

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ASPİR (*Carthamus tinctorius L.*) BİTKİSİNİN FENOLİK
BİLEŞİKLERİNİN VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra KUŞOĞLU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Aralık 2015

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ASPIR (*Carthamus tinctorius L.*) BİTKİSİNİN FENOLİK
BİLEŞİKLERİNİN VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra KUŞOĞLU
Y1213.040016

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Sibel Kahraman

Aralık 2015



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı Y1213.040016 numaralı öğrencisi **Esra KUŞOĞLU**'nun "ASPIR BİTKİSİNİN FENOLİK BİLEŞENLERİNİN VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 08.12.2015 tarih ve 2015/28 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından *aybiri.l.g.* ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak *kabul* edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi :29/12/2015

1)Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Sibel KAHRAMAN

.....
[Signature]

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

.....
[Signature]

3) Jüri Üyesi : Doç.Dr. Sevim TUNALI

.....
[Signature]

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) Bitkisinin Fenolik Bileşiklerinin ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyografya’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (.../.../2015)

Esra KUŞOĞLU

ÖNSÖZ

Tüm çalışma sürecim boyunca çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her türlü soruma büyük bir sabır ve titizlikle cevap veren, her türlü desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Sibel Kahraman'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarında kullandığım aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisini tedarik etmekte bana yardımcı olan Tekirdağ Önder Çiftçi Danışmanlık Derneği'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Aralık 2015

Esra KUŞOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1.GİRİŞ	1
2. SERBEST RADİKALLER	3
2.1 Serbest Radikal Kaynakları.....	4
2.1.1 Endojen serbest radikal kaynakları	5
2.1.2 Eksojen serbest radikal kaynakları.....	8
2.2 Serbest Radikal Türleri	9
2.2.1 Reaktif oksijen türleri.....	10
2.2.2 Reaktif azot türleri	10
3.ANTİOKSİDANLAR	13
4.ASPİR	17
5.MATERYAL VE METOD	19
5.1 Materyal	19
5.1.1 Aspir (<i>Carthamus tinctorius L.</i>) örnekleri	19
5.1.2 Kullanılan ekipmanlar.....	19
5.1.3 Kullanılan kimyasal çözeltiler	19
5.2 Metod	22
5.2.1 Ekstrelerin eldesi.....	22
5.2.2 Toplam fenolik bileşik tayini	23
5.2.3 Toplam flavonoid tayini.....	23
5.2.4 ABTS radikali giderme yöntemi	23
5.2.5 DPPH radikali giderme yöntemi	24
5.2.6 İndirgeyici güç tayini	24
5.2.7 Hidroksil radikali giderme yöntemi	25
5.2.8 H ₂ O ₂ giderme tayini	25
5.2.9 Süperoksit radikali giderme aktivitesinin tayini	25
6.ARAŞTIRMA BULGULARI	27
6.1 Toplam Fenolik Bileşik Tayini	27
6.2 Toplam Flavonoid Tayini.....	29
6.3 ABTS Radikali Giderme Yöntemi	30
6.4 DPPH Radikali Giderme Yöntemi	34
6.5 İndirgeyici Güç Tayini	35
6.6 Hidroksil Radikali Giderme Yöntemi	36
6.7 H ₂ O ₂ Giderme Yöntemi.....	37
6.8 Süperoksit Radikali Giderme Yöntemi	37
7.TARTIŞMA ve SONUÇ	39
KAYNAKÇA	43

ÖZGEÇMİŞ	49
-----------------------	-----------

KISALTMALAR

ABTS	:2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
BHA	:Bütillendirilmiş hidroksianisol
DPPH	:1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	:Etilendiamin tetraasetik asit
FAD	:Flavin adenin dinükleotid
FMN	:Flavin mononükleotid
GAE	:Gallik asit eşdeğeri
GSH	:İndirgenmiş glutatyon
GSSG	:Yükseltgenmiş glutatyon disülfür
NADH	:İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	:İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
PMS	:Fenazin metasülfat
PUFA	:Çoklu doymamış yağ asitleri
RNS	:Reaktif azot türleri
ROS	:Reaktif oksijen türleri
TBA	:Tiyobarbitürik asit
TCA	:Trikloroasetik asit

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 : Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri.....	3
Çizelge 2.2 : Serbest radikal kaynakları	4
Çizelge 2.3 : Bazı serbest radikal türleri (Halliwell, 1994).	9
Çizelge 3.1 : Fenolik bileşikler	13
Çizelge 6.1 : Ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri	28
Çizelge 6.2 : Ekstrelerin toplam flavonid içerikleri.....	30

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 : Serbest radikallerin oluşumu	5
Şekil 2.2 : Mitokondriyal elektron transport zinciri	6
Şekil 2.3 : Yağ asitlerinin β -oksidasyonu (Fidancı ve ark., 1999).....	7
Şekil 2.4 : Nötrofilde fagositoz sonucunda serbest radikallerin oluşumu	7
Şekil 2.5 : Nitrik oksit radikalının süperoksit ile reaksiyonu.....	11
Şekil 2.6 : Nitrik oksit sentezi.....	11
Şekil 4.1 : Aspir (<i>Carthamus tinctorius L.</i>) tohumları (Url-1)	17
Şekil 4.2 : Aspir (<i>Carthamus tinctorius L.</i>) bitkisi çiçekleri ve yaprakları (Url-2) ...	18
Şekil 6.1 : Gallik asit standart eğrisi	27
Şekil 6.2 : Kateşin standart eğrisi	29
Şekil 6.3 : Sokslet yaprak ekstraksiyonu ABTS verileri	31
Şekil 6.4 : Kaynatma yaprak ekstraksiyonu ABTS verileri.....	31
Şekil 6.5 : Çalkalama etanol yaprak ekstraksiyonu ABTS verileri	32
Şekil 6.6 : Çalkalama H ₂ O yaprak ekstraksiyonu ABTS verileri	32
Şekil 6.7 : Çiçek ekstraksiyonu ABTS verileri.....	33
Şekil 6.8 : Aspir (<i>Carthamus tinctorius L.</i>) yağı ABTS verileri.....	33
Şekil 6.9 : Troloks ABTS verileri.....	33
Şekil 6.10 : DPPH radikal inhibisyonu	34
Şekil 6.11 : Ekstrelerin indirgeyici güç verileri	35
Şekil 6.12 : Hidroksil radikali giderme % inhibisyon verileri	36
Şekil 6.13 : Ekstrelerin H ₂ O ₂ giderme % inhibisyon verileri	37
Şekil 6.14 : Ekstrelerin süperoksit radikali giderme aktiviteleri	38

ASPIR (*Carthamus tinctorius L.*) BİTKİSİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

ÖZET

Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisinin yaprak, tohum ve çiçeklerinde toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid içeriği, DPPH radikali giderme aktivitesi, ABTS radikali giderme aktivitesi, indirgeyici güç aktivitesi, hidroksil radikali giderme aktivitesi, H₂O₂ radikali giderme aktivitesi ve süperoksit radikali giderme aktivitesi tayinleri yapıldı.

Ekstrelerin toplam fenolik madde tayini sonucunda elde edilen toplam fenolik madde içeriği gallik asit ekivalanı olarak 35,33-276 mg/mL aralığında olduğu tespit edildi. En yüksek fenolik madde içeriği sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen yaprak ekstresinde saptandı.

Ekstrelerin toplam flavonoid madde içeriği de tıpkı fenolik madde içeriği gibi belirlendi. Sonuçlar kateşin ekivalanı olarak 5,16-97,41 mg/mL aralığında tespit edildi. Çiçek ekstresinin (92,9 mg/mL) ve sokslet yaprak ekstresinin (97,41 mg/mL) toplam flavonoid madde içerikleri birbirine oldukça yakın ve en yüksek bulundu.

DPPH radikali giderme aktivitesi tayininde; standart madde olarak askorbik asit ve troloks kullanıldı. Çiçek ekstresinin etkinliği %96 olarak iki standarttan da yüksek bulundu.

ABTS radikali giderme aktivitesi tayininde ise en yüksek aktiviteyi sokslet yöntemiyle elde edilen yaprak ekstresi gösterdi.

İndirgeyici güç tayinin de; sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen yaprak ekstresinin ve çiçek ekstresinin, standart olarak kullanılan α -tokoferolden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Hidroksil radikali giderme tayinin de; elde edilen ekstrelerin standartlarla karşılaştırılabilir düzeyde aktivite gösterdiği tespit edildi.

H₂O₂ giderme aktivitesi tayinin de çiçek ekstresi %20 aktivite göstermiştir.

Süperoksit radikali giderme tayinin de radikal giderme kapasitesi en yüksek olan ekstrenin çiçek ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler : Aspir, *Carthamus tinctorius L.*, Fenolik bileşik, Antioksidan

TOTAL PHENOLIC CONTENT AND RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF *CARTHAMUS TINCTORIUS L.*

ABSTRACT

Total phenolic contents, total flavonoid content, DPPH radical scavenging activities, ABTS radical scavenging activities, reducing power activity, hydroxyl radical scavenging activity, H₂O₂ scavenging activity and superoxide radical scavenging activity were assayed for Safflower's leaf, seed and petals.

Results of total phenolic measurement, obtained total phenolic content as gallic acid equivalent was detected in between 35,33-276 mg/mL. The highest phenolic content was found for soxhlet extract of leaves.

Total flavonoid content of extracts was also detected as phenolic content. The results were measured as catechin equivalent in between 5,16 – 97,41 mg/mL. The total flavonoid contents of flavonoid matter which petal extracts (92,9 mg/mL) and soxhlet leaf extracts (97,41 mg/mL), were really close to each other and have the highest value.

During the determination of DPPH radical scavenging activity, ascorbic acid and trolox were used as standard. Petal extracts activity has been found higher than other two standard.

Leaf extract which was obtained by soxhlet method, had shown the highest activity in the ABTS radical scavenging method.

It has been determined that during the determination of reductive power, petal extracts and leaf extracts which have been gathered by soxhlet extraction, had higher activity than α -tokoferol which were used as standard.

It has been determined that during the determination of Hydroxyl radical scavenging activity, the extracts which have been gathered, had the activity level which can be compared with standards.

During the H₂O₂ scavenging activities, flower extracts shown %20 activity.

During superoxide radical scavenging activity, petal extracts has shown the highest capacity on radical scavenging.

Keywords : Safflower, *Carthamus tinctorius L.*, Phenolic content, Antioxidant

1.GİRİŞ

Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisi, yalancı safran olarak da bilinen sarı, turuncu, kırmızı, krem, beyaz çiçeklere sahip, dikenli ve dikensiz türleri bulunan, tohumlarında %30-50 arasında yağ bulunduran tek yıllık bir yağlık bitkidir (Babaoğlu, 2007). Aspir yağı, oleik asit ve insanlar için esansiyel olan linoleik asidi %75'e kadar içermesi nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Konar ve ark., 2010). İnsan beslenmesinde önemli olan toplam doymamış yağ asitlerini de %90-93 oranında içermektedir. Ayçiçeğinde bu oran %86 civarındadır (İşler, 2014).

Aspir bitkisi, henüz önemi tam olarak anlaşılmamış, kıraç koşullarda dahi yetişebilen (Gilbert, 2008), ülkelerin yağ açığını kapatmada ön plana çıkması gereken, ayçiçeği yağı üretimi gerçekleştiren bir proseste hiçbir değişikliğe gidilmeden işlenebilecek bir yağlı tohum bitkisidir.

İnsan vücudunda metabolik olaylar sonucunda; süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot), peroksil (ROO^\cdot), alkoksil (RO^\cdot), semiquinon (Q^\cdot), nitrik oksit (NO) radikalleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^\cdot$) ve singlet oksijen (1O_2) (Young ve Woodside, 2001) gibi serbest radikal oluşumları gözlenmektedir. UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks reaksiyonları vb. gibi pek çok yolla serbest radikal oluşumu gözlenmektedir. Bu reaktif oksijen türlerinin; endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetersizliği, reperfüzyon hasarı, Alzheimer, diyabet, sağırılık, optik sinir dejenerasyonu, birçok ilerleyici kas hastalığına neden olduğu bilinmektedir (Wallace, 1997; Martin, 2000; Demircan ve Dıraman, 2005). Vücutta varolan antioksidan sistemler bu hastalıkların oluşumunu engellemekte ve vücudu serbest radikal oluşumuna karşı korumaktadır. Antioksidan özellik gösteren A, C, E vitaminleri, karotenoid maddeler ve fenolik bileşikler insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu bileşikler sebze ve meyvelerde oldukça yoğun miktarlarda bulunmaktadır. Aspir bitkisinin de çiçek, yaprak ve gövdesi; okside ve redükte

glutasyon, A, C, E vitaminleri ile β -karoten açısından da zengindir (Özdemir ve ark., 2011).

Aspir son dönemde pek çok araştırmaya konu olmuş, tıbbi potansiyeli oldukça yüksek, özellikle Ortadoğu ülkelerinde yaygın olarak kullanılan bir bitkidir. Laboratuvar çalışmalarıyla da desteklenen araştırmalar sonucunda aspir bitkisinin, akut istemik inme tedavisinde, kadınların regl dönemlerinde, kalp-damar rahatsızlıklarında, travma sonucu oluşan şişliklerin ve ağrıların tedavisinde, ateş düşürmede ve kabızlığa karşı başarılı olduğu kanıtlanmıştır (Ihara, 1998; Lin ve ark., 2014; İşler, 2014). Yu ve arkadaşlarının (2013), yapmış olduğu çalışmalar sonucunda aspir tohumlarının osteoporoz, romatoid artrit ve aterosjenik riski üzerine olumlu etkileri olduğu saptanmıştır. Son dönemde yapılan çalışmalar aspir bitkisinin, lignin ve flavonoidler gibi çeşitli fenolik bileşikler bakımından zengin olduğunu göstermiştir. Varolan bu bileşiklerin anti-aterojenik, antioksidan ve antimelonojenik (Roh ve ark., 2004) etki gösterdiği saptanmıştır. İşler ve arkadaşlarının (2014) yapmış olduğu çalışmalar sonucunda genetiği değiştirilmiş aspir tohumlarından insülin üretimi gerçekleştirilmiştir. Aspir çiçekleri aminoasit, mineral ve bazı vitaminler bakımından zengin olması nedeniyle özellikle Ortadoğu ülkelerinde çay olarak tüketilmektedir (Özdemir ve ark., 2011).

Bu çalışmanın amacı, aspir bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların değişik konsantrasyonlardaki fenolik ve flavonoid madde içeriklerinin ve buna bağlı olarak antioksidan kapasitelerinin farklı çözücü ve metodlarla incelenerek sunulmasıdır.

2. SERBEST RADİKALLER

Oksijen insan hayatının devamlılığı için hayati önemi sahiptir. Ancak bazı metabolik olaylar sonucunda açığa çıkan reaktif oksijen türleri vücutta varolan lipid, protein, DNA vb. biyolojik sistemlere zarar verme eğilimindedir. Sistemlere verilen bu zarar sonucunda çok çeşitli kanser türleri, bağışıklık ve sinir sisteminin zayıflaması, kalp damar rahatsızlıkları, görme problemleri gibi pek çok hastalığa sebebiyet verdiği bilinmektedir. Ancak vücudun kendini bu radikallerin zararlı etkilerinden korumak adına geliştirdiği doğal savunma sistemleri vardır (Diplock, 1998). Bu savunma sistemleri hücre içinde ve hücre dışında farklılık göstermektedir. Savunma görevini hücre içinde süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri yerine getirirken, hücre dışında E ve C vitaminleri, haptoglobin, seruloplasmin, transferrin, albümin vb. maddeler savunmadan sorumludur (Halliwell, 1991a).

Çeşitli oksidan kaynakları ve vücudun kendini korumak için geliştirdiği antioksidan savunma sistemleri Çizelge 2.1 'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri

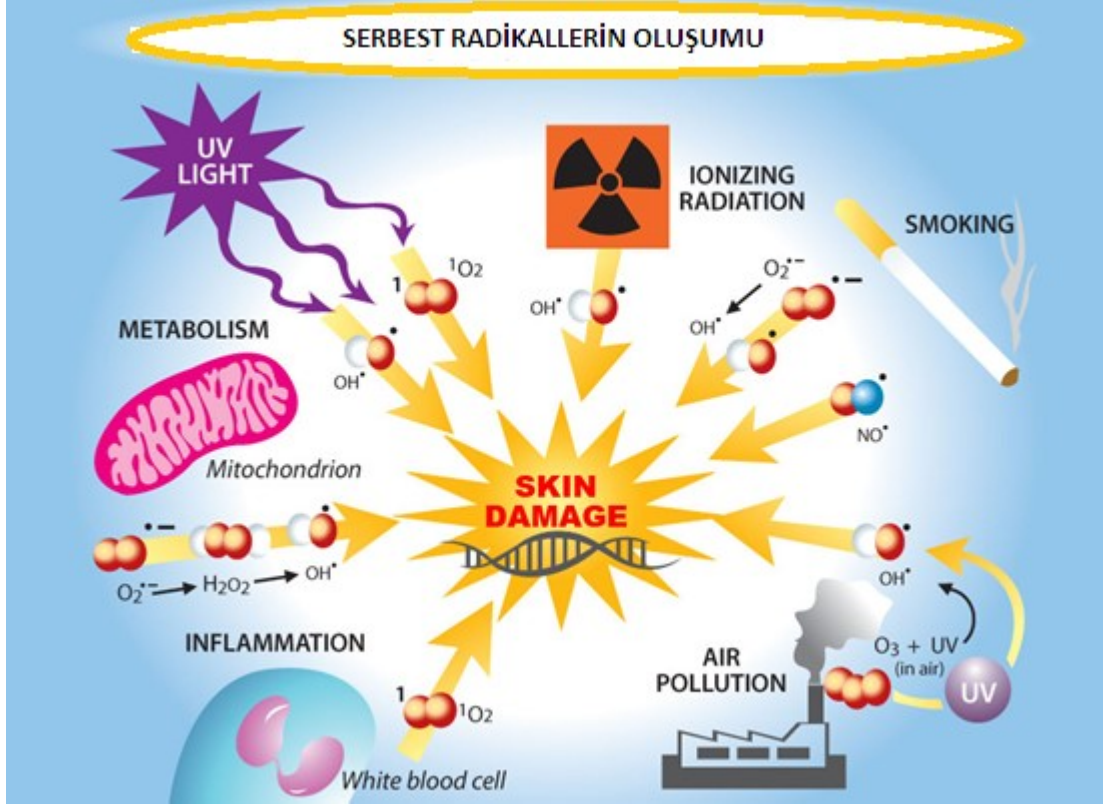
Oksidan	Antioksidan Savunma
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Egzersiz	Katalaz
Çevre kirleticileri	Glutatyon peroksidaz
Ateşli hastalıklar	Glutatyon
Radyasyon	Ubikinon
Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet	Selenyum
İskemi	Ürik asit
Karsinojenler	E vitamini
	C vitamini
	B- karoten ve diğer karotenoidler

2.1 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller; son yörüngelerinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron bulunduran, aktivitesi yüksek ve biyolojik sistemlere zarar veren moleküllerdir. Bu moleküller canlı sistemlerde normal metabolizma sırasında oluşabildiği gibi, bir takım dış etkenler nedeniyle de oluşabilir. Oldukça etkili olan serbest radikaller sistemdeki tüm bileşenleri etkileyebileceği gibi organizmada varolan yararlı moleküllerin çalışma mekanizmasını da bozabilir. Başlıca serbest radikal kaynakları Çizelge 2.2’de verilmiştir (Atukeren ve Gümüştaş, 2008).

Çizelge 2.2 : Serbest radikal kaynakları

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
-Mitokondrial elektron transport zinciri -Endoplazmik retikulum -Redoks döngüsü -Araşidonik asit metabolizması -Fagositik hücreler ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar -Ksantin Oksidaz, NADPH Oksidaz vs. enzimler -Otooksidasyon reaksiyonları	-Diyet faktörleri -Çevresel faktörler -İlaçlar, ksenobiyotikler -Zararlı ışınlar -Sigara -UV ışınları

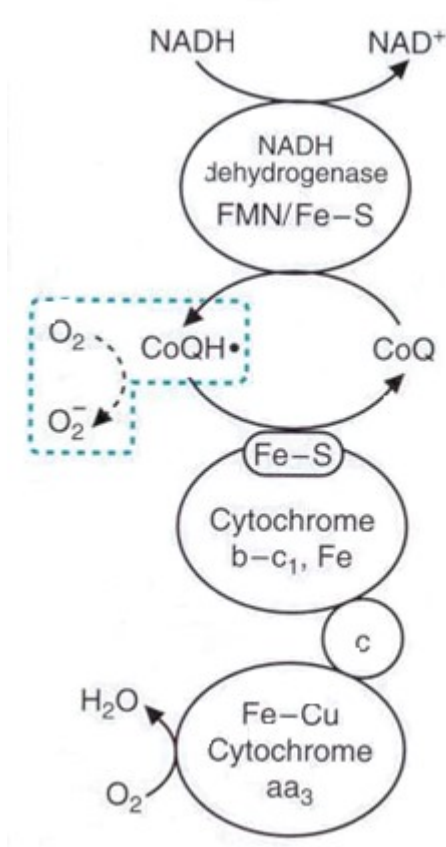


Şekil 2.1 : Serbest radikallerin oluşumu

2.1.1 Endojen serbest radikal kaynakları

Serbest radikaller oksijen varlığında oldukça hızlı reaksiyon verirler ve bu reaksiyonları başlatmak için gerekli birden fazla mekanizma mevcuttur. Bunlardan ilki otooksidasyondur. Fosfolipidlerin ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) yapısında bulunan hidrojenin ayrılmasıyla meydana gelen serbest radikalin, ortamda mevcut oksijen varlığında peroksi radikalini meydana getirerek başlattığı bir dizi radikal zincir reaksiyondan oluşur. Peroksi radikali reaksiyonun ilerlemesiyle bir başka yağ asidinden ayrılan hidrojen atomu ile birleşip reaksiyonda ilk ana ürün olan hidroperoksitleri oluşturur ve bunun yanında diğer lipid radikalleri meydana gelir. Oluşan bu radikallerde birbirleriyle etkileşip reaksiyon vererek radikal olmayan keton, aldehit, ester, eter vb. ürünleri oluşturur (Porter, 1985).

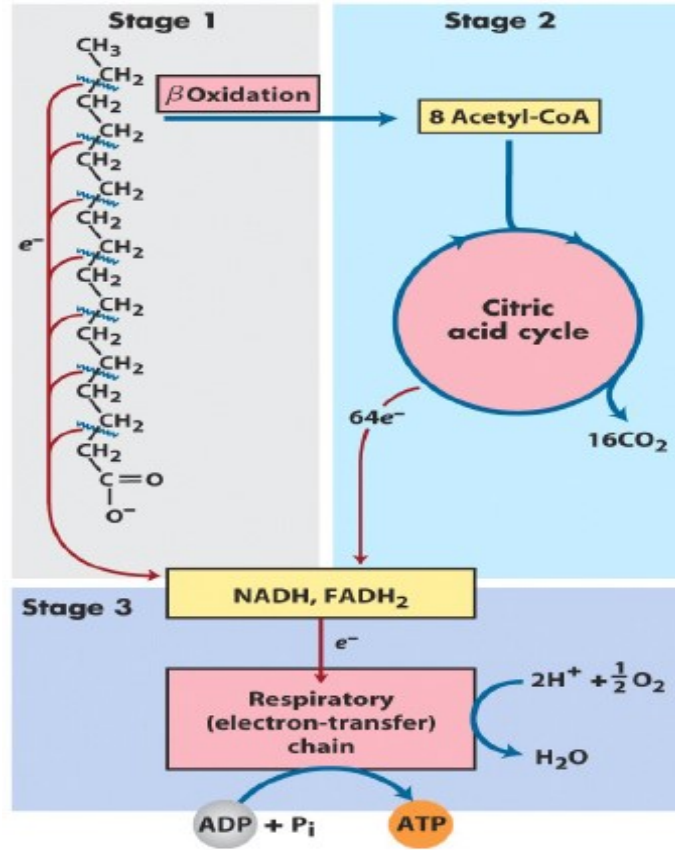
Canlı sistemlerdeki bir diğer serbest radikal kaynağı ise mitokondriyal elektron transfer zincirinde bulunan NADPH oksidaz enziminden kaynaklanmaktadır. Mitokondri aldığı oksijenin bir kısmını süperoksit anyonu üretmek için kullanır. Oksijen alımının artmasıyla mitokondri iç zarında bulunan NADPH oksidaz enzimi aktivitesini arttırarak mitokondriyal süperoksit radikal üretimini arttırır (Alessio ve Blasi, 1997).



Şekil 2.2 : Mitokondriyal elektron transport zinciri

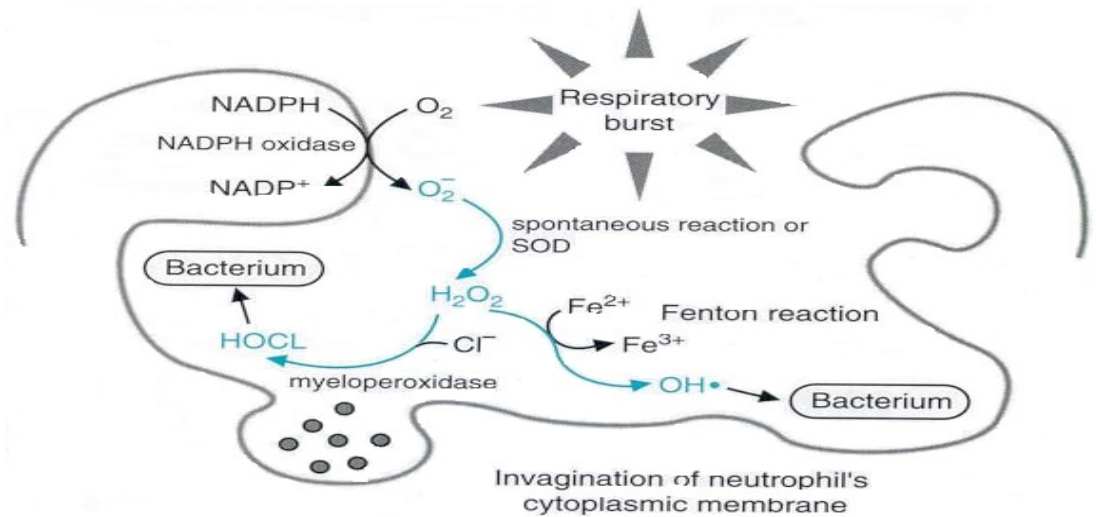
Ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda da serbest radikal oluşumları gözlenir (Tietz, 1995). Bu enzimler yapı olarak da birbirlerine benzerler ve substratlarının pek çoğu birbiriyle benzerlik gösterir.

Fagositik hücrelerin uyarılmasıyla birlikte, araşidonik asit fosfolipaz A₂ enziminin etkisiyle aktive olur ve çeşitli serbest radikal ara ürünleri oluşturur (Halliwell ve Gutteridge, 1985).



Şekil 2.3 : Yağ asitlerinin β -oksidasyonu (Fidancı ve ark., 1999)

Makrofajlar, eozinofiller ve nötrofiller gibi fagositik hücreler de oksidatif reaksiyonlara bağlı olarak serbest radikaller oluştururlar (Valenzuela, 1991).



Şekil 2.4 : Nötrofilde fagositoz sonucunda serbest radikallerin oluşumu

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemlerde elektron alış verişi ile serbest radikal oluşturma eğilimindedir (Halliwell ve Gutteridge, 1985).

2.1.2 Eksojen serbest radikal kaynakları

Bir takım yabancı toksik maddeler hücrede ya direk olarak serbest radikal oluştururlar ya da serbest radikallerle mücadele eden antioksidan aktiviteyi düşürürler.

Kirli havanın içerisinde bulunan azot dioksit gazı (NO_2^{\cdot}) gibi toksinin kendisi bir serbest radikal olabilir ve bu radikal oldukça önemli bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır.

Toksin, serbest radikal oluşumunu engelleyen antioksidan aktiviteyi de düşürür. Parasetamolün karaciğerde metabolize olarak antioksidan aktivite için önemli olan glutatyon miktarını azaltır (Halliwell ve Gutteridge, 1985).

Karbon tetraklorür (CCl_4) kuru temizlemede kullanılan bir çeşit toksik maddedir ve karaciğerde triklorometil (CCl_3^{\cdot}) serbest radikaline metabolize olur. Bu radikal de oksijen varlığında peroksil radikalini ($\text{CCl}_3\text{O}_2^{\cdot}$) meydana getirir. Bu iki radikalde oldukça etkili lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Karaciğerde biriken insan ve hayvanlar için toksik etkili olan paraquat (N'-dimetil-4,4'-bipiridinyum diklorür) bir dizi radikal zincir reaksiyonu sonucunda süperoksit radikalini ($\text{O}_2^{\cdot-}$) meydana getirir.

Satın alınan besinler de pek çok zirai kimyasal maddeleri içermekte olup bunların tüketimi de serbest radikallerin üretimine neden olur. Bu durum doktorlar tarafından yazılan ilaçlar için de geçerlidir.

İşlenmiş besinler genellikle yüksek düzeyde lipit peroksit içerirler. Lipit peroksitler, kalp-damar sistemini tahrip eden serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Sigara dumanı, alkol ve tüm elektromanyetik radyasyon türleri güçlü birer serbest radikal kaynağıdır.

Modern yaşamın getirdiği koşullar stres düzeyinin yükselmesine neden olup vücutta çok fazla miktarda serbest radikal üretimine yol açar. Bu durum vücutta bulunan toksik atık olan serbest radikallerin sayısını arttırır. Dahası, bu durum vücuttaki stres reaksiyonunu düzenleyen hormonları (kortizol ve katekolaminler) son derece tahrip edici serbest radikallere dönüştürür (Bakan, 2008).

2.2 Serbest Radikal Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) serbest radikal olarak adlandırılır. Reaktif olan bu moleküller oluşuktan sonra pek çok zincirleme reaksiyonu başlatabilirler.

Çizelge 2.3 : Bazı serbest radikal türleri (Halliwell, 1994).

Adı	Formülü	Tanımı
Hirojen atomu	H•	Serbest radikallerin en basitidir.
Süperoksit	O ₂ ^{•-}	Oksijene bir tane daha fazla elektron bağlanmasına oluşurlar.
Hidroksil	•OH	Son derece reaktiftir.
Hipoklorik asit	HOCl	Fagositik hücrelerde antibakteriyel öneme sahiptir.
Perhidroksil	HO ₂ [•]	Düşük pH ortamında süperoksit radikali kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan perhidroksil radikalini oluşturur.
Triklorometil	CCl ₃ [•]	Karbon tetraklorürün karaciğerdeki reaksiyonları sonucunda oluşur.
Alkil radikali	R [•]	Hidroksil radikali, hücredeki organik moleküllerden bir proton çıkararak karbon merkezli organik radikaller oluştururlar.
Tiyil radikali	RS [•]	Kükürt atomu üzerinde eşleşmemiş elektron bulunduran grubun genel adıdır.
Tiyil peroksit	RSO ₂ [•]	Tiyil radikali ile süperoksit radikalinin reaksiyonu sonucunda meydana gelir.
Peroksil radikali	ROO [•]	Karbon merkezli radikaller oksijen varlığında peroksil radikalini oluştururlar.
Alkoksil radikali	RO ⁻	Organik peroksitlerin yıkım reaksiyonu sonucunda bir oksijen atomunun ayrılmasıyla oluşurlar.
Sülfenil radikalleri	RSO [•]	Tiyil radikallerinin oksijenle reaksiyona girmesi sonucunda oluşur.
Nitrik oksit	NO [•]	Canlı sistemlerde L- arginin amino asidinden üretilir.
Peroksinitrit	ONOO ⁻	Süperoksit ile azot oksidan reaksiyonu sonucunda oluşur.
Azotdioksit	NO ₂ [•]	Azot oksidin oksijen ile reaksiyonu sonucunda meydana gelir.
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Aktivitesi en düşük olan radikaldir.
Singlet oksijen	¹ O ₂	Oksijen molekülünün oldukça etkili oksidatif formudur.

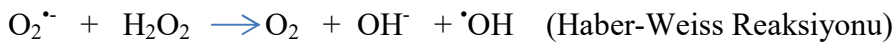
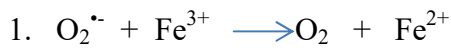
2.2.1 Reaktif oksijen türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS) oksijen varlığında oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^\bullet) ve süperoksit radikali (O_2^\bullet)'dir (Halliwell, 1994).

Süperoksit anyonu moleküler oksijenin bir elektron kazanmasıyla oluşan çok reaktif olmayan bir radikaldir. Bu radikalın önemi geçiş metallerini indirgeyebilme yeteneğinden ve hidrojen peroksit oluşturma eğiliminden kaynaklanmaktadır (Nordberg ve Arner, 2001). Buradan da anlaşılacağı gibi bu radikalının indirgeyici ve oksitleyici olmak üzere iki özelliği vardır (Akkuş, 1995).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ise; süperoksidin iki elektron kazanması ya da moleküler oksijenin diğer moleküllerden iki elektron alması neticesinde oluşan peroksit radikaline iki hidrojen atomunun bağlanmasıyla oluşur (Cheesman ve Slater, 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir fakat serbest radikal mekanizmasında önemli bir rol oynar. Hidrojen peroksit radikali geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucunda indirgenerek ya da, süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu aktivitesi oldukça yüksek olan hidroksil radikalini oluşturur (Halliwell ve ark, 2000).

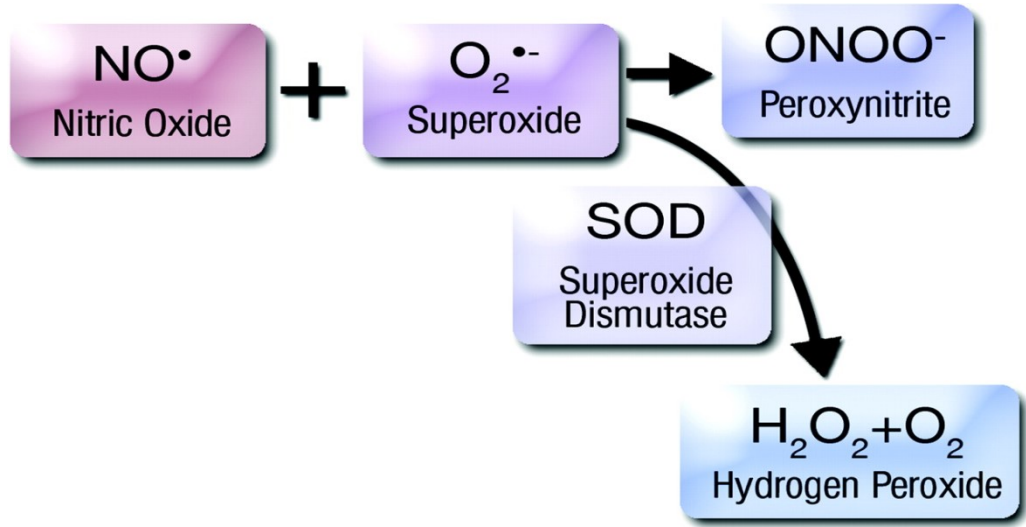


Hidroksil radikali, reaktif oksijen türleri arasındaki en güçlü oksidandır, yarılanma ömrü çok kısadır ve oldukça reaktiftir (Akkuş, 1995).

2.2.2 Reaktif azot türleri

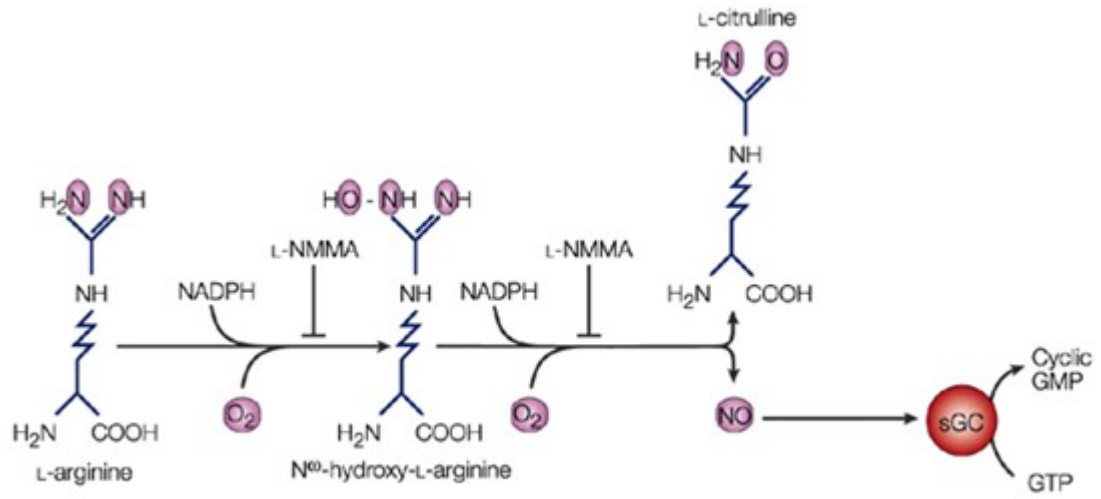
Nitrik oksit radikali (NO^\bullet), peroksinitrit radikali ($ONOO^\bullet$) ve azot dioksit radikali (NO_2^\bullet) reaktif azot türlerinin başlıcalarıdır.

Nitrik oksit radikalının süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda oluşan peroksinitrit radikali ($ONOO^-$) fizyolojik pH da hidroksil ($\bullet OH$) ve azot dioksit (NO_2^-) parçalanır (Cihaner, 2009).



Şekil 2.5 : Nitrik oksit radikalının süperoksit ile reaksiyonu

Canlı sistemler de L-arjinin amino asidinden nitrik oksit radikali oluşur ve bir dizi reaksiyon sonucunda farklı formlara dönüşebilir (Cihaner, 2009).



Şekil 2.6 : Nitrik oksit sentezi

3.ANTİOKSİDANLAR

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlarına karşı organizmayı koruyan ve oksidatif zarara uğrayan biyolojik sistemlerin kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir (Aruoma, 1998).

İnsan vücudu oksidanların zararlı etkilerine karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri tarafından korunmaktadır. Bu savunma elemanları hücre içinde ve hücre dışında farklılık göstermektedir. (Halliwell, 1991a).

Vücutta belirli bir seviyede bulunan antioksidan maddeler, belirli bir düzeye kadar serbest radikallerin artışını nötralize edebilmektedir. Yani organizma da oksidanlarla antioksidanlar arasında bir denge söz konusudur. Organizma da oksidanlar bu düzeyin üzerine çıktığında bu denge bozulur ve antioksidan sistemler bunları etkisiz hale getirmede yetersiz kalır. Bu durumda oksidanlar protein, karbonhidrat, DNA vb. biyolojik sistemlere zarar verir (Halliwell, 1991b).

Antioksidanlar canlı sistemlerde doğal olarak var olabildiği gibi gıdaların yapısında da bulunmaktadır. Gıdalarda bulunan başlıca antioksidan maddeler, fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler meyve ve sebzelerin yapısında yaygın olarak bulunup güçlü antioksidan aktivite gösterirler (Davies, 2000; Tozoğlu, 2011). Yeşil çay, çilek, ahududu, brokoli, böğürtlen gibi gıdalar antioksidan aktivitesi kanıtlanan flavonoidleri fazla miktarda içermektedir (Yağcı ve ark., 2008).

Fenolik bileşikler Çizelge 3.1’de gösterildiği gibi fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar (Cemeroğlu, 2004).

Çizelge 3.1 : Fenolik bileşikler

Fenolik Asitler	Flavonoidler
1.Hidroksi benzoik asit 2.Hidroksisinamik asit	1.Antosiyanidinler 2.Flavonollar ve Flavonlar 3.Flavanonlar 4.Kateşinler ve Löykoantosiyanidinler 5.Proantosiyanidinler

Beslenmedeki olumlu etkilerinden dolayı fenolik bileşiklere biyoflavonoidler hatta bazı kaynaklarda P faktörü veya P vitamini de denilmektedir (Saldamlı, 2007).

Antioksidanlar üzerine yapılan pek çok araştırma sonucunda fenolik bileşiklerin antienflamatuar, antialerjik, antibakteriyal, antidiyabetik, antiviral, antipatojenik etki gösterdiği saptanmıştır (MacDougall, 2002; Aras, 2006). Antioksidanların önemli bir bölümünü oluşturan fenolik bileşikler serbest radikallerin sebep olduğu çeşitli kanser türleri, kardiyovasküler sistem hastalıkları, göz hastalıkları ve Alzheimer gibi hastalıkları engellediği bilinmektedir (Pehlivan ve Güteryüz, 2004).

Antioksidanlar üzerinde yapılan pek çok farmakolojik çalışma sonucunda fenolik bileşiklerin sağlık üzerine oldukça önemli etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Hertog ve arkadaşlarının (1993) yapmış olduğu çalışmalar, vücuda alınan flavonoid miktarı arttıkça kronik arter hastalığına yakalanma riskinin azaldığını göstermiştir. Soya ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin osteoporoz, kalp rahatsızlıkları ve kanser türlerinin gelişimini engellediği çeşitli araştırmalarca raporlanmıştır (Gürsoy ve Gökçe, 2001). Araştırmalar domateste bulunan likopenin erkeklerde prostat kanseri riskini azalttığını göstermiştir (Giovannucci ve ark., 2002). Üzümde bulunan resveratrol oldukça güçlü bir antioksidan olup kanser hücrelerinin oluşumunu engellediği ve kronik kalp rahatsızlıkları riskini azalttığı yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Dong, 2003). Sert kabuklu meyvelerden özellikle cevizin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Cevizin özellikle kardiyovasküler sistem hastalıklarına karşı koruyucu etkisinin içerdiği proantosiyanidinlerin miktarından kaynaklandığı bildirilmektedir (Bakkalbaşı, 2009). Nar suyunda bulunan delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyanidinler antioksidan kapasitesini arttırarak otooksidasyona karşı hücreleri koruyucu, prostat kanseri ve kireçlemeyi önleyici, damarlar üzerindeki hasarı engelleyici, doğal tümörleri inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur (Ekşi ve Özhamamcı, 2009). Trabzon hurması, kuşburnu ve kızılıcıkta bulunan polifenol grubu bileşikler antidiyabetik ve kanser önleyici etkiye sahiptir (Koca, 2007). Koşar ve arkadaşlarının (2002) yaptığı çalışmada sumakta bulunan antosiyaninler ve proantosiyanidinler yüksek antioksidan aktivite gösterdiklerini saptamışlardır.

Önemli antioksidan kaynaklarından bir diğeri de araştırmamıza konu olan aspir bitkisidir. Aspir bitkisi tohumlarından elde edilen yağın içerisinde bulunan

doymamış yağ asitleri (%78 linoleik asit) kardiyovasküler sistem hastalıklarını önlemesi ve kandaki kolesterol seviyesini dengelemesi ve E vitamini içermesi bakımından insan beslenmesi açısından önemli bir yere sahiptir (Lizhong, 1993). Aynı familyaya mensup ayva otu bitkisi mide üşütmelerinde, soğuk algınlığı ve idrar yolu enfeksiyonlarını giderici, gengel dikenli bitkisi ateş düşürücü, romatizmal ağrıları azaltıcı, safra arttırıcı ve ağrı kesici etkilerinin olduğu, hindiba bitkisinin şeker düşürücü, mide ağrılarını ve damar sertliğini giderici etkileri olduğu yapılan araştırmalarca kanıtlanmıştır (Davis, 1965).

Doğal antioksidan kaynağı olan fenolik bileşiklerin sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle bu bileşikler üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

4.ASPİR

Latince ismi *Carthamus tinctorius L.* olan aspir bitkisi Asteraceae familyasında yer olan yağlık bir bitkidir (Baydar, 1998). Bu bitkiden elde edilen yağın yemeklik kalitesi oldukça yüksektir. Doymamış yağ asitlerinden linoleik asidi yüksek oranda içermesi ve antioksidan kapasitesinin yüksek olması nedeniyle insan beslenmesi açısından önemli bir yere sahiptir (Arslan ve ark. 1999; Öztürk ve ark., 2007).



Şekil 4.1 : Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) tohumları (Url-1)

Aspir bitkisinin çiçekleri de yağı kadar değerlidir ve pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. İçerdiği B₁, B₂, B₁₂, C ve E vitaminleri nedeniyle özellikle Orta Asya'da bitkisel çay olarak da kullanılmaktadır (Wang ve ark., 1999; Rahamatalla ve ark., 1998).

Ortadoğu ülkelerinde aspir çiçekleri renk vermek amacıyla pilav, çorba, turşu ve soslarda kullanılmaktadır. Çiçeklerinden elde edilen kartamin, doğal bir boya maddesi olarak günlük hayatta tükettiğimiz pek çok içecek, meşrubat ve makarnalar vb. ürünlerde kullanılmaktadır (Nagaraj ve ark., 2001).



Şekil 4.2 : Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisi çiçekleri ve yaprakları (Url-2)

Aspir bitkisi tıbbi potansiyeli yüksek olan bir bitkidir. Hotta ve arkadaşlarının (2002) yaptığı çalışmalar sonucunda aspir bitkisinin kadınların regl dönemlerinde, kalp damar hastalıklarında, ağrıların tedavisinde ağrı kesici ve ateş düşürücü fonksiyonu olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında yapılan pek çok klinik çalışmalar sonucunda, aspir bitkisinin kan akışını arttırıp vücuda daha fazla oksijen alımını sağlayarak yüksek tansiyonu düşürdüğü gözlemlenmiştir (Lin ve ark. 2014; Iwamoto ve ark. 2002). Afganistan ve Hindistan'da kadınların düşük yapmasını önlemek için aspir yapraklarından yapılan çay kullanılmaktadır (Kneusel ve ark. 1994)

Aspir bitkisi üzerine yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (Babaoğlu, 2007; Bayrak, 1997; Lin ve ark., 2014; Gilbert, 2008; Hotta ve ark., 2002; Ihara ve ark., 1998). Bu araştırmalar özellikle aspir bitkisinin çiçeklerini ve tohumlarından elde edilen yağı konu almaktadır (Iwamoto ve ark., 2002; Konar ve ark., 2010; Liu ve ark., 1992). Ancak bu bitkinin yaprakları üzerine yapılan çalışmalar oldukça azdır. Aspir bitkisinin yaprak, çiçek ve tohumlarını konu alan bu çalışmada daha çok aspir yaprakları üzerine eğilerek bu konudaki literatür bilgisine katkı sağlamayı amaçladık.

5.MATERYAL VE METOD

5.1 Materyal

5.1.1 Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) örnekleri

Analizlerde kullanılacak aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisi Trakya bölgesinden temin edildi. Bitkinin gelişim evresine göre ilk olarak yapraklar daha sonra çiçekler ve hasattan sonra tohumlar elde edildi. Bitkinin kısımları iyice temizlendikten sonra distile suyla yıkanarak güneşten uzak bir ortamda kurutuldu ve analizlerde kullanılmak üzere saklandı.

5.1.2 Kullanılan ekipmanlar

Yapılan çalışmada Jenway 6315 spektrofotometre kullanılan ana ekipmandır. Bunun yanında Digital Water Bath RE300DB su banyosu, Rotary Evaporator RE300, Inolab WTW serisi pH720P pH- metre, And 6R200 analitik terazi, Stuart orbital shaker SSL1 çalkalayıcı, Isopad ısıtıcı, Binder ED53 etüv ve Eppendorf ve Lamtek mikropipetler başlıca kullanılan ekipmanlardır.

5.1.3 Kullanılan kimyasal çözeltiler

7 mM ABTS çözeltisi

8 mg ABTS (Sigma- Aldrich 30931-67-0) 1 mL suda çözülür. 13,2 mg potasyum persülfat (Merck 1.05091.0250) 1 mL suda çözülür. Çözeltiler eşit hacimlerde karıştırılır ve 12-16 saat karanlıkta bekletilir.

0,1 mM DPPH çözeltisi

0,002 g DPPH (Aldrich 101274170) 100 mL metanolde balon jodede çözülür.

0,2 M Sodyum fosfat tamponu (pH= 6,6)

2,4 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06345.1000) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır. 2,84 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06586.0500) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır ve pH= 6,6 olacak şekilde karıştırılır.

%1'lik Potasyum ferrisiyanür çözeltisi

1 g $K_3[Fe(CN)_6]$ (Sigma- Aldrich 13746-66-2) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

%10'luk TCA çözeltisi

10 g trikloroasetik asit (Merck 1.00807.1000) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

%0,1'lik $FeCl_3$ çözeltisi

0,1 g $FeCl_3$ (Merck 1.03943.0250) tartılarak 100 mL'ye balon jodede tamamlanır.

0,2 M Sodyum fosfat tamponu (pH= 7,4)

2,4 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (Merck 1.06345.1000) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır. 2,84 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Merck 1.06586.0500) distile suyla 100 mL'ye tamamlanır ve pH= 7,4 olacak şekilde karıştırılır.

10 mM 2-Deoksiriboz çözeltisi

0,067 g 2-Deoksiriboz (Sigma-Aldrich 533-67-5) tartılarak distile suyla 50 mL'ye tamamlanır.

10 mM $FeSO_4$ -EDTA çözeltisi

0,14 g $FeSO_4$ (Merck 1.03965.0100) tartılıp distile suyla 50 mL'ye tamamlanır. 0,19 g EDTA (Merck 1.08421.1000) tartılıp 50 mL'ye distile suyla tamamlanır ve eşit hacimlerde karıştırılır.

10 mM H_2O_2 çözeltisi

0,085 mL H_2O_2 (Merck 1.08597.2500) otomatik pipetle çekilerek balon jodede distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

%2,8'lik TCA çözeltisi

2,8 g trikloroasetik asit (Merck 1.00807.1000) tartılarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

%1'lik TBA çözeltisi

1 g tiyobarbitürik asit (Merck 1.08180.0025) tartılarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

0,1 M Fosfat tamponu çözeltisi (pH=7,4)

4,45 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06586.0500) tartılarak 250 mL'ye distile suyla tamamlanır. 3,44 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06345.1000) tartılarak 250 mL'ye distile suyla tamamlanır ve pH= 7,4 olacak şekilde karıştırılır.

43 mM H_2O_2 çözeltisi

0,370 mL H_2O_2 (Merck 1.08597.2500) otomatik pipetle çekilerek 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

50 mM Fosfat tamponu çözeltisi (pH= 8,24)

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06586.0500) (0,89g/100mL) ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck 1.06345.1000) (0,69g/100mL) çözeltileri hazırlanıp pH= 8,24 olacak şekilde karıştırılır.

10 mM HCl çözeltisi

0,088 mL HCl (Merck 1.09057.1000) otomatik pipetle alınarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

3 mM Pirogallol çözeltisi

0,038 g pirogallol (Merck 1.00612.0050) tartılıp balon jodede distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

Folin-Ciocalteu reaktifi

Ticari olarak alınan Folin reaktifi (Merck 1.09001.0500) distile suyla 1/3 oranında seyreltilerek kullanıldı.

%2 Sodyum karbonat çözeltisi

2 g sodyum karbonat (Merck 1.06392.1000) tartılarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

%5'lik Sodyum nitrit çözeltisi

5 g sodyum nitrit (Merck 1.06544.1000) alınıp 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

%10'luk Alüminyum klorür çözeltisi

10 g alüminyum klorür (Merck 8.01081.1000) tartılarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

1 M Sodyum hidroksit çözeltisi

4 g sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich 06203) tartılıp 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

5.2 Metod

5.2.1 Ekstrelerin eldesi

Tedarik edilen aspir bitkisinin yaprak, çiçek ve tohumları distile su ile yıkayıp güneşten uzak bir ortamda kurutuldu. Kurutulan aspir yapraklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle dört farklı ekstre elde edildi. Yaprak örneklerinin her biri el değirmeninde iyice parçalandı. Ekstrelerin eldesinde sokslet ekstraksiyonu, kaynatma ve çalkalama yöntemleri kullanıldı.

Sokslet ekstraksiyonu için 10 g yaprak numunesi sokslet kartuşuna konulup sokslet aparatına yerleştirildi. 250 mL'lik ekstre toplama balonuna çözücü olarak 200 mL etil alkol konuldu ve sistem çalıştırıldı. Balonun ısıtılması sonucu buharlaşan çözücü kondenserde yoğunlaşarak kartuşun bulunduğu hazneyi doldurdu. Haznenin çözücüyle sifon kolu hizasına kadar dolmasıyla çözünen kısımda içeren çözücü balona geri toplandı. Bu işlem kesintisiz olarak 5-6 saat devam ettirildi.

Kaynatma yöntemi için 250 mL'lik balona 200 mL distile su ve içerisine 10 g örnek ilave edildi. Balon ısıtıldı ve buharlaşan su kondenserde yoğunlaştıktan sonra tekrar balona toplandı. Bu işlem kesintisiz olarak 5-6 saat devam ettirildi.

Çalkalama yöntemi için etil alkol ve distile su olmak üzere iki farklı çözücü kullanıldı. 5'er g yaprak numunesi erlenmayere konulup birinin üzerlerine 100 mL etil alkol diğerine 100 mL distile su konulup çalkalayıcıda 5-6 saatte ekstrakte edildi.

Kurutulan aspir çiçeklerinden 2,5 g numune tartıldı ve 50 mL etil alkolde çalkalama işlemiyle 5-6 saat ekstraksiyon gerçekleştirildi.

Tohumdan yağ eldesi için ise; 10 g aspir tohumu el değirmeninde parçalandı. Çözücü olarak 200 mL hekzan kullanıldı ve 5-6 saat kesintisiz devam ettirilen sokslet ekstraksiyon metoduyla yağ eldesi gerçekleştirildi.

Çözücü-ekstre karışımları rotary evaporatör yardımıyla evapore edildi ve saf ekstre elde edildi

5.2.2 Toplam fenolik bileşik tayini

Toplam fenolik bileşik tayini için Folin-Ciocalteu Yöntemi kullanıldı (Folin ve Ciocalteu, 1927). 1-2-3-4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerden 0,1'er mL tüplere alındı ve 4,5 mL olacak şekilde distile su ilave edildi. Üzerlerine 0,1 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı (distile su ile 1/3 oranında seyreltildi) ve 0,3 mL %2 sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip tüpler karıştırıldı ve 2 saat karanlıkta bekletildi. Meydana gelen mavi rengin absorbansı ekstrenin yerine distile su içeren köre karşı 760 nm'de ölçüldü (Slinkard ve Singleton, 1997).

Fenolik madde miktarı genel olarak gallik asit veya pirokateşol ekivalenti olarak ifade edilir. Bu analizin sonucunun değerlendirilmesinde gallik asit (50-250 µg/mL) standart eğrisi çizildi. Sonuçlar µg gallik asit ekivalanları/mg olarak ifade edildi.

5.2.3 Toplam flavonoid tayini

1-4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerden 0,25 mL alınıp üzerine 1,25 mL distile su ve 75 µl %5'lik sodyum nitrit ilave edilip 6 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda karışımın üzerine 150 µl %10'luk alüminyum klorür ilave edilip 5 dakika bekletildikten sonra 1 M'lık sodyum hidroksit çözeltisinden 0,5 mL ve 275 µl distile su ilave edildi. Meydana gelen rengin absorbansı 510 nm'de ölçüldü (Zhishen ve ark., 1999).

Sonuçlar kateşin (50-250 µg/mL) standart eğrisine karşı µg kateşin ekivalanları/mg olarak ifade edildi.

5.2.4 ABTS radikali giderme yöntemi

7 mM ABTS'nin distile sudaki çözeltisinden ve 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisinden 50'şer mL alınarak karıştırılıp karanlıkta 12-16 saat bekletildi. Hazırlanan ABTS radikal çözeltisinin absorbansı 734 nm'de $0,7 \pm 0,003$ olacak şekilde %96'lık etil alkol ile seyreltildi. Spektrofotometre küvetine 3'er mL bu ABTS radikal çözeltisinden konulup üzerlerine 1-2-3-4 mg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerden 20 µL, 30 µL, 50 µL, 60 µL, 80µL, 120 µL, 150 µL, 200 µL eklendi. 6 dakika boyunca 1 dakikalık aralıklarla ölçüm alındı. 0. dakikadaki absorbans değerinden (A_0) 6. dakikadaki absorbans değeri (A_1) çıkarılarak ΔA değerleri bulundu (Re ve ark., 1999).

Aşağıdaki formülden % inhibisyon değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100 \quad \text{(Denklem 1)}$$

A₀: Antioksidan madde içermeyen çözeltinin absorbanı

A₁: Antioksidan madde içeren çözeltinin absorbanı

5.2.5 DPPH radikali giderme yöntemi

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal çözeltisi 20 mg/L konsantrasyonda hazırlandı. Çözelti dayanıksız olduğundan günlük hazırlandı ve balon joje alüminyum folyoya sarılarak karanlıkta muhafaza edildi. Spektrofotometre küvetine 1,5 mL DPPH çözeltisi üzerine 0,75 mL örnekten 1-2-3-4 mg/mL konsantrasyonlarda ilave edilip 517 nm dalga boyunda 5, 10, 30 ve 60. Dakikadaki absorbanları okundu. 0. dakikadaki absorban değerinden (A₀), 60. dakikadaki absorban değeri (A₁) çıkarılarak ΔA değerleri elde edildi (Brand-William ve ark., 1995).

Aşağıdaki formüle göre % inhibisyon değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100 \quad \text{(Denklem 2)}$$

A₀: Antioksidan madde içermeyen çözeltinin absorbanı

A₁: Antioksidan madde içeren çözeltinin absorbanı

5.2.6 İndirgeyici güç tayini

İndirgeyici güç tayininde Oyaizu (1986) metodu kullanıldı. Ortamda bulunan indirgen madde Fe³⁺ iyonlarını Fe²⁺ iyonlarına indirger.

1-4 mg/mL'lik konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden 2,5 mL alınıp 2,5 mL 200 mmol/L sodyum fosfat tampon çözeltisi ve 2,5 mL %1'lik potasyum ferrisiyanür ile karıştırıldı. Bu karışım 50°C 'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübe edilen karışıma 2,5 mL %10'luk TCA eklenip 650 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst fazdan 5 mL alınıp, 5 mL distile su ve 1 mL %0,1'lik FeCl₃ ile karıştırıldı.

Absorbans 700 nm'de ayıraç körüne karşı okundu. Absorbansın yüksek olması indirgeme kapasitesinin yüksek olduğu anlamına gelir.

5.2.7 Hidroksil radikali giderme yöntemi

0,45 mL 0,2 M sodyum fosfat tamponu (pH=7,4), 0,15 mL 10 mM 2-Deoksiriboz, 0,15 mL 10 mM FeSO₄-EDTA, 0,15 mL, 10 mM hidrojen peroksit, 0,525 mL distile su ve 0,075 mL ekstre çözelti tüpün içine ilave edildikten sonra 4 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra tüplerin üzerine 0,75 mL %2,8'lik TCA ve 0,75 mL %1'lik TBA ilave edildikten sonra karışım 10 dakika kaynatıldı ve soğutuldu. Sonuçlar 520 nm'de ölçüldü (Chung, 1997).

Hidroksil radikali giderme faaliyeti aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$(\%) = ((A_0 - A_1) / A_0) \times 100 \quad \text{(Denklem 3)}$$

A₀: Antioksidan madde içermeyen çözeltinin absorbansı

A₁: Antioksidan madde içeren çözeltinin absorbansı

5.2.8 H₂O₂ giderme tayini

0,1-0,4 mg/mL konsantrasyondaki ekstrelerden 1 mL alınıp üzerine 2,4 mL 0,1 M fosfat tamponu (pH=7,4) ve 0,6 mL 43 mM H₂O₂ ilave edilip 40 dakika karanlıkta bekletildi. Meydana gelen rengin absorbansı 1 mL örneğe 3 mL fosfat tamponu ilave edilen köre (A₀) karşı 230 nm'de okundu (Ruch ve ark., 1989).

Sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme} = (A_0 - A / A_0) \times 100 \quad \text{(Denklem 4)}$$

A₀: Antioksidan madde içermeyen çözeltinin absorbansı

A: Antioksidan madde içeren çözeltinin absorbansı

5.2.9 Süperoksit radikali giderme aktivitesinin tayini

0,1-0,4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden 0,3 mL alınıp üzerine pH'sı 8,24'e ayarlanan 50 mM fosfat tamponundan 2,61 mL ve 10 mM HCl'de çözülmüş 3 mM pirogallol çözeltisinden 90 µl eklendi. 10 dk sonra meydana gelen rengin absorbansı 325 nm'de ölçüldü. Başlangıç absorbansı A₀ 10. dakikadaki absorbans A₁ olarak ifade edildi (Nishimiki ve ark.,1972).

Sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\text{Süperoksit radikali giderme } \% = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100 \quad \text{(Denklem 5)}$$

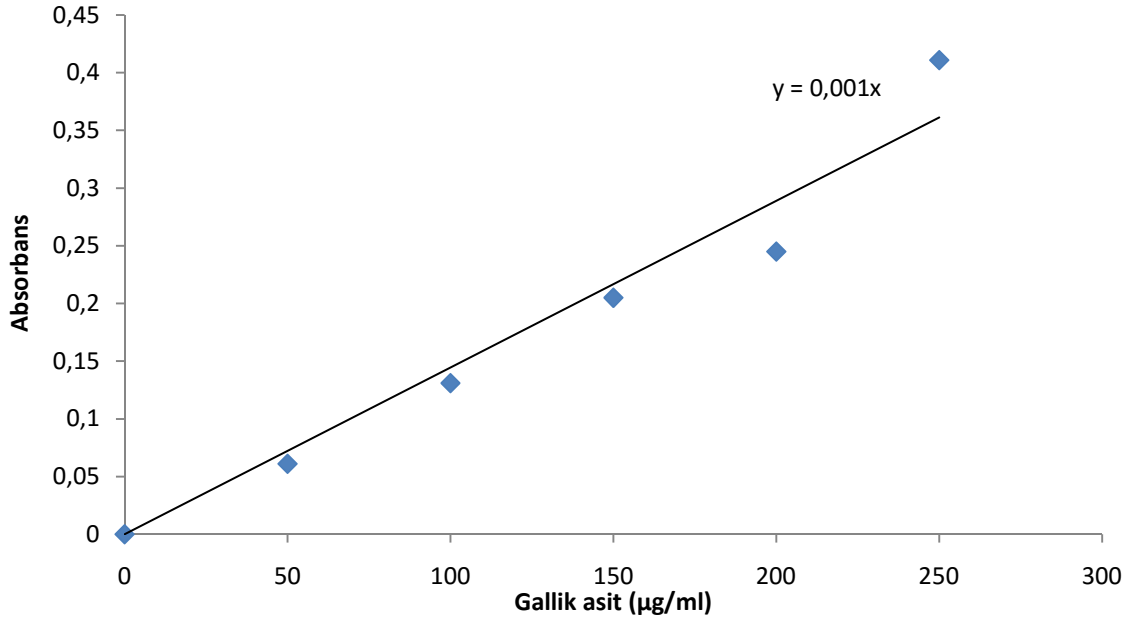
6.ARAŞTIRMA BULGULARI

Aspir bitkisinin yaprak, çiçek ve tohumundan elde edilen ekstreler sokslet, çalkalama ve kaynatma yöntemleriyle elde edilmiştir. Bu ekstrelerin antioksidan içerikleri farklı yöntemlerle desteklenerek sunulmuştur.

6.1 Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Aspir bitkisinden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri tayin edilmiştir. Sonuçlar gallik asit standart eğrisine göre μg gallik asit ekivaleni/mg ekstre (μg GAE/mg ekstrakt) şeklinde ifade edildi. (Şekil 6.1) Gallik asit standart eğrisinden elde edilen formüle göre sonuçlar hesaplandı. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

Absorbans=0,0014 (Gallik asit)



Şekil 6.1 : Gallik asit standart eğrisi

Ekstreler 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri gallik asit standart eğrisine göre 35,33-276 μg gallik asit ekivaleni/mg arasında olduğu tespit edildi. Tüm ekstrelerin toplam

fenolik madde içeriklerinin sonuçları Çizelge 6.1 'de verildiği şekilde belirlendi. Bu veriler ışığında en yüksek verim sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen yaprak ekstrelerinden; en düşük verim ise sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen yağdan sağlanmıştır.

Çizelge 6.1 : Ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri

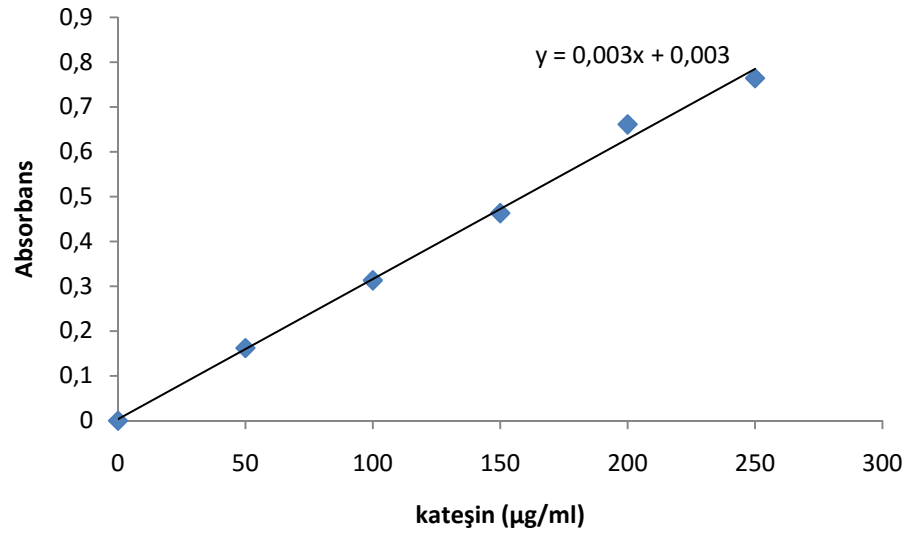
Ekstreler	Konsantrasyon (mg/mL)	µg GAE/mg ekstre
Sokslet yaprak	1	64,67 ± 1,94
	2	154 ± 1,8
	3	246,67 ± 1,87
	4	276 ± 2,05
Çiçek	1	82,67 ± 1,71
	2	111,33 ± 1,88
	3	188,67 ± 1,65
	4	244,67 ± 1,79
Kaynatma yaprak	1	40,67 ± 1,73
	2	135,33 ± 1,77
	3	208,67 ± 1,66
	4	258,67 ± 1,63
Çalkalama Etil Alkol Yaprak	1	35,33 ± 1,47
	2	92,67 ± 1,64
	3	156 ± 1,81
	4	180 ± 1,54
Çalkalama Su Yaprak	1	58,67 ± 1,59
	2	82 ± 1,64
	3	114 ± 1,83
	4	193,33 ± 1,59
Yağ	1	46,67 ± 1,61
	2	71,33 ± 1,48
	3	80,67 ± 1,53
	4	95,33 ± 1,71

Elde edilen verilere göre en yüksek toplam fenolik madde içeriği sokslet yaprak ekstresinin 4 mg/mL konsantrasyonunda 276 µg GAE/mg ekstre olarak; en düşük toplam fenolik madde içeriği çalkalama etil alkol yaprak ekstresinin 1 mg/mL konsantrasyonunda 35,33 µg GAE/mg ekstre olarak belirlenmiştir.

6.2 Toplam Flavonoid Tayini

Aspir bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin flavonoid içerikleri hazırlanan kateşin standart eğrisine göre belirlendi. Hazırlanan kateşin standart eğrisine göre ekstrelerin toplam flavonoid içeriği μg kateşin/mg ekstre ekivaleni şeklinde hesaplandı (Şekil 6.2). Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Absorbans} = 0,0031(\text{Kateşin}) + 0,0033$$



Şekil 6.2 : Kateşin standart eğrisi

Ekstreler 1-4 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır. Ekstrelerin toplam flavonoid madde içerikleri kateşin standart eğrisine göre μg kateşin ekivaleni/mg arasında olduğu tespit edildi. Tüm ekstrelerin toplam flavonoid madde içeriklerinin sonuçları Çizelge 6.2 'de verilmiştir. Fenolik maddelerin bir alt grubunu oluşturan flavonoid maddelerde de en yüksek verim sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen yaprak ekstresinde; en düşük verim ise yine aynı yöntemle elde edilen yağda saptanmıştır.

Çizelge 6.2 : Ekstrelerin toplam flavonid içerikleri

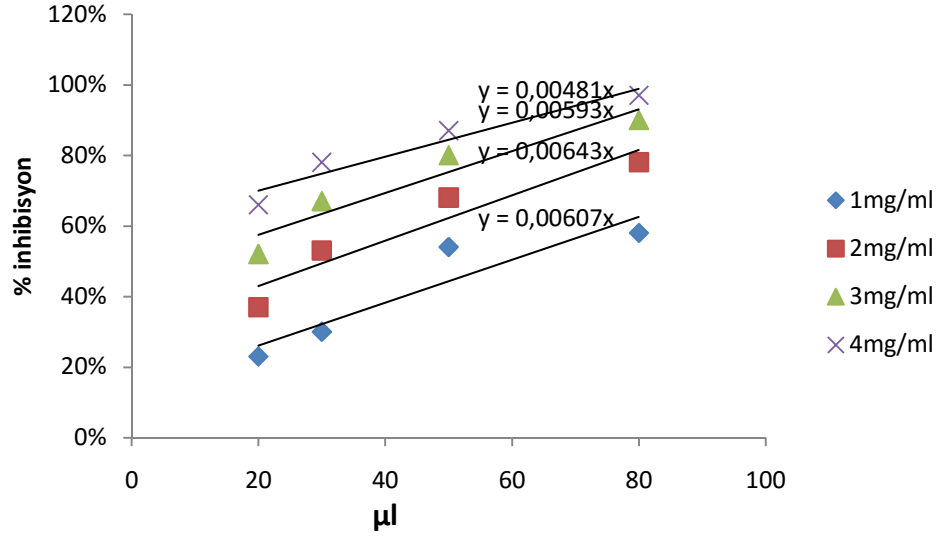
Ekstreler	Konsantrasyon (mg/mL)	µg kateşin/mg ekstre
Sokslet yaprak	1	29,35 ± 2,31
	2	47,09 ± 2,16
	3	70,96 ± 2,42
	4	97,41 ± 2,13
Çiçek	1	33,87 ± 2,24
	2	46,45 ± 2,56
	3	72,25 ± 2,46
	4	92,9 ± 2,35
Kaynatma	1	19,35 ± 2,48
	2	37,75 ± 2,37
	3	66,45 ± 2,52
	4	90,32 ± 2,36
Çalkalama Etil Alkol Yaprak	1	6,45 ± 2,26
	2	24,51 ± 2,23
	3	33,87 ± 2,46
	4	48,06 ± 2,39
Çalkalama Su Yaprak	1	8,7 ± 2,3
	2	27,09 ± 2,45
	3	30,96 ± 2,58
	4	61,93 ± 2,11
Yağ	1	5,16 ± 2,42
	2	20,9 ± 2,16
	3	30,6 ± 2,33
	4	40,9 ± 2,19

Elde edilen verilere göre en yüksek toplam flavonoid madde içeriği sokslet yaprak ekstresinin 4 mg/mL konsantrasyonunda 97,41 µg kateşin/mg ekstre olarak; en düşük toplam fenolik madde içeriği çalkalama su yaprak ekstresinin 1 mg/mL konsantrasyonunda 8,7 µg kateşin/mg ekstre olarak belirlenmiştir.

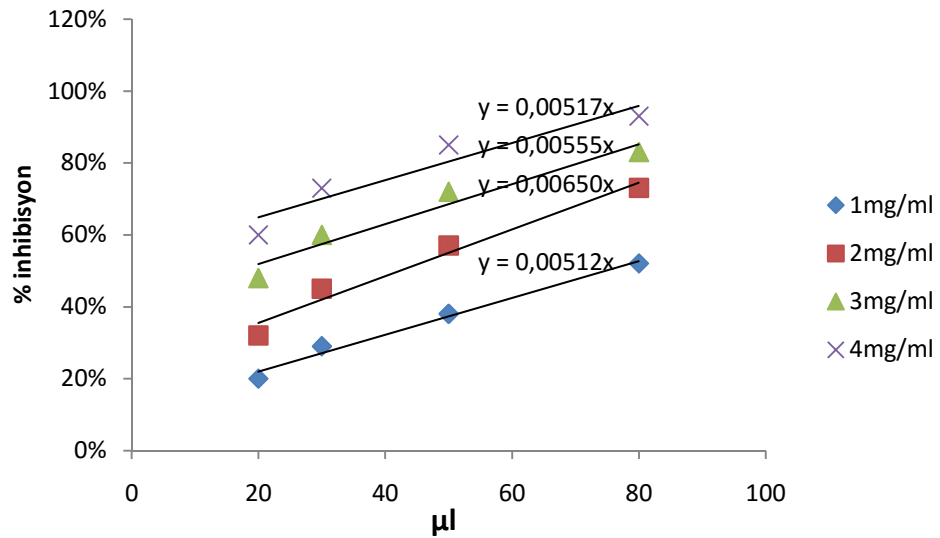
6.3 ABTS Radikali Giderme Yöntemi

Gıdaların antioksidan içeriklerini belirlemede çok farklı yöntemler vardır. Bu yöntemler, antioksidanların radikallerle etkileşimlerine bağlı olarak elektron veya hidrojen atomu transferine göre iki grupta ele alınır. ABTS persülfat yöntemi elektron transferine dayalı bir antioksidan belirleme yöntemidir (Bakan ve Ekşi, 2011).

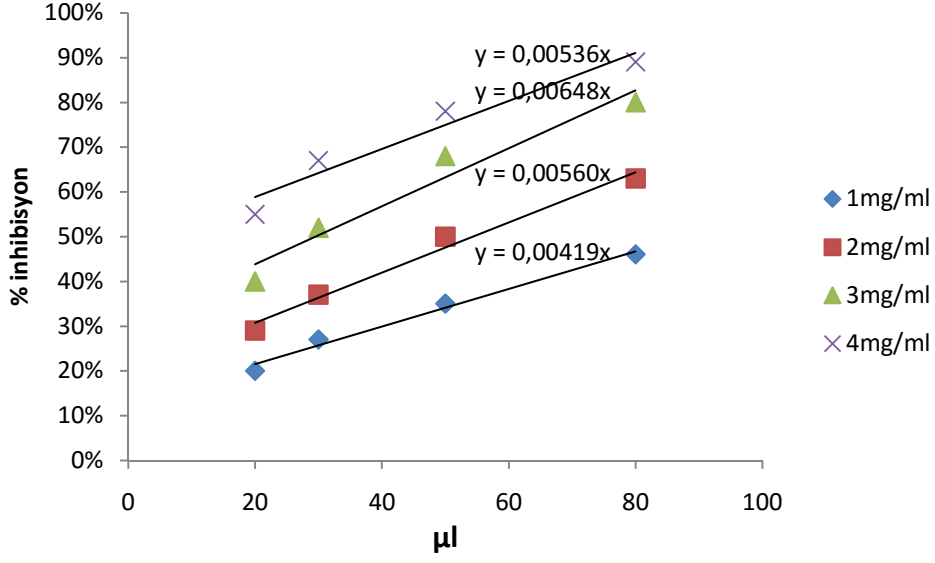
ABTS persülfat yöntemi için ekstreler 1-4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Hazırlanmış olan bu konsantrasyonlardan ABTS radikal çözeltisine yaprak ekstreleri için 20-30-50-80 µg/mL, çiçek ekstresi için 50-120-150 µg/mL yağ ekstresi için 120-150-200 µg/mL eklendi. Bu veriler ışığında elde edilen sonuçlar göre; ABTS radikal çözeltisine eklenen ekstrelerin µg/mL 'sine karşılık elde edilen yüzdelere göre her bir ekstre için grafikler çizildi.



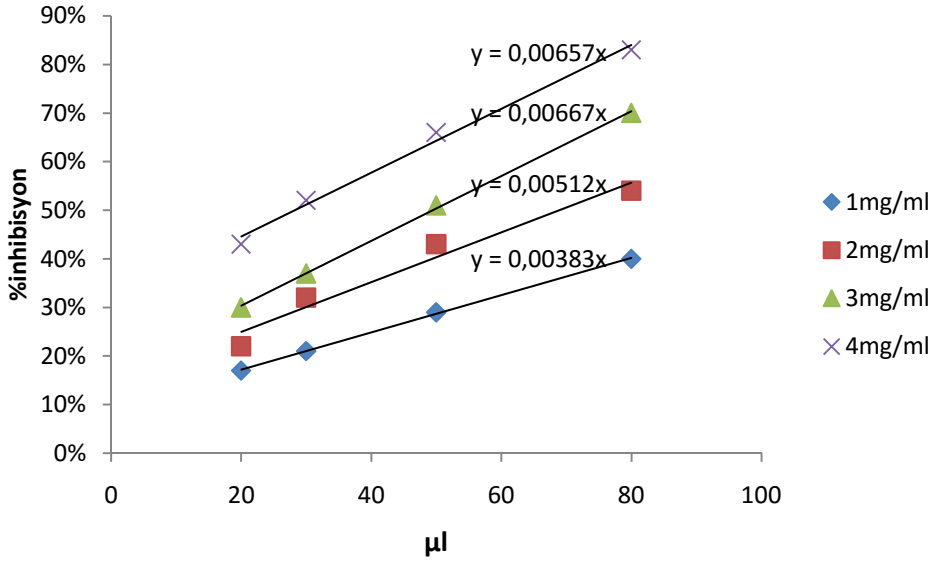
Şekil 6.3 : Sokslet yaprak ekstresi ABTS verileri



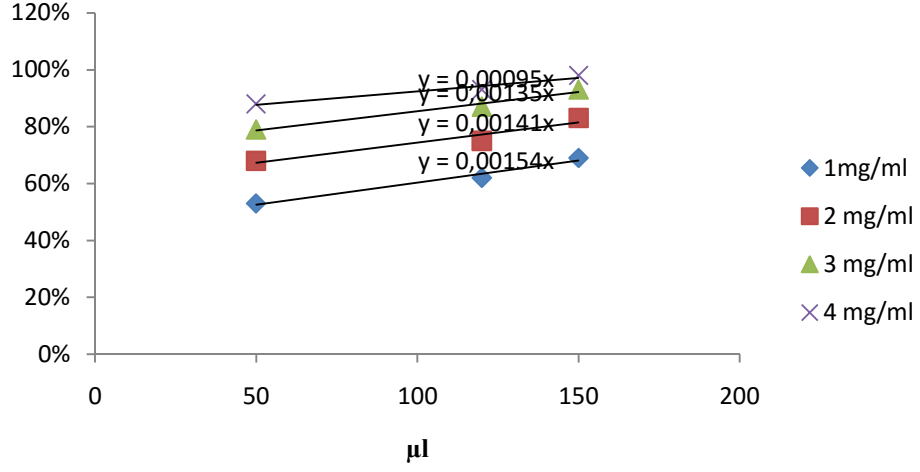
Şekil 6.4 : Kaynatma yaprak ekstresi ABTS verileri



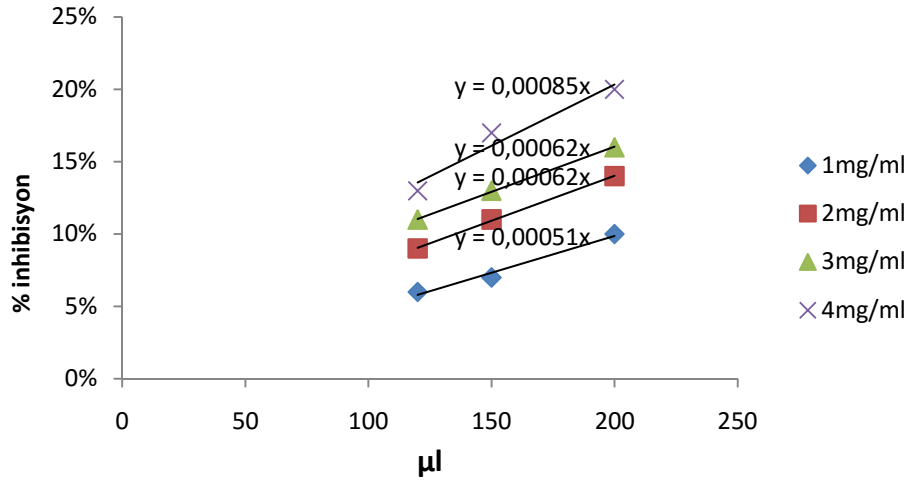
Şekil 6.5 : Çalkalama etanol yaprak ekstresi ABTS verileri



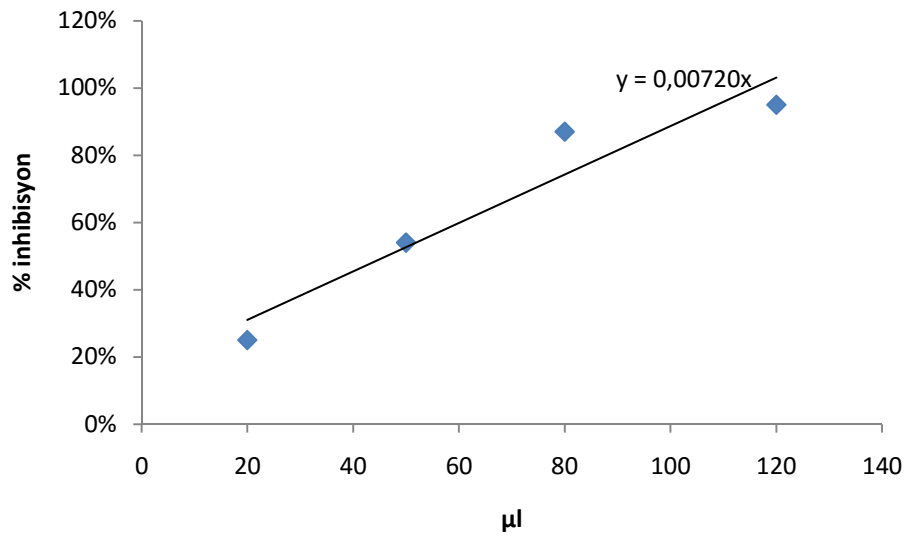
Şekil 6.6 : Çalkalama H₂O yaprak ekstresi ABTS verileri



Şekil 6.7 : Çiçek ekstresi ABTS verileri



Şekil 6.8 : Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) yağı ABTS verileri



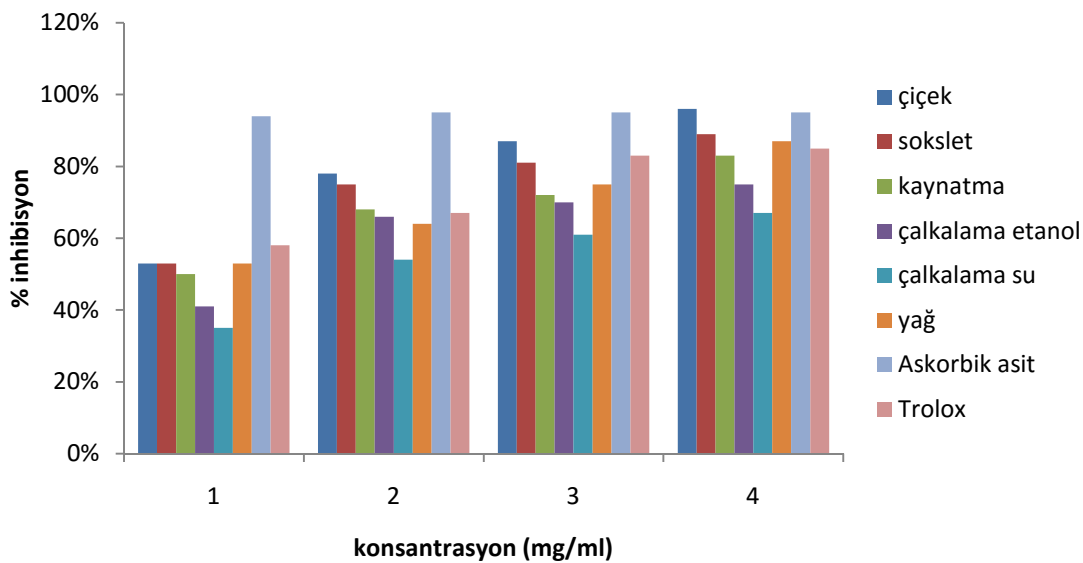
Şekil 6.9 : Troloks ABTS verileri

Grafikler incelendiğinde görülüyor ki; ABTS yöntemine göre antioksidan kapasitesi en yüksek olan sokslet ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen yaprak ekstresine; antioksidan kapasitesi en düşük olan ise çalkalama H₂O metoduyla elde edilen yaprak ekstresine aittir. Standart olarak troloks kullanıldı. Ekstrelerin ve standartın 1 mg/mL'sinin 50µg' sinin antioksidan kapasiteleri sıralanacak olursa; sokslet yaprak (%54) = troloks (%54) >çiçek (%53) >kaynatma yaprak (%38) >çalkalama yaprak (%35) > çalkalama H₂O (%29) > yağ şeklinde olduğu görülür. Grafik denklemleri de incelendiğinde en yüksek reaksiyon hızının sokslet yaprak ekstresinde, en düşük reaksiyon hızının ise yağ ekstresinde olduğu görülmektedir. Ayrıca çalkalama H₂O₂ yaprak ekstresi artan konsantrasyonla birlikte reaksiyon hızının da arttığını göstermektedir.

6.4 DPPH Radikali Giderme Yöntemi

DPPH tayini ile antioksidan kapasitesi kısa zamanda belirlenir. Bu yöntemde de ABTS metodunda olduğu gibi ekstrelerin hidrojen atomu verme eğiliminden yararlanılmaktadır (Chen ve Ho, 1997; Wang ve ark., 1998).

DPPH tayininde ekstreler 1-4 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Standart madde olarak askorbik asit ve troloks kullanıldı. Ekstrelerin, DPPH radikali giderme aktivite sonuçlarına ait konsantrasyon (mg/mL) - % inhibisyon grafikleri çizildi (Şekil 6.10).



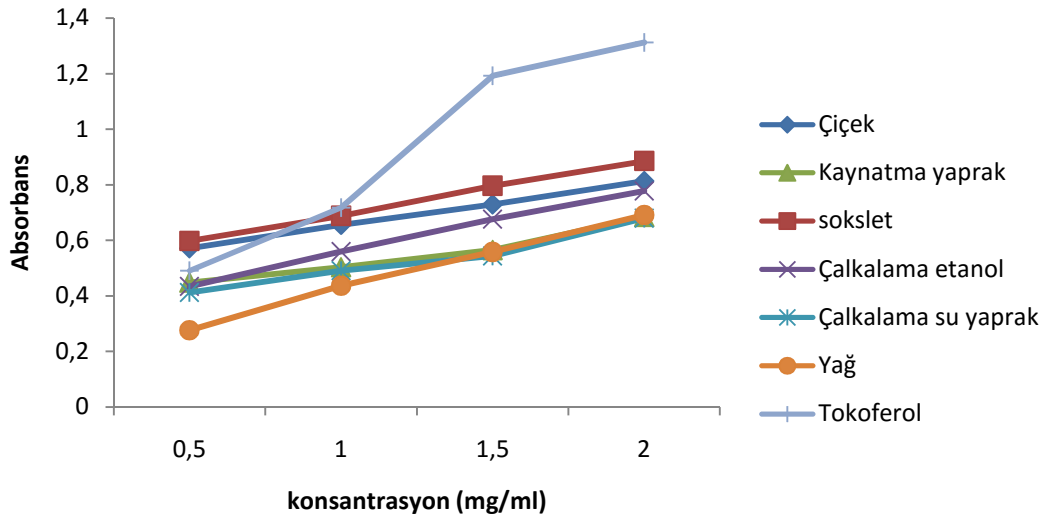
Şekil 6.10 : DPPH radikal inhibisyonu

Grafikte de görüldüğü gibi ekstrelerin konsantrasyonları arttığında % inhibisyonları da artmıştır. 4 mg/mL konsantrasyonda ekstrelerle standartların inhibisyonları karşılaştırıldığında sıralamanın; çiçek (%96) > askorbik asit (%95) > sokslet yaprak (%89) > yağ (%87) > kaynatma (%83) = troloks (%83) > çalkalama etanol (%75) > çalkalama H₂O şeklinde olduğu görülmektedir.

6.5 İndirgeyici Güç Tayini

Düşük pH ortamında, Fe⁺³'ün Fe⁺²'ye indirgenmesi sonucunda renkli ferrous-tripirydyltriazine kompleksi oluşur ve bu demir tuzu oksidan olarak kullanılır (Benzie, 1996). Asidik ortamda antioksidanların varlığıyla demir tuzu kompleksi Fe⁺²'ye indirgenir ve 595 nm'de bu renkli çözelti absorbans artışına neden olur (Perez, 2006). Sonuçları değerlendirmede tokoferolden yararlanıldı.

İndirgeyici güç tayinin de ekstreler 0,5-2 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Ekstrelerin demir iyonu indirgeyici antioksidan güç verileri Şekil 6.11 'da verilmiştir.



Şekil 6.11 : Ekstrelerin indirgeyici güç verileri

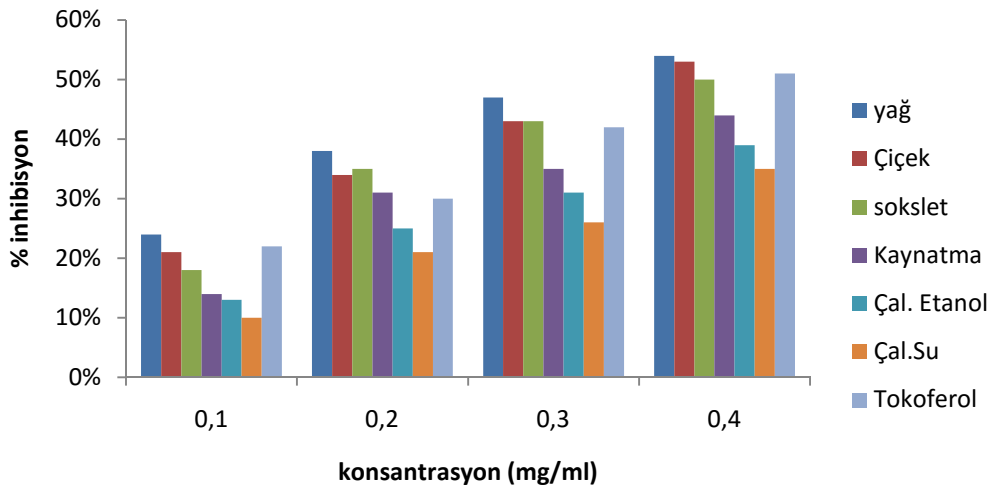
Grafikten de anlaşılacağı gibi ekstrelerin konsantrasyonlarının artmasıyla absorbans değerleri yani antioksidan içerikleri artmıştır. Tokoferolün absorbans değeri 0,5 ve 1 mg/mL konsantrasyonda, sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrinin ve çiçek ekstrisinin absorbans değerinden düşüktür; 1,5-2 mg/mL konsantrasyonda tüm ekstrelerin absorbansından daha yüksektir. 0,5 mg/mL konsantrasyon da tüm ekstrelerin absorbans değerleri sıralanacak olursa; sokslet yaprak ekstresi (0,598) >

çiçek ekstresi (0,571) > kaynatma yaprak ekstresi (0,448) > çalkalama etanol yaprak ekstresi (0,434) > çalkalama su yaprak ekstresi (0,412) > yağ (0,276). Standart olarak kullanılan tokoferolün absorbansı ise 0,5 mg/mL’de 0,491 olarak ölçülmüştür.

6.6 Hidroksil Radikali Giderme Yöntemi

Hidroksil radikali büyük oranda Fenton reaksiyonu ile oluşup, Fe^{+2} / H_2O_2 sistemiyle üretilip, antioksidanın hidroksil radikalini ne ölçüde giderebildiği ölçülür (Becker ve ark., 2004).

Hidroksil radikali giderme yöntemi için hazırlanan ekstrelerin konsantrasyon aralığı 0,1-0,4 mg/mL’dir. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlarının hidroksil radikali giderme yöntemine göre hesaplanmış % inhibisyonları Şekil 6.12’de verildiği gibidir.

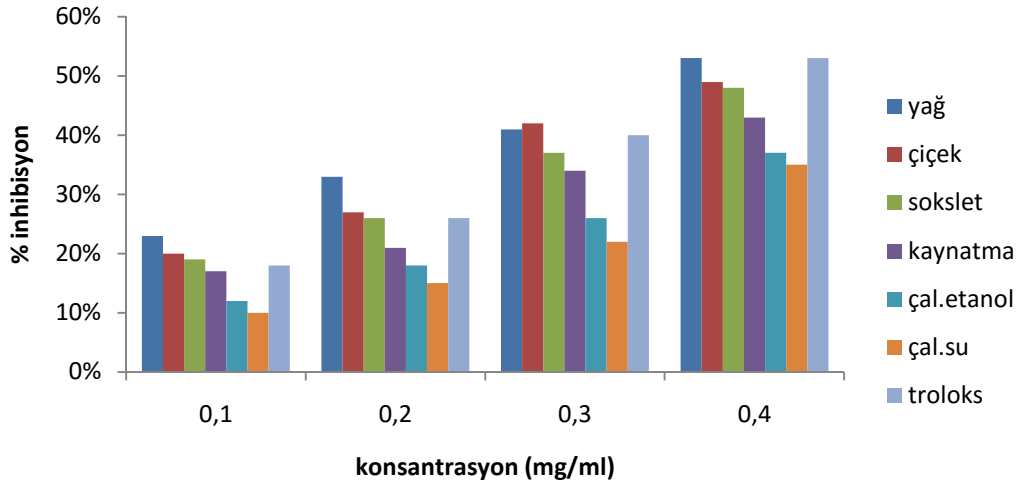


Şekil 6.12 : Hidroksil radikali giderme % inhibisyon verileri

Grafikten de anlaşılacağı üzere ekstrelerin konsantrasyonunun artmasıyla % inhibisyon da artmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde tokoferol standart olarak kullanılmıştır. 0,1 mg/mL konsantrasyon da ekstrelerin % inhibisyonu kıyaslandığında da sıralama yağ ekstresi (%24) > tokoferol (%22) > çiçek ekstresi (%21) > sokslet yaprak ekstresi (%18) > kaynatma yaprak ekstresi (%14) > çalkalama etanol yaprak ekstresi (%13) > çalkalama su yaprak ekstresi (%10) şeklinde olduğu görülmektedir.

6.7 H₂O₂ Giderme Yöntemi

Ekstrelerin H₂O₂ giderme kapasiteleri hazırlanan 0,1-0,4 mg/mL konsantrasyon aralığında hesaplanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde standart olarak troloks kullanılmıştır. Ekstrelerin H₂O₂ giderme % inhibisyonları Şekil 6.13'de verildiği gibidir.

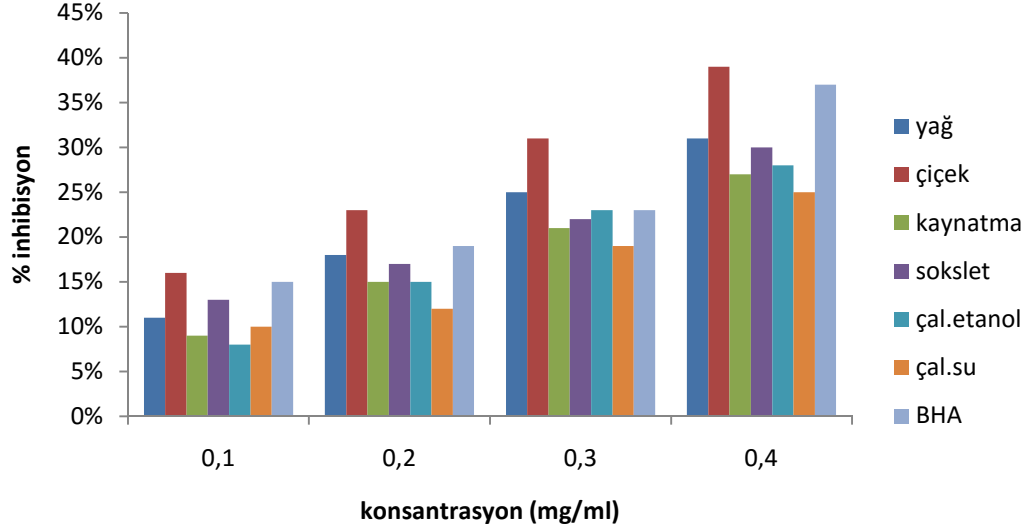


Şekil 6.13 : Ekstrelerin H₂O₂ giderme % inhibisyon verileri

Ekstrelerin % inhibisyon verilerine bakıldığında en yüksek aktiviteyi yağ ekstresinin en düşük aktiviteyi ise çalkalama su yaprak ekstresinin gösterdiği belirlenmiştir. 0,1 mg/mL konsantrasyon da ekstrelerin H₂O₂ giderme kapasiteleri kıyaslandığında sıralamanın; yağ (%23) > çiçek (%20) > sokslet yaprak ekstresi (%19) > troloks (%20) > kaynatma yaprak ekstresi (%17) > çalkalama etanol yaprak ekstresi (%12) > çalkalama su yaprak ekstresi (%10) şeklinde olduğu görülmektedir.

6.8 Süperoksit Radikali Giderme Yöntemi

Süperoksit radikali giderme tayini için elde edilen ekstrelerin in vitro koşullarda PMS/NADH/O₂ sisteminde süperoksit radikali oluşturuldu ve ekstrelerin bu radikali etkisizleştirebilme kapasiteleri belirlendi. Yapılan analizde sonuçları kıyas amacıyla standart olarak BHA kullanıldı. Tüm ekstrelerin süperoksit radikali giderme kapasitesini gösteren konsantrasyon - % inhibisyon grafiği çizildi. (Şekil 6.14)



Şekil 6.14 : Ekstrelerin süperoksit radikali giderme aktiviteleri

Ekstrelerin süperoksit radikali giderme kapasitelerine bakıldığında çiçek ekstresinin en yüksek kapasiteye sahip olduğu gözlenirken, en düşük aktiviteye sahip ekstrenin çalkalama etanol yaprak ekstresi olduğu belirlendi. 0,1 mg/mL konsantrasyonda ekstrelerin süperoksit radikali giderme kapasiteleri sıralanacak olursa; çiçek ekstresi (%16) > BHA (%15) > sokslet ekstresi (%13) > yağ ekstresi (%11) > çalkalama su yaprak ekstresi (%10) > kaynatma yaprak ekstresi (%9) > çalkalama etanol yaprak ekstresi (%8) şeklinde olduğu görülmektedir.

7.TARTIŞMA ve SONUÇ

Aspir bitkisiyle ilgili incelenen literatürlerde, bitkinin çiçek ve tohum kısmıyla ilgili pek çok araştırmaya rastlanırken yaprak kısmı üzerine yapılan çalışmaların yetersiz olduğu görülmüştür. Bu nedenle yapılan bu çalışmada aspir bitkisinin yaprak kısımları üzerine eğilerek bu konudaki literatür bilgisinin güçlendirilmesi amaç edinildi.

Antioksidanlar gıda endüstrisinde lipid oksidasyonunu engellemek veya azaltmak, toksik oksidasyon ürünlerinin oluşmasını engellemek, besinsel kalitenin devamlılığını sağlamak ve gıdanın raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılırlar (Finley ve Given, 1986). Gıda endüstrisinde bu sebeple; yağlarda ve yağca zengin gıdalarda bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), propil galatlar (PG) vb. pek çok sentetik antioksidan kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanlar üzerine yapılan çalışmalarda bu antioksidanların toksisitesi ve karsinojenik özellikleri olduğu öngörülmektedir. Ayrıca günümüzde insanların beslenme konusunda bilinçlenmesiyle birlikte sentetik ürünlere şüpheyile bakılır olmuş ve doğal ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Bu bağlamda araştırmacılar sentetik antioksidanların yerine geçebilecek doğal antioksidanlar üzerinde araştırmalarını yoğunlaştırmışlardır. Bu sebeple bitkisel kaynaklar üzerinde çalışmalar artmış olmakla birlikte bu kaynaklardan elde edilebilecek doğal antioksidanların sentetik antioksidanlar yerine gıdalara ilave edilmesi hedeflenmektedir. Çağın hastalığı olan kanser ve beslenme arasındaki ilişki göz önüne alındığında, antioksidan aktiviteye sahip bitkisel kaynakların direk tüketimi veya bunlardan elde edilen ekstrelerin gıda maddelerinde koruyucu olarak kullanımı önem kazanmaktadır (Akagün, 2009).

Yapılan bu çalışmada aspir (bitkisinin farklı kısımlarından farklı çözücü ve yöntemlerle ekstreler elde edilmiştir. Elde edilen deneysel veriler ışığında bu ekstrelerin fenolik madde içerikleri ve antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında veriler birbiriyle tutarlı ve karşılaştırılabilir bulunmuştur.

Aspir yağıyla ilgili Bayrak'ın (1997) yaptığı çalışmada aspir tohumlarındaki yağ oranı %36,02 olarak bulunmuş olup oleik asit miktarı %23,98, linoleik asit miktarı %65,80, protein miktarı %11,71, kül miktarı 3,99, selüloz miktarı %16,00, rutubet oranı %8,80 olarak bulunmuştur. Bayraktar ve arkadaşlarının (1995) yaptığı çalışmada ayçiçek yağının oleik asit miktarı %5,44 ve linoleik asit miktarı %41,99 olarak bulunmuştur. Linoleik asit esansiyel bir yağ asididir ve insan beslenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu açıdan bakıldığında aspir yağı ayçiçek yağına göre daha kıymetlidir. Yu ve arkadaşlarının (2013) aspir tohumları üzerine yaptığı çalışmalarda toplam fenolik madde içeriği $126,0 \pm 2,4$ mg GAE/g flavonoid madde içeriği ise $62,2 \pm 1,9$ mg QE/g olarak tespit edilmiştir. Lim ve arkadaşlarının (2007) aspir çiçeklerinde yaptığı ABTS radikali giderme aktivitesi tayini sonucu troloks ekivalanı absorbans değeri EC_{50} olarak $14,4 \pm 0,22$ μ M olarak bulunmuştur.

Özdemir ve arkadaşlarının (2011) yaptığı bir araştırmada aspir bitkisinin yaprak, gövde ve çiçekleri incelenmiş ve sonucunda okside ve redükte glutasyon, A, C, E vitaminleri ve β -karoten açısından zengin bulunmuştur. Aspir bitkisinin yapraklarında C vitamini hariç, tüm parametreler diğer kısımlardan yüksek bulunmuş olup, GSH $1203,37$ μ g/g, GSSG $358,23$ μ g/g, A vitamini $5,59$ μ g/g, E vitamini $14,41$ μ g/g, β -karoten $73,59$ μ g/g şeklindedir. Glutasyon serbest radikal tutucu olup vücudu oksidatif hasara karşı korur ve aynı zamanda yaşlanmayı geciktirir (Sözmen, 2002). Görüldüğü gibi aspir bitkisinin de yaprak ve çiçekleri önemli miktarda GSH ve GSSG içermektedir. Antioksidan etkinliği yüksek olan A ve E vitaminleri peroksitleri ve serbest oksijen radikallerini nötralize ederek vücut savunmasında önemli rol oynar (Frank, 2005).

Yaptığımız çalışmada sokslet yaprak ekstresinin fenolik madde içeriği $276 \pm 2,05$ μ g GAE/mg olup diğer ekstrelerden yüksek bulunmuştur. Yine buna paralel olarak flavonoid içeriği de $97,41 \pm 2,13$ μ g kateşin / mg olarak diğerlerinden yüksektir. Aynı familyanın üyesi olan eşek dikenini (*Echinops orientalis Trautv.*) bitkisinin yapraklarında toplam fenolik madde içeriği 45 μ g GAE/mg olarak saptanmıştır (Yılmaz, 2012). *Brassicaceae* ailesinin üyesi olan alabaş bitkisinin toplam fenolik madde içeriği gallik asit cinsinden yapraklarda $27,58$ mg/g, gövdede ise $8,303$ mg/g olarak bulunmuştur (Akagün, 2009). *Brassicaceae* familyasının diğer üyeleri ile yapılan fenolik bileşik tayini sonucunda; brokoli bitkisinin $41,40$ mg GAE /g (Kaur vd., 2006), beyaz lahananın $623,3$ μ g GAE /g, çin lahanasının $543,3$ μ g GAE/g (Roy

vd., 2006) fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Brokoli, karnabahar, çin lahanası ve beyaz lahananın yenilebilir ve taze kısımları üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise aynı sırayla 82,2±8,8, 27,8±1,5, 118,9±12,5, 15,3±2,1 mg GAE/100g bitki fenolik madde içeriği saptanmıştır (Podsdek, 2007). Safran kökü olarak da bilinen zerdaçalın fenolik madde içeriği 462,9 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriği ise 281,1 mg kateşin/g olarak bulunmuştur (Aydın, 2011). Tüm veriler incelendiğinde aspir bitkisinin sokslet yaprak ekstresinin fenolik madde içeriği zerdaçal hariç bahsedilen tüm bitkilerden yüksek bulunmuştur.

ABTS radikali giderme aktivitesi tayini sonucunda sokslet yöntemiyle elde edilen yaprak ekstresinin (%54) ve standart olarak kullanılan troloksun (%54) değerleri aynı ve çiçek ekstresi (%53) de buna yakın bulunmuştur. Astereceae familyasının bir başka üyesi olan eşek dikenini (*Echinops orientalis Trautv.*) bitkisinin tohum ve yapraklarında ABTS aktivitesi %100'e yakın ve bitkinin gövde kısmında saptanan aktivite %40 civarındadır (Yılmaz, 2012). Aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisinin tohumlarından elde edilen yağ ekstresinin ABTS aktivitesi %6 civarında olup tüm ekstrelere göre düşük bulunmuştur. Yılmaz'ın yaptığı çalışmada (2012) zerdaçalın ABTS aktivitesi %58,8 olarak bulunmuş olup aspir bitkisinin çiçek ekstresiyle yakın bir değerdedir.

İndirgeyici güç tayininde de en yüksek aktiviteyi 0,598 absorbans değeriyle sokslet yöntemiyle elde edilen yaprak ekstresi göstermiştir. Aspir bitkisiyle aynı familyaya ait olan eşek dikenini (*Echinops orientalis Trautv.*) bitkisinin yapraklarının indirgeme kapasitesi ise 0,355 absorbans değerinde (Yılmaz, 2012) olup aspir bitkisinden daha düşüktür. İşbilir'in yaptığı bir çalışmada (2008) bazı bitkilerin indirgeme kapasitelerini gösteren absorbans değerleri şu şekildedir: dereotu bitkisi 0,450, kuzukulağı bitkisi 0,230, roka bitkisi 0,150 ve tere bitkisi 0,080 civarında bulunmuştur. Aspir bitkisinin yaprak kısımları bu bitkilerle karşılaştırıldığında indirgeme kapasitesi çok daha yüksektir. Ahlat bitkisinin indirgeme kapasitesi 0,594±1,1 olarak bulunmuş (Güdücü, 2014) olup aspir bitkisine yakındır. Beyaz dut bitkisinin indirgeyici güç aktivitesi yapraklarda 0,950, olgun meyve halinde 0,820 absorbans değerinde (Türkoğlu, 2014) olup aspir bitkisinden oldukça yüksek bulunmuştur.

DPPH radikali giderme aktivitesi sonucunda en yüksek aktivite çiçek ekstresinde %96 olarak bulunmuş olup standart olarak kullanılan askorbik asit ve troloksun

yüksek bulunmuştur. Sokslet yaprak ekstresinin DPPH radikali giderme aktivitesi %89, yağ ekstresinin ise %87 bulunmuştur. Aspir bitkisiyle aynı familyanın üyesi olan eşek dikenini (*Echinops orientalis Trautv.*) bitkisinin DPPH aktivitesi giderme aktivitesi tayinin de bitkinin tohumları %65, yaprakları %70, gövde de ise aktivite %20 olarak saptanmış (Yılmaz, 2012) olup aspir bitkisinden daha düşüktür. İşbilir'in yaptığı çalışmada (2008) DPPH içerikleri dereotu için %82, kuzukulağı için %75, roka için %40, tere için %23 bulunmuştur. Akagün'ün yaptığı çalışmada (2009) alabaş bitkisinin yapraklarındaki DPPH radikali giderme aktivitesi %67,5 olarak bulunmuştur. İngiltere, Almanya, Belçika ve Polonya'da yetiştirilmiş beyaz lahanalarda yapılan çalışmada DPPH radikali giderme aktivitesi 5,42 µmol/g (Kusznierewicz ve ark., 2008), dondurularak kurutulmuş beyaz lahana ve Çin lahanasının DPPH radikali giderme aktiviteleri sırasıyla %32 ve %8 (Roy ve ark., 2006), brokoli bitkisinde ise %70,12 olarak bulunmuştur (Kaur ve ark., 2006). Tüm veriler kıyaslandığından aspir bitkisinin DPPH radikali giderme aktivitesi daha yüksektir.

Hidroksil radikali giderme ve H₂O₂ giderme aktivitesi en yüksek olan ekstre yağ ekstresidir. Yağ ekstresinin hidroksil radikali giderme kapasitesi %24, H₂O₂ giderme aktivitesi ise %23 bulunmuştur. Yaprak ekstreleri arasında ise en yüksek aktivite sokslet yaprak ekstresine aittir. Sokslet yaprak ekstresinin hidroksil radikali giderme kapasitesi %18 ve H₂O₂ giderme aktivitesi %19'dur. Dereotu bitkisinin H₂O₂ giderme aktivitesi %44,13, kuzukulağı bitkisinin %42,74, roka bitkisinin %39,11 (İşbilir, 2008) olup aspir bitkisinden yüksek bulunmuştur. Beyaz dut bitkisinin yapraklarındaki H₂O₂ radikali giderme aktivitesi %63, ham meyve halinde %45, olgunlaşmış meyve halinde %24 (Türköglü, 2014) civarında olup aspir bitkisinden yüksektir.

Süperoksit radikali giderme aktivitesi sonucunda en yüksek aktivite %16 olarak çiçek ekstresinde bulunmuştur. Alabaş bitkisinin süperoksit radikali giderme aktivitesi yaprakta %70, gövde de ise %40 civarındadır (Akagün, 2009). Beyaz dut olarak bilinen *Morus alba* bitkisinin süperoksit radikali giderme aktivitesi %74,8'dir (Türköglü ve ark., 2014). Aspir bitkisinin süperoksit radikali giderme aktivitesinin diğer bitkilerden düşük olduğu görülmektedir.

Elde edilen sonuçlardan aspir bitkisinin yüksek bir antioksidan özelliğe sahip olduğu bulunmuştur.

KAYNAKÇA

- AKAGÜN, G.** (2009). Alabaş (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes*) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Edirne .
- AKKUŞ, İ.** (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, 1. Baskı, Konya.
- ALESSIO, H. ve BLASI, E.** (1997). Physical Activity as a Natural Antioxidant Booster and Its Effect on a Healthy Lifestyle. *Research Quarterly for Exercise Sport*. Cilt 68, sayı. 4, Sf. 292-302.
- ARAS, Ö.** (2006). *Üzüm ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- ARSLAN B., ERYİĞİT, T. ve EKİN, Z.** (1999). Farklı Hasat Zamanlarının Aspirinin Verim ve Kalite Özelliklerine Etkileri, *Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, Adana, 15-18 Kasım.
- ARUOMA, O.** (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Cilt 75, sayı. 2, Sf.199-212.
- ATUKEREN P., GÜMÜŞTAŞ, K.** (2008). Expression Of Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha In Tumors Of Patients With Of Patients With Glioblastoma Multiforme And Transitional Meningioma. *Journal of Clinical Neuroscience*. Sayı 15, Sf. 1039-1042.
- AYDIN H.** (2011). Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- BABAOĞLU, M.** (2007). Aspir ve Tarımı. Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne. Alındığı tarih: 14.04.2015, adres: <http://arastirma.tarim.gov.tr>
- BAKAN, A.** (2008). Serbest Radikaller. *Dünya Gıda Dergisi*. Cilt 8, sayı 2, Sf. 70-76.
- BAKAN, A. ve EKŞİ, A.** (2009). Gıdaların Antioksidan Kapasitesini Belirleme Yöntemleri. *Dünya Gıda Dergisi*. Cilt 14, sayı. 9, Sf.76-82.
- BAKKALBAŞI, E.** (2009). Farklı Ambalaj Materyalleri ve Depo Koşullarının Ceviz İçi Bileşimine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- BAYDAR, H.** (1998). Gibberellik Asidin Aspir'de Erkek Kısırlık, Tohum Verimi ile Yağ ve Yağ Asitleri Sentezi Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Biology*. Cilt 24, sayı. 1, Sf. 159-168.
- BAYRAK, A.** (1997). Ankara ve Şanlıurfa'da Denenen Yazlık-Kışlık Aspir Çeşit ve Hatlarının Yağ Asitleri Bileşiminin Araştırılması. *Gıda Dergisi*. Cilt 22, sayı. 4, Sf. 269-277.
- BAYRAKTAR, N. ve BAYRAK A.** (1995). Ayçiçek (*Helianthus annuus L.*) Yağının Yağ Asitleri Kompozisyonu. *Gıda Dergisi*. Cilt 20, sayı. 6, Sf. 393-396.
- BECKER, M. E., NISSEN L. ve SKIBSTED L.** (2004). Antioxidant Evaluation Protocols: Food Quality or Health Effects. *European Food Research and Technology*. Cilt 219, sayı. 6, Sf.561-571.

- BENZIE, I. F. F. ve STRAIN, J.J.** (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. Cilt 239, sayı. 1, Sf. 70-76.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E. ve BERSET, C.** (1995). Use Of A Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie Food Science and Technology*, sayı 28, Sf.25-30.
- CEMEROĞLU, B.** (2004). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 1.Baskı, Ankara.
- CHEESEMAN, H. ve SLATER, T.** (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*. Cilt 49, sayı. 3, Sf. 481-93.
- CHEN, J. H. ve HO, C. T.** (1997). Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Cilt 45, sayı. 7, Sf. 2374-2378.
- CHUNG, S.K., OSAWA, T., KAWAKASHI, S.** (1997). Hydroxyl Radical Scavenging Effects of Spices And Scavengers From Brown Mustard (*Brassica nigra*). *Biosci. Biotechnological Biochemistry*. Sayı 61, Sf. 118-124.
- ÇİHANER, S. S.** (2009). İndol-Amino Asit Türevi Yeni İlaç Etken Maddelerinin Sentezleri ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- DAVIES, K.** (2000). Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*. Cilt 50, sayı. 5, Sf. 279-289.
- DAVIS, P. H.** (1965). Flora of Turkey and The East Aegean Islands. *The University Press*. Cilt 7, Edinburgh,
- DEMİRCAN, G. DIRAMAN, E. DEMİRCAN, S.** (2005). Kalp Hastalıklarında Oksidatif Stresin Rolü. *Türk Kardiyoloji Derneği*. Cilt 33, sayı. 8, Sf.488-492.
- DIPLOCK, A.** (1998). Healty Lifestyles Nutrition and Physical Activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series*. Belçika.
- DONG, Z.** (2003).Molecular Mechanism of The Chemopreventive Effect of Resveratrol. *Mutation Research*, Sf. 145-150.
- EKŞİ, A. ve ÖZHAMAMCI, İ.** (2009). Chemical Composition and Guide Values of Pomegranate Juice. *Gıda Dergisi*. Cilt 34, sayı. 5, Sf. 265-270.
- FINLEY, J.W., GIVEN, P.J.R.** (1986). Techonological Necesstiy of Antioxidant in The Food Endustry. *Food and Chemical Toxicology*. Cilt 24, sayı 10, Sf. 999-1006.
- FİDANCI U.R., SEL, T., ALTINTAŞ, A. ve KARAGÜL H.** (1999). *Temel Biyokimya Uygulamaları*. Medisan Yayınevi, Ankara.
- FOLIN, O. ve CIOCALTEU, V.** (1927). On Tyrosin and Tryptophane Determination in Protein. *From Journal of Biological Chemistry*. Cilt 23, sayı. 2, Sf. 627-650.
- FRANK, J.** (2005). Vitamin E Supplementation An Alternative Strategy To Improve Vitamin E Status. *Journal of Plant Physiology*. Cilt 162, sayı. 7, Sf. 834-843.
- GILBERT, J.** (2008).International safflower production – An Overview,7. *International Safflower Conference*, Wagga Wagga, Avusturalya, 19-23 Ocak.
- GIOVANNUCCI, E., RIMM, E., LIU, Y., STAMPFER, M. ve WILLETT, W.** (2002). A Prospective Study Of Tomato Products, lycopene, And Prostate Cancer Risk. *Journal of the National Cancer Institute*. Cilt94, sayı. 5, Sf. 391-398.
- GÜDÜCÜ, F.** (2014). *Pyrus elaeagrifolia* Bitkisinin Ekstrelerinin Fenolik Madde İçerikleri, DPPH Radikali Giderme Aktiviteleri ve İn Vitro Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Edirne.

- GÜRSOY, O. ve GÖKÇE, R.** (2001). Soya ve Ürünlerinde Fenolik Bileşikler ve Beslenmeyi Kısıtlayıcı Faktörler. *Journal of Engineering Sciences*. Cilt 7, sayı. 1, Sf.87-93.
- HALLIWELL, B.** (1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews*. Cilt52, sayı. 8, Sf. 253-265.
- HALLIWELL B., CLEMENT,M. V. ve LONG, L. H.** (2000). Hydrogen Peroxidain the Human Body. *FEBS Letter*. Cilt 486, sayı. 1, Sf. 10-13.
- HALLIWELL, B. ve GUTTERIDGE, J.** (1985). The Chemistry of Oxygen Radicals and Other Oxygen-Derived Species. In: Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*. Sf. 20-64.
- HALLIWELL, B. ve GUTTERIDGE, J.** (1984). Oxygen Toxicity, OxygenRadicals, Transition Metals and Disease. *Biochemical Journal*. Cilt 219, sayı. 1, Sf. 1-14.
- HALLIWELL, B.** (1991a). Drug Antioxidant Effects. *Drugs*. Cilt 42, sayı. 4, Sf. 569-605.
- HALLIWELL, B.** (1991b). Reactive Oxygen Species in Living System: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *American Journal of Medicine*. Cilt 91, sayı. 1, Sf. 14-21.
- HERTOG, M., FESKENS, E., HOLLMAN, P., KATAN, M. B. ve KROMHOUT, D.** (1993). Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*. Cilt 342, sayı. 8878, Sf. 11-1007.
- HOTTA, Y., NAGATSU A., LIU, W., MUTO T., NARUMIYA C., LU, X., YAJIMA, M., ISHIKAWA, N., MIYAZEKI, K., KAWAI, N., MIZUKAMI, H. ve SAKAKIBARA, J.** (2002). Protective Effects of Antioxidative Serotonin Derivatives Isolated From Safflower Aganist Postischemic Myocardial Dysfunction. *Molecular and Cellular Biochemistry*. Cilt 238, sayı. 1-2, Sf. 151-162.
- IHARA, M., UMEKAWA, H., TAKAHASHI, T. ve FURUICHI Y.** (1998). Comparative Effects of Short- and Long-Term Feeding of Safflower Oil and Perilla Oil on Lipid Metabolism in Rats. *Biochemistry and Molecular Biology*. Cilt 121, sayı. 2,Sf. 223-231.
- IWAMOTO, M., KONO, M., KAWAMOTO, D., TOMOYORI, H., SATO, M. ve IMAIZUMI, K.** (2002). Differential Effect of Walnut Oil and Safflower Oil on the Serum Cholesterol Level and Lesion Area in the Aortic Root of Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. Cilt 66, sayı. 1, Sf.141-146.
- İŞBİLİR, Ş. S.** (2008). Yaprakları Salata- Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi, Edirne.
- İŞLER, N.** (2014). Aspir Tarımı, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hatay.
- KAUR, C., KUMAR, K., ANIL, D. ve KAPOOR, H.C.** (2006). Varations in Antioxidant Activity in Broccoli (*Brassica oleracea L.*) Cultivars. *Journal of Food Biochemistry*. Cilt 31,Sf. 621-638.
- KNEUSEL, R., SCHILTZ, G. ve MATERN, U.** (1994). Molecular Characterization and Cloning of an Esterase Which Inactivates the Macrolide Toxin Brefeldin A. *The Jornal of Biological Chemistry*. Cilt 269, sayı. 5, Sf. 3449-3456.
- KOCA, İ.** (2007).Kızılcık ve Trabzon Hurması Pekmezlerinin Üretim Teknikleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, sayı. 2, Sf. 33-37.

- KONAR, V., AŞKIN, Y. ve TÜRKOĞLU, İ.** (2010). Yabani Aspir (Carthamus persicus Wild) Bitkisinin Yağ Asidi Bileşiminin İncelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. Cilt 22, sayı. 1, Sf.29-36.
- KOŞAR, M., BOZAN, B., TEMELLİ, F. ve BAŞER, H.** (2002). Sumak (Rhus Coriaria)'in Fenolik Bileşikleri Ve Antioksidan Etkileri. *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, 29-31 Mayıs.
- KUSZNIEREWICZ, B., BARTOSZEK, A., WOLSKA, L., DRZEWIECKI, J., GORINSTEIN, S., NAMIESNIK, J.** (2008). Partial Characterization of White Cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata* f. *Alba*) From Different Regions by Glukosinolates, Bioactive Compounds, Total Antioxidant Activities and Proteins. *Food Science and Technology*. Cilt 41, Sf.1-9
- LIM, S. Y., HWANG, J. Y., YOON, H. R. ve PAIK, Y. S.** (2007). Antioxidative Phenolics from the Petals of Carthamus tinctorius. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. Cilt 50, sayı 4, Sf.304-307.
- LIN, N., FAN, S., SHAN, G., ZUO, P. ve CUI, L.** (2014). Safflower Yellow for Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Complementary Therapies in Medicine*. Cilt 22, sayı. 2, Sf.354-361.
- LIU, F., WEI, Y., YANG, X. Z., LI, F. G., HU, J. ve CHENG, F.** (1992). Hypotensive Effects of Safflower Yellow in Spontaneously Hypertensive Rats and Influence on Plasma Renin Activity and Angiotensin II level. *Yao Xue Xue Bao*. Cilt 27, sayı. 10, Sf.785-787.
- LIZHONG, Y.** (1993). The Study of New end Medicinal Oil of Safflower. Proceeding Third International Safflower Conferance. *Beijing Botanical Garden Institute of Botany Chinese Academy of Sciences*, sayı. 896, Çin.
- MACDOUGALL, D.** (2002). *Colour in Food Improving Quality*, Woodhead Publishing Limited,1. Basım, İngiltere.
- MARTIN G. ve OSHIMA J.** (2000). Lessons from Hhuman Progeroid Syndromes. *NaturePublishing*. Cilt 408, sayı. 6808, Sf.263-266.
- NAGARAJ, V., DEVI, N. ve SRINIVAS, V.** (2001). Safflower Petals and Their Chemical Composition. *Proceedings of the 5th. International Safflower Conference*, USA,
- NISHIKIMI, M., RAO A. ve YAGI, P.** (1972). The Occurence of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Molecular Oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Cilt 46, sayı. 2, Sf. 849-854.
- NİZAMLIOĞLU, N.M. ve NAS, S.** (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemi. *Electronic Journal of Food Technologies*. Cilt 5, sayı. 1, Sf. 35-120.
- NORDBERG, J. ve ARNÉR, E.** (2001).Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*. Cilt 31, sayı. 11, Sf. 1287-1312.
- OYAIZU, M.** (1986). Studies on Product of Browning Reaction Prepared From Glucose Amine. *Japanese Journal of Nutrition*. Cilt 44, Sf. 307-315.
- ÖZDEMİR, F. A., AYMELEK F. ve KARATAŞ, F.** (2011). Aspir Bitkisinde Redükte, Okside Glutatyon ile A, C, E Vitamini ve β-karoten Miktarlarının Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, sayı 23, Sf.65-71.
- ÖZTÜRK Ö., AKINERDEM, F., BAYRAKTAR, N. ve ADA, R.** (2007). Konya Koşullarında Bazı Aspir (Carthamus tinctorius L.) Çeşitlerinin Verim, Verim Unsurları ve Yağ Oranlarının İncelenmesi. *I. Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu*, Samsun, 28-31 Mayıs.

- PEHLUVAN, M. ve GÜLERYÜZ, M.** (2004). Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*. Cilt 33, sayı. 1-2, Sf. 51 -57.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J. ve SAURA-CALIXTO, F.** (2006). Effect of Solvent and Certain Food Constituents on Different Antioxidant Capacity Assays. *Food Research International*. Cilt 39, sayı. 7, Sf. 791-800.
- PODSEDEK A.** (2007). Natural Antioxidant Capacity of Brassica Vegetables: A Review. *Food Science and Technology*. Cilt 40, Sf. 1-11.
- PORTER, N.** (1985). Mechanism of Fatty Acid and Phospholipid Autoxidation. *Chemical Changes in Food During Processing*. T. Richardson and J.W. Finley (Eds), Van Nostrand Reinhold Company, 1. Basım, New York.
- RAHAMATALLA, A., BABIKER, E., KRISHNA, G. ve EL TINAY, A.** (1998). Changes in Chemical Composition, Minerals and Amino Acids During Seed Growth and Development of Four Safflower Cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*. Cilt 52, sayı. 2, Sf. 161-170.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A. ve YANG, M.** (1999). Antioxidants Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*. Cilt 26, sayı. 9-10, Sf. 1231-1237.
- ROH, J.S., HAN, J.Y., KIM, J.H. ve HWANG, J.K.** (2004). Inhibitory Effects of Active Compounds Isolated from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seeds for Melanogenesis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. Cilt 27, sayı. 12, Sf. 1976–1978.
- ROY, M.K., TAKENAKA, M., ISOBE S., TSUSHIDA T.** (2006). Antioxidant Potential Pro-oxidative Activities, and Phenolic Content in Water-Soluble Fractions of Some Commonly Consumed Vegetables: Effects of Thermal Treatment. *Food Chemistry*. Cilt 103, Sf. 106-114.
- RUCH R., CHENG S. J. ve KLAUNIG, J.** (1989). Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intracellular Communication by Antioxidant Catechins Isolated from Chinese Green Tea. *Carcinogenesis*. Cilt 10, sayı. 6, Sf. 1003-1008.
- SALDAMLI, İ.** (2007). *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 4. Baskı, Ankara.
- SANCHEZ-RANGEL, J. C., BENAVIDES, J., HEREDIA, J. B., CISNEROS-ZEVALLOS, L. JACOBO-VELAZQUEZ, D. A.** (2013). The Folin-Ciocalteu Assay Revisited: Improvement of Its Specificity For Total Phenolic Content Determination. *Royal Society of Chemistry*. Cilt 5, sayı 21, Sf. 5990-5999.
- SLINKARD, K. ve SINLETON, V. L.** (1997). Total Phenols Analysis: Automation and Comparison With Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, sayı 28, Sf. 49-55.
- SÖZMEN, E., ONAT, T. ve EMERK, K.** (2002). *Yaşlanma biyokimyası*, Palme Yayıncılık, 2. Baskı, Ankara.
- TIETZ, N.** (1995). *Clinical Guide to Laboratory Tests*, W.B. Saunders Company, 4. Baskı.
- TOZOĞLU, F.** (2011). Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica*; Ş. Yıldırım) Sap ve Tohum Kısımlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan.
- TÜRKOĞLU, S., ÇELİK, S., KESER, S., TÜRKOĞLU, İ., YILMAZ, Ö.** (2014). *Morus alba*'nın Meyve ve Yaprak Ekstrelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Journal of Science*. Cilt 26, sayı 1, Sf. 21-32.
- Url-1** (2013). <<https://www.aysanyemcilik.com>> , alındığı tarih: 28.03.2015.
- Url-2** (2015), <<https://www.slimleaf.com>> , alındığı tarih: 07.11.2015.

- VALENZUELA, A.** (1991). The Biological Significance of Malondialdehyde Determination in the Assesment of Tissue Oxidative StresS. *Life Sciences*. Cilt 48, sayı. 4, Sf. 9-301.
- WALLACE, D.** (1997). Mitochondrial DNA in Aging and Disease. *Scientific American*. C.ilt 277, sayı 2, Sf. 40-47.
- WANG, M., RANGARAJAN, M., SHAO, Y., LAVOIE, E., HUANG, T. T. C. ve LI, J.** (1998). Antioxidative Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *Journal Agricultural Food Chemistry*. Cilt46, sayı. 12,Sf. 4869-4873.
- WANG, P., OU, S. ve PEILIN, C.** (1999). Optimization of Condition for Safflower Cell Culture and Accumulation of Celliolous Product Tocopherols. *Chinese Journal of Biotechnology*. Cilt 15, sayı. 4, Sf. 231-237.
- YAĞCI, C., TOKER, M. C. ve TOKER, G.** (2008). Bitki Doku Kültürü Yoluyla Üretilen Flavonoitler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. Cilt 1, sayı. 1, Sf. 47-58.
- YILMAZ, S.** (2012). Echinops orientalis Trautv. Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Yapı Tayini, Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- YOUNG, I.S. ve WOODSIDE, J.** (2001).Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology*. Cilt 54, sayı. 3, Sf. 176-186.
- YU, S. Y., LEE, Y. J., KIM, J. D., KANG, S. N., LEE, S. K., JANG, J. Y., LEE, H. K, LIM, J. H. ve LEE, O. H.** (2013). Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Anti-Adipogenic Effect of Hot Water Extract from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed. *Nutrients*. Cilt 5, sayı. 12, Sf. 4894-4907.
- ZHISHEN, J.,MENGCHENG, T. ve JIANMING, W.** (1999). The Determination of Flavonoid Contents on Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radical. *Food Chemistry*. Cilt 64, sayı. 4, Sf. 555–559.

ÖZGEÇMİŞ

Adı -Soyadı : Esra Kuşoğlu
Doğum Yeri ve Tarihi : Kırklareli/31.03.1990
Ev Adresi :Merkez Mah.Özgüler Sk. No:8
Daire:2 Avcılar/İstanbul
Mail : esra_ksgl_@hotmail.com



İŞ BİLGİLERİ

05.01.2015- ... Özmer Pastacılık ve İçecek Ürünleri Pazarlama LTD. ŞTİ./ Ar-Ge Mühendisi

02.01.2014-29.12.2014 Yeni Nesil Et Ürünleri LTD. ŞTİ. /Gıda Mühendisi

07.01.2013-30.08.2013 Helikon Gıda Sanayi ve Ticaret LTD. ŞTİ./ Kalite Güvence Müdürü

ÖĞRENİM DURUMU

2013-2016 İstanbul Aydın Üniversitesi- Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı/ Yüksek Lisans

2009-2013 Anadolu Üniversitesi- İşletme Fakültesi- İşletme Bölümü

2008-2012 Pamukkale Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi- Gıda Mühendisliği

2004-2008 Kırklareli Atatürk Anadolu Lisesi