

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRKKİLİT (*EQUISETUM ARVENSE*) VE KURTPENÇESİ (*LYCOPODIUM
CLAVATUM*) BİTKİ TÜRLERİNİN
TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH KAR

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

OCAK 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRKKİLİT (*EQUISETUM ARVENSE*) VE KURTPENÇESİ
(*LYCOPodium CLAVATUM*) BİTKİ TÜRLERİNİN
TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Fatih KAR
509101107**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Birsen Demirata Öztürk

OCAK 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün **509101107** numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **FATİH KAR** ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**KIRKKİLİT (*EQUISETUM ARVENSE*) ve KURTPENÇESİ (*LYCOPodium CLAVATUM*) BİTKİ TÜRLERİNİN TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Birsen Demirata Öztürk**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. İkbâl Koyuncu**
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Gülçin Gümüş Yılmaz
İstanbul Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **15 Aralık 2012**
Savunma Tarihi : **25 Ocak 2013**

Aileme ,arkadaşılarım ve nişanlıma,

ÖNSÖZ

Bu çalışmamda eğitmen ve öğretici kimliği ile bana yön veren, vizyonumu genişleten çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Birsen Demirata ÖZTÜRK'e, tüm laboratuvar çalışmalarında bana her konuda yardımcı olan, bilgi birikimlerini benimle paylaşan sayın Uzman Dilek ÖZYURT'a ve tez çalışmalarım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

OCAK 2013

FATİH KAR
KİMYAGER

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xviii
ÖZET.....	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BÖLÜM.....	3
2.1 Ootooksidasyon	3
2.2 Serbest Radikaller	3
2.3 Antioksidanlar	4
2.4 Literatürde Yer Alan Toplam Antioksidan Kapasite Tayininde KullanılanYöntemler	6
2.4.1 TEAC yöntemi	6
2.4.2 FRAP yöntemi.....	7
2.4.3 CUPRAC yöntemi.....	7
2.4.4 DPPH yöntemi	8
2.4.5 CERAC yöntemi	8
2.4.6 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi	10
3. KIRKKİLİT VE ÖZELLİKLERİ.....	11
3.1 Bilimsel Sınıflandırma	11
3.2 Genel Özellikler	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.3 Toplanması ve Hazırlanması	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.4 Faydaları.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.5 Kırkkilit Bitkisi İle Yapılan Literatür Çalışmaları	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4. KURTPENÇESİ VE ÖZELLİKLERİ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4.1 Bilimsel Sınıflandırma	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4.2 Genel Özellikler	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4.3 Toplanması ve Hazırlanması	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4.4 Faydaları.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
4.5 Kurtpençesi İle Yapılan Literatür Çalışması	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
5.1 Kullanılan Cihazlar	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
5.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
5.3 Kullanılan Ana Çözeltilerin Hazırlanması	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
5.4 Kırkkilit ve Kurt Pençesi Ekstraktlarının ve İnfüzyonlarının Hazırlanması	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

5.5 Uygulanılan Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

5.5.1 CERAC yöntemi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

5.5.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

5.5.3 CUPRAC yöntemi..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6. ARAŞTIRMA VE BULGULAR..... 19

6.1 Kalibrasyon Grafiklerinin Çizimi..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.1.1 CERAC yöntemi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.1.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi..... 21

6.1.3 CUPRAC yöntemi..... 22

6.2 Optimum Deney Koşullarının Belirlenmesi 23

6.2.1 Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi 23

6.2.2 İnfüzyon yöntemi için optimum sıcaklığın belirlenmesi..... 24

6.2.3 Kaynatma yöntemi için optimum sürenin belirlenmesi 26

6.3 Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Gerçek Örneklerle Uygulanması..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.3.1 Kırkkilit bitkisinin metanol ekstraktlarının analizi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.3.1.1 CERAC yöntemi ile analizi..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.3.1.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 29

6.3.1.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 31

6.3.2 Kırkkilit Bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi 31

6.3.2.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 31

6.3.2.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 33

6.3.2.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 34

6.3.3 Kırkkilit Bitkisinin İnfüzyon ile elde edilen Ekstraktlarının analizi 35

6.3.3.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 35

6.3.3.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.3.3.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 38

6.3.4 Kurtpençesi bitkisinin metanol ekstraktlarının analizi..... 39

6.3.4.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 39

6.3.4.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 40

6.3.4.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 41

6.3.5 Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi 42

6.3.5.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 42

6.3.5.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 43

6.3.5.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 44

6.3.6 Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi 45

6.3.6.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 45

6.3.6.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 46

6.3.6.3 CUPRAC yöntemi ile analizi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

6.3.7 Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımlarının metanol ekstraktlarının analizi 48

6.3.7.1 CERAC yöntemi ile analizi..... 48

6.3.7.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi 49

6.3.7.3 CUPRAC yöntemi ile analizi 50

6.3.8 Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımlarının kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi	51
6.3.8.1 CERAC yöntemi ile analizi.....	51
6.3.8.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi.....	52
6.3.8.3 CUPRAC yöntemi ile analizi	53
6.3.9 Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımlarının infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi	53
6.3.9.1 CERAC yöntemi ile analizi.....	54
6.3.9.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi.....	55
6.3.9.3 CUPRAC yöntemi ile analizi	56
7. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	57
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ.....	65

KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
CERAC	: Seryum(IV) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
Cu(II)-Nc	: Bakır(II)-Neokuproin
Cu(I)-Nc	: Bakır(I)-Neokuproin
CUPRAC	: Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DPHH	: 2,2-difenilpikrilhidrazil(DPPH: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
ET	: Elektron Transferi
FRAP	: Femir(III) İndirgeme Antioksidan Gücü
TAC	: Toplam Antioksidan Kapasitesi
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
TBHQ	: Tersiyer Bütıl Hidrokinon

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 6.1	: CERAC yöntemi ile troloks için elde edilen kalibrasyon absorban değerleri	20
Çizelge 6.2	: Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki troloks absorban değerleri.....	21
Çizelge 6.3	: CUPRAC yöntemindeki troloks absorban değerleri.....	22
Çizelge 6.4	: Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi.....	23
Çizelge 6.5	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	28
Çizelge 6.6	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri. ..	30
Çizelge 6.7	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	31
Çizelge 6.8	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	33
Çizelge 6.9	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	34
Çizelge 6.10	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	35
Çizelge 6.11	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	36
Çizelge 6.12	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	38
Çizelge 6.13	: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	39

Çizelge 6.14 : Kurtpençesi bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	40
Çizelge 6.15 : Kurtpençesi bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	41
Çizelge 6.16 : Kurtpençesi bitkisinin metanol ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	42
Çizelge 6.17 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	43
Çizelge 6.18 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	44
Çizelge 6.19 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	45
Çizelge 6.20 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.....	46
Çizelge 6.21 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	47
Çizelge 6.22 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	48
Çizelge 6.23 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının metanol ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.	49
Çizelge 6.24 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının metanol ile elde edilen ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	50
Çizelge 6.25 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının metanol ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	50
Çizelge 6.26 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	52
Çizelge 6.27 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	53

Çizelge 6.28 :	Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	53
Çizelge 6.29 :	Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	54
Çizelge 6.30 :	Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	55
Çizelge 6.31 :	Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri	56
Çizelge 7.1 :	Kütahya yöresi Kırkkilit bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektroflorimetrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları	58
Çizelge 7.2 :	Trakya yöresi Kırkkilit bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, Spektroflorimetrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları	59
Çizelge 7.3 :	Trabzon yöresi Kurtpençesi bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, Spektroflorimetrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.....	59
Çizelge 7.4 :	Trabzon yöresi Kurtpençesi ve Trakya yöresi Kırkkilit bitki karışımının %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektroflorimetrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.....	60

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 6.1 : CERAC yöntemi ile troloks kalibrasyon grafiği	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.0
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.	21
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.	22
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi	24
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.	25
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisi için yapılan sıcaklık çalışmasının sütun grafiği.....	25
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. En uygun zaman aralığının belirlenmesi	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	28
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları .Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	29
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	30
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin CERAC yöntemi ile analiz sonuçları ...	32
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	32
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	33
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları	34
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları ...	36

Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları ...	36
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları ...	37
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları ...	38
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki CERAC kalibrasyon grafiği ...	40
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	41
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki CERAC kalibrasyon grafiği ...	43
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	44
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki CERAC kalibrasyon grafiği ...	46
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	47
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının % 80 metanol'deki CERAC kalibrasyon grafiği ...	49
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının % 80 metanol'deki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	50
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki CERAC kalibrasyon grafiği ...	51
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	52
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki CERAC kalibrasyon grafiği ...	54
Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. Kurtpençesi ve kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki Spektroflorimetrik CERAC kalibrasyon grafiği ...	55

KIRKKİLİT (*EQUISETUM ARVENSE*) VE KURTPENÇESİ (*LYCOPODIUM CLAVATUM*) BİTKİ TÜRLERİNİN TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Canlılarda, kimyasal süreçler (prosesler), özellikle oksitlenme, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller farklı moleküller ile kolayca reaksiyona girebilir ve böylece hücrelere, canlıya zarar verebilir. Yiyecekler, kozmetikler, ilaçlar, sigara dumanı (Aktif veya pasif) ve modern yaşamın getirdiği diğer pek çok kir serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Oksidasyon reaksiyonları sonucu meydana gelen serbest radikaller zincir reaksiyonunu başlatır. Antioksidanlar serbest radikallerle bağ kurarak zincir reaksiyonunu sonlandırır.

Antioksidanların kimyasal çeşitliliği onları sebzelerden ayırmayı ve miktar tayinini güçleştirir. Bu yüzden toplam antioksidan aktivitesinin ölçümünde kullanılan yöntemlerin ekstrakt çözeltilerine direkt uygulanabilmesine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, Türkiye’de Kütahya ve Trakya Bölgelerinden toplanan kırkkikit (*Equisetum Arvense*) ve Trabzon yöresinden toplanan kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) bitkilerinin infüzyon, kaynatma ve % 80 metanol’deki toplam antioksidan miktarı üç farklı analiz yöntemi ile tayin edilmiştir. Bu yöntemler CERAC, CUPRAC ve son olarak spektrofotometrik CERAC yöntemidir. Ayrıca, bitkilerin optimum koşullarda analiz edilmesi amacıyla sıcaklık ve zaman çalışmaları yapıldı. Bu bitkilerin karışımları halk arasında birlikte tüketilmektedir. Bu nedenle bu bitkilerin karışımlarının sinerjik bir etki oluşturup oluşturmadığı incelendi.

Sonuç olarak, bitki ekstraktlarına üç farklı yöntem uygulandığında, hazırlanan ekstraksiyon çözeltileri ve uygulanan yöntemlere göre bitki türlerinde farklılık gözlemlendi.

Bitki örneklerindeki toplam antioksidan miktarına bakıldığında, trakya yöresinden toplanan kırkkikit (*Equisetum Arvense*) bitkisi Kütahyadan toplanan türüne göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gözlemlendi. Kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) bitki türünün ise kırkkikit bitki türüne göre antioksidan kapasitesinin daha düşük olduğu gözlemlendi. Bitki karışımının antioksidan kapasitesinin ise her iki bitkideki değerin toplamına yakın olduğu hesaplandı.

DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITIES OF KIRKKİLİT (*EQUISETUM ARVENSE*) AND KURTPENÇESİ (*LYCOPODIUM CLAVATUM*)

SUMMARY

In organisms, chemical processes, especially oxidation, can produce free radicals which has high reactivity can easily it can be to react with different molecules and this is damage to cells. Foods, drugs, cosmetics, smoke and a lot of dirty that comes by modern life result in producing free radicals. Free radicals which produced by oxidation reactions start chain reactions. Free radical is the part of unpaired electron in the atomic and molecular structure. These molecules which react easily with the other molecules named oxidant molecules or reactive oxygen particles. These radicals create oxidative stress react with other molecules. Free radicals can be form while normal cell metabolisms or external factors. Oxidative stress is identified corruption of balance of pro-oxidant and antioxidant in organisms. As oxidative stress appears to be an important part of many human diseases, the use of antioxidants in pharmacology is intensively studied, particularly as treatments for stroke and neurodegenerative diseases. Moreover, oxidative stress is both the cause and the consequence of disease. Radicals have property of resulting damage in basic cell compounds such as lipids, proteins, and nucleic acids. This damage can play important role in cancer, hypertension and biological ageing process. Nowadays almost all illnesses depend on oxidative stress. Living organisms have antioxidative protection system to avoid from effect of free radicals. Antioxidants terminate these chain reactions by binding free radicals.

Antioxidants ; Substances which prevent or delay oxidation of proteins, lipids, carbohydrates and DNA that in the living cells are named antioxidants. Because of decreasing properties of abnormalities and forming tumors, it provides life which has minimum effect of ageing. There is a lot of different substances which have antioxidant properties. These substances can be taken from outside and can produce by body for defense system according to the free radicals. These antioxidants are enzymes such as catalase, glutathione peroxidase and SOD (superoxide dismutase). Antioxidants are widely used in dietary supplements and have been investigated for the prevention of diseases such as cancer, coronary heart disease and even altitude sickness. Although initial studies suggested that antioxidant supplements might promote health, later large clinical trials with a limited number of antioxidants detected no benefit and even suggested that excess supplementation with certain putative antioxidants may be harmful. Antioxidants also have many industrial uses, such as preservatives in food and cosmetics and to prevent the degradation of rubber and gasoline.

The chemical diversity of antioxidants makes it difficult to separate and quantify antioxidants from the vegetable matrix. Therefore, it is desirable to establish a method that can measure the total antioxidant capacity of level directly from vegetable extracts.

Total Antioxidant Capacity Determination Methods in Literature as below

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) Method ; Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) measures the antioxidant capacity of a given substance, as compared to the standard, Trolox. is based on the suppression of the absorbance of radical cations of 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) (ABTS) by antioxidants in the test sample when ABTS incubates with a peroxidase (metmyoglobin) and H₂O₂. A reaction mixture containing H₂O₂ (100 µmol/L), metmyoglobin (6.1 µmol/L), ABTS (610 µmol/L), and Trolox (concentration range, 0–1.65 µmol/L) was incubated and subjected to spectrophotometry. The formation of ABTS radicals increased in proportion to the incubation period until a plateau was achieved after 30 min. The higher the concentration of Trolox used in the reaction mixture, the more the absorbance of ABTS radicals was suppressed.

FRAP (Ferric Reducing Ability Plasma) Method; The FRAP assay was done according to Benzie and Strain (1996) with some modifications. The stock solutions included 300mM acetate buffer (3.1 g C₂H₃NaO₂ · 3H₂O and 16mL C₂H₄O₂), pH 3.6, 10mM TPTZ (2, 4, 6- tripyridyl-s-triazine) solution in 40mM HCl, and 20mM FeCl₃ · 6H₂O solution. The fresh working solution was prepared by mixing 25mL acetate buffer, 2.5mL TPTZ solution, and 2.5mL FeCl₃ · 6H₂O solution and then warmed at 37°C before using. Fruit extracts (150mL) were allowed to react with 2850 mL of the FRAP solution for 30 min in the dark condition. Readings of the colored product [ferrous tripyridyltriazine complex] were then taken at 593 nm. The standard curve was linear between 25 and 800 mM Trolox. Results are expressed in mM TE/g fresh mass. Additional dilution was needed if the FRAP value measured was over the linear range of the standard curve.

CUPRAC (CUPRIC Reducing Antioxidant Capacity) Method ; The “parent” CUPRAC (CUPRIC Reducing Antioxidant Capacity) method of antioxidant measurement, introduced by our research group to world literature, is based on the absorbance measurement of Cu(I)-neocuproine (Nc) chelate formed as a result of the redox reaction of chain-breaking antioxidants with the CUPRAC reagent, Cu(II)-Nc, where absorbance is recorded at the maximal light absorption wavelength of 450 nm; thus this is an electron-transfer (ET)-based method

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Method ; The DPPH assay was done according to the method of Brand-Williams et al. (1995) with some modifications. The stock solution was prepared by dissolving 24 mg DPPH with 100 mL methanol and then stored at 20°C until needed. The working solution was obtained by mixing 10mL stock solution with 45mL methanol to obtain an absorbance of 1.170.02 units at 515 nm using the spectrophotometer. Fruit extracts (150 mL) were allowed to react with 2850 mL of the DPPH solution for 24 h in the dark. Then the absorbance was taken at 515 nm. The standard curve was linear between 25 and 800 mM Trolox. Results are expressed in mM TE/g fresh mass. Additional dilution was needed if the DPPH value measured was over the linear range of the standard curve.

CERAC (Cerium Reducing Antioxidant Capacity) Method ; A Ce(IV)-based reducing capacity (CERAC) assay was developed to measure the total antioxidant capacity (TAC) of foods, in which Ce(IV) would selectively oxidize antioxidant compounds but not citric acid and reducing sugars. The redox potential of the Ce(IV) oxidant was fine-tuned in 0.3M H₂SO₄ +0.7M Na₂SO₄ aqueous medium for selective oxidation. In the classical Ce(IV)-based assay for which the name CERAC was proposed, the presence of citric acid (at 1.5×10⁻⁵M) caused approximately 25% reduction in Ce(IV) (at 2.0×10⁻⁴M) recovery, whereas in the present method, the presence of citric acid (at 1.0×10⁻⁴M) caused negligible error in the TAC measurement of quercetin. The trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) values in the order of quercetin>rutin>gallic acid>catechin>caffeic acid≥ferulic acid>naringenin≥naringin>trolox≥ascorbic acid were established with the proposed method and were found to be compatible with those found with other antioxidant assays. It is noteworthy that naringin and rutin were also hydrolyzed in the acidic medium of the method so as to exert their full antioxidant capacity not measured by other TAC assays. The proposed TAC assay with Ce(IV) is simple, low-cost, rapid, and can be easily applied in modestly equipped conventional laboratories.

Spectrofluorimetric CERAC Method ; It depends transfer of electrons between Ce(IV) ion and antioxidants. In the consequence of fluorometric method Ce(III) ions are formed. Ce(III) ions Show violence of fluorescence according to the density of antioxidant at 256 nm and 360 nm.

In this study the plants of kırkkilit (*Equisetum Arvense*) which are largely grown Kütahya and Trakya in Turkey and kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) which are largely grown Trabzon in Turkey was analyzed to measure total antioxidant capacity by infusion, boiling and %80 methanol with three different methods which are CERAC, CUPRAC and spectrofluorimetric CERAC. On the other hand to determine the best conditions of plants time and temperature practices were done. People generally consume these plants as a mixture. So that, mixture of these plants was examined, synergic effect will comprise or not.

Finally, when performing three different methods on the plant extracts, difference was seen on the species of plants according to extraction solution and the method. When examined the total antioxidant capacity of plant samples, kırkkilit (*Equisetum Arvense*) which is grown in Trakya was larger yield than Kırkkilit (*Equisetum Arvense*) which is grown in Kütahya. The species of kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) was less yield according to Kırkkilit (*Equisetum Arvense*) species. Antioxidant capacity of mixture was calculated nearly same as value of both plants.

1. GİRİŞ

XIX. yüzyılın başlarında sanayi devriminin başlaması ile hızlı sanayileşmenin sonucu olarak yer altı ve yer üstü kaynakları hızla kirletilmiştir. Özellikle atmosfere salınan zararlı gazlar ozon tabakasının incelmesinde büyük rol oynamıştır. Ozon tabakasının incilmesi güneş ışınlarının zararlı etkilerini beraberinde getirmiştir. Bunun yanında kimya sanayinin gelişmesi ile çeşitli alanlarda kullanılan herbisit ve peptisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar gibi ürünler üretilmeye başlanmıştır. Bu da somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve insanlarda kanser, hızlı yaşlanma, kalp hastalıkları gibi zararlı etkileri olan serbest radikallerin oluşumunu arttırmıştır. Günümüzün en ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde getirmiştir[1].

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere ‘oksidan moleküller’ veya ‘reaktif oksijen partikülleri’ de denmektedir. Bu radikaller hücredeki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücresel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlerde hasara yol açabilme özelliğine sahiptir. Oluşan bu hasar kanser, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilidir ve biyolojik yaşlanma sürecinde rol oynamaktadır. Günümüzde hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edilmektedir. Canlı organizmalar serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidatif koruma sistemine sahiptirler[2].

Bu tez kapsamında kırkkilit ve kurtpençesi bitki türlerinin oksidatif stres ve serbest radikalleri engelleyici ve uzaklaştırıcı etkiye sahip olan antioksidanları içerip içermediği incelenerek toplam antioksidan kapasitelerine bakılmıştır.

2. GENEL BÖLÜM

2.1 Otooksidasyon

Otooksidasyon, kimyasal reaksiyon olarak tanımlanır. Bu reaksiyon, atmosferik oksijen ve organik bileşik arasında uygun sıcaklıkta olur. Gıdalarda ilk oksidasyon ürünlerinin ortaya çıkması için belli bir depolama süresinin geçmesi gerekmektedir. İndüksiyon periyodu olarak adlandırılan bu spesifik sürenin aşılmasından sonra tepkime hızı artar. Prooksidan içeren gıdalarda oksidasyon indüksiyon periyodu gerektirmeksizin gerçekleşir. İndüksiyon periyodunun hızı ve uzunluğu öncelikle yağ asitlerinden etkilenir. Yağ asitlerindeki allil grubunun($-C=C-$) artması reaksiyon hızının artması ve periyodun kısalması anlamına gelir. Lipit oksidasyon reaksiyonlarının birinci basamağını aktif radikal oluşumu oluşturur. Isı ışık veya metal iyonlarının varlığında allil grubuna komşu C atomuna bağlı H atomu yapıdan ayrılır. Öylece ayrılan H atomunun bağlı olduğu radikal aktivite kazanır. Bu olay allil grubu yerine ona komşu C atomunda gerçekleşir çünkü allil grubundaki H atomları daha stabildir[3].

2.2 Serbest Radikaller

Antioksidanların öyküsü serbest radikallerle başlar. Bu yüksek aktiviteye sahip bileşikler (serbest radikaller), kirli havalarda, sigara dumanında, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal vücut metabolizmasında (metabolik süreçte) bulunurlar. Serbest radikaller vücuttaki hücrelere saldırır ve tahrip eder. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar.

Serbest radikallerdeki aşırı yüklenme vücut için tehlike oluşturur. Ancak vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için de gereklidir. Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini vücudu saran organizmaları yok ederek arttırır. Buna karşın fazla üretildiğinde vücuttaki bazı yerlerde de hasara neden olarak hastalıklara yol açar. Serbest radikallerin hücrelerde proteinler, lipidler, karbohidratlar, enzimler, nükleik asitler ve DNA üzerinde önemli etkileri vardır [4]. Birçok hastalıkta serbest radikallerin rolü açık bir şekilde ortaya konulmuştur [5].

2.3 Antioksidanlar

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan denir[6]. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam sağlarlar. Antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmını bitkilerden alırken, bir kısmını vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir. Vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar; katalaz, glutatyon peroksidaz, ve SOD (süperoksit dismutaz) gibi enzimlerdir[7].

Antioksidanlar gıdalarda lipid oksidasyonunu önleyen veya geciktiren yapıda bileşiklerdir. Bunlar, serbest radikal yakalayıcısı, oksijen tutucu ve şelat ajanı olarak görev yaparlar. Gıdalarda lipid oksidasyonunun tümüyle önlenmesi mümkün olmamakla birlikte raf ömrünü uzatırlar ve besin maddelerinden oksidasyona duyarlı olanları da koruduklarından gıda kalitesinde bir anlamda yükselmiş olmaktadır. İdeal bir antioksidanın sahip olması gereken özellikler şunlardır:

1. Kullanımda sağlık açısından bir sakınca olmamalıdır.
2. Gıdanın tat, koku veya lezzetini değiştirmemelidir.
3. Düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olmalıdır.
4. Gıdaya kolaylıkla karıştırılabilmelidir.
5. Fırınlama veya pişirme işlemleri sonrasında dahi aktivitesini sürdürmelidir.
6. Fiyatı ucuz olmalıdır.

Antioksidanların yağlarda lezzet ve kaliteyi geliştirdikleri, ilerlemiş düzeydeki oksidatif acılaşmayı veya herhangi bir nedenle oluşmuş tat bozukluklarını giderebildikleri, mikrobiyal bozulmayı, ketonik ve hidrolitik acılaşmayı önledikleri gibi yanılığlara düşmemek gerekmektedir. Ayrıca antioksidanın etkisini tam olarak gösterebilmesi için mümkün olduğunca acılaşmanın ilk kademesinde hatta acılaşma başlamadan önce ilave edilmeleri gereklidir. Antioksidan, besinlerdeki vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin B2, vitamin B6, folik asit, selenyum, çinko antioksidanların sistemlerinin etkisini artırır. Görüldüğü gibi en çok sebze, meyve, kurubaklagil, soğan, sarımsak ve kuruyemişlerde bulunur.

Doğal kaynaklı veya sentetik olarak üretilmiş antioksidantlar kimyasal yapılarına göre primer ve sekonder antioksidanlar olarak 2'ye ayrılır. Primer antioksidanlar serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif etki sağlarlar. Bunlardan sentetik olanlara BHA, BHT, TBHQ, örnek verilebilir. Doğal antioksidanlardan ise tokoferoller, baharat ekstraktları (karnosik asit), flavanoidler 'Radikal yakalayıcısı' olarak primer antioksidatif aktiviteyi sağlarlar. Askorbatlar ise oksijen yakalayıcısıdır. Tek başlarına gıdaya veya ürüne ilave edildiklerinde antioksidatif etki göstermeyen, bununla birlikte gıdada mevcut antioksidanın yanısıra ilave edildiğinde bu antioksidanın tek başına yaptığı etkiyi artıran madelere ise 'Sekuesteran-İz' maddeler (Asit şelatları) denilmektedir. Bunlar sekonder antioksidanlar olarak bilinir. Asit şelatları metalleri veya pro-oksidatif etki gösteren metalloproteinleri yakalayarak birincil antioksidanların fonksiyonlarını yerine getirmelerine ve serbest radikalleri yakalamalarına olanak sağlarlar. Bunlardan gıdada kullanımına izin verilen antioksidanlara örnek olarak askorbik, sitrik, tartarik, malik, süksinik asitler ve sodyum trifosfat, pirofosfat verilebilir. Asit şelatı olarak fitik asitin de lipit oksidasyonunu önlediği bilinmektedir. Lesitin ile aminoasitlerin de gıda içerisinde aynı görevi yaptıkları bilinmektedir. Doğa, yaşayan mekanizmalarda aktif oksijenin neden olduğu bozulma reaksiyonlarını önlemek amacıyla önlem almış olup, pekçok doğal yapı, kendi varlığının mevcudiyeti için gerekli olabilecek antioksidanları bünyesinde bulundurmaktadır. Sebzelerde bulunan en önemli doğal antioksidanlar, C vitamini, E vitamini, karotenoidler, flavanoidlerdir. Doğal antioksidan kaynakları olarak, çeşitli bitkiler, çay yaprakları (flavanoidler ve kateşinler), yağlı tohumlar (susam), tahıllar (pirinç, yulaf), fasulye cinsleri, meyve ve sebzeler, yapraklardaki mumsu maddeler (okaliptüs bitkisinin yaprakları), bitki kökleri, fıstık kabuğu gibi meyve kabukları, baharat çeşitleri, tıbbi bitkiler, deniz yosunları, mikrobiyal ürünler, hayvansal ürünler, fermente ürünler, protein hidrolizatları, maillard reaksiyonu ürünleri, porfirin yapısındaki maddelerin oksidasyonu yavaşlattığı bilinmektedir. Baharatların esansiyel yağlarından ise antioksidatif özelliğinden daha çok antimikrobiyal etkilerinden yararlanılmaktadır. Yukarıda genel şekilde anlatılmış olan antioksidan özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Başlıca reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,

◆Oksijen uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki

◆Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

◆Süpürücü (scavenging) etki : ROS'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme (Örneğin : Enzimler.)

◆Bastırıcı (quencher) etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma (Flavonoidler, vitaminler.)

◆Onarıcı (repair) etki,

◆Zincir kırıcı (chain breaking) etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki.(Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller) [8-20].

2.4 Literatürde Yer Alan, Toplam Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Yöntemler

2.4.1 TEAC (Troluks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) yöntemi

TEAC yöntemi ilk olarak Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş daha sonra Re ve arkadaşları tarafından bu yöntem biraz daha geliştirilmiştir. [21-23]Miller'in geliştirmiş olduğu TEAC yönteminde metilmiyoglobinin H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu oluşan ferrilmiyoglobin radikallerinin ABTS ile etkileşimi sonucu oluşan $ABTS^+$ radikallerinin 660 nm, 734 nm ve 820 nm'deki maksimum absorbans değerleri ölçülür. $ABTS^+$ radikal katyonunun absorbansındaki azalmadan yararlanarak toplam antioksidan kapasitesi trolox cinsinden bulunur. TEAC; 1mM deneysel örneğin derişimine eşdeğer miktardaki mM trolox konsantrasyonuna denir

Bu yöntemin dezavantajı, numuneler içindeki antioksidan maddelerin $ABTS^+$ radikallerini indirgemesi yanında ferrilmiyoglobin radikallerini de indirgeyebilmesidir. Re ve arkadaşları tarafından geliştirilen TEAC yönteminde ise $ABTS^+$ radikal katyonu, $ABTS$ 'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu şekilde hazırlanan $ABTS^+$ radikali, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda muhafaza edilerek 2 gün boyunca kullanılabilir.

2.4.2 FRAP (Fe^{+3} indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi

Benzei ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemde düşük pH ortamında Fe^{+3} -tripridilazin (Fe^{+3} - TPTZ) kompleksi antioksidanların etkisi ile Fe^{+2} - tripridilazin (Fe^{+2} - TPTZ) kompleksine indirgenir. Oluşan bu kompleksin 593 nm deki absorbanısı ölçülür ve örnekler içindeki toplam antioksidan kapasitesi direkt olarak bulunur. FRAP yönteminde prooksidan moleküller veya yükseltgenebilir substratlar kullanılmamıştır.

Canlı metabolizmalarındaki antioksidan kapasitelerinin FRAP yöntemi ile ölçülmesi durumunda, Fe^{+2} iyonlarının ortamdaki H_2O_2 iyonları ile etkileşmesi (OH) hidroksi radikallerinin oluşmasına sebep olur. Bu nedenle örnek numuneler içindeki antioksidanların Fe^{+3} - tripridilazin (Fe^{+3} - TPTZ) kompleksini indirgemesi yanında ortamda hidroksi radikalleri ile de etkileşmesinden dolayı antioksidan kapasitesi direkt olarak değil indirek olarak ölçülebilir. FRAP yöntemi, prooksidan içermeyen ortamlarda yapılan toplam antioksidan gücünün tayinin de direkt bir yöntem olmasına karşın genel olarak düşünüldüğünde indirekt bir yöntemdir

2.4.3 CUPRAC (Cu^{+2} indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi

Cu^{2+} redüksiyon kapasitesine dayalı toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemlerinden biride CUPRAC yöntemidir. Kromojenik bir redoks reaktifi olan bis(neokuproin)-bakır(II) klorürü kullanan CUPRAC yöntemi (CUPRAC: Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite) ile hem hidrofilik hem de lipofilik toplam antioksidan miktarı kolaylıkla tayin edilebilmektedir. Bu yöntemde sırasıyla $\text{Cu}(\text{II})$ klorür çözeltisi, %96'lık etil alkolde hazırlanmış neokuproin çözeltisi, amonyum asetat tamponu (pH=7) ve analiz çözeltileri son çözelti hacmi 4,1 mL olacak şekilde ilave edilir. Oda sıcaklığında yarım saat süre sonunda 450 nm'de reaktif körüne karşı absorban değerleri ölçülür. Tepkime sonunda 2 proton açığa çıkmakta ve $\text{Ar}(\text{OH})_n$ grubu antioksidan bileşikler kinon formlarına dönüşmektedir. $\text{Cu}(\text{II})$ -Nc ise 450 nm'de maksimum gösteren şiddetli renk oluşumuyla birlikte $\text{Cu}(\text{I})$ -Nc kelatına dönüşmektedir. Bu reaksiyonda, n-OH grubu içeren antioksidan karakterli bileşikler, 2n-e donör olarak hareket etmektedir[24].

2.4.4 DPPH yöntemi

Bu yöntemde DPPH'nin indirgenmesi ile çözeltinin radikal süpürücü aktivitesi(radical scavenging activity) ölçülür[25].Bazı saf bileşikler ve buna benzeyen ekstraktların elektron verme yeteneği DPPH'nin metanoldeki mor renkli çözeltisinin renginin kaybolması ile ölçülür. Bu spektrofotometrik metotta DPPH(2,2-diphenylpicrylhydrazyl) radikal olarak kullanılır. Bu radikalın antioksidanlarla reaksiyonu sonucu 517 nm'de azalan absorbansı ölçülerek radikal süpürücü aktivite ölçülür

$$I\%=(A_{blank}-A_{sample})\times 100$$

A_{blank} , test tüpündeki örnek hariç tüm maddelerin absorbansıdır. A_{sample} test bileşiğinin absorbansıdır.

DPPH radikal süpürücü aktivitesi örnek konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizilir. Örnek konsantrasyonu arttıkça DPPH radikal süpürücü aktivite artar. Yüksek konsantrasyonlarda DPPH radikal süpürücü aktivite bir doygunluk noktasına ulaşır ve bundan sonra aktivite artan konsantrasyonla azalmaya başlar. Bu durum eksraksiyon çözeltisindeki başka maddelerin varlığından kaynaklanmaktadır.

2.4.5 CERAC (Seryum iyonunu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi

CERAC yönteminin temelini, Ce(IV) ile antioksidanlar arasındaki redoks reaksiyonu oluşturmaktadır. Sülfat asitli ortamda başlangıçtaki Ce(IV)'un maksimum soğurma dalgaboyundaki (320 nm) absorbans değeri, Ce(IV)'un antioksidanlar ile reaksiyon sonucu azalmaktadır. Ce(IV)'un absorbsiyonundaki bu azalmadan yararlanılarak toplam antioksidan miktarı hesaplanmıştır[26].

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} : ((A_0 - A_1)/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m$$

A_0 : Ce(IV)'ün başlangıçtaki absorbansı 320 nm de

A_1 : Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_0 : Örnek hacmi (mL)

SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m : Örnek ağırlığı (g)

CERAC yönteminde gıda maddelerine katkı maddesi olarak katılan sitrik asidin Ce(IV) ile reaksiyona girerek Ce(III) oluşumuna neden olarak girişim yaptığı tespit edilmiştir. Bu amaçla Ce(IV)'ün hidroliz ve sülfat kompleksleri oluşturulup redoks potansiyelini düşürmek amacıyla modifiye CERAC yöntemi geliştirilmiştir.

2.4.6 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi

Bu metot Ce (IV) iyonu ve antioksidanlar arasındaki elektron transferine dayanır. Florimetrik metot sonucunda Ce (III) iyonları oluşur. Floresans ürünü olan Ce (III) iyonları 256 nm uyarılma, 360 nm emisyon dalga boyunda örneklerin antioksidan yoğunluğuna göre floresans şiddeti gösterir.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} : ([\text{Ce(IV)}] / [\text{Troloks}]) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (4.3)$$

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_0 : Örnek hacmi (mL)

SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m : Örnek ağırlığı (g)

3. KIRKKİLİT (*Equisetum Arvense*) (Kütahya) ve (Trakya) ÖZELLİKLERİ

3.1 Bilimsel Sınıflandırma

Alem: Bitki

Şube: Pteridophyta

Sınıf: Equisetopsida

Takım: Equisetales

Aile: Equisetaceae

Cins: Equisetum

Tür: E.Arvense



3.2 Genel Özellikleri

Kırkkilit (*Equisetum arvense*), Atkuyruğu Otu, Zemberekotu, Çamotu, Kırkboğum, Tilkikuyruğu Otu ve Katırkuyruğu Otu olarak da tanınır. İlkbahar başlangıcında, derinlere kök salmış olan köksaptan, önce spor taşıyıcı kahverengi başak sapları çıkar. Çok yıllık, otsu ve çiçeksiz bitkilerdir. Her zaman yeşil renkli kalan, yerde sürünen 1 - 2 m'ye kadar uzanabilen bir bitkidir. Yerde sürünen kollarından 10 - 15 cm boyunda kısa, yeşil tırtıllı, dallar çıkar. Dört yaşına gelen bitki sarımsı, mısıra benzeyen başaklar verir, çiçek açmaz. Bu başakların içinde açık sarı renkli, kadife gibi yumuşak, suda ıslanmadan yüzen sporlar vardır. Sporlar bitki 5 - 7 yaşına gelmeden çimlenecek güçte değildirler. Gövdesi silindir biçiminde, dallı veya dalsız, yeşil veya esmer-yeşil renkli, sert ve içi boştur. Yaprakları çok küçük, pul biçiminde ve sivri uçludur. Spor ile çoğalırlar. Spor keseleri verimli gövdelerinin uçlarında başak şeklinde toplanmışlardır. Türkiye'de 7 kadar türü yetişmektedir. Saponin, %60-70 silisilik asit (Silica), potasyum tuzları ve alkaloidler içerir. Toplanacak bitkiler, 25-60 cm boyunda ve sapı ince (3-6 mm civarında) olan türlerdir.

(*Equisetum arvense*) nemli topraklardan, tarla aralarından ve dere kıyısından toplanır. Çalılık, fundalık alanlarda süpürge otu ve çoban üzümü gibi bitkilerin altına saklanarak büyürler. Bitki doğrudan güneşte yaşayamaz, çalı ve ağaç altlarında orman içinde yaşar[27].

3.3 Toplanması ve Hazırlanması

Kırıkilit Otu Mayıs-Haziran döneminde, henüz canlı yeşil rengini korurken, sapın toprağa yakın bölümünden kesilir ve demetler halinde gölge ve havadar bir yere asılarak kurumaya bırakılır. İğne yapraklar gövdeden kolayca ayrıldığında kuruma tamamlanmış olur. Tez kapsamında analizi yapılacak olan Kırkkilit bitkisi Gölcük Köyü, Gediz (güney-batısından), Kütahya şehrinden (koordinatları; enlem:38.886°, boylam:29.287°, rakım: 645 metre) ve Bıyıklı Köyü, Tekirdağ (koordinatı enlem:41.018°, boylam:27.374°, rakım: 215 metre) toplanmıştır.

3.4 Faydaları

Gut ve romatizma hastalıklarında, kronik hemoroidler de ve kabızlıkta, karaciğer iltihaplanması ve karaciğer dokusundaki şişlikler için faydalıdır. Böbrek kumu, idrar kesesi kramplarında etkilidir. Kramplı yerlere sarıldığında çok çabuk kramplar çözülür. Ameliyat sonrası iyileşmiş yaraların zaman zaman yarattığı ağrı ve kramplara dıştan sarılarak konulduğunda da iyi neticeler alınır. Uzun müddet yatan hastalarda yatmadan dolayı oluşan yaralara serpildiginde iyileştirir.

3.5 Kırkkilit Bitkisi İle Yapılan Literatür Çalışmaları

Takeshi Nagai ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kırkkilit bitkisinin dört farklı metotla antioksidan aktivitesini incelemiştir. Toplam fenolik bileşenleri incelendiğinde etanolden elde edilen ekstraktlar sudan elde edilene göre daha zengin olduğu gözlenmiştir. Etanol ekstraktlarındaki protein miktarı ise sudakine göre daha düşüktür. Kırkkilit otunun C ve E vitamin bakımından zengin olduğunu ayrıca yüksek seviyelerde bakır ve çinko elementi içerdiğini saptamıştır [28].

Jasna M. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada toplam fenolik bileşenler bütanol, etil asetat ve su ekstraktlarıyla elde edilerek folin yönteminin kullanılması ile belirlendi. Kırkkilit ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ise DPPH yöntemi ile belirlendi [29].

4. KURT PENÇESİ (LYCOPODIUM CLAVATUM) VE ÖZELLİKLERİ

4.1 Bilimsel Sınıflandırma

Alem: Bitki

Şube: Lycopodiophyta

Sınıf: Lycopodiopsida

Takım: Lycopodiales

Aile: Lycopodiaceae

Cins: *Lycopodium*

Tür: *L. Clavatum*



4.2 Genel Özellikleri

Kurtpençesi (*Lycopodium clavatum*), yöresel olarak , kurtayağı , kibritotu ve yer yosunu adlarıyla anılır ve Lycopodiaceae ailesinin en yaygın görülen türüdür. Her zaman yeşil olan bu yosunsu bitki , iki metreye kadar varan tutunma filizleri ile ormanların zeminlerinde kök salarak uzanır . Bitki 1 m civarında yer boyunca sürünen sporlu ve damarlıdır, sapları çok dallıdır ve yoğun küçük spiral yapraklara sahiptir .Bu filizlerden , 7-10 cm uzunluğunda , süpürgeotunu andıran , ama ondan çok daha yumuşak ve sık yapraklı pek çok dallara ayrılan saplar fişkirir. Yaprakları 3-5 mm uzunluğunda ve 0.7-1 mm genişliğinde ve beyaz noktaya kadar kıl gibi konik uçludur. Spor kozalakları taşıyan dallar dik açılmıştır ve yerden yükseklikleri 5-15 cm kadar uzanmaktadır ve yatay dallardan daha az yapraklara sahiptir. Spor kozalakları sarı- yeşil renkte ve 2-3 cm uzunluğunda ve 5mm genişliğindedir. Yatay gövdeler uzunlukları boyunca kökleri oluştururlar ve gövdenin yer boyunca büyümesine izin verir. Çok yıllık, otsu ve çiçeksiz bir bitkidir. Kuzey-doğu Anadolu (Trabzon, Rize, Çoruh) dağlarının nemli kısımlarında (Orman açıklıkları) yetişir. Çeşitli alkaloidler içerir. Dört yaşındaki bitki, göbek tozu diye adlandırılan sarı çiçek (spor) tozlarını içeren, sarımsı başaklar oluşturur. Kurtpençesi , radyum içeren bir şifalı bitkidir ve uzun kolları , sarı çiçek tozu içeren başakları ile, öteki yosunsu bitkilerden kolayca ayırt edilebilir . Denizden yüksekliği 600 metreden fazla olan ormanların kuzey yönlerinde ve kıyılarında yetişir. Güneş ışınlarının altında

kaldığında yaşama gücünü yitirdiği için, üstündeki ağaçlar kesildiğinde sararır ve sonra da tümüyle yok olur. Sabit yağ (% 50 civarında) mum ve şekerler ile bitkinin diğer bölümlerinde taşıdığı alkaloidlerden çok az miktar flavonlar ve triterpenler taşımaktadır [30].

4.3 Toplanması ve Hazırlanması

Temmuz ve Ağustos aylarında sporlarından göbek tozu yapmak için başaklar, olgunluktan biraz önce toplanır. Kurutulmuş halde kuru ve nemsiz yerlerde saklanır. Tez kapsamında analizi yapılacak olan Kurtpençesi, Oymalıtepe Köyü, Yomra Trabzon şehrinden (koordinatı enlem: 40.954°, boylam: 39.865° rakım: 600 metre) toplanmıştır .

4.4 Faydaları

İshali keser, romatizma şikâyetlerini azaltır, bağışıklık sistemini güçlendirir, Böbrek kumu, idrar kesesi kramplarına iyi gelir, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında, hafif yanıklarda ve deri enfeksiyonlarında faydalıdır. Karaciğer sirozunda çok yararlıdır. İdrar söktürücüdür. Ateş düşürücü ve mikrop öldürücüdür.

4.5 Kurtpençesi Bitkisi İle Yapılan Literatür Çalışmaları

İlkay Orhan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Trabzon ve Rize yörelerinden toplanan Kurtpençesi bitkisinin petroleteri, kloroform, etil asetat, ve metanol içerisindeki ekstraktları antioksidan, antibakteriyel, antifungal, ve antiviral çalışmaları bakımından incelendi. Antioksidan aktivitesi ise DPPH yöntemi ile belirlendi. Toplam antioksidan aktivitesine bakılmadı. Alkaloidler açısından zengin, fenolik bileşenlerce zayıf olduğu tespit edildi [31].

5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1 Kullanılan Cihazlar

UV-VIS ölçümleri için Varian Cary 100 spektrofotometresi, Manyetik Karıştırıcı II Camag RH, Edmund Bühler 7400 Tübingen KL2 çalkalayıcı, Ependorf marka 100-1000 µL mikro pipet, bitki örneklerini öğütmek için Magic Bullet Blender kullanıldı.

5.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Merck marka Seryum (IV) sülfat tetrahidrat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), sülfirik asit H_2SO_4 , metil alkol, etil alkol, bakır (II) klorür, sodyum sülfat, amonyum asetat. Aldrich marka troloks, neokuprain (Nc), analitik saflıktaki kimyasallar kullanıldı.

5.3 Kullanılan Ana Çözeltilerin Hazırlanması

2.0×10^{-3} M Seryum(IV) sülfat ; 0,08086 g ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) tartılıp üzerine bir miktar saf su eklendikten sonra 100 mL'lik balonjojeye aktarıldı. Daha sonra üzerine 16 mL %98 lik H_2SO_4 eklendi ve 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.

1.0 M Na_2SO_4 (sodyum sülfat) ; 71 g Na_2SO_4 tartılıp saf suda çözüldü ve 500 mL balonjojeye aktarılarak saf su ile 500 mL tamamlandı.

1.0×10^{-3} M Troloks ; 0,0062 g troloks ($\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$) tartılıp 25 mL'lik balonjojeye etanol ile tamamlandı.

1.0×10^{-2} M $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,4262 g CuCl_2 tartılıp suda çözüldü ve 250 mL'lik balonjojeye aktarılarak saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

7.5×10^{-3} M Neokuprain ; 0,078 g Nc tartılıp bir miktar etanol ile çözüldükten sonra 50 mL'lik balonjojede etanol ile 50 mL'ye tamamlandı.

1 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$; 19,27 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tartılıp bir miktar saf su ile çözüldü ve 250 mL'lik balonjojeye aktarılarak saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

5.4 Kırkkilit ve Kurtpençesi Ekstraktlarının ve İnfüzyonlarının Hazırlanması

Kırkkilit bitkisi (*Equisetum Arvense*) Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanarak iki kısma ayrıldı. Örnekler blender yardımıyla öğütülerek ufak parçacıklara homojen bir şekilde ayrıldı ve saklama kaplarında oda sıcaklığında saklandı. Aynı işlemler Kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) bitki türü içinde gerçekleştirildi.

Öğütülmüş kırkkilit ve kurtpençesi bitki örneklerinin sulu infüzyon, kaynatma ve metanol ekstraksiyonları hazırlandı. İnfüzyon çözeltisi hazırlanırken, 2 g Kırkkilit (Kütahya) ve (Trakya) (*Equisetum Arvense*), 7 g kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) kaynatılmış 250 mL saf su içerisinde 3 dakika boyunca daldırılıp çıkartılarak ve 2 dakika boyunca bekletilerek toplamda 5 dakika bekletildi. İnfüzyon çözeltileri hergün taze hazırlandı. İnfüzyon çözeltileri yani demleme işlemi yapılırken sıcaklığın etkisinin incelenmesi amacı ile oda sıcaklığında (25°C), 40°, 60°, 80° ve 100°C kırkkilit ve kurtpençesi için uygun sıcaklık aralığı belirlendi.

Metanol ekstraktları hazırlanırken kırkkilit ve kurtpençesi bitkileri ağzı kapaklı şilifli erlenler içerisinde çalkalayıcıda ekstrakte edildi. İlk aşamada 2 g kırkkilit (Trakya ve Kütahya) ve 7 g kurtpençesi 20 mL % 80'lik metanol ile 60 dakika, ikinci aşamada 20 mL %80 metanol ile 45 dakika ve üçüncü aşamada ise 10 mL metanol ile 15 dakika çalkalayıcıda 320 rpm hızla karıştırıldı. Her üç aşama sonrasında ekstraktlar süzüldü ve süzüntüler birleştirilerek % 80 metanol çözeltisi ile 50 mL'ye tamamlandı.

Kaynatma metoduyla yapılan ekstraksiyon metodu için ise 100°C de optimum kaynatma sıcaklığı belirlenmesi için 5, 10, 20, 40 ve 60 dakika zaman aralığında ölçümler alınarak optimum kaynatma süresi belirlendi.

5.5 Uygulanan Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

5.5.1 CERAC (Seryum İndirgeme Antioksidan Kapasite) yöntemi

1×10^{-3} M Troloks çözeltilerinden 0,2 mL - 1 mL arasında alınıp 1 mL Ce(IV) ($2,0 \times 10^{-3}$ M) ve 7 mL Na₂SO₄ (1 M) çözeltisinden eklenerek toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Ce(IV)'ün maksimum absorbans yaptığı 320 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri saf su çözeltisine karşı alındı.

Ce(IV)'ün başlangıçtaki absorbansı, Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit (*Equisetum Arvanse*), ve kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) ekstraktları ile etkileşimi sonrasında azaldığından dolayı Ce(IV)'un başlangıç ve reaksiyon sonrası ölçülen absorbansları arasındaki fark, bitkilerdeki toplam antioksidan miktarının bir ölçüsüdür. Bitki örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin (TAC) hesaplanmasında kullanılan denklem aşağıda belirtilmiştir.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} : ((A_0 - A_1)/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (5.1)$$

A_0 : Ce(IV)'ün başlangıçtaki absorbansı 320 nm de

A_1 : Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_0 : Örnek hacmi (mL)

SF: Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m : Örnek ağırlığı (g)

5.5.2 Spektroflorimetrik CERAC (Seryum İndirgeme Antioksidan Kapasite) yöntemi

1×10^{-3} M Troloks çözeltilerinden 0,1 mL – 1 mL arasında alınıp, 1 mL Ce(IV) ($2,0 \times 10^{-3}$ M) ve 7 mL Na₂SO₄ (1 M) çözeltisinden eklenerek toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyon gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Ce(IV)'ün indirgenmesi sonucu oluşan Ce(III)'ün floresans özelliğinden yararlanılarak ölçümler 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda alındı. Bitki örneklerinin toplam antioksidan kapasitesinin (TAC) hesaplanmasında kullanılan denklem aşağıda belirtilmiştir.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} : ([\text{Ce(IV)}] / [\text{Troloks}]) \times V_s / V_o \times \text{SF} \times V_E / m \quad (5.2)$$

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_o : Örnek hacmi (mL)

SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m : Örnek ağırlığı (g)

5.5.3 CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite) yöntemi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl₂ + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH₄Ac çözeltisi üzerine 0,2-0,8 mL Kırkkilit (Kütahya ve Trakya) (Equisetum Arvanse) ve kurtpençesi bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbans yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri alındı. Bu spektrofotometrik metot, antioksidan çözeltisinin, bakır(II)klorür çözeltisi, neokuprainin alkoldeki çözeltisi ve pH 7 amonyum asetat sulu tampon çözeltisi ile karıştırılması ve ardından oluşan Cu(I)-neokuproin kelatının absorbansının 450 nm dalga boyunda okunmasını içerir. TAC değerinin hesaplanmasında kullanılan denklem aşağıda gösterilmiştir.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} : ((A)/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (5.3)$$

A : Cu (II)- neokuproin çözeltisine örnek ilave edildikten sonra ölçülen absorbans
($\lambda=450 \text{ nm}$)

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_0 : Örnek hacmi (mL)

SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m: Örnek ağırlığı (g)

6. ARAŞTIRMA BULGULARI

6.1 Kalibrasyon Grafiklerinin Çizimi

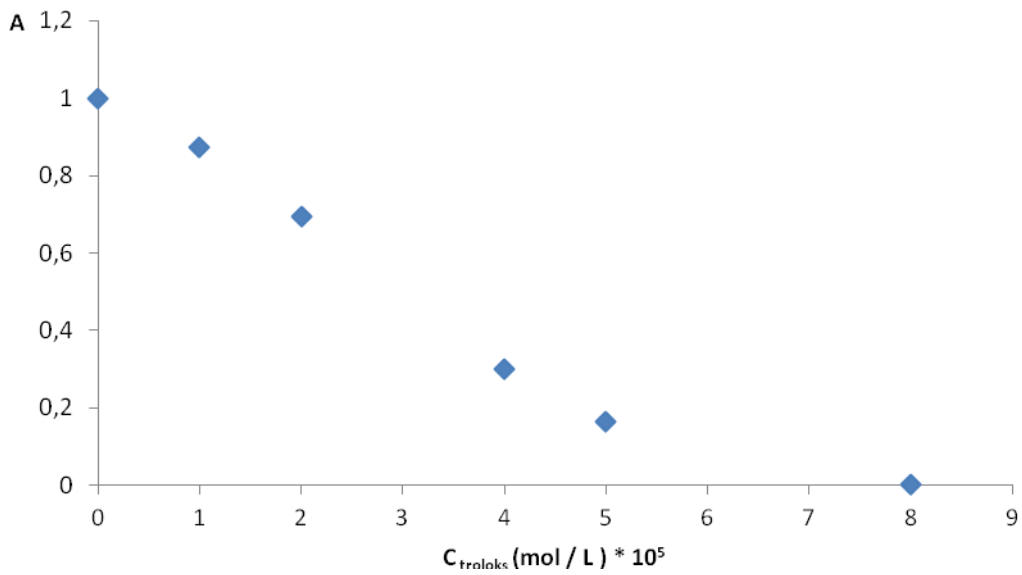
Ölçülen absorbans değerleriyle troloks derişimleri arasında kalibrasyon grafikleri çizildi. Bu grafikler CERAC, SPEKTROFLORİMETRİK CERAC ve CUPRAC yöntemleri için ayrı ayrı çizildi.

6.1.1 CERAC yöntemi

CERAC yöntemi ile troloks kalibrasyon grafiğı ve değerleri şekil 6.1 ve çizelge 6.1'de gösterilmektedir. Troloks'dan $1,0 \times 10^{-5} - 8,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ değişen derişimler arasında alındı ve kalibrasyon grafiğı çizilerek molar absorpsiyon katsayısı hesaplandı.

Çizelge 6.1 : CERAC yöntemi ile troloks için elde edilen kalibrasyon absorbans değerleri.

Konsantrasyon (mol/L)	λ_{320} (nm)
$1,0 \times 10^{-5}$	0,8721
$2,0 \times 10^{-5}$	0,6933
$4,0 \times 10^{-5}$	0,3009
$5,0 \times 10^{-5}$	0,1663
$8,0 \times 10^{-5}$	0,0024



Şekil 6.1 : CERAC yöntemi ile troloks kalibrasyon grafiği.

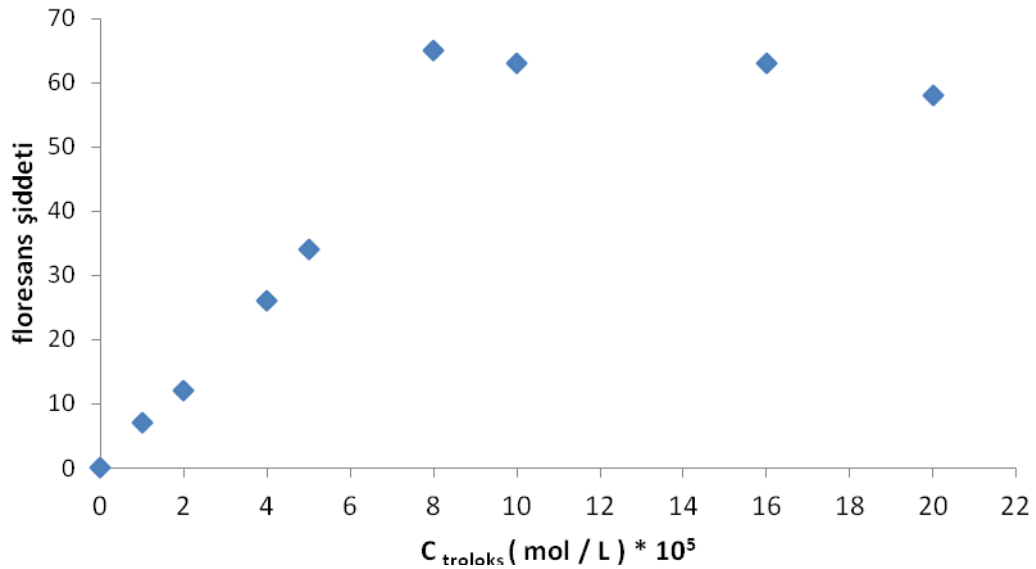
CERAC yönteminde kullanılan troloks için molar absorpsiyon katsayısı $1,73 \times 10^4$ ($mol^{-1} L cm^{-1}$) olarak hesaplandı.

6.1.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi

Bu yöntemde $1,0 \times 10^{-5}$ M – $2,0 \times 10^{-4}$ M değişen derişimler arasında troloks çözeltileri alındı ve spektroflorimetrik CERAC yöntemi le kalibrasyon grafiğı çizildi.(Şekil 6.2) Ölçülen absorbens değeri değeri şekil 6.2 ve çizelge 6.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 6.2 : Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki troloks absorbens değeri.

Konsantrasyon (mol / L)	Floresans şiddeti $\lambda_{\text{uyarılma}}$ (256 nm) λ_{emisyon} (360 nm)
0	0
$1,0 \times 10^{-5}$	7
$2,0 \times 10^{-5}$	12
$4,0 \times 10^{-5}$	26
$5,0 \times 10^{-5}$	34
$8,0 \times 10^{-5}$	65
$1,0 \times 10^{-4}$	63
$1,6 \times 10^{-4}$	63
$2,0 \times 10^{-4}$	58



Şekil 6.2 : Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile troloks kalibrasyon grafiğı.

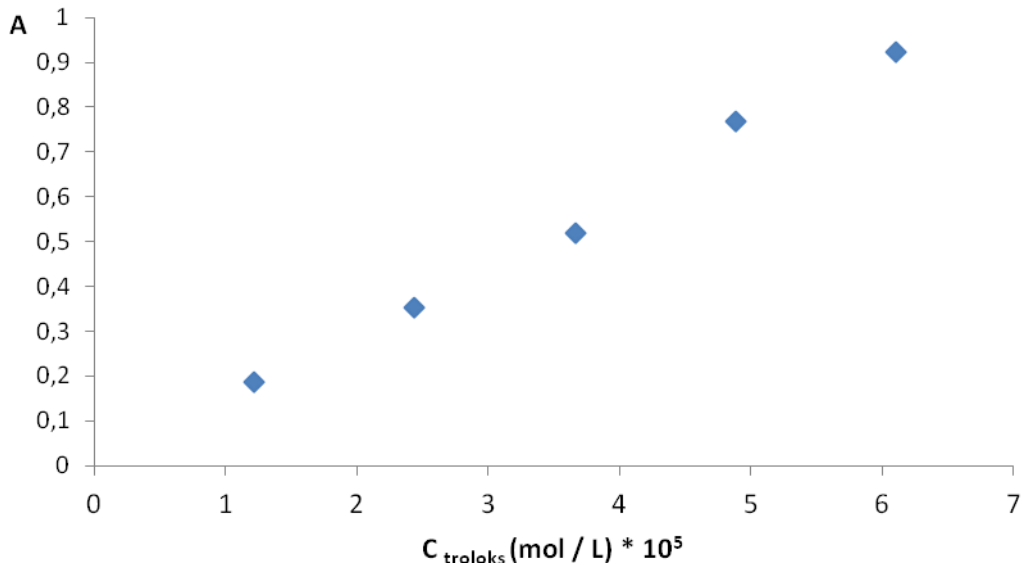
Bu yöntemde troloksun konsantrasyonu $8,42 \times 10^{-5}$ M olarak hesaplandı. Ce (IV) ile troloks arasındaki steokiyometrik oran ise 2,37 olarak belirlendi.

6.1.3 CUPRAC yöntemi

Bu yöntemde hazırlanan $5,0 \times 10^{-4}$ M troloks çözeltisinden 0,1-0,5 mL arasında alınarak 450 nm dalga boyunda absorbands değerleri okundu. Ölçülen değerler çizelge 6.3’de gösterilerek şekil 6.3’de kalibrasyon grafiği çizildi.

Çizelge 6.3 : CUPRAC yöntemindeki troloks absorbands değerleri.

Konsantrasyon (mol / L)	λ_{450} (nm)
$1,22 \times 10^{-5}$	0,1868
$2,44 \times 10^{-5}$	0,3536
$3,66 \times 10^{-5}$	0,5203
$4,88 \times 10^{-5}$	0,7691
$6,10 \times 10^{-5}$	0,9226



Şekil 6.3 CUPRAC yöntemi ile troloks kalibrasyon grafiği.

CUPRAC yönteminde kullanılan troloks için molar absorpsiyon katsayısı $1,67 \times 10^4$ ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$) olarak hesaplandı.

6.2 Optimum Deney Koşullarının Belirlenmesi

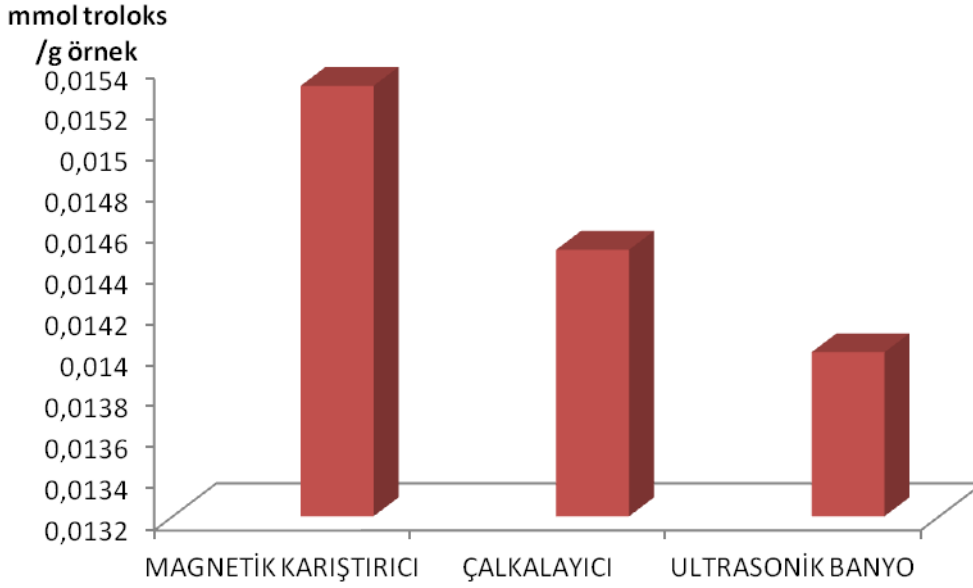
Kırkkilit ve Kurtpençesi bitkileri için yapılacak olan çalışmalarda, örneklerin hazırlanmasında uygun karıştırıcının etkisi, infüzyon çözeltilerinin hazırlanmasında sıcaklığın etkisi ve kaynatma yönteminde optimum kaynatma süresinin etkisinin incelenmesi için CERAC yöntemi ile örneklerin toplam antioksidan kapasitelerindeki değişimler belirlendi.

6.2.1 Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi

10 g Kırkkilit (Kütahya) bitki örneği tartılarak 250 mL saf su içerisinde 2 saat boyunca 320 rpm magnetik karıştırıcı, 320 rpm çalkalayıcı ve ultrasonik banyo içerisinde ekstrakte edildi. 7 mL 1 M Na_2SO_4 + 1 mL 2×10^{-3} M Ce(IV) çözeltisine hazırlanan Kırkkilit çözeltilerinden 0,2-0,8 mL arasında ilave edilerek son hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler 320 nm dalga boyunda saf suya karşı ölçüldü. Bulunan değerler çizelge 6.4’de mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri hesaplandı ve şekil 6.4’de sütun grafiğinde gösterildi.

Çizelge 6.4 : Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi.

Kırkkilit hacim (mL)	Magnetik karıştırıcı mmol troloks / g örnek	Çalkalayıcı mmol troloks / g örnek	Ultrasonik banyo mmol troloks / g örnek
0,2	0,0170	0,0150	0,0170
0,4	0,0160	0,0153	0,0120
0,8	0,0130	0,0130	0,0130
ortalama	0,0153	0,0144	0,0140

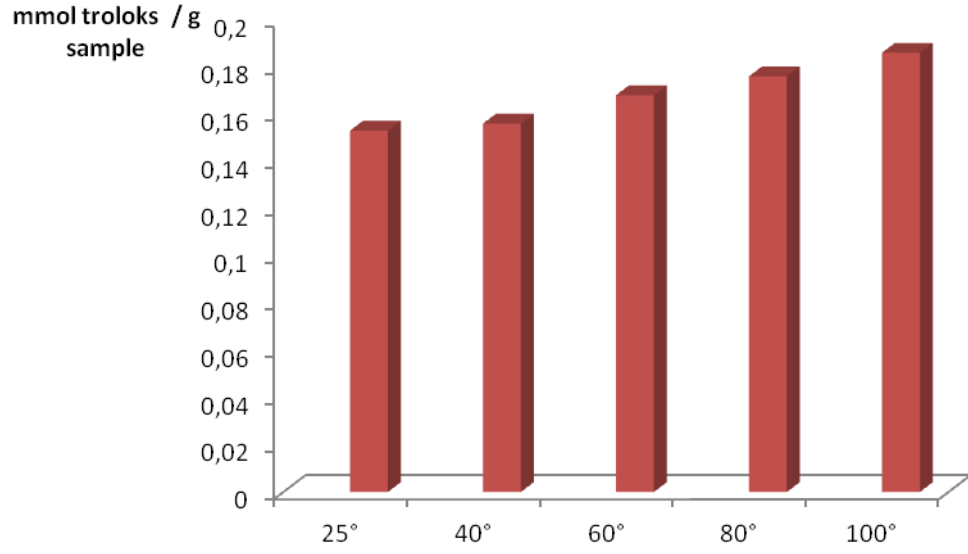


Şekil 6.4 : Uygun ekstraksiyon düzeneğinin belirlenmesi.

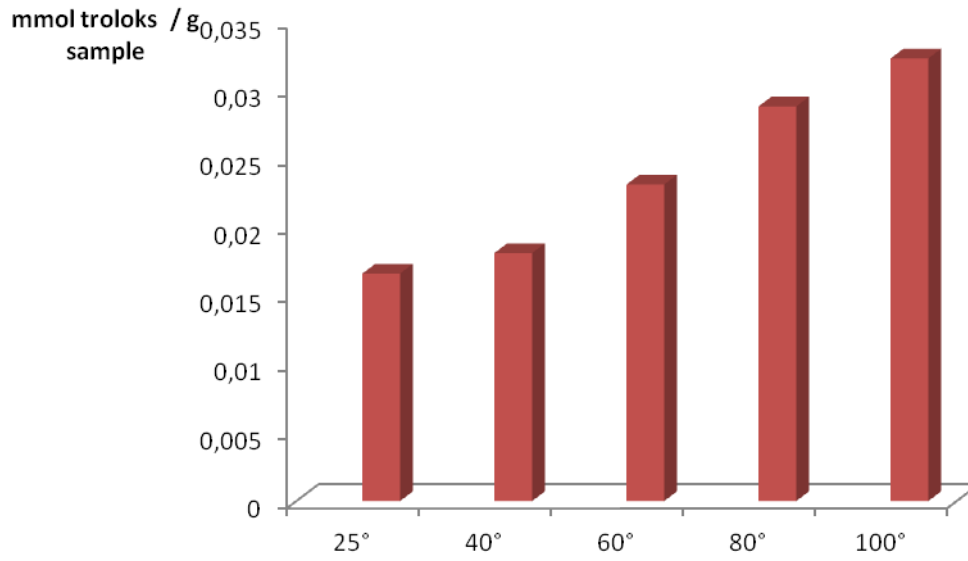
Magnetik karıştırıcı ile hazırlanan ekstraktların analizinden mmol troloks / g örnek cinsinden en yüksek toplam antioksidan kapasite miktarı elde edilgi gözlemlendi.

6.2.2 İnfüzyon yöntemi için optimum sıcaklığın belirlenmesi

Bu amaçla 2 g Kırkkilit (Kütahya) ve 7 g kurtpençesi bitki örneği ayrı ayrı tartılarak 250 mL saf su içerisinde 1 saat boyunca hot plate magnetik karıştırıcı cihazında 25, 40, 60, 80 ve 100° C ısıtılarak infüzyon çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan bitki ekstraktları CERAC yöntemi ile analiz edildi. Şekil 6.5 ve şekil 6.6'da sütun grafiğinde mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri gösterildi.



Şekil 6.5 : Kırkkilit bitkisi için yapılan sıcaklık çalışmasının sütun grafiği.

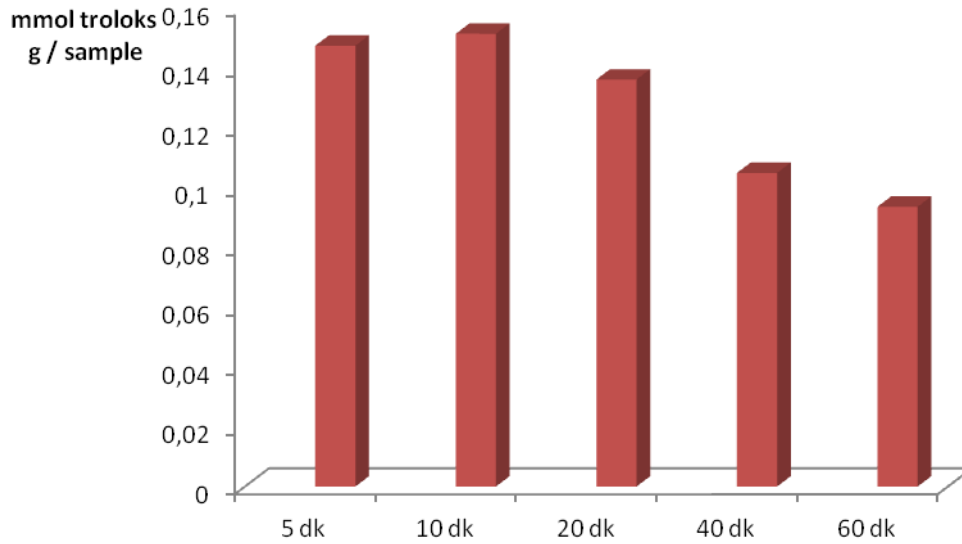


Şekil 6.6 : Kurtpençesi bitkisi için yapılan sıcaklık çalışmasının sütun grafiği.

Yapılan çalışma sonucunda 100 °C sıcaklıkta kırkkilit bitkisi için toplam antioksidan kapasitesi 0,1860 mmol troloks / g, kurtpençesi bitkisi için toplam antioksidan kapasitesi 0,0323 mmol troloks / g olarak hesaplandı. Şekil 6.5 ve 6.6 da görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça toplam antioksidan kapasitenin arttığı gözlemlendi. Ayrıca çözücü ortamının saf su olması nedeni ile daha yüksek sıcaklıklara çıkılamadı ve uygun ekstraksiyon sıcaklığı 100 °C seçildi.

6.2.3 Kaynatma yöntemi için optimum sürenin belirlenmesi

2 g Kırkkilit (Kütahya) bitki örneği 250 mL saf su içerisinde hot plate magnetik karıştırıcı cihazında 100 °C sıcaklıkta 5, 10, 20, 40 ve 60 dakika boyunca 320 rpm hızda karıştırıldı. Elde edilen çözeltiler whatman siyah bantlı süzgeç kağıdında süzülüp toplam hacim 250 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan bitki ekstraktları CERAC yöntemi ile analiz edildi. Şekil 6.7’de sütun grafiğinde mmol troloks / g örnek cinsinden değerler gösterildi.



Şekil 6.7 : En uygun zaman aralığının belirlenmesi.

Yapılan alışmalar sonucunda 10 dakika sonrasında toplam antioksidan miktarının azaldığı gözlemlendi. Bu nedenle 100°C sıcaklıkta 10 dakika boyunca örnek çözeltilerinin ısıtılarak hazırlanması yeterli olacaktır.

Optimizasyon çalışmalarından sonra Trakya ve Kütahya yörelerinden toplanan kırkkilit ve Trabzon yöresinden toplanan kurtpençesi bitkilerinin troloks cinsinden toplam antioksidan kapasite miktarı üç farklı ekstraksiyon metodu ve üç farklı analiz yöntemi ile hesaplandı.

6.3 Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Gerçek Örneklere Uygulanması

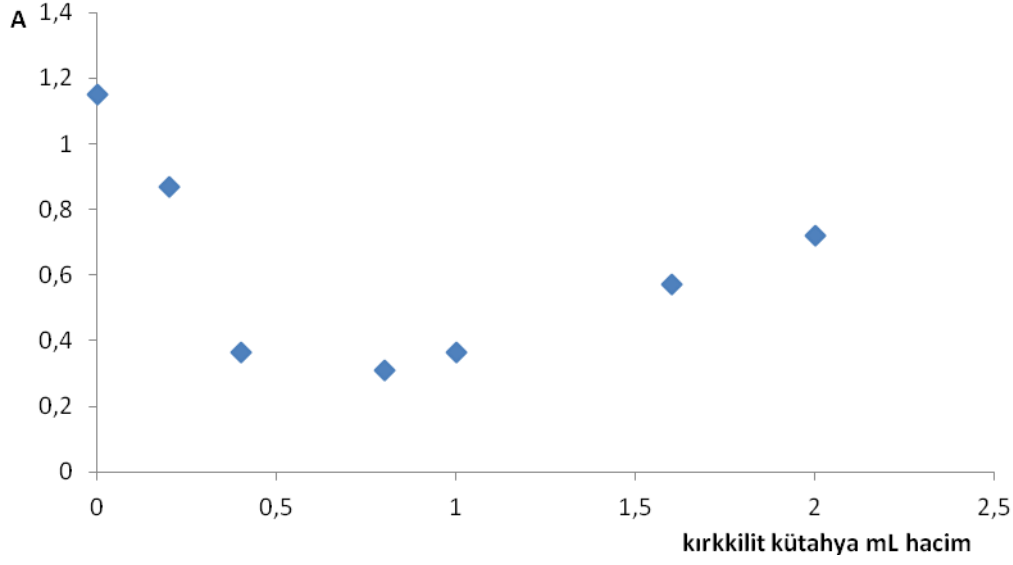
CERAC, CUPRAC ve spektrofiorimetriK CERAC yöntemleri kullanılarak Kırkkilit (Kütahya ve Trakya) (*Equisetum Arvense*) ve kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) bitkilerinin belirlenen optimum deney koşullarında metanol ekstraksiyonu, kaynatma ve infüzyon çözeltisi içindeki toplam antioksidan miktarları tayin edildi.

6.3.1 Kırkkilit bitkisinin metanol ekstraktlarının analizi

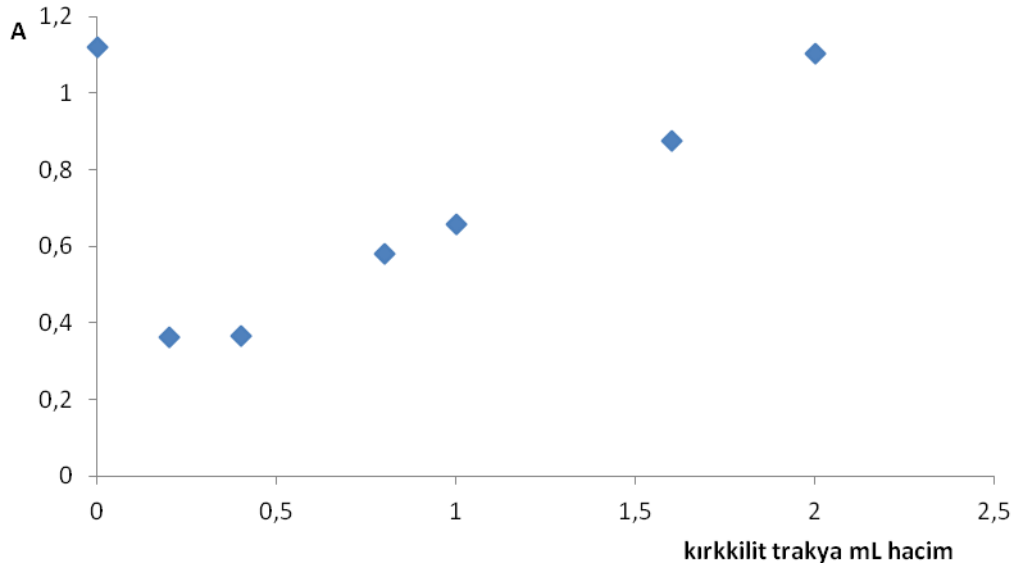
Bölüm 5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanan %80 metanol'deki kırkkilit ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofiorimetrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 2 g Kırkkilit Kütahya ve Trakya bölgesi bitki türlerinin % 80 metanol'deki ekstraktları CERAC ve spektrofiorimetrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadan CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapılarak analizleri yapıldı.

6.3.1.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na₂SO₄ özeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan özelti referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorbens değeri ölçüldü. Okunan absorbens değeri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.8 ve 6.9). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değeri Çizelge 6.5'te gösterildi.



Şekil 6.8: Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.9 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

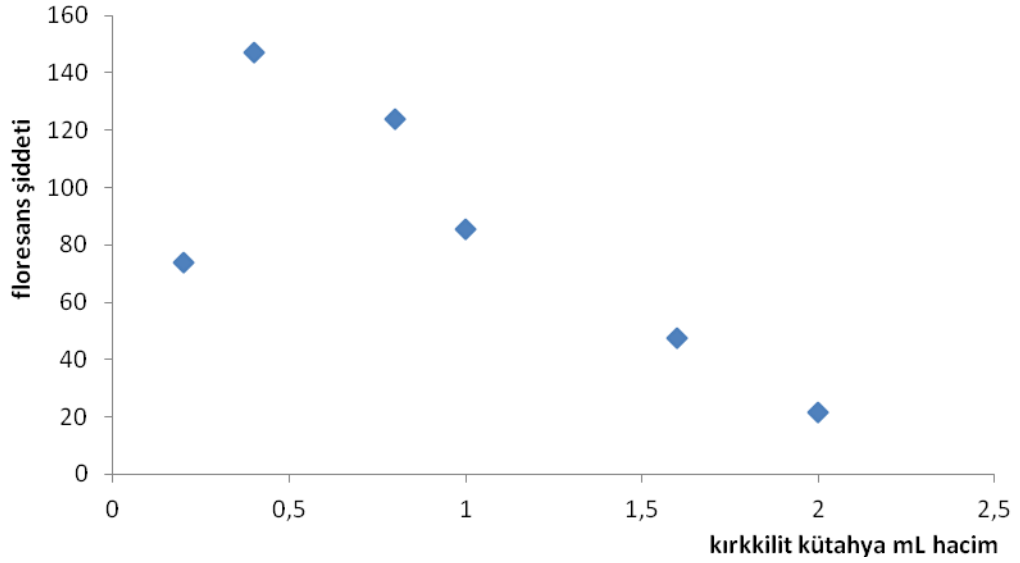
Çizelge 6.5 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
% 80 MeOH	0,1417	0,1816

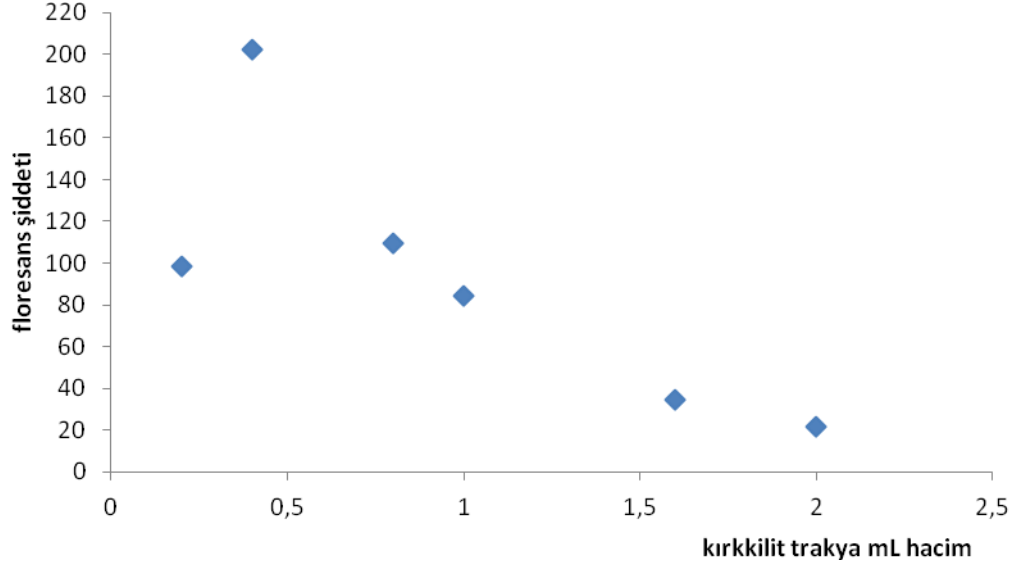
CERAC yönteminde yapılan % 80 metanol ekstraksiyonunda Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin toplam antioksidan kapasitesinin kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.1.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.10 ve 6.11). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.6'da gösterildi.



Şekil 6.10 : Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.11 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin % 80 metanol ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.6 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	Kırkkilit Kütahya	Kırkkilit Trakya
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)		
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)		
% 80 MeOH	0,1769	0,3720

Spektroflorimetrik CERAC yönteminde de Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin toplam antioksidan kapasitesinin Kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.1.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kırkkilit (Kütahya ve Trakya) bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbands yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbands ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.7’de mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.7 : Kırkkilit kütahya ve trakya bitkisinin % 80 metanoldeki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
% 80 MeOH	0,1970	0,2070

CUPRAC yönteminde de Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin toplam antioksidan kapasitesinin kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

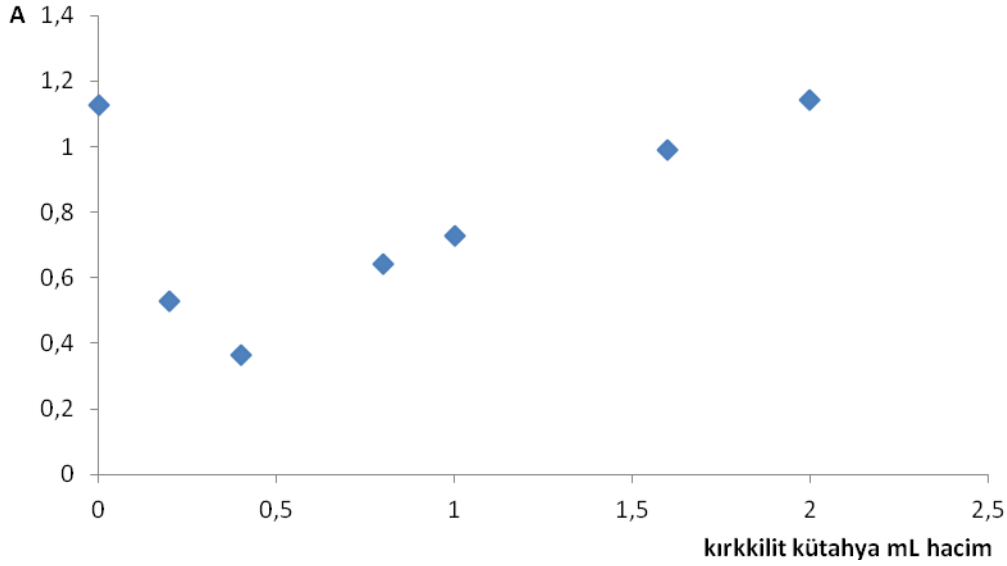
6.3.2 Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4’te anlatıldığı gibi hazırlanan kaynatma metodu ile elde edilen kırkkilit ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 2 g kırkkilit Kütahya ve Trakya bitki türlerinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltileri, CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için 3:10 oranında CUPRAC metodunda ise 1:5 oranında seyreltme yapılarak analizleri yapıldı.

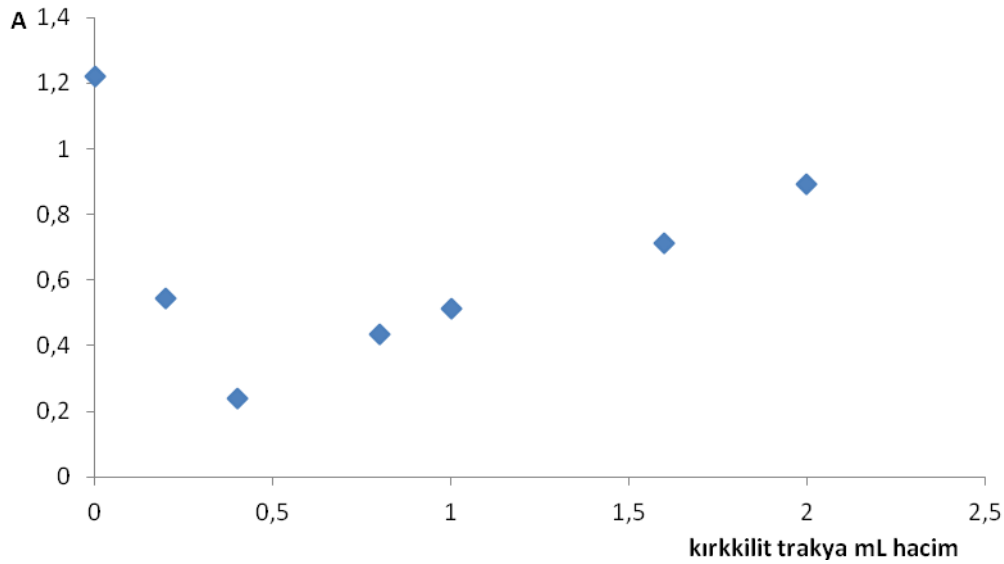
6.3.2.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinden 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorbands değerleri ölçüldü. Okunan absorbands değerleri ile

örnek hacimleri arasında grafik çizildi(Şekil 6.12 ve 6.13). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.8’de gösterildi.



Şekil 6.12 : Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.13 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

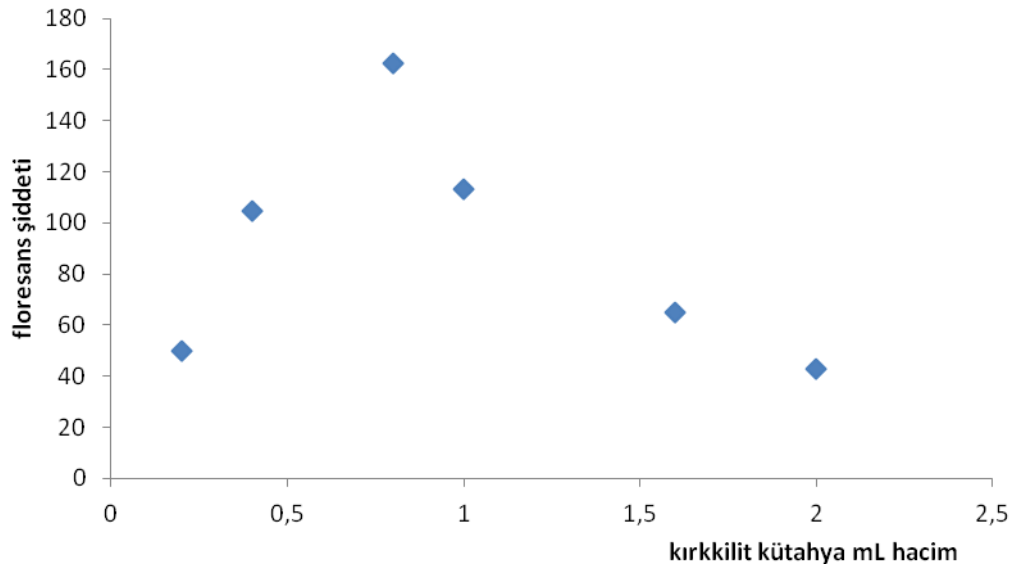
Çizelge 6.8 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,0915	0,1762

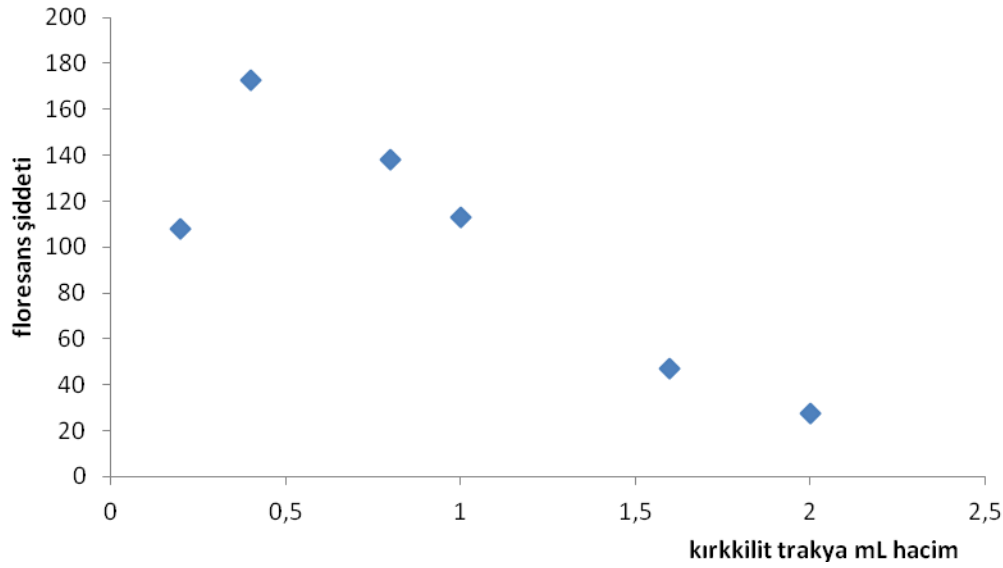
CERAC yönteminde Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin toplam antioksidan kapasitesinin Kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi

6.3.2.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin kaynatma yöntemi ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi(Şekil 6.13 ve 6.14). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.9’da gösterildi.



Şekil 6.14 : Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.15 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen çözeltilerinin Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.9: Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC Floresans şiddeti $\lambda_{uyarılma}$ (256 nm) $\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1639	0,2640

Spektroflorimetrik CERAC yönteminde Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.2.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kırkkilit (Kütahya ve Trakya) bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbans yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.10'da mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.10 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1537	0,1937

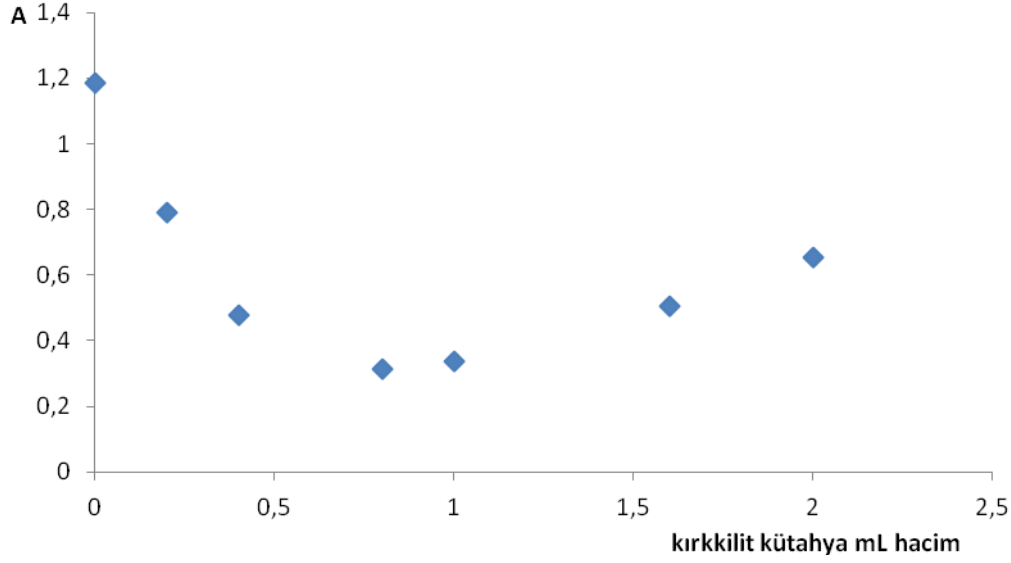
CUPRAC yönteminde de Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.3 Kırkkilit Bitkisinin İnfüzyon İle Elde Edilen Ekstraktlarının Analizi

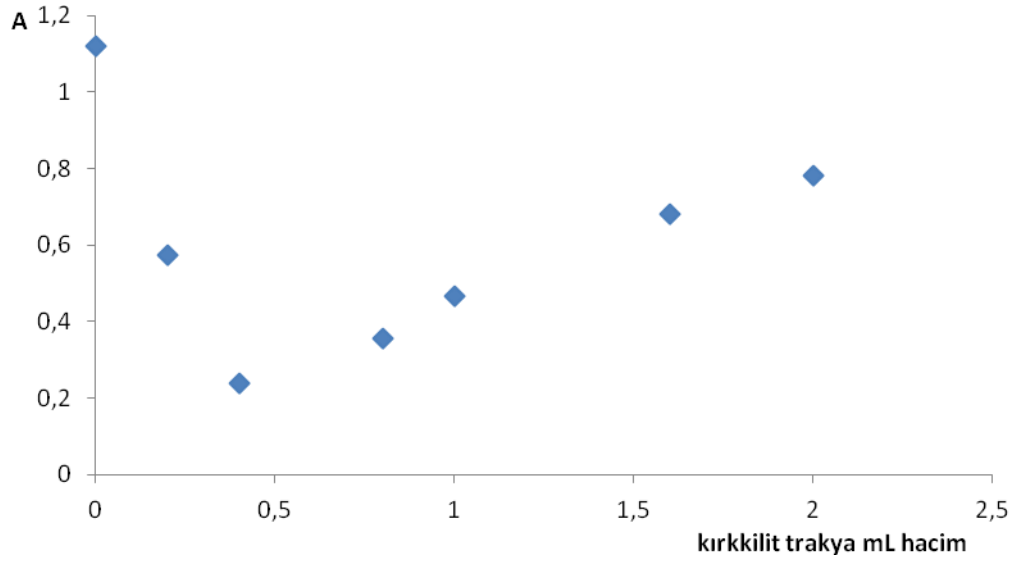
Bölüm 5.4’te anlatılan infüzyon metoduyla hazırlanan kırkkilit ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 2 g Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitki türlerinin infüzyon metodundaki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadan analiz edildi. CUPRAC metodunda ise 2:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.3.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Okunan absorbans değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.16 ve Şekil 6.17). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.11’de gösterildi.



Şekil 6.16: Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisi için infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.17 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisi için infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

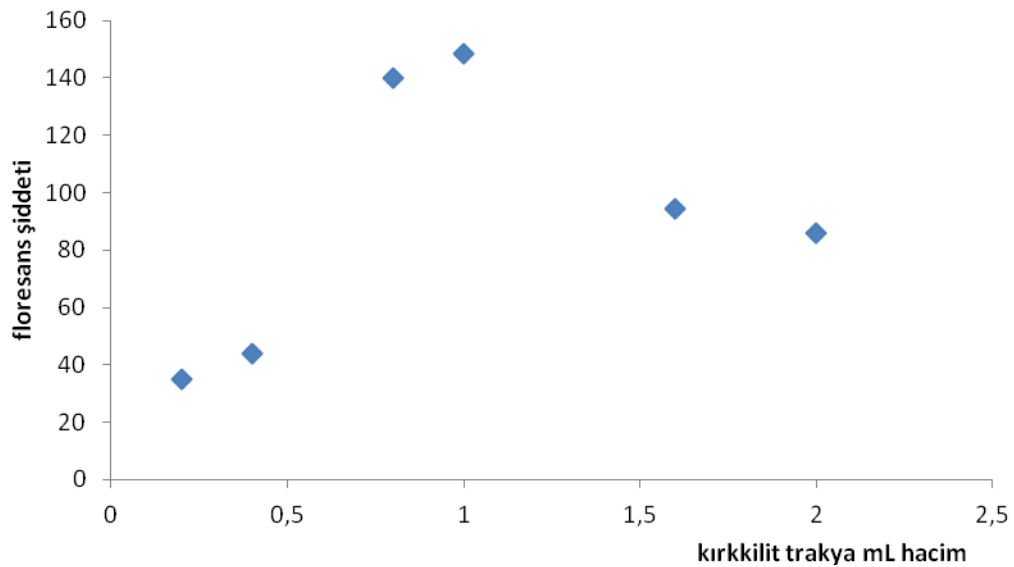
Çizelge 6.11 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troluks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	Kırkkilit Kütahya mmol troluks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troluks / g örnek
infüzyon	0,0780	0,1570

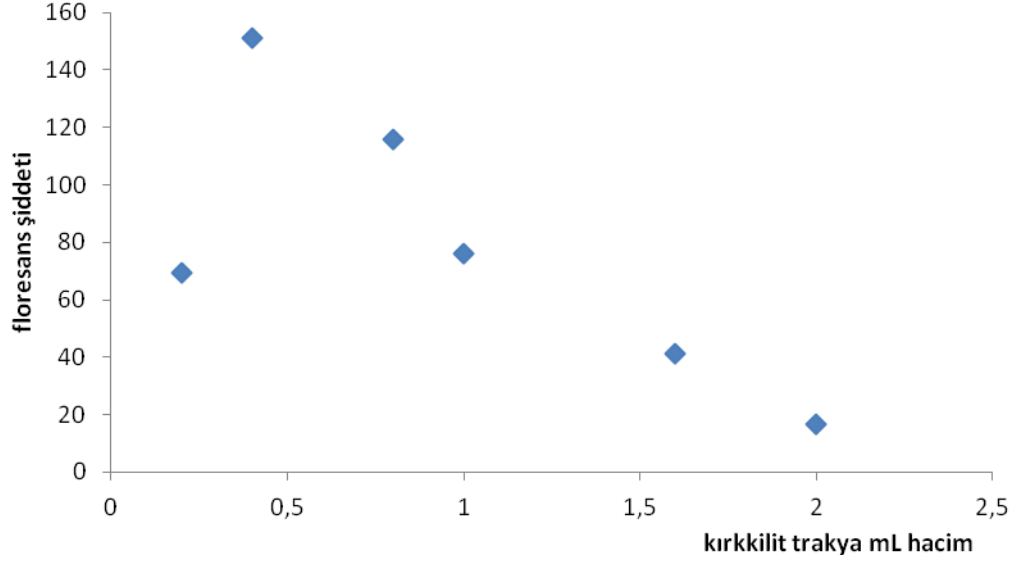
CERAC yönteminde Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının m Kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.3.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Kütahya ve Trakya bölgelerinden toplanan kırkkilit bitki örneklerinin infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.18 ve 6.19). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.12’de gösterildi.



Şekil 6.18 : Kütahya bölgesi Kırkkilit bitkisi için infüzyon metodu ile elde edilen ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.



Şekil 6.19 : Trakya bölgesi Kırkkilit bitkisi için infüzyon metodu ile elde edilen ekstratlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.12 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodundaki ekstratlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	Kırkkilit Kütahya	Kırkkilit Trakya
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)		
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)		
infüzyon	0,1440	0,1908

Spektroflorimetrik CERAC yönteminde Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin infüzyon metodundaki ekstratlarının mmol troloks / g örnek cinsinden Kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.3.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kırkkilit (Kütahya ve Trakya) bitki ekstratlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbanstaki 450 nm dalga boyunda absorbanstaki ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.13'te mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değeri hesaplandı.

Çizelge 6.13 : Kırkkilit Kütahya ve Trakya bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CUPRAC $\lambda_{450\text{ nm}}$	Kırkkilit Kütahya mmol troloks / g örnek	Kırkkilit Trakya mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1537	0,1937

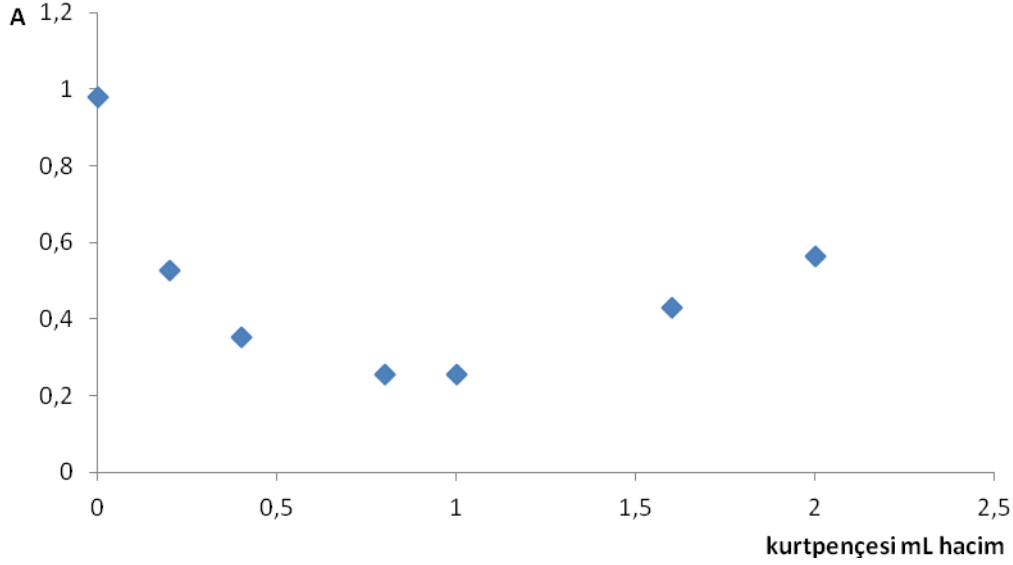
CUPRAC yönteminde Trakya yöresinden toplanan kırkkilit bitki örneğinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının mmol troloks / g örnek cinsinden Kütahya bölgesinden toplanan kırkkilit bitki örneğine göre daha yüksek değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.4 Kurtpençesi bitkisinin metanol ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4’te anlatıldığı gibi hazırlanan %80 metanol’deki kurtpençesi ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol’deki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.4.1 CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan Kurtpençesi bitki örneklerinin % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçüldü. Okunan absorban değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi(Şekil 6.20). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.14’te gösterildi.



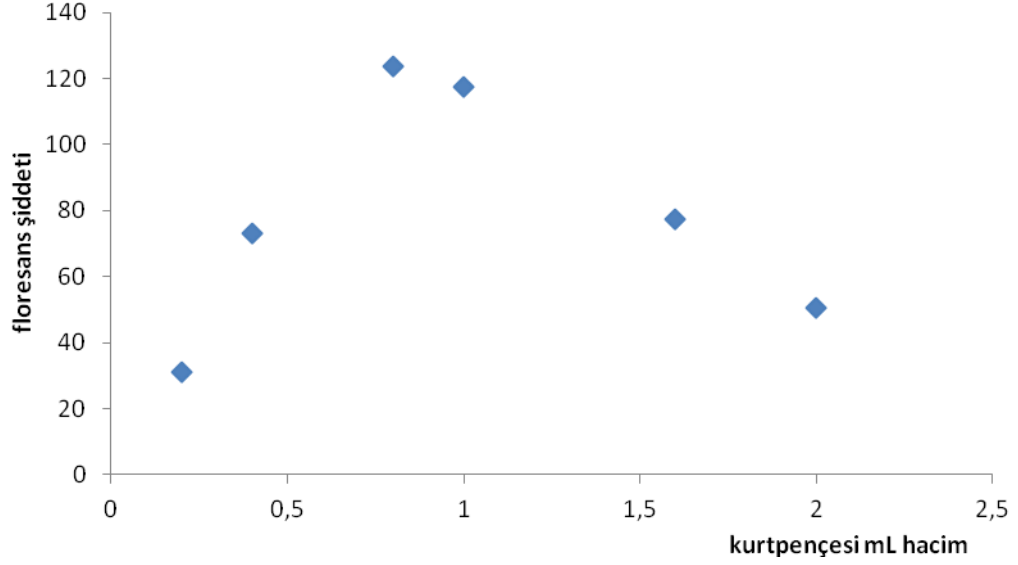
Şekil 6.20 : Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.14 : Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değeri.

CERAC λ_{320nm}	Kurtpençesi mmol troloks / g örnek
% 80 MeOH	0,0323

6.3.4.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan kurtpençesi bitki örneklerinin % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi(Şekil 6.21). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.15'te gösterildi.



Şekil 6.21 : Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.15 : Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri

Spektroflorimetrik CERAC	Kurtpençesi
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)	
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	
%80 MeOH	0,0605

6.3.4.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kurtpençesi (Trabzon) bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbans yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.16'da mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.16 : Kurtpençesi bitkisinin % 80 metanol'deki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değeri.

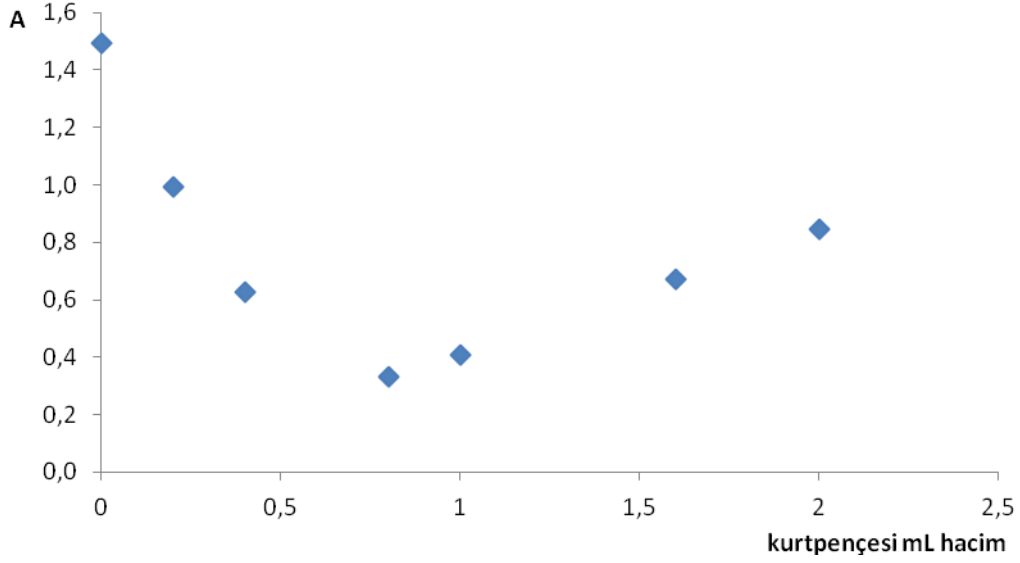
CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	Kurtpençesi mmol troloks / g örnek
%80 MeOH	0,0247

6.3.5 Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanan kaynatma metodundaki Kurtpençesi ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.5.1 CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan Kurtpençesi bitki örneklerinin kaynatma metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçüldü. Okunan absorban değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.22). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.17'de gösterildi.



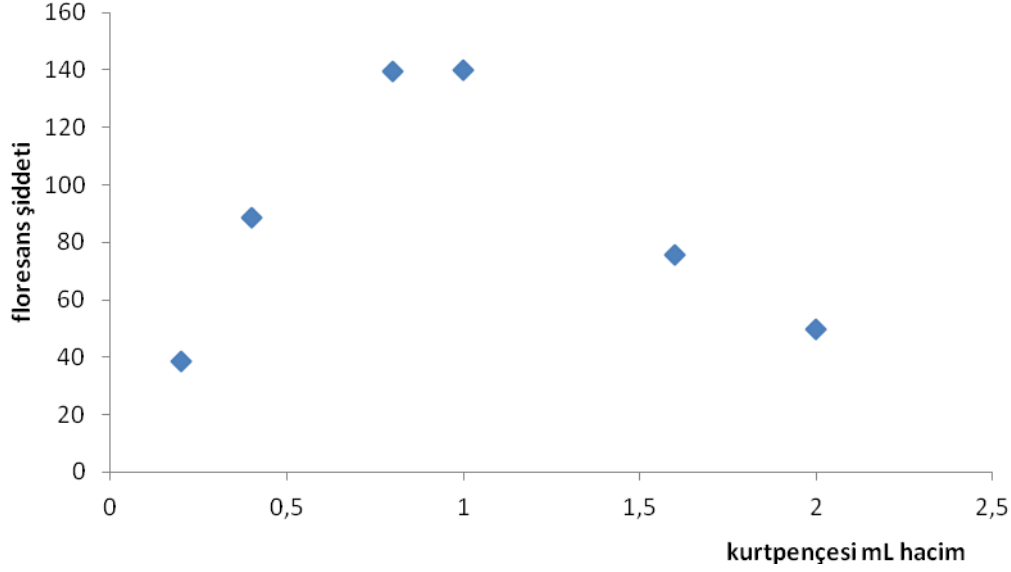
Şekil 6.22 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.17 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troluks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	kurtpençesi mmol troluks / g örnek
kaynatma	0,0298

6.3.5.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan Kurtpençesi bitki örneklerinin kaynatma metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi(Şekil 6.23). Elde edilen grafiklerden mmol troluks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.18’de gösterildi.



Şekil 6.23 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.18 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	kurtpençesi
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)	
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	
kaynatma	0,0353

6.3.5.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kurtpençesi (Trabzon) bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbans yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.19’da mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.19 : Kurtpençesi bitkisinin kaynatma metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değeri.

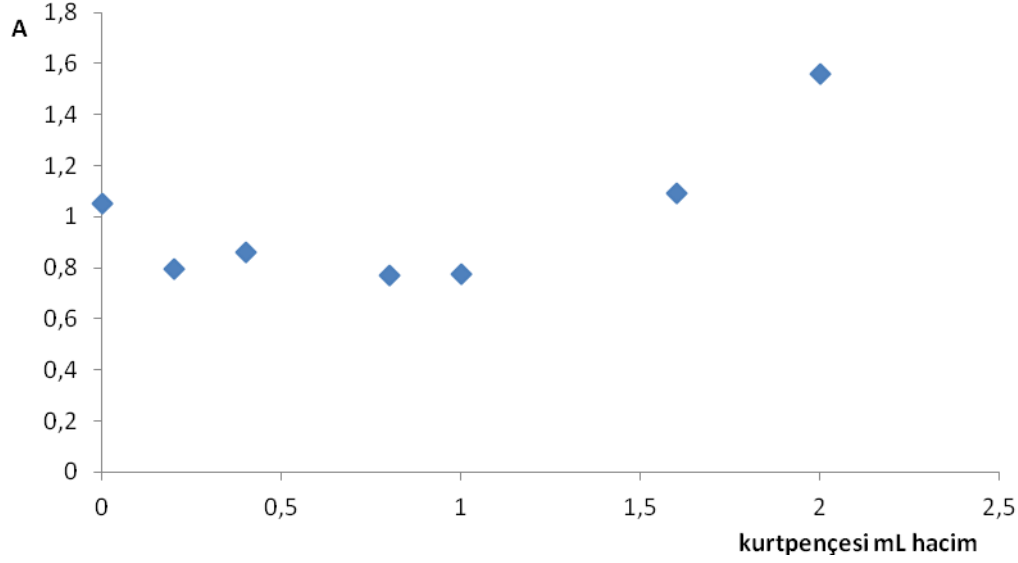
CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	kurtpençesi mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,0109

6.3.6 Kurtpençesi bitkisinin infüzyon ile elde edilen ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanan kaynatma metodundaki kurtpençesi ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.6.1 CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan kurtpençesi bitki örneklerinin infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçüldü. Okunan absorban değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.24). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.20'de gösterildi.



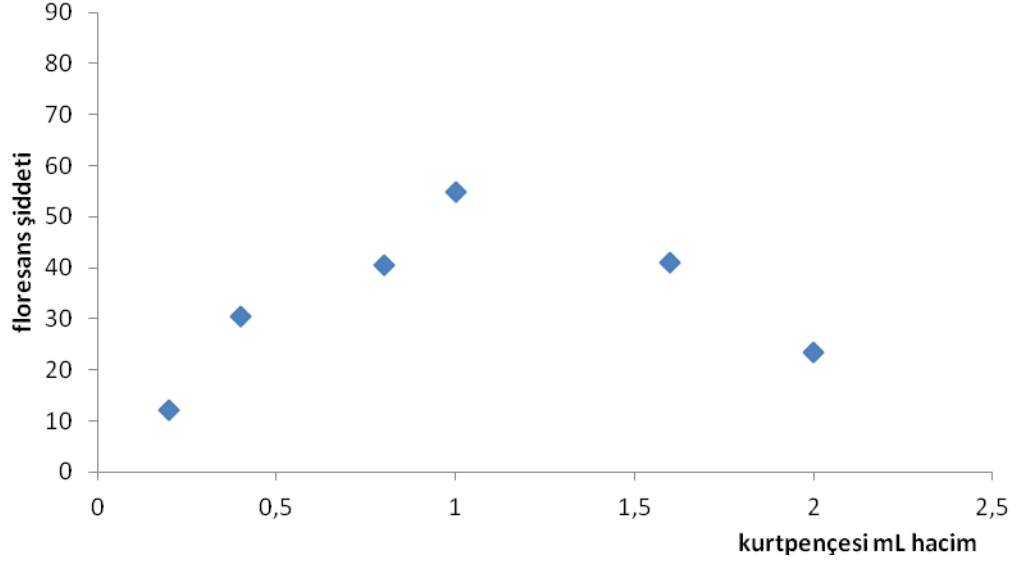
Şekil 6.24 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.20 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	kurtpençesi mmol troloks / g örnek
infüzyon	0,0037

6.3.6.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Trabzon bölgesinden toplanan Kurtpençesi bitki örneklerinin infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.25). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.21’de gösterildi.



Şekil 6.25 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.21 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	kurtpençesi
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)	
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	
infüzyon	0,0174

6.3.6.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kurtpençesi (Trabzon) bitki ekstraktlarından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbands yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbands ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.22’de mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.22 : Kurtpençesi bitkisinin infüzyon metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	kurtpençesi mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,0085

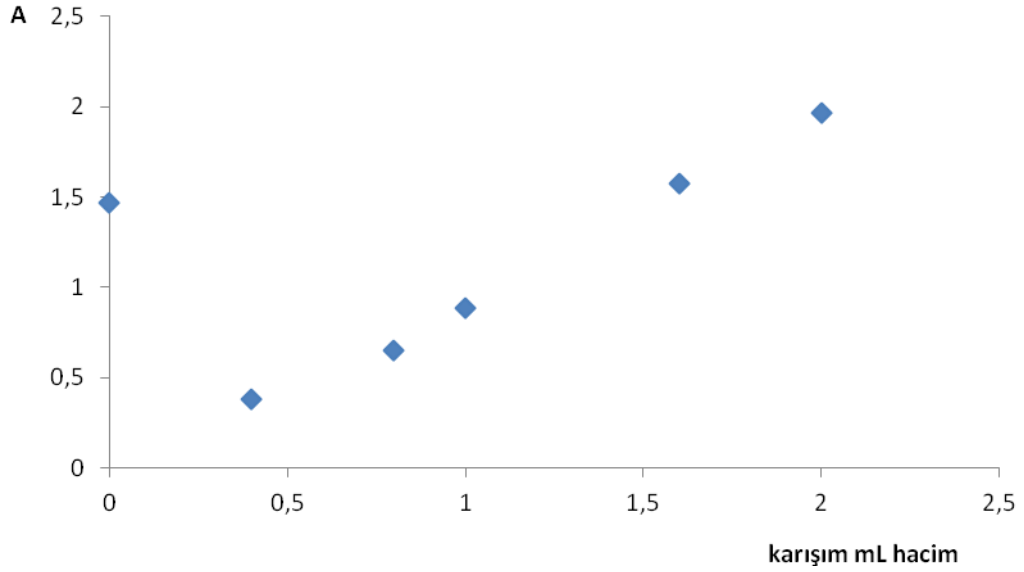
CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemlerinde Trabzon yöresinden toplanan kurtpençesi bitki örneğinin % 80 metanol,kaynatma ve infüzyondaki ekstraktlarının mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri incelendiğinde spektrofotometrik yöntemdeki metanol ekstraktının en yüksek TAC değere sahip olduğu gözlemlendi.

6.3.7 Kurtpençesi ve Kırkkilit bitki karışımının metanol ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanan % 80 metanol'deki kurtpençesi ve kırkkilit karışım ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi ve 2 g kırkkilit bitkilerinin %80 metanol'deki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.7.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımının % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 320 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri ölçüldü. Okunan absorpsiyon değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.26). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.23'te gösterildi.



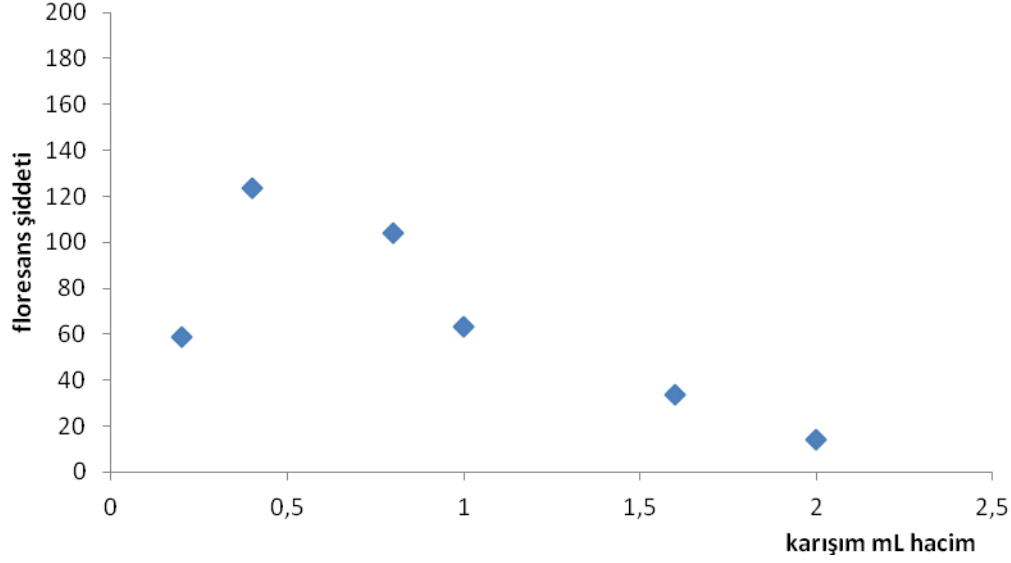
Şekil 6.26: Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının % 80 metanol'deki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.23 : Kurtpençesi ve Karışımının % 80 metanol'deki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	karışım
	mmol troloks / g örnek
% 80 MeOH	0,1746

6.3.7.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi analizi

Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımının % 80 metanol ortamında hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.27). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.24'de gösterildi.



Şekil 6.27 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının % 80 metanol'deki ekstraktlarının Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.24 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının % 80 metanol'deki ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	karışım
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)	
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	
% 80 MeOH	0,3640

6.3.7.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbanstaki yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbanstaki ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.25'te mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.25 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının %80 metanol'deki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

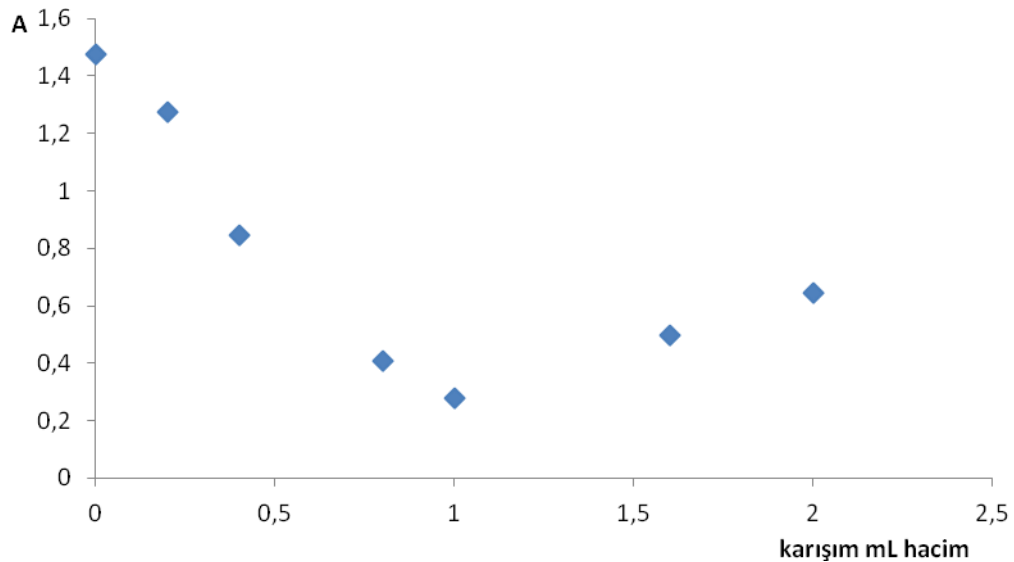
CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	karışım
	mmol troloks / g örnek
% 80 MeOH	0,1931

6.3.8 Kurtpençesi ve Kırkkilit bitki karışımının kaynatma metodu ile elde edilen ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanan kaynatma metodundaki kurtpençesi ve kırkkilit karışım ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi ve 2 g kırkkilit bitkilerinin kaynatma metodundaki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.8.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımının kaynatma metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 320 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Okunan absorbans değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.28). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.26'da gösterildi.



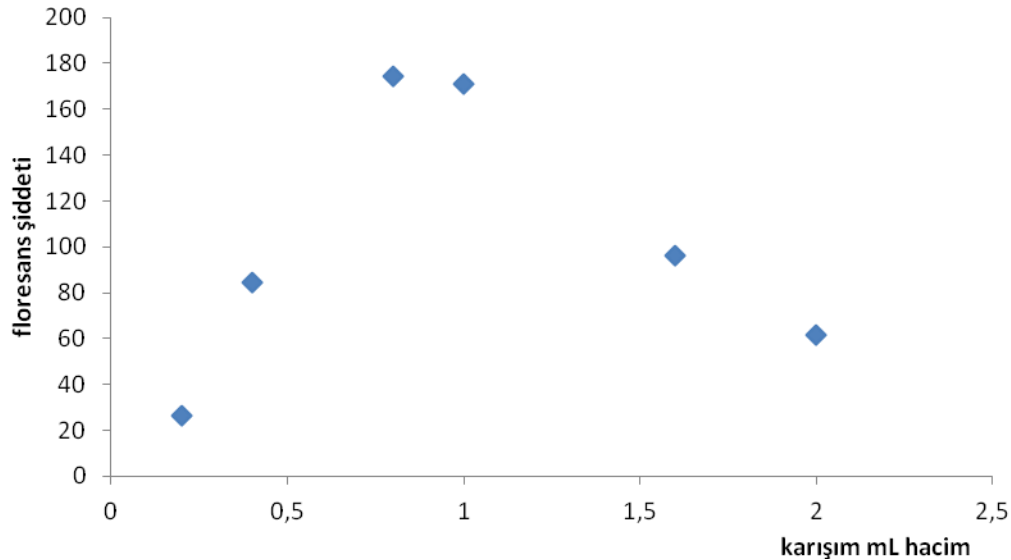
Şekil 6.28 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.26 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC λ_{320nm}	karışım mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1532

6.3.8.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Kurtpençesi ve Kırkkilit bitki karışımının kaynatma metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.29). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.27’de gösterildi.



Şekil 6.29 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki ekstraktlarının spektrofotometrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.27 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki ekstraktlarının spektrofotometrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektrofotometrik CERAC	karışım
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{uyarılma}$ (256 nm)	
$\lambda_{emisyon}$ (360 nm)	
kaynatma	0,2800

6.3.8.3 CUPRAC yöntemi ile analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbanst yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbanst ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.28’de mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.28 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının kaynatma metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

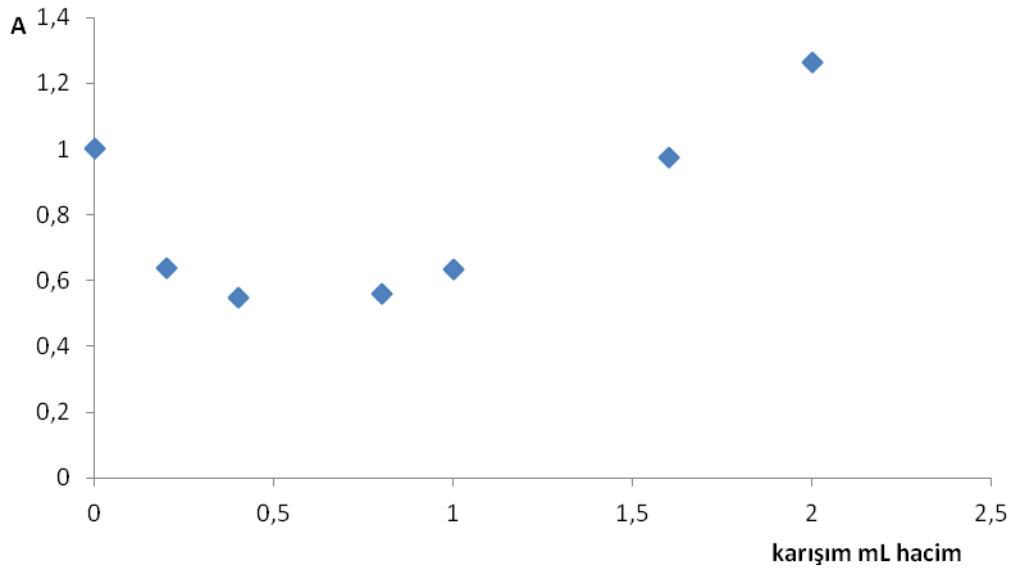
CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	karışım
	mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1710

6.3.9 Kurtpençesi ve Kırkkilit bitki karışımının infüzyon ile elde edilen ekstraktlarının analizi

Bölüm 5.4’te anlatıldığı gibi hazırlanan infüzyon metodundaki kurtpençesi ve kırkkilit karışım ekstraktları CERAC, CUPRAC ve spektrofotometrik CERAC yöntemleri ile analiz edildi. 7 g Kurtpençesi ve 2 g kırkkilit bitkilerinin kaynatma metodundaki ekstraktları CERAC ve spektrofotometrik CERAC metotları için seyreltme yapılmadı. CUPRAC metodunda ise 1:10 oranında seyreltme yapıldı.

6.3.9.1 CERAC yöntemi ile analizi

Kurtpençesi ve kırkkilit bitki karışımının infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 320 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Okunan absorbans değerleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.30). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.29'da gösterildi.



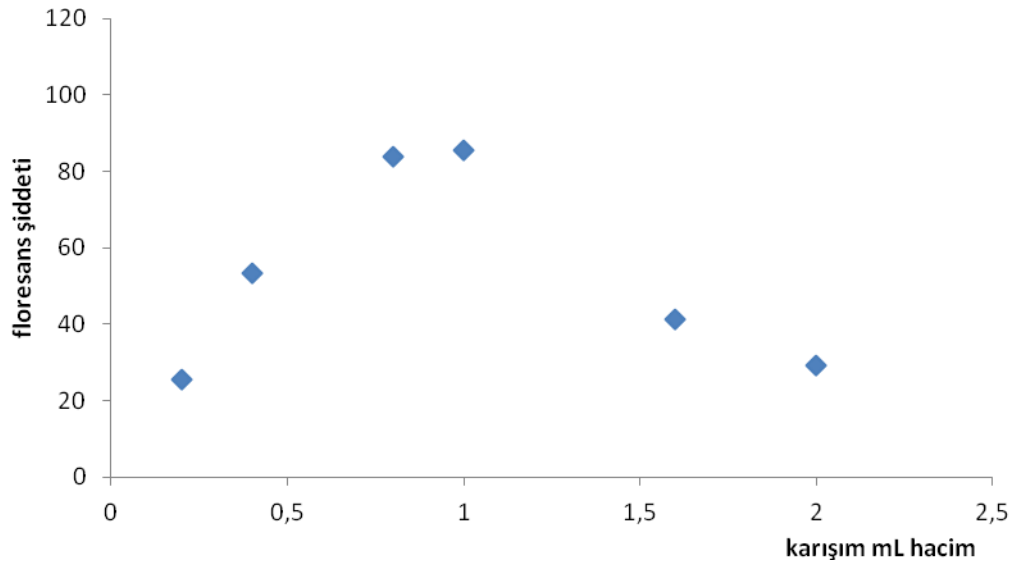
Şekil 6.30 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.29 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki ekstraktlarının CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

CERAC $\lambda_{320\text{nm}}$	karışım mmol troloks / g örnek
kaynatma	0,1331

6.3.9.2 Spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analizi

Kurtpençesi ve Kırkkilit bitki karışımının infüzyon metodu ile hazırlanan ekstraktlarından 0-2 mL arasında alınıp 1 mL $2,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) ve 7 mL 1,0 M Na_2SO_4 çözeltisi üzerine ilave edilip toplam hacim 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler referans çözeltiliye karşı 256 nm uyarılma ve 360 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçüldü. Okunan floresans şiddetleri ile ekstraksiyon hacimleri arasında grafik çizildi (Şekil 6.31). Elde edilen grafiklerden mmol troloks/g örnek cinsinden hesaplanan toplam antioksidan kapasite değerleri Çizelge 6.30'da gösterildi.



Şekil 6.31 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemi ile analiz sonuçları.

Çizelge 6.30 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki ekstraktlarının spektroflorimetrik CERAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri.

Spektroflorimetrik CERAC	karışım
Floresans şiddeti	mmol troloks / g örnek
$\lambda_{\text{uyarılma}}$ (256 nm)	
λ_{emisyon} (360 nm)	
infüzyon	0,2025

6.3.9.3 CUPRAC yöntemi analizi

1 mL 1×10^{-2} M CuCl_2 + 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprain ve 1 mL 1 M NH_4Ac çözeltisi üzerine 0,2 mL kurtpençesi ve kırkkilit karışımından eklendi ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde saf su ilave edilip reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi. Cu(I) neokuprain kelatının maksimum absorbands yaptığı 450 nm dalga boyunda absorbands ölçümleri referans çözeltisine karşı alındı. Çizelge 6.31’de mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan değerleri hesaplandı.

Çizelge 6.31 : Kurtpençesi ve Kırkkilit karışımının infüzyon metodundaki ekstraktlarının CUPRAC yöntemindeki mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite değerleri

CUPRAC $\lambda_{450 \text{ nm}}$	karışım
	mmol troloks / g örnek
infüzyon	0,1536

7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada ülkemizde bol miktarda bulunan ve tüketimi konusunda yeterince bilgi sahibi olunamayan Trakya ve Kütahya bölgelerinden toplanan Kırkkilit (*Equisetum Arvense*) bitkisi ve Trabzon bölgesinden toplanan Kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*) bitkisinin toplam antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Kırkkilit ve Kurtpençesi bitkisi için ayrı ayrı optimizasyon çalışmaları yapıldı. Örnek çözeltilerinin hazırlanmasında uygun karıştırma sisteminin belirlenmesi, infüzyon yönteminde sıcaklığın etkisi, kaynatma metodunda uygun ısıtma süresinin belirlenmesi gibi optimum deney örnek hazırlama şartları belirlendi. Optimum şartlardaki örnek hazırlama yöntemleri (metanol ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi) Kırkkilit ve Kurtpençesi bitkilerine uygulandı. Hazırlanan ekstraksiyon çözeltilerinin toplam antioksidan kapasiteleri CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile belirlendi.

Herbir yöntem için standart troloks çözeltileri ile kalibrasyon grafiği çizildi. Troloks için molar absorplama katsayıları; CERAC yöntemi için $1,73 \times 10^4$, CUPRAC yöntemi için ise $1,67 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ olarak belirlendi. Spektrofotometrik CERAC yönteminde ise troloks ile Ce(IV) arasındaki stokiyometrik oran 2.37 olarak belirlendi. Bulunan bu değerler Kırkkilit bitkisi ve Kurtpençesinin toplam antioksidan kapasitelerinin hesaplanmasında kullanıldı. Infüzyon ve kaynatma yöntemlerinde, bitki örneklerinin hazırlanmasında çözeltilerin karıştırılması amacı ile ısıtıcıli magnetik karıştırıcı, çalkalayıcı ve ultrasonik banyo deney düzenekleri kullanılmıştır. Elde edilen toplam antioksidan kapasite değerlerine bakıldığında en yüksek değer ısıtıcıli magnetik karıştırıcıda elde edilmiştir. Bu nedenle en uygun ekstraksiyon düzeneği olarak seçildi. Bitkilerin (Kırkkilit ve Kurtpençesi) hazırlanmasında kullanılan infüzyon ve kaynatma yöntemlerinin optimizasyon çalışmalarında; infüzyon yönteminde sıcaklığın etkisi, kaynatma metodunda uygun ısıtma süresinin belirlenmesine çalışıldı.

Her iki bitki türü için infüzyon çözeltilerinin hazırlanmasına sıcaklığın etkisini belirlemek amacı ile çözeltiler 25 – 100°C de CERAC yöntemi ile analiz edilmiştir. Sıcaklık arttıkça toplam antioksidan kapasitenin arttığı ve 100°C’de en yüksek antioksidan kapasitenin elde edildiği bulundu ve infüzyon çözeltileri kaynatılarak hazırlandı.

Kaynatma yöntemi için yapılan ısıtma süresinin belirlenmesinde ise 5- 60 dakika zaman aralıklarında kaynatılan çözeltilerin toplam antioksidan kapasiteleri 10 dakikaya kadar artarken 10 dakikadan sonra toplam antioksidan kapasite değerlerinde azalma olduğu gözlemlendi. Bu nedenle kaynatma yönteminde örnekler 10 dakika boyunca kaynatılarak hazırlanmıştır.

Optimizasyon çalışmalarından sonra gerçek örneklerin CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analizi yapıldı.

Trakya ve Kütahya yörelerinden toplanan kırkkilit bitkisinin mmol troloks / g örnek cinsinden toplam antioksidan kapasite miktarı üç farklı ekstraksiyon metodu ve üç farklı analiz yöntemi ile hesaplandı (Çizelge 7.1-7.2).

Çizelge 7.1 : Kütahya yöresi Kırkkilit bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.

Kırkkilit Kütahya	CERAC	SPEKTROFLORİMETRİK CERAC	CUPRAC
	mmol troloks / g örnek	mmol troloks / g örnek	mmol troloks / g örnek
%80 MeOH	0,1417	0,1769	0,1670
infüzyon	0,0780	0,1440	0,1124
kaynatma	0,0915	0,1639	0,1530

Çizelge 7.2 : Trakya yöresi Kırkkilit bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.

Kırkkilit Trakya	CERAC	SPEKTROFLORİMETRİK CERAC	CUPRAC
	mmol troloks /g örnek	mmol troloks /g örnek	mmol troloks /g örnek
%80 MeOH	0,1816	0,3720	0,2070
infüzyon	0,1570	0,2640	0,1620
kaynatma	0,1762	0,1908	0,1937

Kütahya yöresi Kırkkilit bitkisinin her üç yöntemle analiz sonuçlarına bakıldığında %80 metanol ile yapılan ekstraksiyon çözeltilerinin toplam antioksidan kapasitesinin en yüksek çıkıldığı gözlemlenmiştir.

Trabzon yöresinden elde edilen kurtpençesi bitki türünde de aynı şartlar ve analiz yöntemleri uygulandı (çizelge 7.3). Toplam antioksidan kapasite değerlerine bakıldığında %80 metanol ekstraksiyonu ile elde edilen çözeltilerin her üç yöntem ile de yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak kırkkilit out bitisine göre anti oksidan kapasite değerinin çok düşük olduğu gözlemlendi. Yapılan bu çalışma sonucunda literatürden elde edilen bilgilerde antioksidan aktivitesinin düşük olduğu bilgisi doğrulanmış oldu.

Çizelge 7.3 : Trabzon yöresi Kurtpençesi bitkisinin %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.

kurtpençesi	CERAC	SPEKTROFLORİMETRİK CERAC	CUPRAC
	mmol troloks/ g örnek	mmol troloks / g örnek	mmol troloks/ g örnek
%80 MeOH	0,0323	0,0365	0,0247
infüzyon	0,0037	0,0174	0,0085
kaynatma	0,0298	0,0353	0,0109

Halk arasında kırkkilit otu ve kurtpençesi birlikte tüketilmektedir. Bu nedenle bu bitkilerin bir arada toplam antioksidan kapasite değerleri CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz edildi.

Çizelge 7.4 : Trabzon yöresi Kurtpençesi ve Trakya yöresi Kırkkilit bitki karışımının %80 metanol ile ekstraksiyon, infüzyon ve kaynatma yöntemi ile hazırlanan çözeltilerinin toplam antioksidan kapasite değerlerinin CERAC, spektrofotometrik CERAC ve CUPRAC yöntemleri ile analiz sonuçları.

Karışım	CERAC	SPEKTROFLORİMETRİK	CUPRAC
	mmol troloks / g örnek	CERAC mmol troloks / g örnek	mmol troloks / g örnek
%80 MeOH	0,1746	0,3640	0,1931
infüzyon	0,1331	0,2025	0,1536
kaynatma	0,1532	0,2800	0,1710

Her iki bitki karışımının toplam antioksidan kapasite değerlerine bakıldığında %80 metanol ekstraksiyonu ile elde edilen çözeltilerde toplam antioksidan kapasitenin en yüksek değerde olduğu gözlemlendi. Ancak her iki bitkinin karışımı sonucu elde edilen çözeltilerin toplam antioksidan kapasite değerleri tek tek elde edilen çözeltili karışımlarının toplamından daha düşük bulunmuştur. Bu analiz sonuçlarına bakılarak, bitki karışımlarının (kırkkilit ve kurtpençesi) bir arada tüketilmesi yerine ayrı ayrı tüketilmesinin insan sağlığı için daha iyi olabileceği tavsiye edilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Temür, N.** “Çam, Kavak, Söğüt ve Armut Ağaçları Üzerinde Yetişen Ökse Otu (*Viscum album* 1.) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi (2006).
- [2] **Tunaher, Z.; Öztürk, N.; Koşar, M.; Baser, K. H. C.; Duman, H.; Kırimer, N.** “Bazı Sideritis Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi”, *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı* (2002).
- [3] **Arias, I.M., Jakoby, W.B. (Eds).**, 1976. Glutathione:Metabolism and Function 6, Raven Press, New York.
- [4] **Temür, N.** “Çam, Kavak, Söğüt ve Armut Ağaçları Üzerinde Yetişen Ökse Otu (*Viscum album* 1.) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi (2006)
- [5] http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
- [6] **Friedman.,** 1994. Improvement in the Safety of Food by SH-Containing Aminoacids and peptids.A Review.J.Agric.Food Chem. 42,3-20
- [7] **Demir, F., & Özcan, M.,** 2001. Chemical and technological properties of rosa (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. Research note. Journal of Food Engineering, 47, 333–336
- [8] **Özyurt,D.,** 2005. Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen SpektrofotometrikYöntem İle Tayini, *Yüksek Lisans Tezi* , İTÜ Kimya Bölümü, İstanbul.
- [9] **Özçelik,B.,** 2000. Biberiye (*Rosmarinus Officinalis*) antioksidanlarının fındık fûresinin raf ömrünü geciktirmedeki etkinliği , *Doktora Tezi* , İ.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü , İstanbul.
- [10] **Gökçe, D.,**1998. Türkiye Kökenli Yeşil Çayın Antioksidan Kaynağı olarak değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi* , İstanbul Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [11] **Chen, H., &Tappel, A.,**1996. Protection by multiple antioxidants against lipid peroxidation in rat liver homogenates.Lipids , 31, 47-50.

- [12] **Hart, D. J., & Scott, K. J.**, 1995. Development and evaluation of an HPLC Method for analysis of carotenoids in foods, and the measurement of carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54, 101- 111.
- [13] **Ismail, A., Marjam, Z.M., & Foong, C.W.**, 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*, 87, 581-586
- [14] **Kurilich, A.C., Jeffery, E.H., Juvic, J.A., Wallig, M.A., & Klein, B.P.**, 2002. Antioksidant capacity of different broccoli (Brassica oleracea) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 5053- 5057
- [15] **Pellegrini Re. R., N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C.**, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay .*Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10), 1231-1237
- [16] **Roberts, W.G., & Gordon, M.H.**, 2003. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 1486-1493
- [17] **Murakami, M ., Yamaguchi, T., Takamura, H., & Matoba, T.**, 2003. Effects of ascorbic acid and β -tokoferol on antioxidant activity of polyphenolic compounds. *Journal of Food Science*, 68(5), 1622-1625.
- [18] **Ohr, L.M.**, 2004. Dietary antioxidants. *Food Technology*, 58 (10), 6774.
- [19] **Zhang, D., & Hamauzu, Y.**, 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88, 503-509
- [20] **Vinson, J. A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., & Jang, J.**, 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 2800-2802.
- [21] **Özyürek, M.**, 2005. Bazı İçeceklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayininde Yeni Bir Yöntem Geliştirilmesi , *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi , Kimya Bölümü, İstanbul.
- [22] **Rice-Evans, C ., Miller , N.J.**, 1994. Total antioxidants status in plasma and body fluids. *Meth. Enzymol* , 234 , 279-293.
- [23] **Miller, N.J, Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gpoinanthan, V., Milner , A.**, 1993. Anovel method for measuring antioxsidant capacity and its application to monitoring the antioxidants status in premature neonates., *Clin. Science* , 84 , 407-412.
- [24] **Apak , R., Güçlü , K., Özyürek , M., Karademir , S.E.**, 2004. Anovel tatola antioxidant capacity index for dietary polyphenols , vitamin C and E , using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method, *J. Agric. Food Chem.*, 52 , 7970-7981.

- [25] **Thitima Kuljarachanan, Sakamon Devahastin, Naphaporn Chiewchan,**
Evolution of antioxidant compounds in lime residues during
drying, *Food Chemistry* 113, 944–949, 2009.
- [26] **Özyurt, D.**, 2005. Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen
Spektrofotometrik Yöntem İle Tayini, *Yüksek Lisans Tezi* , İTÜ
Kimya Bölümü, İstanbul
- [27] **Bebbington, A.** "Toxicity of Equisetum to Horses"
- [28] **Takeshi Nagai *, Takao Myoda, Toshio Nagashima**
Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from
field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food Chemistry* 91
(2005) 389–394
- [29] **Jasna M. C anadanovic -Brunet, Gordana S. C ´etkovic´ , Sonja M. Djilas**
Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail
(*Equisetum arvense* L.) extracts *International Journal of Food*
Science and Technology 2009, 44, 269–278
- [30] **Bailey, L.H.; Bailey, E.Z.;** the staff of the Liberty Hyde Bailey Hortorium.
1976. *Hortus third: A concise dictionary of plants cultivated in the*
United States and Canada. Macmillan, New York
- [31] **Ilkay Orhan , Berrin Ozcelik , Sinem Aslan ,Murat Kartal , Taner**
Karaoglu Bilge Sener , Salih Terzioglu , M. Iqbal Choudhary
Antioxidant and antimicrobial actions of the clubmoss *Lycopodium*
clavatum L. *Phytochem Rev* (2007) 6:189–196 DOI 10.1007/s11101-
006-9053-x

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: FATİH KAR

Doğum Yeri ve Tarihi: RİZE 18.04.1987

Lisans: KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

F.Kar, D. Özyurt, B. Demirata Öztürk

Total Antioxidant Capacities of Methanol and Water Extract of the Horse Tail (*Equisetum Arvense*) Species Wildly Growing in Kütahya and Trakya.

International Congress – 8. Aegean Analytical Chemistry Days P1 28 Poster Presentation. September 16-20, 2012 Izmir - Turkey