Vitamins and Minerals In Diabetes, Diabetes Care*, **17**, (5) : 464-479.

- Mooradian, A.D., Morley, J.E., 1987. Micronutrient Status In Diabetes Mellitus. *American Journal Of Clinical Nutrition*, (45) : 877-895.
- Munoz, J. R. (1968) Atomic - Absorption Spectroscopy and Analysis by Atomic - Absorption Flame Photometry, Elsevier Publishing Company Inc, New York.
- Müller, H. W., Schwaighofer and Kalman, W., 1994. Heavy Metal Contents in River Sediments, *Water, Air and Soil Pollution*, 72, 191-203.
- Nordberg, J., Arnér, E.S.J., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biol. Med*, 31: 1287–1312.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: *A comparative study. J. Agric. Food Chem.* 50(11); 3122-3128.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Pauling L., 1986. *How to Live Longer and Feel Better*. New York: WH Freeman,.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L., 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Tecnologia*, 40, 97–106.
- Perry, D.F., 1990. Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Serum Zinc: Collaborative Study, *Journal of Association of Official Analytical Chemistry*, 73, (4) : 619-620.
- Plunkett, E.R., 1996. *Handbook of Industrial Toxicology*. Chemical Publishing Company Inc, New York.104-105,416-419.
- Rajurkar, N.S., Pardeshi, M., 1997. Analysis of Some Herbal Plants from India Used in the Control of Diabetes Mellitus by NAA and AAS Techniques, *Applied Radiation and Isotopes*, 48, 8, 1059-1062.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J. and Klaunig, J.E., 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10, 1003-1008.

- Ryan, M.F., 1991. The Role of Magnesium in Clinical Biochemistry: *An Overview, Annals of Clinical Biochemistry*, 28, 19-26.
- Samuelsen, A. B., Cohen, E.H., Paulsen, B.S., Brüll, L.P., Thomis-oates, J.E., 1999. *Structural studies of a heteroxylan from plantago major L. Seeds by partial hydrolysis. Carbohydrate research* 315(1999) 312-318.
- Samuelsen, A. B., 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major L. A review Journal of Ethnopharmacology*, 71 : 1–21
- Sandtstead, H.H., Burk, R.F., Booth, G.H.J., Darby, W.J., 1970. Current Concepts on Trace Minerals. Clinical Considerations, *Medical Clinics of North America*, 54, 1509-31.
- Saran, M., Bors, W., 1994. Signalling by O²- and NO: How far can either radical, or any specific reaction product, transmit a message under in vivo conditions? *Chem. Biol. Interact.*, 90: 35-45.
- Saris, N.E.L., Mervaala, E., Karppanen, Khawaja, A.J., Lewenstam, A., 2000. Magnesium an Update on Physiological, Clinical and Analytical Aspects, *Clinica Chimica Acta*, 294,1-26.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventös, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods of Enzymology*, 299, 152–178.
- Sonal, S., 1986. Hayvansal Besinlerdeki Metal Kalıntıları, Veterinerlik ve Hayvancılık *Araştırma Grubu Hayvansal Ürünlerde Kalıntı Özel İhtisas Komisyonu Grubu*, Tübitak, Ankara.
- Sürücüoğlu, M.S. 1992. *Kardiyo-vasküler Hastalıklarda Mineral ve İz elementlerin Önemi*,
- Tietz, N.W., 1995. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- Tosiello, L., 1996. Hypomagnesemia and Diabetes Mellitus A Review of Clinical Implications, *Archives of Internal Medicine*, 156, June 10, 1143-48.
- Underwood, E.J. 1977 . *Trace Elements In Human and Animal Nutrition*, 13-45, 56-95, 170 -190,196-230, Academic Press Inc, New York.

- Üstdal, M., Paşaoğlu, H., Muhtaroglu, S., 1991. *Biyokimya Su ve Elementler*. Erciyes Üniversitesi Yayınları **No:16**. Kayseri.
- Üstdal, M.,1983. *Biyokimya Vitaminler, Enzimler ve Hormonlar*. Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir.
- Varma, A.(1983) CRC Handbook of Atomic Absorption Analysis, *CRC Press, Inc.* Boca Raton, Florida.
- Vildan,
- White, J.R., Campbell, K.(1993) Magnesium and Diabetes: *A Review, The Annals of Pharmacotherapy*, 27, june, 775-780.
- World Health Organization. 1996. Trace Elements in Human and Nutrition and Health,72-75,123-130, 155-158, 163-166, *World Health Organization*, Geneva.
- Yaylalı, B., Sözer, V., 1995. *İnsan Hastalıklarında Eser Elementler, Endokrinolojide Yönelişler*, 4, (1), 25-33.
- Yen, G.C., Chen, H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food. Chem.*, 43: 27–32.
- Yenson, M., 1988. *İnsan Biyokimyası*.Beta Basım Yayım Dağıtım, İstanbul.
- Yöntem, M., Ünaldı, M., 2011. *Biyokimya.Aybil yayn evi,sertifika no:17394.Aybil basım evi no:20781*.Konya.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents on mulberry and their scavenging effects on superoxide radical. *Food Chemistry*, 64, 555–559.
- Zilva, J.K., Peter, P.R., Mayna, P.D., 1992. Clinical Chemistry and Treatment. Fif.
- Zurera, G., Estrada, B., Rineon, F., Pozo, R.,1987. Lead and cadmium contamination levels in ediple vegetables. *Bulltein of Eenvironmental Contamination and Toxicology*. 38:805-81.

<http://www.telefarma.com.tr/enfor.htm> 26.05.2010

ÖZGEÇMİŞ

Zeki YİĞİT, 1983 yılında Van' da doğdu. İlkokulu Avcıbaşı Köyünde orta öğrenimini Yavuz Selim İlk Öğretim Okulunda tamamladı. Lise öğrenimini 2001 yılında Van Atatürk lisesinde tamamladı. 2002 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. 2007 yılında Kimya Bölümünden mezun oldu. 2008 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalında yüksek lisansa başladı. Halen eğitimine burada devam etmektedir.