

**GRAVİOLA (*ANNONA MURİCATA* L.)
BİTKİSİNİN UÇUCU BİLEŞİKLERİNİN
KOMPOZİSYONU VE ANTIOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN TAYİNİ**

İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT)

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman I: Prof. Dr. Temine ŞABUDAK

Danışman II: Doç. Dr. H. Hülya ORAK

2019

T.C.

TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GRAVIOLA (*ANNONA MURICATA* L.) BİTKİSİNİN UÇUCU BİLEŞİKLERİNİN
KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ**

İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT)

KİMYA ANABİLİM DALI

I. DANIŞMAN: Prof.Dr. Temine ŞABUDAK

II. DANIŞMAN: Doç.Dr. H. Hülya ORAK

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Temine ŞABUDAK danışmanlığında ve Doç. Dr. H. Hülya ORAK eşdanışmanlığında yürütölen, İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT) tarafından hazırlanan "Graviola (*Annona Muricata L.*) Bitkisinin Uçucu Bileşiklerinin Kompozisyonu ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini" isimli bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliğı ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Temine ŞABUDAK

İmza :

Üye : Doç.Dr. Hülya ORAK

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hülya YAĞAR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR

İmza :

Üye: Doç. Dr. A. Handan DÖKMECİ

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GRAVIOLA (*ANNONA MURICATA L.*) BİTKİSİNİN UÇUCU BİLEŞİKLERİNİN KOMPOZİSYONU VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT)

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

I. Danışman: Prof. Dr. Temine ŞABUDAK

II. Danışman: Doç. Dr. H. Hülya ORAK

Bu çalışmada tropik egzotik meyvelerden biri olan Graviola (*Annona muricata L.*) meyvesinin pulp, kabuk ve çekirdekleri ile yapraklarında uçucu bileşik kompozisyonu, toplam fenolik, flavonoid içeriği ile antioksidan aktivite çalışması yapılmıştır. Bu amaçla n-hekzan, etil asetat, metanol ve diklormetan çözücülerini elde edilen ekstraktlarda DPPH• ve ABTS•+ serbest radikali giderme aktivitesi, FRAP ve CUPRAC kapasitesi ile β -karoten ağarma yöntemleri ile antioksidan aktivite belirlenmiştir. Elde edilen n-hekzan ekstraktlarında, GC-MS yöntemini kullanarak uçucu bileşiklerin kompozisyonu belirlenmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimi (% 64.14) meyvenin pulpundan ve metanol çözücüsüyle elde edilmiştir. En yüksek TFM ve TF içeriği yaprak-MeOH ekstresinde (244.61 μg CAT mg ekstrakt⁻¹; 81.32 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) bulunmuştur. n-hekzan ekstraktlarındaki GC-MS sonuçlarına göre, yapraklarda temel bileşen olarak terpenoidler (% 53.52), esterler (% 12.01), steroidler (% 9.85); kabuklarda temel bileşen olarak esterler (% 52.2), alifatik hidrokarbonlar (% 17.84), fenolik bileşikler (% 12.90); meyvenin pulpunda temel bileşen olarak esterler (% 47.32), hidrokarbonlar (% 19.84) ve fenolik bileşikler (% 15.46) gözlenirken, çekirdek ekstraktlarındaki temel bileşenler, yağ asitleri (% 67.22) ve terpenoidler (% 9.92) olarak tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite sonuçlarına göre, DPPH, FRAP ve CUPRAC aktivitesi açısından da en yüksek aktivite meyvenin çekirdeklerinde bulunurken, ABTS•+ radikal giderim aktivitesinde çekirdekler ve yapraklar açısından istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir. β -karoten renk ağartma aktivitesi en yüksek kabukta ve sonra yapraklarda bulunmuştur. Pulp en düşük aktiviteye sahiptir. Tüm antioksidan karakterler açısından istatistiksel değerlendirme yapılmış, farklılıklar ve ilişkiler önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Meyvenin toplam fenolik madde içeriği ile toplam flavonoid madde içeriği arasında $r = 0.761^{**}$ düzeyinde önemli bir ilişki bulunmaktadır. Toplam flavonoid madde içeriği ile antioksidan aktivite karakterleri arasındaki en yüksek korelasyon, FRAP aktivitesi ile bulunmuştur ($r = 0.900^{**}$). Graviola ekstraktlarının GC-MS analizi, ekstrakttaki farklı kimyasal yapıya sahip çeşitli farmasötik olarak önemli kimyasal bileşiklerin varlığını gösterirken, toplam fenolik ve flavonoid madde ve antioksidan aktivite analizlerinde, özellikle çekirdek ve yapraklarda yüksek aktivite dikkat çekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Graviola (Annona muricata L.)*, uçucu bileşikler, GC-MS, toplam flavonoid, FRAP, CUPRAC

2019, 107 Sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

VOLATILE COMPOUNDS and ANTIOXIDANT ACTIVITY of GRAVIOLA (*Annona Muricata* L.)

İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT)

Tekirdag Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor I: Prof.Dr. Temine ŞABUDAK

Supervisor II: Assoc.Prof.Dr. H. Hülya ORAK

In this study, volatile compounds, total phenolic, total flavonoid content and antioxidant activity were carried out in the pulp, peel, and seeds and leaves of Graviola (*Annona muricata* L.) fruit, which is one of the tropical exotic fruits. For this purpose, DPPH• and ABTS•⁺ free radical scavenging activity, FRAP and CUPRAC capacity and β-carotene bleaching methods were tested in the extracts obtained from n-hexane, ethyl acetate, methanol and dichloromethane were used solvents. The volatile compound was determined using the GC-MS method in the n-hexane extracts. The highest extraction efficiency (64.14%) was obtained from pulp by using methanol as solvent. The highest TPC and TP content was found in the Y-MeOH extract (244.61 g CAT mg extract⁻¹; 81.32 µg CAT mg extract⁻¹). According to GC-MS results of hexane extracts, terpenoids (53.52%), esters (12.01%) and steroids (9.85%) are the main components of graviola leaves. In the graviola shells, esters (52.2%), aliphatic hydrocarbons (17.84%) and phenolic compounds (12.90%) were found as the major constituents. Esters (47.32%), hydrocarbons (19.84%) and phenolic compounds (15.46%) were the main components in the pulp, while the main components in the seed were fatty acids (67.22%) and terpenoids (9.92%). According to the results of antioxidant activity, the highest DPPH, FRAP and CUPRAC activity was found in the seed of the fruit, while there was no statistically significant difference in ABTS • + radical removal activity for seed and leaves. The β-carotene bleaching activity was highest in the peel and then in the leaves. Pulp showed the lowest activity. All antioxidant characters were evaluated statistically, differences and relationships were found to be significant (p <0.05). There is an important relationship between total phenolic content and total flavonoid content of $r = 0.761$ **. The highest correlation was found between total flavonoid content and FRAP activity ($r = 0.900$ **). GC-MS analysis of graviola extracts exhibited the presence of various pharmaceutically important chemical compounds with different chemical structure in the extract, and the remarkable total phenolic, flavonoid content and high antioxidant activity activity of the seeds and leaves in this study.

Keywords: *Graviola (Annona Muricata L.)*, volatile compounds, GC-MS, Total Flavonoid, FRAP, CUPRAC

2019, 107 Pages

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Namık Kemal Üniversitesi Kimya Bölümü Organik Kimya Ana Bilim Dalı, Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında ve Namık Kemal Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu Gıda Teknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın başından sonuna kadar benden bilgi birikimini, fikirlerini ve desteğini esirgemeyen her türlü konuda yardımcı olan yanlarında çalışmaktan mutlu olduğum değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Temine ŞABUDAK ve Sayın Doç.Dr. H. Hülya ORAK'a,

Araştırma sonuçlarının istatistik analizlerinin yapılmasında ve sonuçların yorumlanmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Adnan ORAK hocamıza,

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını benden esirgemeyen yüksek lisans arkadaşlarım Merve ÖZER ve Hilmican ÇALIŞKAN'a,

Hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen ve her daim yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ocak, 2019

İlayda ŞEVİK (BAHRİSEFİT)

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİL DİZİNİ	vii
TABLO DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
1.1.Çalışmanın Amacı	4
2.KURAMSAL TEMELLER VE ÖNCEKİ ARAŞTIRMALAR	6
2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı	6
2.1.2. <i>Annono muricata L.</i> , (Graviola) ile İlgili Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	9
2.1.3. <i>Annono muricata L.</i> , (Graviola) ile İlgili Uçucu Bileşik Çalışmaları	10
2.2. Antioksidanlar ve Etki Mekanizması	12
2.2.1. Antioksidanlar	12
2.2.2. Antioksidanların Etki Mekanizması	14
2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	15
2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	25
2.4.1. Folin-Ciocalteu Yöntemi İle Total Fenolik Bileşik Tayini	26
2.4.2. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi.....	27
2.4.3. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi	28
2.4.4. (CUPRAC) Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi	30
2.4.5. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP).....	31
2.4.6. β - karoten Renk Ağarma Aktivitesi (<i>β- karoten- lineolik asit Sistemi</i>).....	31
2.4.7. Uçucu Bileşiklerin Sınıflandırılması	32
2.4.8. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri.....	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	38
3.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler	38
3.3. Kullanılan Cihazlar.....	40
3.4. Materyal.....	41
3.5. Yöntem	42
3.5.1. Graviola Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)	42
3.5.2. Graviola Ekstrelerinde Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi (TF).....	43
3.5.3. Ham Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini	44
3.5.4. GC/MS Cihazı Kullanılarak, Bitki Kısımlarından Elde Edilen Ekstrelerde Uçucu Bileşiklerin Tayini	48
3.5.5. İstatistik analiz.....	49
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	50
4.1. Ekstraksiyon Verimi	50
4.2. Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)	51
4.3. Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinin Toplam Flavonoid (TF) İçeriği	54
4.4. Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini	58
4.4.1. DPPH• Radikali Giderim Aktivitesi.....	58
4.4.2. Ferrik Demir İyon İndirgeme Kapasitesi (FRAP)	63
4.4.3. ABTS• ⁺ Katyon Radikali Giderim Aktivitesi.....	67
4.4.4. β-Karoten Renk Giderim Aktivitesi	71
4.4.5. Bakır (II) İndirgeme Gücü (KUPRAK).....	75
4.5. Korelasyon Analizi	82
4.6. Bitkinin n-Hekzan Ekstrelerinde Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları.....	84
4.6.1. Graviola Yaprak n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları.....	84
4.6.2. Graviola Kabuk n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları.....	86
4.6.3. Graviola Pulp n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları	87
4.6.4. Graviola Çekirdek n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları.....	89

5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	92
6. KAYNAKLAR.....	96
ÖZGEÇMİŞ.....	107

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2. 1. (A) <i>Annona muricata</i> L. ağacı; (B) yaprakları ; (C) çiçekleri; (D) meyveleri	7
Şekil 2. 2. Dominica adasında yetiştirilen <i>Graviola</i> ağacından bir görüntü	8
Şekil 2. 3. Dominica adasında yetiştirilen <i>Graviola</i> meyvesinden bir görüntü	8
Şekil 2. 4. β -Karotenin yapısı	15
Şekil 2. 5. Askorbik asitin dehidro askorbik asite dönüşümü	16
Şekil 2. 6. (a) Flavonoller ve flavononların kimyasal yapıları, (b)Flavonoidlerin temel yapıları	19
Şekil 2. 7. Flavilium Katyonu (Jackman ve ark. 1987, Cemeroğlu 2011)	20
Şekil 2. 8. Başlıca hidroksisinamik ve hidroksibenzoiklerin yapıları	20
Şekil 2. 9. Glutasyon (G-SH) Yapısı.....	21
Şekil 2. 10. Ürik asit yapısı.....	21
Şekil 2. 11. Bilirubin yapısı.....	22
Şekil 2. 12. SOD enzimi ile süperoksidin hidrojen peroksit dönüşümü	23
Şekil 2. 13. Katalaz enzimi ile hidrojen peroksit yıkımı	23
Şekil 2. 14. Katalaz enziminin peroksidatif etkisi	23
Şekil 2. 15. Glutasyon peroksidaz etki mekanizması	24
Şekil 2. 16. Glutasyon redüktaz'ın etki mekanizması	24
Şekil 2. 17. GST'nin etki mekanizması	24
Şekil 2. 18. DPPH [*] radikalinin reaksiyon ortamında pembeden sarı renge dönüşümü.....	28
Şekil 2. 19. Mavi renkli 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikalinin persülfat ile oksidasyonu sonucu renksiz forma dönüşümü	29
Şekil 2. 20. CUPRAC yönteminin kromojenik oksidasyon aracı olan Cu(II)-Nc reaktifinin antioksidanlarla (Ar(OH) _n) reaksiyonu sonucu Cu(I)-Nc renkli kelatının oluşumu	30
Şekil 2. 21. Fe(III)-TPTZ kompleksinin, Fe(II) formuna indirgenmesi (Büyüktüncel E, 2013)	31
Şekil 2. 22. İzopren birimi	33
Şekil 2. 23. Limonen ve mentol yapıları	33
Şekil 2. 24. Bisabolol yapısı	34
Şekil 2. 25. Labdan, pimeran ve abietan yapısı	35
Şekil 3. 1. Taze meyveden görüntüler	41
Şekil 3. 2. Dondurularak kurutulmuş meyve kısımları.....	42
Şekil 4. 1. Toplam fenolik madde tayini kateşin standart eğrisi.....	51

Şekil 4. 2. Graviola ekstrelerinin toplam fenolik madde içeriği (n=3).....	52
Şekil 4. 3. Toplam flavonoid madde içeriği kateşin standart eğrisi	55
Şekil 4. 4. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam flavonoid madde (TF) içeriği	56
Şekil 4. 5. Graviola ekstrelerinin DPPH* giderim aktivitesi'ne ilişkin konsantrasyona bağlı absorbans değişimleri.....	59
Şekil 4. 6. Tokoferol ve BHA'nın DPPH* giderim aktivitesi'ne ilişkin konsantrasyona bağlı absorbans değişimleri.....	59
Şekil 4. 7. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin DPPH* giderim aktivitesi (% İnhibisyon)	60
Şekil 4. 8. Tokoferol ve BHA'nın DPPH* giderim aktivitesi (% İnhibisyon).....	61
Şekil 4. 9. Ferrik iyon indirgeme kapasitesi (FRAP), FeSO ₄ .7H ₂ O standart eğrisi	64
Şekil 4. 10. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin ferrik iyon indirgeme kapasiteleri	65
Şekil 4. 11. Troloks için TEAC standart çalışma grafiği	67
Şekil 4. 12. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin farklı konsantrasyonda ABTS•+ radikali giderme aktivitesi	68
Şekil 4. 13. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin ABTS•+ radikali giderme aktivitesi.	69
Şekil 4. 14. β-karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola etil asetat ekstrelerinin zamana karşı absorbsiyon değişim grafiği.	72
Şekil 4. 15. β-karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola metanol ekstrelerinin zamana karşı absorbsiyon değişim grafiği.	72
Şekil 4. 16. β-karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola diklorometan ekstrelerinin zamana karşı absorbsiyon değişim grafiği.	73
Şekil 4. 17. β-karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola n-hekzan ekstrelerinin zamana karşı absorbsiyon değişim grafiği.	73
Şekil 4. 18. Troloks için CUPRAC standart çalışma grafiği ve doğru denklemi	76
Şekil 4. 19. Graviola çekirdek ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorbsiyon değişim grafiği.....	76
Şekil 4. 20. Graviola pulp ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorbsiyon değişim grafiği.	77
Şekil 4. 21. Graviola kabuk ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorbsiyon değişim grafiği	77
Şekil 4. 22. Graviola yaprak ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorbsiyon değişim grafiği	78
Şekil 4. 23. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin CUPRAC iyon indirgeme indirgeme kapasiteleri.	79

Şekil 4. 24. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı.....	85
Şekil 4. 25. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı.....	87
Şekil 4. 26. Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı	89
Şekil 4. 27. Graviola çekirdek n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı	91

TABLO DİZİNİ

Tablo 2. 1. Polifenollerin Sınıflandırılması	17
Tablo 3. 1. Ekstrakt çözeltilerinin farklı dilüsyonlarının tüplerde hazırlanışı (2 mg/mL' stok ekstrat çözeltilisinden)	44
Tablo 4. 1. Graviola meyvesi ve yapraklarının farklı çözücülerdeki % ekstraksiyon verimi ..	50
Tablo 4. 2. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam fenolik madde (TFM) içeriği	53
Tablo 4. 3. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam flavonoid madde (TF) içeriği	57
Tablo 4. 4. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin DPPH radikal giderim aktivitesine ilişkin EC ₅₀ değerleri.....	62
Tablo 4. 5. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin ferrik iyon indirgeme kapasiteleri (FRAP)	66
Tablo 4. 6. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin ABTS• ⁺ radikali giderme aktivitesi	70
Tablo 4. 7. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin β-karoten lineoleik asit emülsiyon sisteminde oksidasyon hızına etkisi (% inhibisyon)	74
Tablo 4. 8. Standart eğri için Troloksun hacim-konsantrasyon-absorbans değerleri	75
Tablo 4. 9. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin CUPRAC iyon indirgeme kapasiteleri ...	80
Tablo 4. 10. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin CUPRAC radikal giderim aktivitesine ilişkin EC ₅₀ değerleri.....	81
Tablo 4. 11. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam fenolik, flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite karakterleri arasındaki korelasyon ilişkileri.....	83
Tablo 4. 12. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)	84
Tablo 4. 13. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı	85
Tablo 4. 14. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)	86
Tablo 4. 15. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı	87
Tablo 4. 16. Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%) ..	88
Tablo 4. 17. Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı	89
Tablo 4. 18. Graviola çekirdek n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)	90
Tablo 4. 19. Graviola bitkisinin çekirdek n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı	91

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
BHA	Bütil hidroksi anisol
CAT	Kateşin
Ç-DCM	Çekirdek diklormetan ekstresi
Ç-EtOAc	Çekirdek etilasetat ekstresi
Ç-HKZn	Çekirdek n-hekzan ekstresi
Ç-MeOH	Çekirdek metanol ekstresi
cm	Santimetre
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EC ₅₀	Bir kimyasalın en etkili olduğu konsantrasyonun yarısı
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FCR	Folin&Ciocalteu reaktifi
FRAP	Ferrik iyon indirgeme kapasitesi
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC	Gaz kromatografisi
HPLC-MS	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
K-DCM	Kabuk diklormetan ekstresi
K-EtOAc	Kabuk etilasetat ekstresi
K-HKZn	Kabuk n-hekzan ekstresi
K-MeOH	Kabuk metanol ekstresi
MeOH	Metanol
m	Metre
mL	mililitre
µL	mikrolitre
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre

ppm	Per part million
P-DCM	Pulp diklormetan ekstresi
P-EtOAc	Pulp etilasetat ekstresi
P-HKZn	Pulp n-hekzan ekstresi
P-MeOH	Pulp metanol ekstresi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TEAC	Trolox eşdeğeri
TPTZ	2,4,6-tris(2-pyridil)-s-triazine
TFM	Toplam fenolik madde
TF	Toplam flavonoid içerik
Tween -40	Polioksi etilen sorbitan monopalmitat
UV	Ultraviyole (Mor ötesi)
Y-DCM	Yaprak diklormetan ekstresi
Y-EtOAc	Yaprak etilasetat ekstresi
Y-HKZn	Yaprak n-hekzan ekstresi
Y-MeOH	Yaprak metanol ekstresi
HS-SPME	Headspace-Solid Phase Micro Extraction

1. GİRİŞ

İnsan vücudu, serbest radikallerin ve diğer oksidantların neden olduğu zararlı etkileri gideren karmaşık bir enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptir (Olakunle ve ark. 2014). Serbest radikaller, kanser (Kinnula ve Crapo 2004), kalp-damar hastalıkları (Gerber 2002), nöral bozukluklar (Sas ve ark. 2007), Alzheimer hastalığı (Smith ve ark. 2000), hafif bilişsel bozukluk (Guidi ve ark. 2006), Parkinson hastalığı (Bolton ve ark., 2000), yaşlanma (Hyun ve ark. 2006) ve ateroskleroz da (Upston ve ark. 2003) dahil olmak üzere çok sayıda hastalığa neden olmaktan sorumludur. Son yıllarda, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin hücre içinde lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin hasarından sorumlu olduğuna ve böylece inflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar, hücre dejenerasyonu gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik olağandışılıklara sebep olduğuna dair güçlü kanıtlar ve çalışmalar bulunmuştur (Leong ve Shui 2002, Wright ve ark. 2008).

Bir serbest radikal molekülü, eşleşmemiş bir elektrona sahip olan ve kimyasal olarak reaktif bir moleküldür. Canlı sistemlerde, otooksidasyon, enzimatik oksidasyon veya solunum gibi normal metabolik faaliyetlerin bir sonucu olarak üretilirler veya iyonize radyasyon, redoks döngüsüne maruz kalabilen ilaçlar veya ksenobiyotikler gibi dış kaynaklara maruz kaldıklarında organizmada üretilebilirler (Freeman ve Crapo 1982).

Diğer taraftan antioksidanlar, reaktif serbest radikal türlerinin zararlı etkilerini azaltabilir veya ortadan kaldıracırlar. Diyet antioksidanlarının yeterli miktarda alımı ile serbest radikallere karşı korumanın artırılabilceğine, dejeneratif hastalıkların başlamasının önlenerek veya ertelenerek yaşam kalitesinin iyileştirilebileceğine dair bilim insanları arasında artan bir fikir birliği vardır. Bu nedenle, antioksidan savunma mekanizmalarının savunmada yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkabilecek hastalıklardan korunmak için antioksidan etkiye sahip çeşitli meyveler, tohumlar gibi bitkisel ürünlerin tüketilmesinin veya tıbbi özelliğe sahip şifalı bitkilerin kullanılmasının insan sağlığı açısından faydalı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Özellikle duyuşal nitelikleri ve lezzetleri ile cazip meyvelerin sıklıkla tüketiminin, yapılarında bulunan mikro antioksidan bileşenlerden dolayı bu riskleri azalttığına dikkat çekilmektedir (Saura-Calixto ve Goni 2006).

Meyveler askorbik asit, karotenoidler gibi antioksidan vitaminlerin yanısıra flavonoidler, tanninler, fenolik asitler, terpenoidler ve proantosiyonidinler gibi polifenollerce zengin, antioksidan bileşiklerin iyi bir kaynağı olarak kabul edilmektedir. Diyet antioksidanlarının önemli bir kaynağını temsil eden meyvelerin son zamanlarda tüketimlerinin

arttırılmasına yönelik vurgular yapılmaktadır (Liu 2003, Hall ve ark. 2009). Meyvelerin serbest radikal süpürücü, antioksidan aktivite gibi özellikleri esas olarak doğal fenolik bileşikler gibi fitokimyasallara atfedilir (Liu 2003, Cartea ve ark. 2011). Antioksidan aktivitelerine ek olarak, fitokimyasal maddeler insanlarda başka özel faydalı farmakolojik etkiler de meydana getirir. Bu nedenle, meyvelerin serbest radikal süpürme aktivitesi ve fitokimyasal bileşimi potansiyel sağlık faydalarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Liu 2003, Pisoschi ve ark. 2009, Vera de Rosso 2013).

Meyveler ve sebzeler gibi doğal antioksidan kaynaklarının, eşdeğerleri olan sentetik muadillerine/takviyelerine göre daha avantajlı olduğu bilinmektedir (Liu 2003). Şimdilerde, nutrasötik kaynağı olarak, sağlık arttırıcı bileşenleri yüksek seviyelerde içerdikleri için tropikal egzotik meyvelere ve yan ürünlerinden elde edilen ekstraktlara ilgi artmaktadır (Gorinstein ve ark. 2011). Diğer taraftan, farklı genotip özelliklere sahip, farklı yörelerde yetişen meyveler ve meyvelerin farklı kısımları, birbirinden farklı fenolik, flavonoid ve fitokimyasalları içerdikleri gibi, farklı içerik miktarları nedeniyle, farklı antioksidan kapasite ve etki düzeyleri sergilemektedirler.

Tropik egzotik meyveler, daha çok içerdikleri fitokimyasallar gibi biyolojik aktif bileşen içerikleri ve antioksidan aktiviteleri ile araştırmalara konu olmakta, bu yönleri ile farmakoloji, biyokimya, tıbbi gıdalar gibi alanlarda araştırılmaktadırlar. Bu bakımdan meyvelerin yenilebilir kısımlarının yanı sıra, yenilemeyen kısımları da potansiyel antioksidan kaynağı olarak görülmektedir (Galanakis 2012). Yenilebilir bir meyvenin yan ürünlerinin yüksek oranda doğal antioksidan bileşiklere sahip olması, onun farmakoloji ve gıda endüstrisinde sentetik antioksidanların yerine kullanılacak bir potansiyel olmasını sağlamaktadır (Fitri ve ark. 2016).

Tropik ekzotik meyvelerin çekici duyuşsal özellikleri nedeniyle hem yerel hem de uluslararası pazarlarda üretimi, ticareti ve tüketiminde önemli bir artış ve bu meyveler ile ilgili yapılan çalışmalardan dolayı besinsel ve teropatik değerlerinde gittikçe artan bir kabul bulunmaktadır (Ayala-Zavala ve ark. 2011). Bu meyveler, yerel üreticiler için, egzotik karakterlere ilgi gösteren ve dejeneratif hastalıkları önleyebilecek besin içeriğine vurgu yapan özel pazarlara girmesi açısından fırsat oluşturmaktadır (Alves ve ark. 2008). Ayrıca tropikal meyve pulplarının taze ve endüstriyel ürünler şeklinde tüketimlerinin yanı sıra çekirdek, kabuk gibi yan ürünlerinin nutrasetik supplement, besin desteği, fonksiyonel gıda ve farmakolojik ürünler olarak, tarıma dayalı sanayi atıklarının değerlendirilmesi açısından endüstriyel, ekonomik ve çevresel katkı sağlayacağı düşünülmektedir (Ayala-Zavala ve ark. 2011). Bu nedenle meyve pulplarında ve yan ürünlerinde bulunan fitokimyasalları

tanımlamak ve miktarlarını saptamak, bunların potansiyel sağlık yararlarından insanların besinler veya besin destekleri yoluyla yararlanması açısından önem taşımaktadır.

Çeşitli bitkisel ürünlerin potansiyel sağlık etkileri yapılarında bulunan fenolik bileşikler, flavonoidler, fitosteroller, terpenler, terpenoidler ve alkaloidler gibi sekonder metabolitlerle ilişkilendirilir. Bitkisel ürünlerde bulunan bu etken maddelerin araştırılması onların farmakolojik etkilerini saptamak açısından da oldukça önemlidir.

Bilindiği üzere fenolik maddeler gibi, bitkilerin yapısında bulunan sekonder metabolitler arasında uçucu yağlar da bitkiler tarafından oluşturulan kompleks bileşiklerdir. Uçucu, doğal, güçlü kokular ile karakterize olan, aromatik özellikteki uçucu bileşikler antiseptik, antibakteriyel, virüsidal ve antifungaldırlar ve tıbbi özellikleri nedeniyle gıdaların tatlandırılması yanı sıra, korunmasında da kullanılmaktadır.

Tüm dünyada tropik ılıman iklim bölgeleri, ülkemizde de Akdeniz Bölgesi uçucu yağ barındıran bitkiler bakımından zengin bölgelerden biridir (Ceylan 1996). Bitkilerin uçucu yağları karakteristik kokularının esasıdır, ayrıca eterik yağlar veya uçucu yağlar olarak da adlandırılır, çünkü normal sıcaklıklarda havaya maruz kaldıklarında hızla buharlaşırlar. Genel olarak, uçucu yağlar, farklı molekül türlerini içeren birçok karışımdan oluşur. Bu kimyasal bileşenler iki geniş sınıfa ayrılır: terpenler ve fenil-propanoidler (Khayyat ve ark. 2018). Çoğu esansiyel yağlar, esas olarak, bitkilerin esansiyel yağlarının ana bileşeni olan monoterpenlerden oluşsa da, çok çeşitli aromatik bitkilerden buhar damıtma veya çözücü ekstraksiyonuyla elde edilebilir. Esansiyel yağlar tedavi edici özellikleri olan tıbbi bitkiler yanında, yenilebilir meyve ve bitkilerde de bulunabilir (Sousa ve ark. 2006, Nerio ve ark. 2010)

Esansiyel yağlar, çiçeklerden, yapraklardan ve meyvelerden ekstrakte edilebilen değerli doğal ürünlerdir. Parfüm, kozmetik, baharat, yiyecek, beslenme ve tedavi gibi birçok alanda hammadde olarak kullanılırlar. Esansiyel yağlar birçok tekil bileşik içeren kompleks karışımlardır (Khayyat ve ark. 2018). Birçok bitkinin karakteristik kokuları, içerdikleri uçucu yağdan kaynaklanmaktadır. Bu sebeple bunlara esans da denilmektedir. Bunlar ayrıca su ile karışmadığından ve su yüzeyinde tabaka oluşturduğundan yağ adı ile de anılırlar. Ancak bunların sabit yağlarla önemli farklılıkları bulunmaktadır. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenebilmekte, süzgeç kağıdı üzerinde leke bırakmamaktadırlar. Hâlbuki, sabit yağlar su buharında sürüklenmezler ve süzgeç kağıdı üzerinde kalıcı leke bırakırlar. Uçucu yağlar, yağ asidi trigliserit yapısında değildirler. Ancak ışık ve hava karşısında zamanla oksitlenir ve reçineleşirler. Yine sulu etanolde çözünebilme özelliği bu yağları sabit yağlardan ayıran diğer önemli bir farklılıktır (Ceylan 1997). Uçucu yağların kırılma indisleri yüksek olup çoğunluğu

optikçe aktiftir. Spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanımaya yardımcı olur. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde oluşan değişimler uçucu yağın saflığının bozulduğunu göstermektedir (Demirçakmak 1994, Tanker ve Tanker 1990).

Yapılarında en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Bununla birlikte az miktarda alkoller, aldehitler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşiklerde bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler koku, tat ve terapik özellikteki maddelerdir (Linskens ve Jackson 1997a, 1997b). Meyve ve sebzelerde, karakteristik lezzetlerini temsil eden uçucu maddeler genellikle esterler, aldehitler, alkoller, terpenler veya bunların türevleridir.

Yaygın tüketilen meyvelerin antioksidan aktivitesi ve fitokimyasal kompozisyonu üzerine yapılan çok sayıda kapsamlı araştırma olmasına rağmen, tropik bazı ülkelerde yetişen az bilinen meyveler hakkında daha az çalışma yapılabilmektedir. *Annona* türleri, *Annonaceae* familyasına ait ve yenilebilir meyveleri için tropik ülkelerde yetiştirilmektedir. Bunlar arasında, *Annona muricata* L. (*Soursop* veya *Graviola*), Orta Amerika ve Amerika'da görülen doğal olarak bulunan bir bitkidir (George ve ark. 2015). *Annona muricata*, *Annonaceae* familyasına ait bir ağaçtır ve meyveleri yiyeceklerde, içeceklerde kullanılmakta ve geleneksel olarak çeşitli amaçlarla tedavi olarak kullanıldığına dair yayınlar bulunmaktadır (Moghadamtousi ve ark. 2013).

1.1. Çalışmanın Amacı

Çalışmada son yıllarda ilgi odağı tropik meyvelerden biri olan graviola meyvesi seçilmiş, meyvenin pulpu yanı sıra, yan ürünleri olan kabuk, çekirdek ve yapraklarının toplam fenolik, flavonoid ve uçucu bileşik içeriklerinin ve antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Graviola, tropik bölgelerde yaşayan ve yaprak dökmeyen bir ağacın meyvesidir. Graviola meyvesi ve ağacının bütün kısımlarının, terapötik potansiyelleri nedeniyle geleneksel tıpta kullanımına dair bir geçmişi vardır. Bu nedenle bu meyvenin ülkemizde de hastalıkların tedavisi amacıyla dışarıdan ithal edilen nadir meyveler arasında yer aldığı görülmektedir. Ülkemizde de özellikle Akdeniz bölgesinin tropik meyve yetiştiriciliği için potansiyel bir bölge olması, çeşitli tropik meyve fidesi yetiştiriciliğine imkân sağlaması ve üretilen meyvelerin iç pazarlarda talep bulması, tropik-ekzotik meyvelerin çekici duyuşal özellikleri yanı sıra, yüksek besinsel ve terapötik değere sahip olduklarının açıklanması

nedeni ile hem yerel hem de uluslararası pazarlarda, üretim, ticaret ve tüketimlerinde artış görülmesi açısından yapılacak bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmada; Güney Amerika Karayip denizlerinde, Dominica adasında yetişen *Annona muricata* L., “Graviola”, “Soursop” adı da verilen ve ülkemizde ‘Tarçın elması’ olarak bilinen tropikal meyvenin ele alınması planlanmıştır. Çalışmada, graviola ağacının meyvesinin pulp, çekirdek, kabukları yanında ağacın yapraklarından n-hekzan, diklormetan, etilasetat ve metanol kullanılarak elde edilen liyofilize ekstrelerde antioksidan aktivite düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen ekstrelerden, n-hekzan ekstrelerinde GC-MS yöntemi kullanılarak uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin tayininin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada amaçlanan konular ve ulaşılmak istenen sonuçlar aşağıdaki şekilde sıralanarak özetlenebilir;

1. Tropikal bir meyve olan ve ülkemizde de ithal edilerek ticareti yapılan, graviola (*Annona muricata* L.) meyvesinin farklı kısımlarının yağ asitleri, uçucu bileşikler, fenolik ve flavonoid madde içeriği ile antioksidan aktivite açısından incelenmesi,

2. Bu amaçla meyvenin, meyve eti, çekirdek, kabuk olarak ayrılıp, yaprakları ile birlikte dondurarak kurutma tekniği ile kurutulması ve kurutulmuş örneklerden n-hekzan, diklormetan, etilasetat ve metanol ile sokslet ekstraksiyon yöntemi ile ekstraktların elde edilmesi,

3. Elde edilen liyofilize ham ekstrelerde toplam fenolik ve flavonoid miktarının tayini,

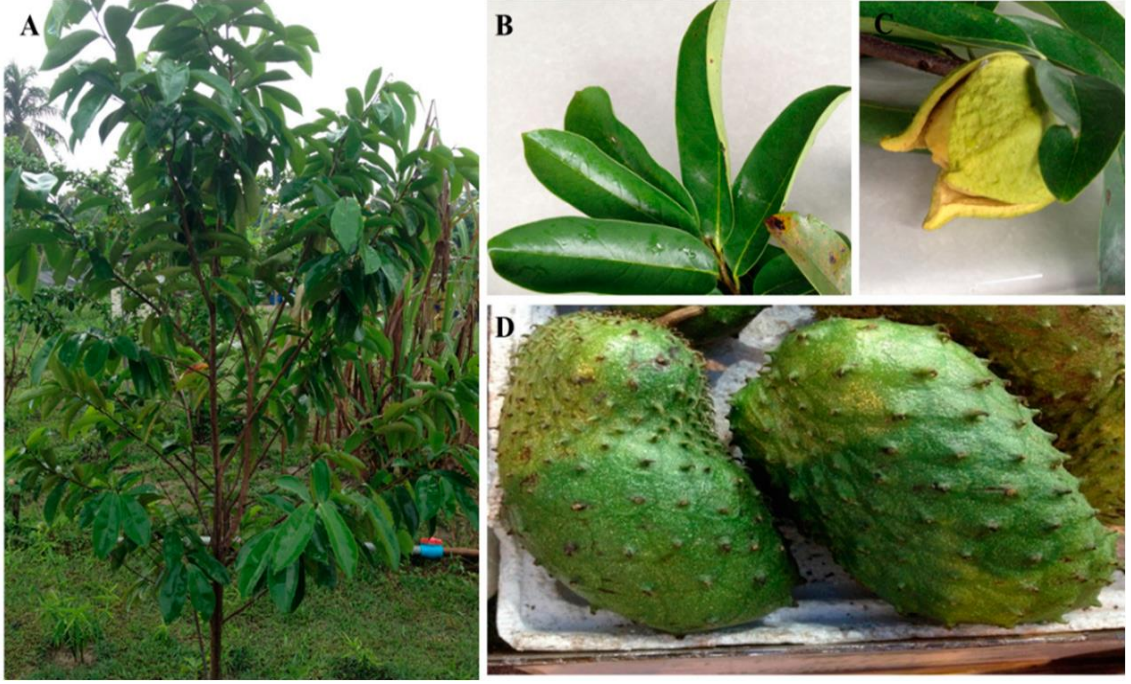
4. Ekstraktlarda DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali uzaklaştırma kapasitesi, ABTS•⁺ katyon radikali giderme aktivitesi, FRAP yöntemiyle ferrik iyon indirgeme kapasitesi, CUPRAC yöntemi ile bakır indirgeme gücü ve linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun β-karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlenerek, meyvenin farklı kısımlarında antioksidan aktivitelerinin saptanması,

5. n-hekzan ekstrelerindeki uçucu bileşiklerin GC-MS (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi) yöntemiyle saptanması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE ÖNCEKİ ARAŞTIRMALAR

2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı

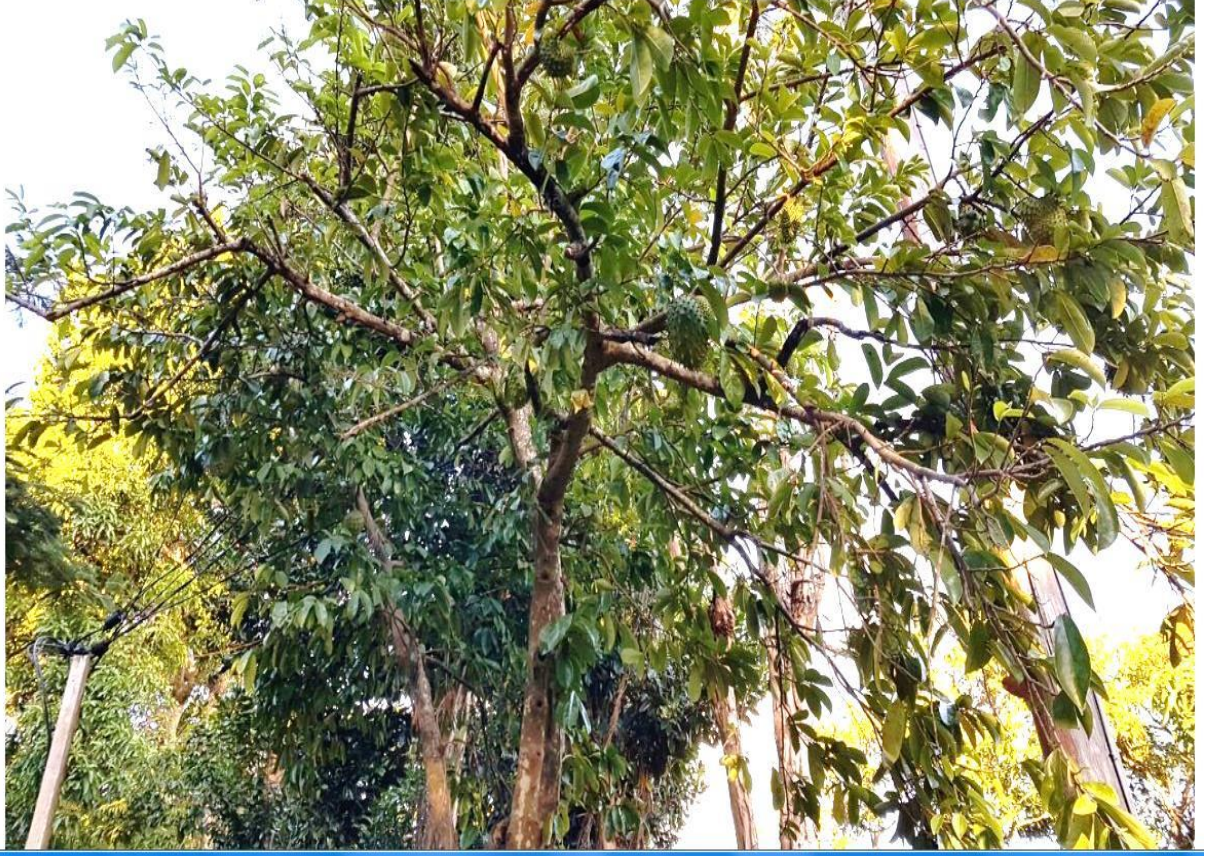
Annono muricata L.; Graviola, Guanabana, Soursop, *Annona muricata* adı da verilen ve ülkemizde “Tarçın elması” olarak bilinen meyve, genellikle tropik bölgelerde yaşayan ve yaprak dökmeyen bir ağacın meyvesidir. Ağaç, yaklaşık 130 cins 2300 türü kapsayan *Annonaceae* familyasının bir üyesidir (Morton 1987, Leboeuf ve ark. 1980). *A. muricata* L., Güney ve Kuzey Amerika'daki en sıcak tropik bölgelere özgüdür ve şimdilerde Hindistan, Malezya ve Nijerya dahil dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerine yayılmıştır (Adewole ve ark. 2006). *Annono muricata* L. her zaman yeşil kalabilen, 5-8 m yüksekliğe kadar uzanan, yaprak dökmeyen, karasal, dik bir ağaçtır. Büyük, parlak, koyu renkli yeşil yapraklara sahiptir. Ağacın yenilebilir meyveleri iri, kalp şeklinde ve yeşil renkte olup, çapı 15 ila 20 cm arasında değişmektedir (Şekil 2.1, Şekil 2.2, Şekil 2.3) (Moghadamtousi ve ark. 2015a). *Annono muricata* L., (Graviola) tropik bölgelerde yerel marketlerde satılmakta olup, meyve pulpu ekşi-asidik özelliğinden dolayı şerbet ve içeceklerin yapımında da kullanılmaktadır. Meyve ağırlığının yaklaşık % 67.5'ini yenilebilir pulp, % 20'sini kabuk ve % 8.5'ünü çekirdek ve % 4'ünü meyve göbeği oluşturmaktadır (Badrie ve Schauss 2010). Meyve etli kısmında 5'ten 200'e kadar veya daha fazla sayıda çekirdek içerebilir (Paull 1998). İç yüzeyi krem rengidir ve beyaz, lifli, sulu, iç kısmı yumuşak çekirdeklerinden kolayca ayrılır (Morton 1987).



Şekil 2. 1. (A) *Annona muricata* L. ağacı; (B) yaprakları ; (C) çiçekleri; (D) meyveleri (Moghadamtousi ve ark. 2015a)

Tropik bölgelerde *Annona muricata* L., ağacının kök, yaprak, meyve, meyve çekirdeği gibi tüm kısımlarının doğal tıpta kullanıldığına dair literatür bilgileri bulunmaktadır. Özellikle Afrika ve Kuzey Amerika yerli topluluklarının geleneksel tıp uygulamalarında bu bitkinin çeşitli kısımlarının hastalıklara karşı tedavi edici olarak kullanıldığı görülmektedir (Moghadamtousi ve ark. 2013). Farmakolojik çerçeveden bakıldığında; geleneksel tıpta kullanımda uzun bir tarihe sahip aktif fitokimyasallarca zengin bitkiler hem hastalıkların tedavisinde kullanılmışlar hem de farmakolojik çalışmalara ışık tutmuşlardır. Graviola ağacı geleneksel kullanımı olan, bu özellikteki bitkilerden birisidir.

Graviola, Soursop olarak tanınan meyve Güney Amerika, Afrika, Malezya ve Avustralya gibi çeşitli tropikal ülkelerin ekonomik gelişimine katkı sağladığı gibi ekzotik işlenmiş ürün geliştirmede de kullanılmaktadır. Eşsiz ve beğenilen aroması ve beyaz renkli pulpu ile meyve suları karışımlarında, şuruplarda, reçel ve dondurmaların üretiminde kullanılmakta ve bu ürünler Avrupa, Kuzey Amerika ve Brezilya pazarlarında yer almaktadır (Shashirekha ve ark. 2008).



Şekil 2. 2. Dominica adasında yetiştirilen Graviola ağacından bir görüntü



Şekil 2. 3. Dominica adasında yetiştirilen Graviola meyvesinden bir görüntü

Meyve, yerli halk tarafından artritik ağrı, nevralji, artrit, ishal, dizanteri, ateş, sıtma, parazitler, romatizma, deri döküntüleri için doğal tıpta kullanılmakta ve doğumdan sonra annenin süt miktarını yükseltmek için yenilmektedir. Yapraklar sistit, diyabet, baş ağrısı ve uykusuzluğun tedavisinde kullanılmaktadır. Kaynatılmış yaprakların anti-romatolojik ve nevraljik etkiler sergilediğine inanılırken, pişmiş yapraklar topik olarak apseleri ve romatizma tedavi etmek için kullanılmaktadır (Adewole ve Caxton-Martins 2006, De Sousa ve ark. 2010, Mishra ve ark. 2013). Ezilmiş tohumların solucanlara ve parazitlere karşı anthelmintik etkilere (bağırsak solucanlarını düşürücü) sahip olduğuna inanılmakta ve Tropikal Afrika'da böcek öldürücü ajan olarak kullanılmaktadır. Güney Amerika'da ve tropik Afrika'da, Nijerya da dahil olmak üzere, *A. muricata* L., tümörlere ve kansere karşı etnomedikal olarak tanınmaktadır (Adewole ve Ojewole 2009). Buna ek olarak, anti-inflamatuar, hipoglisemik, sedatif, düz kas gevşetici, hipotansif ve antispazmodik etkiler *A. muricata*'nın yaprakları, kabuğu ve kökleri ile de ilgili olduğu belirtilmektedir (Adewole 2009).

2.1.2. *Annono muricata* L., (Graviola) ile İlgili Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Yapılan literatür çalışması sonucunda, Graviola meyvesi (*A. muricata* L.) üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarını aşağıdaki gibi özetleyebiliriz;

Farklı *Annona* çeşitlerinin yapraklarının serbest radikal giderme etkilerini DPPH, ABTS metodları ile karşılaştıran araştırmacılar, *A. muricata* yapraklarının etanol ekstratlarının daha yüksek serbest radikal giderme etkilerine karşılık, lipid peroksidasyonunu engelleme etkilerinin düşük olduğunu ortaya koymuşlardır (Baskar ve ark. 2007).

Correa-Gordillo ve ark. (2012), *A. muricata* meyvesinin meyve pulpunda ABTS, FRAP ve ORAC yöntemleriyle belirledikleri antioksidan aktivite çalışmalarında, antioksidan bileşiklerin esas olarak lipofilik olduğunu göstermektedirler.

Silva ve ark.'nın (2014) Brezilya'da yetişen 12 çeşit tropikal meyvenin biyoaktif bileşenlerinin saptandığı çalışmada, soursop meyvesinin fenolik madde miktarının pulpta 2886.60 mg GAE/100 g ve kabukta 1439.63 ± 22.32 mg GAE/100 g ile en yüksekler arasında dördüncü sırada olduğunu açıklamışlardır. Ekstraksiyonlar etanol kullanılarak yapılmış, bu çalışmada çekirdek ele alınmamıştır.

Jiménez ve arkadaşları, 2014 yılında soursop meyvesine gittikçe artan bir ilgi olmasına karşılık, fitokimyasal kompozisyonu bakımından meyve pulpunun ayrıntılı bir şekilde araştırılmadığını, yalnızca yaklaşık besin içeriği ve isoquinoline alkaloidler ile ilgili

çalışmalar olduğunu saptadıktan sonra yürüttükleri araştırmada, HPLC–DAD–MS yöntemini kullanarak, meyve pulpunda yüksek oranda sinamik asit ve p-kumarik asit bulmuşlardır. Araştırmacılar bu bileşiklerinin meyvenin antioksidan aktivitesine katkı sağladığını açıklamışlardır.

DRSA, FRAP ve HRSA testleri uygulayarak karşılaştırıldığı *A.muricata* yapraklarının su ve metanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin karşılaştırdığı çalışmada, metanol ekstralarının daha yüksek radikal giderme aktivitesine sahip olduğu ve su ekstraları aktivite göstermemesine karşılık metanol eksterelerin DNA koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (George ve ark. 2015).

Afrika’da yetişen *A.muricata* meyve pulpunda DPPH yöntemiyle yüksek antioksidan aktivite saptanırken (% 75.37), fitokimyasal bileşenlerden tannin, saponin, flavanoid ve kumarinler ile kardiyak glikozitler olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan araştırmacılar meyvenin steroller, alkaloidler, triterpenoidleri ise içermediklerini açıklamışlardır. Sterollerin yokluğu Adewole and Ojewole (2008) ile benzerlik gösterirken alkaloidlerin yokluğu EFSA, 2009’nın raporuna ters düşmüştür (Boakye ve ark. 2015).

Adefegha ve ark. (2015), Nigeria’da yetişen *A.muricata*’nın farklı meyve kısımlarından elde ettikleri su ekstralarında, antidiabetik, antihipertansif ve antioksidan özellikler ile fenolik made içeriği arasında güçlü bir korelasyon olduğunu açıklamışlardır. Araştırmacılar kabuktaki antioksidan aktivitenin pulp ve çekirdekten daha yüksek olduğunu belirtmektedirler.

Altı tropikal meyvenin (kapundung, matoa, papaya, rambai salak ve soursop) kabuk ve çekirdek ekstraktları arasında Matoa kabuğu ve soursop kabuğundan elde edilen ekstraktların, bu tropikal meyvelerin yan ürünleri açısından en umut verici antioksidan kaynağı olduğu gösterilmiştir. Ekstraksiyon, çözücü asetonitril ile birlikte sodyum klorid, trisodyum sitrat dehidrat, disodyum hidrojen sitrat seskihidrat ve magnezyum sülfat kullanarak uygulanmıştır (Fitri ve ark. 2016).

2.1.3. *Annono muricata* L. (Graviola) ile İlgili Uçucu Bileşik Çalışmaları

McLeod ve Pieris (1981), yaptıkları çalışmada *A. muricata*’nın meyve pulpundaki uçucu bileşikleri araştırmışlar ve Metil hekzanoat, Metil (E)-2-hekzenoat, Metil (E)-2-bütenoat, Metil (E)-2-oktenoat ve Hekzanol bileşiklerini temel bileşikler olarak saptamışlardır.

Malezya'da yetişen *A. muricata*'nın meyve pulpundaki uçucu bileşik kompozisyonu üzerine yapılan çalışmada, Metil (E)-2-hekzenoat, Metil (E)-2-butenoat, (Z)-3-hekzanol, Linalool, Metilnikotinat, Metil-2-hidroksihekzenoat, Metilbutenoat, Metilhekzenoat, Etilhekzenoat ve Metil-2-hidroksi-3-metilpentanoat tanımlanan uçucu bileşiklerdir (Wong ve Khoo 1993).

Pelissier ve arkadaşları (1994), yaprak ve meyve pulpundaki uçucu bileşik kompozisyonunu GC-MS ile tayin etmişler ve 59 uçucu bileşik tanımlanmıştır. Yaptıkları çalışmada, yaprak yağından başta β -karyofilen (% 31.4), σ -kadinen (% 6.7), α -muurolen (% 5.5), α -kadinol (% 4.3) ve bazı seskiterpenler bulunmuştur. Meyve yağındaki temel bileşikler ise, alifatik asitler, esterler ve Metil (E)-2-hekzenoat bileşiğidir.

Boyom ve arkadaşları (1996), *A.muricata*'nın yaprakları ve tohumlarındaki uçucu bileşik kompozisyonunu incelemişlerdir. β -karyofilen veya (E)-karyofilen (% 40) bileşiklerinin yapraklarda baskın olduğunu bulurken, α -fellandren (% 25) bileşiğinin tohumlarda baskın olduğunu gözlemişlerdir.

Sausa ve arkadaşları (2004) *A.muricata* meyvesinde, alkaloidlerin (retikulin, koreksimin, kokların ve anomurin) ve uçucu yağ kompozisyonunu (β -karyofillen, σ -kadinen, epi- α -kadinol ve α -kadinol) tespit etmişlerdir.

Benin'de yetişen *A.muricata* 'nın yaprak yağını su buharı destilasyonu yaparak gerçekleştirilen çalışmada, GC-MS cihazında uçucu bileşik kompozisyonunu tayin etmişlerdir. GC-MS kullanılarak, 80 bileşiğin varlığı gözlenmiştir. En yüksek oranda bulunan bileşikler β -karyofilen (% 13.6), σ -kadinen (% 9.1), epi- α -kadinol (% 8.4) ve α -kadinol (% 8.3) olarak saptanmıştır (Kossouoh ve ark. 2007).

Jirovetz ve arkadaşları (1998), Kamerun'da yetişen *A.muricata* L. meyvesinin taze meyve pulpunda, uçucu bileşikleri GC/FID ve GC/MS ile araştırdıkları çalışmada, ana bileşikler olarak Metil 2-heksenoat, Etil 2-heksenoat, Metil 2-oktenoat ve Metil 2-bütenoat ile alifatik asitlerin esterlerinin baskın olduğu 50'den fazla bileşik tanımlanmıştır.

Cheong ve arkadaşları (2010), Malezya'daki süper marketlerden alınarak analize tabi tutulan meyvelerde katı faz mikro ekstraksiyon (HS-SPME) ve Gaz Kromatografisi (GC-TOFMS) yöntemini kullanarak, *A.muricata* L. meyvesinin uçucu bileşiklerini tayin etmişlerdir. Analiz sonucunda 37 uçucu bileşik tanımlanmıştır.

Bicas ve arkadaşları (2011), *A.muricata* L. meyvesinin taze meyve yağlarında, mono ve seskiterpenleri (α -karyofilen, 1,8-sineol, linalol, (R)-terpineol, Linalil propiyonat ve Salyen gibi) temel bileşikler olarak, yüksek konsantrasyonda bulmuşlardır.

Marquez ve arkadaşları (2011), Kolombiya'da yetişen *A.muricata* L. meyvelerinin fizikokimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Ayrıca, uçucu bileşiklerini katı faz mikro ekstraksiyon (HS-SPME) ve Gaz Kromatografisi (GC-MS) yöntemini kullanarak tayin etmişlerdir. Analiz sonucunda 27 uçucu bileşik tanımlanmıştır.

2.2. Antioksidanlar ve Etki Mekanizması

Organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çevresel ajanlar (pestisidler, aromatik hidrokarbonlar, toksinler, çözücüler vb.), stres, radyasyon gibi çeşitli dış faktörlerin etkisiyle serbest radikaller meydana gelmektedir. Radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren kimyasal yapılardır. Kısa ömürlü, kararsız ve reaktif maddelerdir. Serbest radikallerin en önemlileri süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), singlet oksijen (1O_2) ve radikalik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) olup “reaktif oksijen türleri (ROT)” olarak bilinirler (Halliwell ve Gutteridge 1990).

Serbest radikaller, biyolojik sistemlerde en sık elektron transferiyle meydana gelir, pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilir. Biyolojik sistemlerde serbest oksijen moleküllerinin yanı sıra Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} gibi inorganik moleküller de vardır. Bunlar ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmez, fakat reaksiyonları katalizleyerek serbest radikal oluşumunda önemli rol alırlar (Akkuş 1995).

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli meydana gelmektedir. Serbest radikaller nötralize edilmediklerinde, vücutta hücre membranının, lipit ve proteinlerini yok ederek, hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını yıkarak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak yoluyla ciddi hasarlara neden olabilirler (Serteser ve Gök 2003).

2.2.1. Antioksidanlar

Doğal bitkisel kaynaklarından aldığımız antioksidanlar; serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip olan moleküllerdir (Elliot 1999). Hidrojen atomu verme kabiliyetine sahip kimyasal bileşenler olan antioksidanlar, böylelikle, birincil radikalleri radikal olmayan kimyasal türlere çevirerek,

okside olmuş antioksidan radikaller oluştururlar. Antioksidanların molekül yapısı sadece hidrojen atomu verme açısından değil, aynı zamanda radikalleri düşük reaktiviteli hale getirip lipitler ile reaksiyona girmesini engellemesi açısından da oldukça uygundur (Madhavi 1996).

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır (Gökalp ve ark 2002). Doğal antioksidanlar, endojen (organizma tarafından sentezlenen) ya da ekzojen (dışarıdan besinlerle alınan) yapılardır. En önemli kaynağı meyve sebzeler olan bitkisel antioksidanlar, anormal hücre çoğalmalarını engelleyen ve oksidasyondan dolayı zarar gören hücreleri koruyan bir görev üstlenirler (Brown 1999). Bu bileşikler gıda kökenli antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit gibi), antioksidan enzimler (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi), metal bağlayıcı proteinler (ferritin, albümin, laktoferrin, seruloplasmin gibi) ve bitkilerde yaygın şekilde bulunan çeşitli antioksidan fitonutrientlerdir (Becker ve ark. 2004).

Antioksidanlar doğrudan metabolizmada etkin olabildiği gibi beslenme yoluyla da alınabilirler. Bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Meyve ve sebzeler, baharatlar, bitkisel çaylar ve yağlı tohumların içermiş oldukları antioksidan bileşikleri pek çok çalışmaya konu olmuş ve antioksidan etkilerinin fenolik bileşiklerden ve özellikle de flavonoid yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir (Diri 2006). Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoidlerdir. Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin proteini de antioksidan özellik gösterirler (Diri 2006).

Bitkilerde çeşitli antioksidan bileşikler meydana gelmektedir (Ak 2006). Bu nedenle, sebze ve meyveler birçok doğal antioksidan bileşik içerirler (Cao ve ark., Wang ve ark. 1996). Bu antioksidan bileşikler, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve Hudson 1990). Karotenoidler, fenoller, vitaminler, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitler başlıca doğal antioksidanlardır. Bitki türevli antioksidanlar peroksit parçalayıcı, singlet ve triplet oksijen kuençeri, serbest radikal gidericisi, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak görülürler (Larson 1988). Yapılan araştırmalarda bol miktarda sebze ve meyve tüketilmesi sonucunda, hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında önemli ölçüde azalmalar olduğu belirtilmiştir (Ak 2006).

Antioksidan bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını serbest radikallere vererek onları nötralize etmeleri ve bu esnada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao 2000).

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor 2001). Canlılarda gerçekleşen tüm fizyolojik süreçler; oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve doku fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir. Antioksidan maddeler dokularda doğal olarak bulunur ve farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenler. Ayrıca, antioksidan maddeler veya antioksidan savunma sistemlerinde bulunan bazı bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir yetersizlik, farklı hastalık türlerini meydana getirebilir (Cuttler ve Pryor 1984).

2.2.2. Antioksidanların Etki Mekanizması

Canlı organizmalar, serbest radikallerin etkisinden korunmak için, antioksidatif koruma sistemine sahiptir (Bilaloğlu ve Harmandar 1999). Bu koruma sisteminde antioksidanlar dört ayrı şekilde radikallere etki ederler (Türkyılmaz 2003).

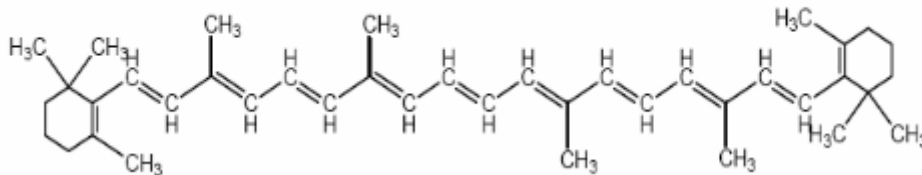
- Toplayıcı etki (scavenging effect)
 - Bastırıcı etki (quencher effect)
 - Zincir kırıcı etki (chain breaking effect)
 - Onarıcı etki (repair effect)
-
- **Toplayıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
 - **Bastırıcı Etki:** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
 - **Zincir Kırıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
 - **Onarıcı Etki:** Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**. Hücredeki çeşitli enzimatik tamir mekanizmaları onarıcı etki gösterir (Akkuş 1995).

2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirdiği gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılabilir. (Akkuş 1995, Seven ve Candan 1996). Vücudumuzdaki antioksidan savunma sisteminde yer alan başlıca elemanlar; enzimler, suda ve yağda çözünen radikal tutucular ve metal iyonlarını bağlayan proteinlerdir (Halliwell 1994, Percival 1998).

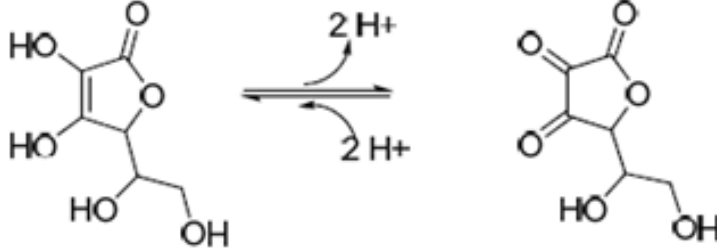
2.3.1. İnsan Vücudunda Sentezlenmeyen Yağda ve Suda Çözünen Önemli Doğal Antioksidanlar

Karotenoidler: 5 karbonlu sekiz izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle 40 karbonlu merkezi bir iskeletten oluşur (Ötleş ve Atlı 1997, Acar 1998). Karotenoidler hemen hemen tüm yüksek bitkilerde, pek çok mikroorganizmada, kırmızı ve yeşil alglerde, fotosentetik bakterilerde, mantarlarda ve hayvanlar aleminin bütün familyalarında değişik miktarlarda bulunan, onlara sarı-kırmızı tondaki doğal renklerini veren pigmentlerdir (Ötleş ve Atlı 1997, Uylaşer 2000). Karotenoid bileşikler sadece buldukları ürüne renk vermekle kalmayıp, güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğundan ve bir kısmı provitamin A aktivitesi gösterdiğinden araştırmacıların ilgisini uzun zamandır çekmekte ve yoğun bir şekilde araştırılmaya devam edilmektedir (Ötleş ve Atlı 1997, Handelman 2001). En yaygın bulunanlarda β -karoten (Şekil 2. 4), lipid peroksidasyonlarına karşı lizozomları koruma yeteneğindedir (Woodall 1997). Likopenin antioksidan özelliği tekli oksijen yakalayıcı, süpürücü görev yapmasından ve dolayısıyla hücreleri oksidatif strese karşı korumasından gelir. İndirgenmeden önce bir molekül likopen binlerce tekli oksijen molekülü bağlayabilir (Krinsky 1988).



Şekil 2. 5. β -Karotenin yapısı

C Vitamini (Askorbik asit): C vitamini güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. İnsanda hastalıklara yol açabilecek potansiyele sahip birçok radikal türünü (süperoksit, hidroksil radikali, peroksil radikaller gibi) okside edebilmektedir (Buettner 1993) (Şekil 2.5).



Şekil 2. 6. Askorbik asitin dehidro askorbik asite dönüşümü

Sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipidlerine difüze olmadan tutar ve bu şekilde lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Membranlarda oluşan α - tokoferol radikali ile reaksiyona girerek α - tokoferolün rejenerasyonunu sağlar (Halliwell 1994, Akkuş 1995). Askorbik asidin yüksek konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesinin yanında, düşük konsantrasyonlarda prooksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Geçiş metalleri varlığında demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonu ile \bullet OH radikali oluşumuna katkı sağlar. Sağlıklı organizmada geçiş metal iyonları proteinlere bağlı bulduklarından, bu durum in vivo koşullarda çok sınırlıdır ve askorbik asidin antioksidan özelliği prooksidan özelliğinden daha baskındır (Halliwell 1994). Askorbik asidin N-nitroso bileşiklerin oluşumunu inhibe ederek kanseri önlediği ve bağışıklık sistemini uyardığı ileri sürülmektedir (Koca ve Karadeniz 2005).

α -Tokoferol: E vitamini eksojen kaynaklı en önemli lipofilik antioksidandır. Yapısında fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka bulunmasından dolayı antioksidan aktiviteye sahiptir (Akkuş 1995). Lipofilik özelliğinden dolayı lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranlarının ve plazma lipoproteinlerinin en önemli zincir kırıcı antioksidanıdır. Peroksil radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Akkuş 1995, Seven ve Candan 1996). E vitamini, serbest radikal ve tekli oksijen tutucu olarak görev yapan çok aktif bir yapıdadır. Ultraviyole, radyasyon gibi serbest radikal üreten faktörlere karşı cildi korur (Di Mambro ve ark 2003).

Fenolik Bileşikler: Polifenoller veya fenolik bileşikler hemen hemen tüm meyve ve sebzelerde az veya çok miktarda bulunan genel olarak, fenolik asitler ve flavonoidler olarak

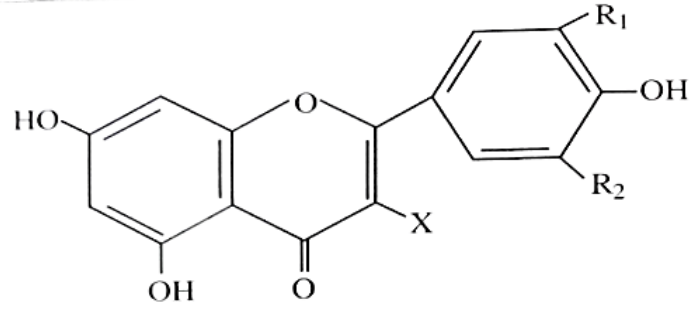
sınıflandırılan bileşiklerdir (Neo ve ark. 2010). Beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle biyoflavonoid ve kılcak dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kan basıncı düşürücü etkisi göz önüne alınarak P faktörü (Permeabilite Faktörü) veya P vitamini adı da verilmektedir. Polifenollerin antioksidan aktivitesi serbest radikalleri bağlama kapasitesi veya demiri indirgeme gücüne dayanmaktadır (Pulido ve ark. 2000). Fenolik bileşikler genel olarak iki sınıfta incelenirler (Cemeroğlu 2004). Genel olarak çeşitli kaynaklarda aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır.

Tablo 2. 1. Polifenollerin Sınıflandırılması

Flavonoidler	
• Flavonlar	
• İzoflavonlar + İzoflavlar	
• Flavononlar	
• Flavonoller	
- <i>Monomerler</i>	~ <i>Kateşinler</i>
- <i>Polimerler</i>	~ <i>Proantosiyanidinler</i>
	~ <i>Yoğunlaşmış Tanenler</i>
	~ <i>Theaflavinler</i>
	~ <i>Thearubiginler</i>
• Antosiyanidinler	
• Kalkonlar + Dihidro Kalkonlar	
Stilbenoidler	
- <i>Polihidroksillenmiş Stilbenler</i>	~ <i>Resveratrol Analogları</i>
Fenolik Asitler	
• Hidroksisünamik asit	~ <i>Ferulik Asit</i>
	~ <i>Kafeik Asit</i>
	~ <i>o-Kumarik Asit</i>
	~ <i>p-Kumarik Asit</i>
• Hidroksibenzoik asit	~ <i>Salisik Asit</i>
	~ <i>m-hidrobenzoik asit</i>
	~ <i>p-hidrobenzoik asit</i>
	~ <i>gallik asit</i>
	~ <i>vanilik asit</i>

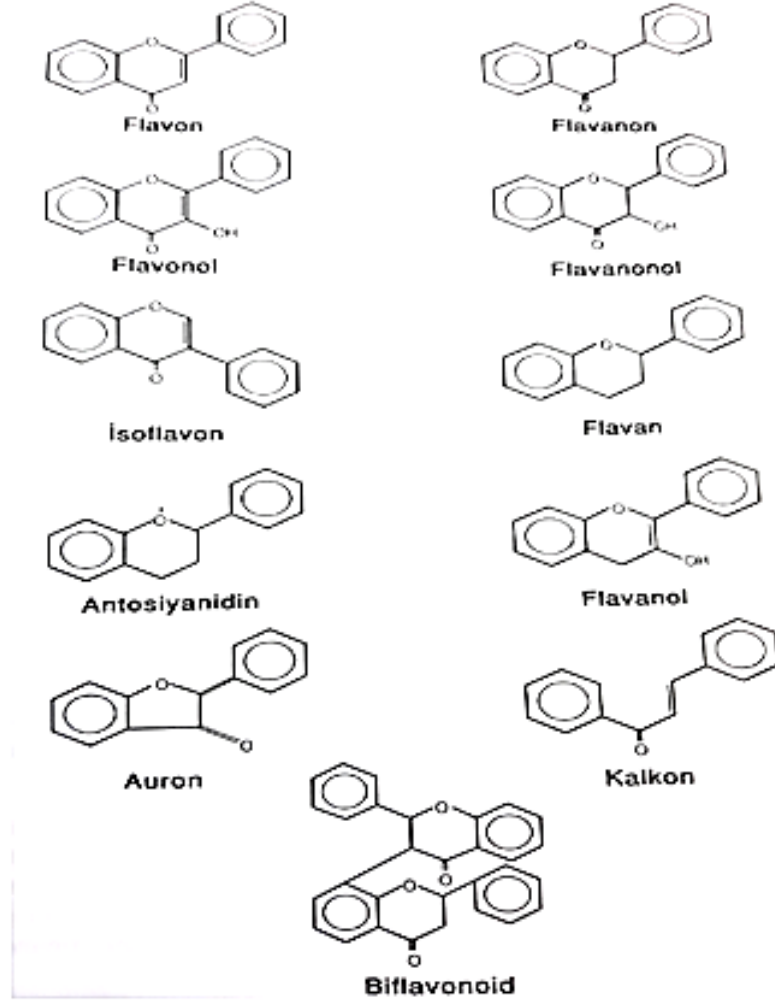
Flavonoidler: Bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenolik bileşiklerdir. Günümüzde bitkilerden izole edilen 4000'den fazla flavonoid mevcuttur. Halka yapılarına göre flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, kateşinler ve izoflavonoidler olarak sınıflandırılır (Bilaloğlu ve ark. 2000). Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin $O_2^{\cdot-}$, lipid alkoksil (RO^{\cdot}), lipid peroksil (ROO^{\cdot}) ve NO^{\cdot} radikallerini temizleme, Fe ve Cu şelatlama, α -

tokoferol rejenerasyonu gibi fonksiyonlara katıldığı da bildirilmiştir (Miller ve Luiz-larrea 2002, Ross ve Kasum 2002, Rice-Evans 1999) (Şekil 2. 7).



Flavonol'ler: X=OH	Bağlanan gruplar		Flavon'lar: X=H
	R ₁	R ₂	
Kamferol	H	H	Apigenin
Kuersetin	OH	H	Luteolin
Mirisetin	OH	OH	–
İsoramnetin	OCH ₃	H	Krisoeriol
–	OCH ₃	OCH ₃	Trisin

(a) Flavonoller ve flavononların kimyasal yapıları (Mairer ve ark. 1990)

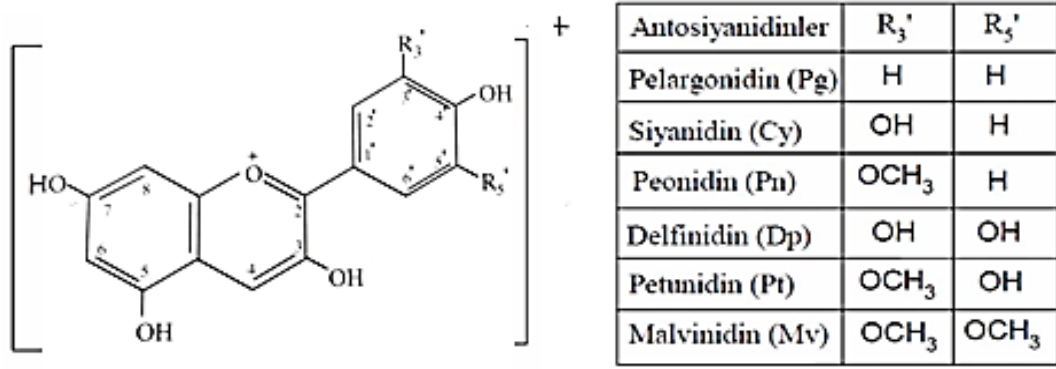


(b) Flavonoidlerin temel yapıları (Middleton ve Kandaswami 1994, Cemeroğlu 2011)

Şekil 2. 8. (a) Flavonoller ve flavanonların kimyasal yapıları, (b) Flavonoidlerin temel yapıları

Flavonoid ve fenolik antioksidanlar anomerik hidroksil grubundan lipid radikallerine bir hidrojen atomu vererek lipid oksidasyonunu engeller (Cotelle ve ark. 1996, Çimen 1999).

Antosiyanidinler: Antosiyaninler, bağlanan şekerlere ve bağlanma pozisyonuna göre adlandırılırlar. Antosiyaninler meyve, sebze, çiçek ve diğer bitkilere pembeden mora kadar değişen renk veren, suda çözünebilir doğal pigmentlerdir. Hücre sitoplazmasında glikozit formda bulunmakta olup bazı şekerler ve şeker olmayan (aglikon) maddelerden meydana gelmiştir. Aglikon kısmını antosiyanidinler oluşturmaktadır. Antosiyanidinler $C_6-C_3-C_6$ şeklinde, temel yapı gösteren flavonoid grubu maddelerin bir alt grubuna dahildir. Genel formüle farklı grupların bağlanmasıyla değişik antosiyanidinler oluşmaktadır (Şekil 2.7).



Şekil 2. 9. Flavilium Katyonu (Jackman ve ark. 1987, Cemeroğlu 2011)

Fenolik Asitler: Fenolik asitler, aromatik karboksilik asitlerin hidroksi türevleridir. Bunlar aromatik zincirler üzerindeki hidroksil karbonların pozisyonları ve sayılarındaki fark nedeniyle yapısı içinde değişiklik gösterebilirler. Doğal olarak meydana gelebilen bu bileşikler; serbest radikallere ve diğer reaktif oksijen türlerine karşı güçlü antioksidan etki gösterirler (Yu ve ark. 2002, Tohma ve ark. 2017).

Hidroksibenzoik Asitler: Hidroksi benzoik asitler C₆-C₁ yapısına sahiptir. En önemli hidroksibenzoik asitler quinikasit, gallik asit, 4-hidroksibenzoik asit gibi bileşiklerdir. Meyvelerde ise en yaygın bulunan hidroksibenzoik asitler; kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asitlerdir (Cemeroğlu 2011).

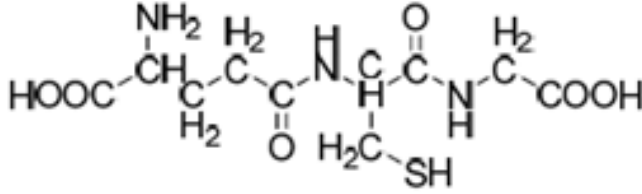
Hidroksisinamik Asitler: Hidroksisinamik asitler ise C₆-C₃ yapısına sahiptirler. En yaygın sinamikasit türevleri kafeikasitin quinikasit ile yaptığı ester olan klorejenik asittir. Meyvelerde sinamik asitler D-kuenik asit veya glikoz ile esterleşmiş halde bulunmaktadır. Ayrıca malik asit ve tartarik asit esterleri halinde de bulunurlar (Cemeroğlu 2011).



Hidroksisinamik asitler	Bağlanan gruplar ve konumları	Hidroksibenzoik asitler
o-kumarik asit	2-OH	Salisilik asit
p-kumarik asit	4-OH	p-hidroksibenzoik asit
-	2,5-di-OH	Gentisik asit
Kafeik asit	3,4-di-OH	Protokateşuik asit
Ferulik asit	3-OCH ₃ , 4-OH	Vanilik asit
-	3,4,5-tri-OH	Gallik asit
Sinapik asit	3,5-di-OCH ₃ , 4-OH	Siringik asit

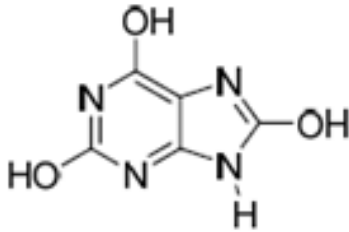
Şekil 2. 10. Başlıca hidroksisinamik ve hidroksibenzoiklerin yapıları (Maier ve ark. 1990, Cemeroğlu 2011)

Glutasyon (G-SH): Organizmanın tüm hücrelerinde bulunan glutamikasitsistein–glisinden oluşan bir tripeptittir. Aminoasitlerin hücre içine taşınması görevinden başka, çeşitli metabolik fonksiyonları vardır (Onat ve ark. 2002). Suda çözünen önemli bir antioksidandır. H₂O₂, disülfidler, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir ve böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Şekil 2. 11).



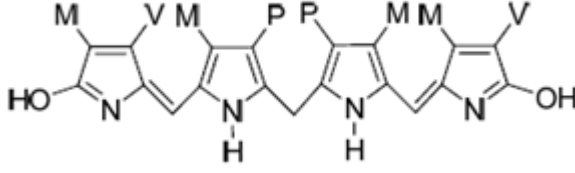
Şekil 2. 12. Glutasyon (G-SH) Yapısı

Ürik asit: Purin metabolizmasının son ürünü olan ürat plazmada bulunan ve suda çözünen bir maddedir. Normal plazma konsantrasyonlarında bulunan ürat (160-450 µM/L) hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni giderir. Fakat lipid radikalleri üzerinde etkisizdir (Akkuş 1995). Ürik asidin plazmada askorbik asidi stabilize etme fonksiyonu direk antioksidan aktivitesinden daha önemli bulunmaktadır (Keaney ve Frei 1994) (Şekil 2. 13).



Şekil 2. 14. Ürik asit yapısı

Bilirubin: HEM metabolizmasının memelilerdeki son ürünlerinden biri olan bilirubin ürat ve askorbat ile birlikte plazmanın üç temel antioksidanından biridir (Stryer 1995, Seven ve Candan 1996). Suda çözünen peroksitlere karşı koruma sağlamada askorbat kadar etkilidir. İn vitro koşullarda düşük konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Yeşilkaya ve ark. 1998) (Şekil 2. 11).



Şekil 2. 15. Bilirubin yapısı

Melatonin: Melatonin immünite, uyku, üreme ve sirkadien ritmin (yaz-kış, uzun gün-kısa gün, aydınlık-karanlık döngüsünün) düzenlenmesi gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol oynayan bir hormondur (Reiter 1998). Literatürde ilk kez antioksidan etkili olarak 1991’de yer almış ve daha sonra in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir. •OH, H₂O₂, ¹O₂, HOCl, NO•, ONOO⁻ gibi serbest radikalleri detoksifiye ettiği bilinmektedir. Hem suda hem lipid fazda çözünebildiğinden, geniş bir alanda antioksidan aktivite gösteren güçlü bir antioksidandır (Yazıcı ve Köse 2004).

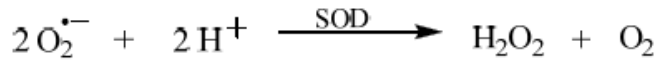
α-Lipoik Asit: Kükürt içeren, endojen bir antioksidandır. •OH radikali ve H₂O₂’i nötralize eder. Hem lipid hem sulu fazda serbest radikalleri giderir. Prooksidan metalleri şelatlayarak da antioksidan etki gösterebilir (Scott ve ark. 1994, Packer ve ark. 1995, Percival 1998).

2.3.2. Metal iyonlarını bağlayan proteinler

Geçiş metallerinin önemi; oksidan hasarını dolaylı yoldan hızlandırmalarıdır. Demir ve bakır iyonları in vivo koşullarda bazı az reaktif bileşiklerin çok kısa sürede daha reaktif şekillerine dönüşmelerini sağlayabilirler. Bu yüzden organizmada taşıyıcı protein ve depo proteinlerine bağlı halde tutulurlar (Halliwell 1994, Onat ve ark. 2002). Vücuttaki demirin 2/3’ü hemoglobinde, az bir kısmı miyoglobinde, çeşitli enzimlerde, demir taşıyıcı protein transferrinde ve kalan kısmı da ferritindedir. Ferritin dokulardaki demiri bağlayıp depolar. Laktoferrin ve transferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar. Albümin miyoloperoksidaz kataliziyle oluşan HOCl’nin giderilmesinde etkilidir, ayrıca bakırını da bağlar (Halliwell ve Gutteridge 1990).

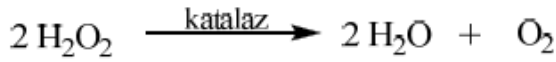
2.3.3. Enzimler

Süperoksit dismutaz (SOD): Serbest radikallere karşı canlıdaki ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktadır (Şekil 2. 16). Süperoksidin daha az toksik olan H₂O₂'ye dönüşümünü sağlar. SOD enzimi H₂O₂ ürettiği için H₂O₂ uzaklaştırıcı enzimler ile işbirliği içinde çalışır (Halliwell 1994, Akkuş 1995, Seven ve Candan 1996).



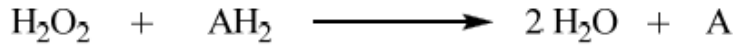
Şekil 2. 17. SOD enzimi ile süperoksidin hidrojen peroksite dönüşümü

Katalaz: Tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, özellikle peroksizomlarda lokalize dört alt birimden oluşan bir hemprotendir. H₂O₂'nin yıkılmasını sağlar. H₂O₂ oluşum hızının yüksek olması durumunda indirgeyici aktivite gösterir (Şekil 2.13).



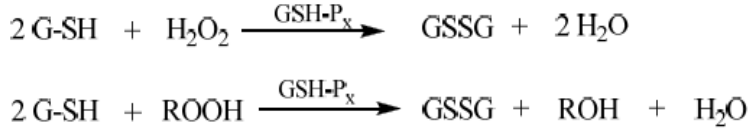
Şekil 2. 18. Katalaz enzimi ile hidrojen peroksit yıkımı

H₂O₂ oluşum hızının düşük olduğu veya yüksek konsantrasyonlarda elektron vericisi bulunduğu durumlarda peroksidatif aktivite gösterir (Murray ve ark. 1996, Onat ve ark. 2002).



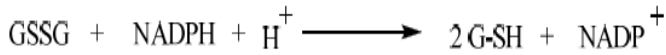
Şekil 2. 19. Katalaz enziminin peroksidatif etkisi

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): Normal koşullarda katalaz ve glutasyon peroksidaz hücrenin farklı yerlerinde yerleşmiş olmalarından dolayı, karaciğerde endojen oluşan H₂O₂ seviyesini düzenlemede birlikte etkinlik gösterirler. Hücrede bulunan H₂O₂'in detoksifikasyonundan esas olarak GSH-Px sorumludur. Lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özellikte olan bir enzimdir (Seven ve Candan 1996) (Şekil 2.15).



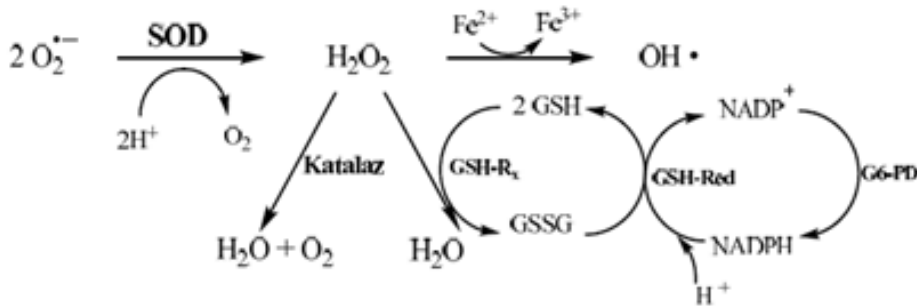
Şekil 2. 20. Glutasyon peroksidaz etki mekanizması

Glutasyon Redüktaz (GSH-Red): GSH-Red prostetik grubu flavin adenin dinükleotid (FAD) olan dimerik yapıda sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir. NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler (Halliwell 1994) (Şekil 2. 21).



Şekil 2. 22. Glutasyon redüktaz'ın etki mekanizması

Glutasyon-S-Transferazlar (GST): GST her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim grubudur. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Antioksidan savunma mekanizması açısından önemleri yabancı maddelerin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunda önemli rol oynamaları ve başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi göstermeleridir (Akkuş 1995, <http://www.mustafaaltinisik.org> Ocak 2007) (Şekil 2. 23).



Şekil 2. 24. GST'nin etki mekanizması

2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Bitkisel ürünlerin farklı antioksidan içeriklerinden dolayı, hücre içinde de birbirinden farklı tepkimeler oluşmaktadır. Bundan dolayı gıdaların toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde tek bir yöntem değil çok sayıda yöntem kullanılmaktadır (Pellegrini 2003). Bu yöntemlerle belirlenen kısaca, standart bir antioksidan maddeye göre gıdanın serbest radikali bağlama veya oksidasyonu durdurma gücüdür (Pokorny 2001). Çeşitli araştırmacılar antioksidan aktivite çalışmalarında total antioksidan “kapasite” veya “etkinlik” , “güç”, “parametre”, “potansiyel”, “potens” ve “aktivite” terimlerini kullanmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından önemle antiradikal ve antioksidan aktivite arasındaki fark olduğu vurgulanmaktadır (Tirzitis ve Bartosz 2010, Moharram ve Youssef 2015). Antiradikal aktivite, bileşiklerin serbest radikal ile reaksiyona girme kabiliyetini karakterize ederken, antioksidan aktivite, oksidasyon işlemini inhibe etme kabiliyetini ortaya koymaktadır. Benzer açıklamalara göre antioksidan aktivite ve antioksidan kapasite terimleri birbiri yerine kullanılmakla birlikte farklı anlamlara sahiptirler. Aktivite, spesifik bir antioksidan ve oksidan arasındaki reaksiyonun hız sabitini kapsar. Kapasite, bir numune tarafından süpürülen belirli bir serbest radikalin miktarının ölçüsüdür. Antioksidan kapasite ölçümleri, örneğin toplam süpürme kabiliyetini belirleyen, heterojen bir antioksidan karışımının miktarını verir. Her bir bileşenin antioksidan kapasitesini ölçmez (Büyüktüncel 2013).

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

- i) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
- ii) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT-esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantitasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT- esaslı yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur. ET esaslı yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zamanda reaksiyonu takip etmek için prob olarak kullanılır) ile redoks reaksiyonunu içerir. HAT ve ET esaslı yöntemler bir örneğin radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye yöneliktir. HAT reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğu azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanır. HAT analiz yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC)
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgeyiciinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılandırılır. ET esaslı analiz yöntemleri:

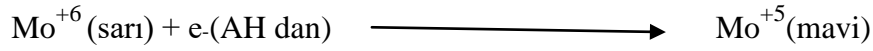
- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü
- d) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- e) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi olarak sıralanabilir.

Bu yöntemlerden FCR’ın antioksidanın indirgeme kapasitesinin belirlenmesinde ve ORAC’ın ise antioksidan radikal süpürücü kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması önerilmektedir (Lopez-Alarcon ve Lissi 2005). Yukarıda bahsedilen tüm yöntemlerin bir örneğin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması mümkün olmakla birlikte, örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği bu yöntemler arasında her zaman doğrusal ilişki oluşmasını engelleyebilir. Bu nedenle tek bir yöntem kullanarak bitkinin antioksidan kapasitesi hakkında karar vermek uygun olmayabilir. Antioksidan kapasitenin ölçümü için literatürde verilen yirmiden fazla yöntem vardır. Bitkilerin antioksidan kapasitelerinin tayini söz konusu olduğunda antioksidan aktivite seçilecek tayin yöntemine son derece bağımlıdır ve gözlenen antioksidan aktivite (veya kapasite) ile bitki ekstraktlarının total fenolik içeriği arasında tam bir korelasyon gözlenmeyebilir (Dorman ve ark. 2003, Trouillas ve ark. 2003, Miliauskasve ark. 2004).

2.4.1. Folin-Ciocalteu Yöntemi İle Total Fenolik Bileşik Tayini

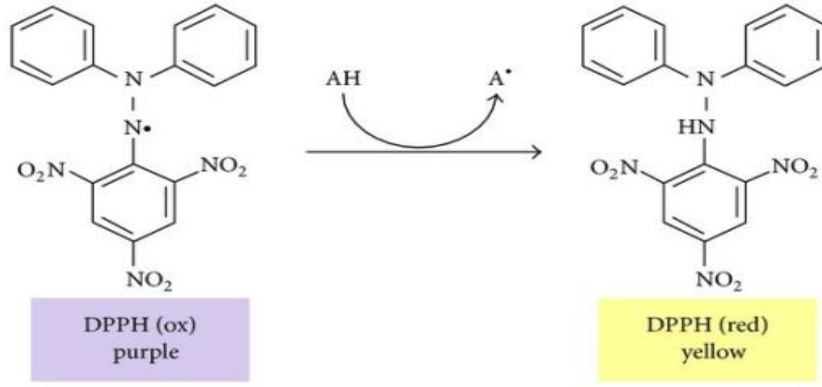
Bu yöntem 1965’de Singleton ve Rossi tarafından önerilmiş ve daha sonra farklı uygulayıcılar tarafından geliştirilmiştir. Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır (Singletonve ark. 1999). Yöntem test edilen materyalin reaktifin oksidasyonunu inhibe etmesi için gerekli miktarını ölçer (Vinson ve ark. 2005). Ancak bu reaktifin sadece total fenolik bileşik miktarını ölçmediği ve

örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin total indirgeme kapasitesini de ölçtüğü konusunda tartışma vardır (Ikawave ark. 2003). Buna rağmen Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir. Ayrıca bu reaktifin ilaç analizinde, idrar gibi biyolojik örneklerde (Rao ve ark. 1978), gıda ürünlerinde (Mogalhaes ve ark. 2006) fenolik bileşik düzeyi veya indirgeme kapasitesi ölçümleri için genişletilmiş veya modifiye edilmiş uygulamaları bulunmaktadır. Bu yöntemin esası, ortamda bulunan Mo(VI)'in ortama konan indirgeyici ajan tarafından Mo(V)'e indirgenmesi sonucu oluşan mavi-yeşil rengin spektrofotometrik olarak 765 nm'de ölçümü esasına dayanır (Öztürk ve ark. 2004).



2.4.2. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğini önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite çalışmalarının yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır. DPPH[•] radikali giderim aktivitesi tayini; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH[•] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. DPPH[•] radikali, birkaç kararlı organik azot radikalinden bir tanesidir ve koyu menekşe renktedir. Bu metod DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır. Metanolik DPPH[•] çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve absorbanstaki değişim spektrofotometrik olarak ölçülür. Daha fazla renk açılması, reaksiyon karışımının absorbanсында daha fazla düşme ile belirlenir ve daha yüksek radikal süpürme kapasitesi olduğunu gösterir (Ndhala ve ark. 2010).



Şekil 2. 25. DPPH[•] radikalinin reaksiyon ortamında pembeden sarı renge dönüşümü (Teixeira ve ark. 2013)

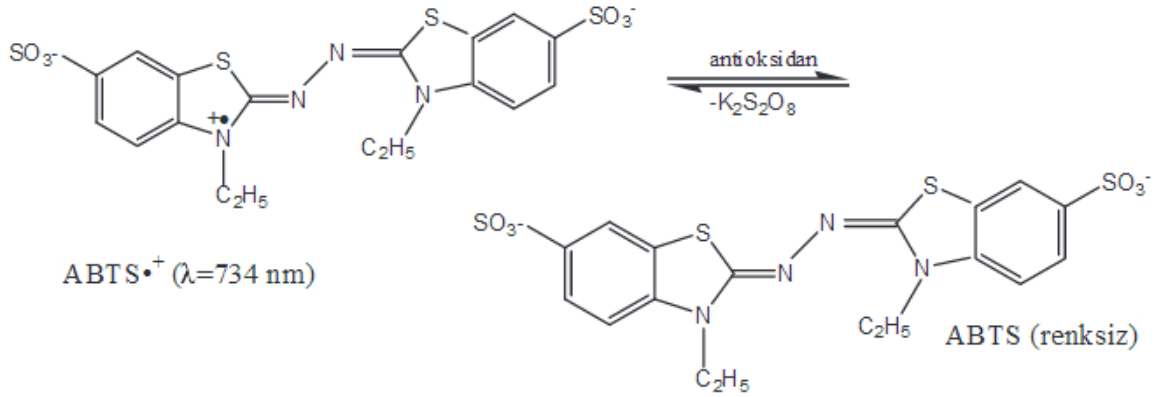
Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC₅₀ (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams ve ark. 1995).

DPPH yöntemi teknik olarak basit olmasına karşın bazı dezavantajları bulunmaktadır. Birçok antioksidan bileşik lipid peroksidasyonunda rol oynayan peroksil radikalleri ile çok hızlı tepkime vermektedir, ancak DPPH[•] ile yavaş tepkime vermektedir. Örneğin askorbik asit ile 1,15 dakika ve rutin ile 103 dakikada tepkime vermektedir. Sonuç olarak antioksidan kapasitenin doğru bir şekilde ifade edilemediği düşünülebilir. Ayrıca, DPPH[•] ile antioksidan bileşik arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile her zaman doğrusallık göstermediği de bilinmektedir (Molyneux 2004, Huang ve Prior 2005).

2.4.3. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Troloks [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], E vitamininin suda çözünür eşdeğeridir (Re ve ark. 1999). Troloks canlı sistemlerde doğal olarak bulunan bir bileşik olmamakla birlikte pek çok antioksidan aktivite tayin yönteminde standart olarak kullanılır. Genellikle belli bir derişim aralığında Troloks antioksidan olarak kullanılarak bir çalışma grafiği hazırlanır ve bilinmeyen antioksidanın aktivitesi bu grafikten Troloks eşdeğeri olarak okunur. TEAC yöntemi ilk defa Miller ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Daha sonra, Re ve ark. tarafından değiştirilmiş olan bu yöntem, gıda örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Kromojenik bir redoks radikali olan ABTS^{•+} [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) aynı zamanda kararlı bir radikaldir. Hem suda hem organik çözücülerde çözüldüğünden hem hidrofilik hem de

hidrofobik antioksidan aktivite tayininde kullanılabilir. 660, 734 ve 820 nm'de maksimum olan karakteristik uzun dalga boylu absorpsiyon spektrumu gösteren $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonun absorbansının antioksidan tarafından inhibisyonuna dayanmaktadır (Prior ve Cao 1999). Orijinal yöntemde hidrojen peroksit ile metmiyoglobinin aktivasyonu sonucu ferrimiyoglobin oluşur. Bu bileşik daha sonra 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'den $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun oluşmasına neden olmaktadır. Bu yöntemde test TEAC yöntemi, antioksidan varlığında çözeltideki $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin absorbansındaki azalmanın ölçülmesine dayanmaktadır. Bu yöntemde test edilecek örnek $ABTS^{\bullet-}$ radikalleri oluşumundan önce eklenir. Test bileşiği/örneği $ABTS^{\bullet+}$ radikallerinin oluşumunu azaltır (Magalhães ve ark. 2008) (Şekil 2.19).



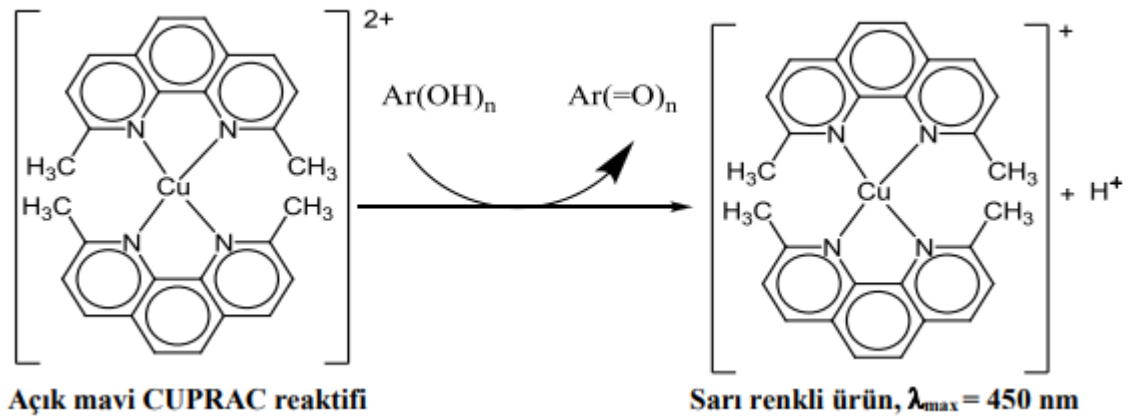
Şekil 2. 26. Mavi renkli 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikalinin persülfat ile oksidasyonu sonucu renksiz forma dönüşümü (Büyüktuncel 2013)

Re ve arkadaşları (1999) tarafından modifiye edilen TEAC yönteminde, ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu oluşmaktadır. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşturulmaktadır. Orijinal metotta ise antioksidan varlığında radikal meydana gelmektedir. Oluşan radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 gün dayanıklıdır. Geliştirilen metodun orijinal metottan farkı hem lipofilik hem hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolorizasyon (renk giderimi) yöntemi olmasıdır. TEAC metodunun diğer bir modifikasyonu, Van den Berg ve ark. (1999) tarafından geliştirilmiştir. Yöntemde antioksidanlar radikal oluşmasından önce eklenmektedir. Böylece radikal oluşumuna etki edecek bileşiklerin girişimini önlemektedir. Bu yöntemde de hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidan kapasitesi ölçülebilmektedir (Van den Berg ve ark. 1999). Diğer bir yenilik Arnao ve ark. (1998)

tarafından ortaya konulmuştur. Burada ABTS radikalinin oluşumunda “horse radish peroxidase” (HRP) enzimi kullanılmıştır. ABTS/ H₂O₂/ HRP enzimatik sistemi kullanılarak hidrofilik ve lipofilik antioksidan aktivitesi ölçülebilmektedir (Arnao ve ark. 1998).

2.4.4.(CUPRAC) Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi

Bu yöntem örnekte bulunan antioksidanlar (redükta) tarafından Cu (II)'nin Cu (I)'e indirgenmesini temel almaktadır (Şekil 2.20). Kromojenik ayıraç olan batokuproin (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10- fenantrolin), Cu (I) ile 2:1 oranında bir kompleks oluşturur. Bu kompleks 490 nm'de maksimum absorbansa sahiptir. İlk kez Apak ve çalışma arkadaşları tarafından uygulana bu yöntem kromojenik bir yükseltgen olan Cu(II)- neokuproin (Nc) reaktifi kullanılarak geniş alanda uygulanabilen bir antioksidan kapasite tayin yöntemi geliştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasite (TAC) tayininde kullanılan bu yöntem dünya literatürüne Cupric Reducing Antioxidant Capacity: CUPRAC (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) adıyla 2004 yılında kazandırılmıştır. Uygun konumlanmış fenolik hidroksiller, CUPRAC redoks reaksiyonu ile tekabül eden kinon yapılarına dönüşür ve bu redoks reaksiyonu sonucunda oluşan Cu(I)-Nc kelatı (Şekil 2.20), 450 nm'de maksimum absorbans verir. Yöntem çeşitlemeleri ile birlikte çok sayıda atıf almıştır ve dünyanın önde gelen gıda antioksidanları araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır (Apak ve ark. 2004, 2005).

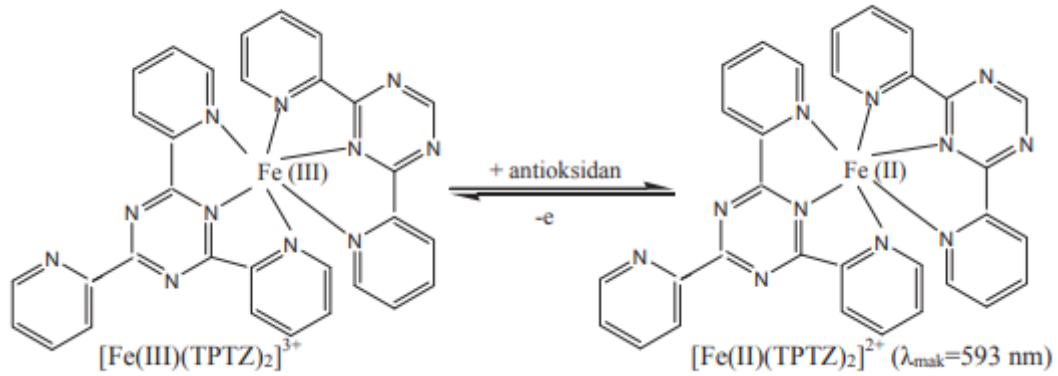


Şekil 2. 27. CUPRAC yönteminin kromojenik oksidasyon aracı olan Cu(II)-Nc reaktifinin antioksidanlarla (Ar(OH)_n) reaksiyonu sonucu Cu(I)-Nc renkli kelatının oluşumu (Apak ve ark. 2004)

Bu reaksiyonda, Ar(O)n hidroksi grubu içeren antioksidan polifenolden oluşan kinonu ifade etmektedir. Tepkime sonunda iki proton açığa çıkmakta ve Ar(OH)n yapısında bulunan hidroksil grubu kinon formuna dönüşmektedir. Cu(II)-Nc ise 450 nm’de maksimum absorbans veren şiddetli renk oluşumuyla birlikte Cu(I)-Ncn kelatına dönüşmektedir. Bu reaksiyonda, n-OH grubu içeren antioksidan karakterli bileşikler, 2n-e donörü olarak hareket etmektedir (Apak ve ark. 2004).

2.4.5. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP)

FRAP yönteminin avantajı elektron-transfer reaksiyonu olmasıdır. Burada Fe(III) tuzu, Fe(III)(TPTZ)₂Cl₃ (TPTZ=2,4,6-tripiridil s-triazin), oksidan olarak kullanılır. Fe(III) tuzu redoks potansiyeli (~70 V) ABTS•’nin redoks potansiyeli (0.68 V) ile benzerdir. Bu yüzden, TEAC ve FRAP yöntemleri arasında pek fark yoktur. TEAC yöntemi, nötral pH’da, FRAP yöntemi ise demirin çözünürlüğünü sağlamak için asidik koşullarda (pH 3.6) gerçekleştirilir. Düşük pH değerinde, Fe(III)- TPTZ kompleksi, Fe(II) formuna indirgenir (Şekil 2.21). Bu kompleks koyu mavi renklidir ve absorpsiyon maksimumu 593 nm’dir (Nilsson ve ark. 2005).



Şekil 2. 28. Fe(III)-TPTZ kompleksinin, Fe(II) formuna indirgenmesi (Büyüktuncel E, 2013)

2.4.6. β- karoten Renk Ağarma Aktivitesi (β- karoten- lineolik asit Sistemi)

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β-karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlenmiştir (Miller 1971). Bu metot linoleik asidin ısı ve hava oksidasyonuyla serbest

radikal zincir reaksiyonu sonucu oluşan peroksitler tarafından β -karotenin renk açılımının izlenmesi temeline dayanır (Wang ve ark. 2006). Bu sistem linoleik asidin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin, β -karotenin karakteristik sarı rengini tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik şekilde takip edilmesine bağlıdır (Eryiğit,2006). Reaksiyon sonunda çözeltide β -karotenin kaybolan sarı renginin absorbansı 470 nm'de spektrofotometrede ölçülür. Reaksiyon genellikle 50°C başlar. Ortamda antioksidanların bulunması linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötralize edilmesini sağlar ve sonucunda β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Yani daha yüksek absorbans, daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Bu yöntemin üstünlüğü hızlı, basit ve duyarlı bir yöntem olmasıdır (Koleva ve ark. 2002).

2.4.7.Uçucu Bileşiklerin Sınıflandırılması

Uçucu yağ, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, kolaylıkla kristalleşebilen genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, doğal bir üründür. Güzel kokulu olmasından dolayı esans ya da eterik yağda denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklıdır (Ceylan 1997).

Uçucu yağları değişik özelliklerine göre gruplara ayırmak mümkündür. Bunlar kimyasal bileşimleri, aromatik özellikleri, farmakolojik ve terapik etkileri göz önünde tutularak, terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşikler olmak üzere dört grupta incelenebilir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını ve terapik özelliklerini verirler. Uçucu yağlarda asıl önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevlerdir (Ceylan 1997).

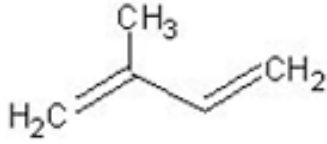
2.4.7.1.Uçucu Bileşiklerin Kimyasal Bileşimlerine Göre Sınıflandırılması

Uçucu yağlardaki çeşitli bileşikleri 4 grup altında toplayabiliriz (Ceylan 1997).

1. Terpenik bileşikler
2. Aromatik bileşikler
3. Düz zincirli hidrokarbonlar
4. Azot ve kükürt taşıyan bileşikler

2.4.7.1.1. Terpenik Bileşikler:

Uçucu yağların %90'ı terpenik maddelerden oluşmuştur. Terpenler, belirli sayıda izopren moleküllerinin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır.

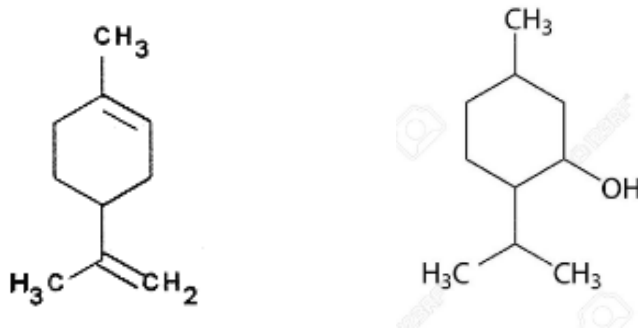


Şekil 2. 29. İzopren birimi

Uçucu yağlarda mono, seski, diterpenler ve bunların oksijenli türevlerine rastlanır. Daha yüksek molekülü olanlara reçine, lateks vb. formlarda çeşitli bitkilerde rastlanmaktadır (Başer ve ark. 2005).

Monoterpenler

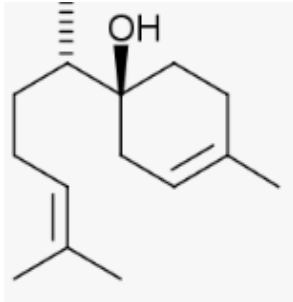
Monoterpenler, iki izopren biriminden ($C_{10}H_{16}$) oluşur. Üç grup altında toplanırlar. Asiklik monoterpenler grubunda, osimen, sitral, nerol, linalol, gitronellal, geraniol bulunur. Gül, bergamut, kişniş, melisa, limon, safran gibi bitkilerde saptanmışlardır. Monosiklik monoterpenler, nane, kimyon, okaliptus, defne gibi bitkilerin yapısında bulunan bileşenlerdir. Terpinen, mentol, menton, kuminal, limonen bu grubun üyeleridir. Bisiklik monoterpenler grubunda ise, sabinen, tujon, kamfen, kamfor, fençon sayılabilir. Bu bileşiklerin yaygın olarak bulunduğu bitkiler ise, pelin otu, kuşdili, kedi otu, solucan otu, pire otu olarak sayılabilir (Türk 2010).



Şekil 2. 30. Limonen ve mentol yapıları

Seskiterpenler (C15)

Seskiterpenler üç izopren ünitesinden oluşan $C_{15}H_{24}$ molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Terpenoitlerin en geniş sınıfını oluştururlar. Günümüzde 1000'den fazla seskiterpen bilinmekte ve bunlar 100 farklı karbon iskeleti taşımaktadır. Seskiterpenler özellikle tat ve ilaç bileşeni olarak büyük değeri olan bir gruptur. Bunlar da asiklik, monosiklik, bisiklik ve trisiklik seskiterpenler olarak alt gruplara ayrılır. Bugün uçucu yağlarda 1000 kadar seskiterpen bağlantılı türevler bulunmaktadır. Seskiterpenlere örnek olarak bisabolol, kamazulen, farnesol verilebilir (Connolly ve Hill 1991, Devon ve Scott 1972, Djerassi 1994a, 1994b, 1994c, Fischer ve ark. 1990).

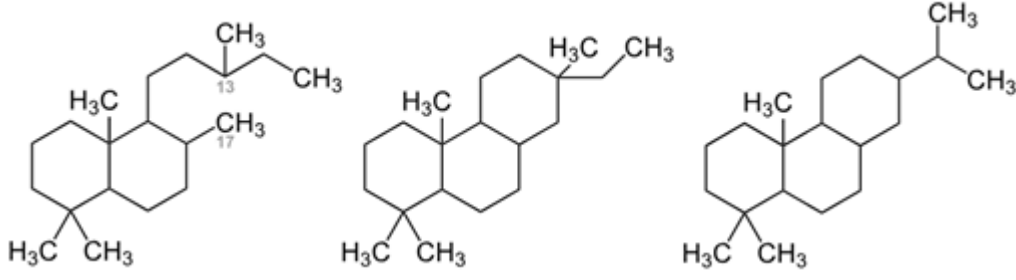


Şekil 2. 31. Bisabolol yapısı

Diterpenler (C20)

Dört izopren molekülünden meydana gelen çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan diterpenler, 20 C'lu olup bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan heterojen bileşiklerdir. Bitkilerde bulunan ve bugüne kadar elde edilen, çeşitli biyolojik aktiviteye sahip diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılmaktadır;

- Asiklik diterpenler
- Monosiklik diterpenler
- Bisiklik diterpenler
- Trisiklik diterpenler
- Tetrasiklik diterpenler
- Pentasiklik diterpenler
- Lakton ya da furan halkası içeren diterpenler
- Makrosiklik diterpenler



Şekil 2. 32. Labdan, pimeran ve abietan yapısı

Bitkilerde diterpenlerin oksijenli türevleri yanında, yan zincirde ya da halka içinde azot atomu ihtiva eden ve "Diterpenoit Alkaloidler" olarak bilinen 19 veya 20 C'lu bileşikler de bulunmaktadır. Diterpenler kimyasal yapılarına göre sınıflandırılabilir gibi, reçine diterpenler, toksik diterpenler ve gibberellinler şeklinde de gruplandırılabilir.

2.4.7.2. Uçucu Bileşiklerin Aromatik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Uçucu yağlar koku ve tat özelliklerine göre de gruplandırılabilirler. Buna göre uçucu yağlar;

- Aromatika (çok kokulu ve tadı iyi olanlar),
- Aromatika-aroma (kokulu ve tadı acı olanlar) ve
- Aromatika-akria (kokulu ve tadı keskin olanlar) olmak üzere üçe ayrılırlar.

Bu özelliğe sahip uçucu yağların elde edildiği bitkiler ise Çin tarçını, Ceylan tarçını, karanfil, anason, küçük hindistan cevizi, rezene ve kekik gibi bitkilerdir (Hacıoğlu 2006, Umay 2007).

2.4.7.3. Uçucu Bileşiklerin Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre Sınıflandırılması

Farmakolojik olarak ve terapik etkilerine göre de uçucu yağlar gruplandırılabilirler. Bu grupta yer alan uçucu yağlar genellikle tedavi amaçlıdır ve alternatif tıbbın önem kazanmasıyla da önemleri artmıştır. Farmakolojik etkilerine göre de uçucu yağlar antiromatizmal, öksürük kesici, idrar söktürücü, iltihap azaltan, dezenfektan vs. gibi gruplandırmaya tabi tutulurlar. Uçucu yağlar buldukları bitkilere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır (Ceylan 1997).

1. Köklerinden faydalanılanlar: Karaturp, kırmızıturp gibi.
2. Gövdelerinden faydalanılanlar: Zencefil, tarçın gibi.
3. Yapraklarından faydalanılanlar: Nane, kekik, mercanköşk, maydanoz, defne gibi.
2. Soğan yapısında olanlar: Mutfak soğanı, sarımsak gibi.
3. Çiçeklerinden faydalanılanlar: Karanfil gibi.
4. Meyvelerinden faydalanılanlar: Kimyon, anason, karabiber, kırmızıbiber, vanilya gibi.
5. Tohumlarından faydalanılanlar: Hardal, küçük Hindistan cevizi gibi.

2.4.8. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Günümüzde gelişen teknolojinin bir sonucu olarak, işlenmiş gıdalara olan eğilimin artması; gıdanın kimyasal ve besleyici özelliklerini, aromasını, tekstürünü, rengini ve diğer özelliklerini doğala en yakın şekilde muhafaza ederek tüketiciye sunulmasını gerekli kılmıştır. Bu yüzden gıda işlemede kullanılan temel işlemler arasında, ayırma teknikleri özel bir önem kazanmıştır (Hışıl ve Ünlü 1996). Uçucu yağ eldesinde kullanılan yöntemler;

- 1) Destilasyon
 - Su destilasyonu
 - Buhar destilasyonu
 - Vakum destilasyonu
- 2) Ekstraksiyon
 - Çözücü ekstraksiyonu
 - Süper kritik sıvı ekstraksiyonu
 - Mikrodalgayla ekstraksiyon
 - Sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu
 - Katı-Faz mikroekstraksiyon
- 3) Çok yönlü ekstraksiyon
- 4) Presleme

2.4.8.1. Ekstraksiyon

Bileşiklerin ayrılma ve saflaştırılmasında tercih edilen en eski yöntemlerden biri de ekstraksiyondur. Günlük hayatta çay ya da kahvenin hazırlanmasında bitki materyalinin sıcak

su ile ekstrakte edilmesi de bir ekstraksiyon örneğidir. Katı ya da sıvı fazda bulunan bir ya da birden çok bileşiğin farklı çözünürlük özellikleri kullanılarak diğer bir sıvı faza alınması işlemine ekstraksiyon denir.

Ekstraksiyon işlemini geleneksel ve yeni metotlar olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Sokslet ekstraksiyonu ve maserasyon işlemi geleneksel yöntemler arasında olup işlem süresi uzundur ve büyük miktarlarda çevreyi kirletici çözücüler kullanılmaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu ise son yıllarda geliştirilen hızlı, etkin ve modern yöntemler arasındadır (Moyler 1993). Uçucu yağların eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri; organik çözücü ile ekstraksiyon, sabit yağ ile ekstraksiyon ve sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyondur.

Organik Çözücü Ekstraksiyonu

Uçucu yağ, drog, benzen, hekzan ve heptan gibi uygun bir çözücü ile ekstrakte edildiğinde uçucu yağ, sabit yağ, mum ve boya maddeleri organik çözücüye geçmektedir. Organik çözücünün alçak basınçta uçurulmasıyla birlikte elde edilen ve “konkret” olarak adlandırılan üründen uçucu bileşikleri almak için etanol ile tüketilir. Ekstrenin soğutulmasıyla da içinde çözünmeyen maddeler çöktürülerek ayrılmaktadır (Başer ve ark. 1998).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, Sigma D9132-1G), ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat, Alfa aesar J65535.03), Na₂S₂O₈ (Sodyum persülfat, VWR C28000.236), (S)-Trolox metil eter (Sigma 238813-1G), glasial asetik asit (VWR 20102.320), sodyum asetat trihidrat (VWR 27652.298), HCl (Hidroklorik asit, Merck 1.00314.2500), demir (II) klorit (Alfa Aesar 12457.30), 2,3,5-trifenil tetra azoliumklorit (Alfa aesar A10870.09), TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridil)-s-triazine, Sigma 93285-1G), 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-P,P-disülfonik asit (Sigma SAFA160601-1G), EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, Sigma EDS-100G), demir (III) klorit (Sigma 701122-1G), potasyum fosfat (Honeywell P0662-25G), sodyum hidrojen fosfat (Sigma 255793-10G), timol (Sigma T0501-100G), Neokuprin (Sigma N1501-1G), NH₄Ac (Amonyum asetat, VWR 437453A), bakır (II) klorit (Sigma 307483-100G), L-askorbik asit (Sigma A92902-25G), β-karoten (Sigma 22040-5G-F), Tween 40 (polioksi etilen sorbitan monopalmimat, Sigma P1504-100mL), linoleik asit (Sigma L1376-10MG), BHT (butilat hidroksitoluen, Sigma B1253-100G), tokoferol (Sigma T3251-5G), dimetil sülfoksit PHR1309-3G), Trizma HCl (Sigma T5941-500G), NADH (β-nikotin amid adenin dinükleotid, VWR 424237L), NBT (Nitrotetrabluetetrazolium, Sigma N6876-1G), fenazin metosülfat (Alfa aesar H56718.06).

3.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

Folin-Ciocalteu Reaktifi

Reaktif ticari olarak alındığı şekilde destile su ile 1:1 oranında seyreltilerek kullanıldı.

Doymuş Na₂CO₃ çözeltisi

35.0017 g Na₂CO₃ 100 mL'lik suda çözdürülerek hazırlandı.

% 5'lik NaNO₂ çözeltisi

5 g NaNO₂'in distile su ile 100 mL' ye tamamlanması ile hazırlandı.

% 10'luk $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi

2.5 g $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'ün, destile su ile çözülerek destile su ile 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

1 M NaOH çözeltisi

1 g NaOH'ın destile su ile çözülerek, 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Stok kateşin çözeltisi:

100 mg kateşin 100 mL etanolde çözülerek hazırlandı (1mg/mL)

1mM DPPH çözeltisi

9.86 mg DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)'in 25 mL MeOH'da çözündürülmesiyle hazırlanıp ve 2 saat karanlıkta bekletildi.

FRAP reaktifi:

FRAP reaktifi, 10:1:1 (v/v/v) olacak şekilde A, B, C olarak tanımlanan üç çözeltinin karıştırılması ile hazırlandı.

A çözeltisi: 300mM asetat tampon çözeltisi (pH 3.6'da 300 mmol/ L asetat tamponu):

3.1g $\text{NaCOOH} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 16 mL asetik asit ile karıştırılarak destile su ile 1L'ye tamamlandı.

B çözeltisi: (TPTZ; 2,4,6-tris(2-pyridil)-s-triazine):10 mM (40mM HCl içinde)

0.7808 g TPTZ, 250 mL 40 mM HCl içinde çözündürülerek hazırlandı.

C çözeltisi : ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$): 20mM

0.1352 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ distile su ile 25 mL'ye tamamlandı.

Stok ABTS çözeltisi:

96 mg ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)'nin 20 mL distile su ile çözülüp, 5 mL 2.45 mM $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisi ile karıştırılması suretiyle hazırlandı. Çözelti 12-16 saat karanlıkta çalkalandı.

2.45 mM $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisi:

33 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 'nin 10 mL suda çözülmesi ile hazırlandı.

β -Karoten-linoleik asit emülsiyonu:

2 mg β -karoten 10 mL kloroform (CHCl_3) içerisinde çözdürüldü. Bu stok çözeltiden 1 mL alınarak 20 mg linoleik asit ve 200 mg Tween 40 emülsifier ile karıştırıldı. CHCl_3 uzaklaştırıldıktan sonra 50 mL, oksijenlendirilmiş ultra distile su ilave edilerek hızlıca karıştırılarak emülsiyon hazırlandı. Ayrıca her uygulamada çözeltiler günlük olarak hazırlanmıştır.

Bakır (II) klorür çözeltisi (1.0×10^{-2} M):

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'tan 0.4262 g tartım alınıp, distile su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Amonyum asetat tamponu, 1 M (pH=7)

19.27 g Amonyum asetat (NH_4OAc) tartım alınıp, distile su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Neokuproin (2,9- dimetil-1,10-fenantrolin) çözeltisi (7.5×10^{-3} M) :

0.156 g Neokuproin (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin) tartım alınıp, etanolle 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Troloks (TR) stok çözeltisi (1.0×10^{-3} M):

0.0125 g Troloks ((\pm)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) alınıp etanol ile 50 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Ayrıca, farklı standart antioksidan bileşikleri uygun çözücü ve derişimlerde hazırlandı.

Trikloroasetik asit (TCA) %10'luk (w/v):

10 g TCA tartılarak saf etil alkol içerisinde 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.3.Kullanılan Cihazlar

UV spektrofotometre: Hitachi U-2000 Spektrofotometre, Model 121-0002 kullanılmıştır.

Dondurarak Kurutucu: Armfield vacuum freeze dryer; FT 33

Santrifüj cihazı: IEC-HN-SII centrifuge.

Evaporator: Buchi Rotavapor R-210 SJ29/32, S, WB, 100-120V

Vakum pompası: Buchi vakum pompası V-710 3.1 m³/h, 2 mbar, V-855, WB, Cond.

Manyetik Isıtıcı: Buchi B-491 su banyosu 230V

Terazi: Miktarlar; Ohaus PA 224 marka terazi kullanılarak alınmıştır.

İnkübatör: Daihan Scientific-Wısd Heating Block MaXtable H10-set

Vortex: Daihan Scientific vortex mixer, 60 Hz

Etüv: Ecocell etüv

GC-MS: Hewlett-Pack-ard HP6890 Series

3.4. Materyal

Çalışmada materyal olarak ele alınan Graviola (*A. muricata* L) meyveleri ve yaprakları, 2017 yılında, yıl boyunca yeşil olan ağaçlardan, meyvelerinin olgunlaştıkları dönemde ve aralık ayı sonunda, Güney Amerika Karayip denizlerinde Küçük Antillerde bulunan, Dominica adasından getirilmiştir (Şekil 3.1). Meyve, kabuk, pulp ve çekirdek olarak kısımlara ayrılmış $-22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda (Williams freezer HS 1 BCBF) herhangi bir ön işlem uygulanmaksızın dondurulmuştur. Dondurulan pulp, kabuk, çekirdek ve yapraklar analizlerde kullanılmak üzere, vakum kurutucuda (Armfield vacuum freeze dryer; FT 33) kurutulmuştur. Dondurularak kurutulmuş örnekler, kalın vakum ambalaj paketlerinde vakumlanarak ambalajlanmış ve daha sonra ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmak üzere tekrar derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 3. 1. Taze meyveden görüntüler



a. Çekirdek



b. Kabuk



c. Yaprak



d. Meyve Eti

Şekil 3. 2. Dondurularak kurutulmuş meyve kısımları

Meyvenin pulp, kabuk, çekirdek fraksiyonları ile yaprakları, dondurularak kurutma yöntemine göre kurutulduktan sonra ekstraksiyon öncesinde ayrı ayrı öğütülmüştür. Daha sonra sokslet ekstraksiyon yöntemiyle n-hekzan ardından da, polarite artış sırasına göre, diklormetan, etilasetat ve metanol ile ekstraksiyonları yapılmıştır. Ardından evaporatörde çözücüleri uçurularak elde edilen konsantrelerin, son kalıntı çözücüleri dondurularak vakum kurutucuda (Armfield vacuum freeze dryer; FT 33) uzaklaştırılmış ve liyofilize ham ekstratlar elde edilmiştir.

3.5.Yöntem

3.5.1.Graviola Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)

Ham ekstratlerde toplam fenolik madde miktarını belirlemede Amarowicz ve arkadaşlarına (2005) ait yöntem izlenmiştir. Yöntemin esası fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifi (fosfomolibdik fosfotungstik asit) ile bazik ortamda reaksiyon vermesi

temeline dayanmaktadır. Graviola meyvesinin farklı kısımları ve yapraklarından, farklı çözücülerle ekstraksiyon sonucunda elde edilen ham ekstraktlarında yürütülen bu analizde spektrofotometrik olarak 725 nm'de absorpsiyon değerleri belirlenmiştir. TFM tayininde öncelikle ham ekstraktlar, ekstraksiyon amacıyla kullanılan n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan çözücülerini kullanılarak uygun konsantrasyonlarda seyreltilmişlerdir. Metotun uygulanışında, 250 µL örnek, 250 µL Folin reaktifi, 500 µL doymuş Na₂CO₃ çözeltisi ve 4 mL saf su ile hazırlanan karışım, doymuş Na₂CO₃ çözeltisinin ilavesinden sonra vortekslenerek karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. Na₂CO₃ çözeltisinin ilavesinden itibaren tam 20 dakika sonra, 5000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenen (IEC HN-SII Centrifuge) örneklerin absorpsiyonları 725 nm'de (Hitachi spectrophotometer, Model 121-002) ölçülmüştür. Blank 250 µL metanol + 250 µL mL Folin reaktifi + 500 µL doymuş Na₂CO₃ çözeltisi + 4 mL saf su olacak şekilde hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarları, kateşin kullanılarak hazırlanan absorpsiyon ve konsantrasyona karşı çizilen standart grafiklerin denklemlerinden mg ekstraktta µg kateşin eşdeğeri (µg CAT mg ekstrakt⁻¹) olarak hesaplanmıştır. Tüm analizler 3 tekrürlü olarak yürütülmüştür.

3.5.2. Graviola Ekstrelerinde Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi (TF)

Eksrelerin toplam flavonoid madde miktarı alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi (AlCl₃-NaNO₂ metodu) uygulanarak saptanmıştır (Valcarcel ve ark. 2015). AlCl₃-NaNO₂ yöntemi toplam flavonoid madde içeriğinin, alüminyum klorür ve sodyum nitrit belirteçleri kullanılarak, alkali ortamda pembe renkli flavonoid-alüminyum kompleksi, pembe renkli bileşikler oluşturması esasına dayanır. Analizde uygun seyreltilmiş ekstrakt örneklerinden 250 µL alınmış ve toplam reaksiyon hacmi, tüm çözeltilerin ilavesinden sonra 2,5 mL olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Tüplere pipetlenen örnek üzerine 75 µL, % 5'lik sodyum nitrit çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiş ve flavonoid-alüminyum kompleksi oluşturmak için 150 µL %10'luk AlCl₃.6H₂O eklenmiş, oda sıcaklığında 6 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 500 µL 1 M NaOH çözeltisi ilave edilmiş, her bir çözeltinin ilavesi ardından hızlıca vortekslenmiştir ve UV spektrofotometresinde 510 nm dalga boyunda kör denemeye karşı absorpsiyon değerleri ölçülmüştür (Hitachi spectrophotometer, Model 121-002). Standart olarak hazırlanan kateşin çözeltisi kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrileri yardımıyla, toplam flavonoid miktarı kateşin (µg CAT mg⁻¹ ekstrakt) eşdeğeri olacak şekilde hesaplanmıştır.

3.5.3.Ham Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini

Graviola meyvesinin elde edilen n-hekzan, diklormetan, etilasetat ve metanol ekstrelerin antioksidan aktivite analizleri, DPPH[•] radikali giderim aktivitesi, ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi, ferrik iyon indirgeme kapasitesi (FRAP), β -karoten lineoleik asit emülsiyon sisteminde ağartma aktivitesi, bakır (II) indirgeme gücü (CUPRAC) yöntemleri ile yapılmıştır.

3.5.3.1.DPPH[•] Radikali Giderim Aktivitesi Tayini

Graviola meyvesinden elde edilen ekstraktların DPPH[•] radikali giderim aktivitesi Amarowicz ve ark (2002)'nin metoduna göre yapılmıştır. Öncelikle her analiz için, serbest radikal DPPH[•] radikalinin 1 mM'lık çözeltisi taze olarak hazırlanmıştır. Aktivitesi belirlenecek meyve ve yaprakların farklı kısımlarından elde edilen n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ekstrelerinin aktivitesini belirlemek için aynı çözücüler kullanılarak daha önce hazırlanan 2 mg/mL stok ekstrakt çözeltileri kullanılmıştır. Analizin yürütülmesinde hazırlanan stok ekstrakt çözeltisinde aşağıda belirtildiği gibi metanol ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda dilüsyonlar hazırlanmıştır. (Metanolik solüsyonların 0.1 mL'si 0.04-0.2 mg ekstrakt içerecek şekilde). DPPH[•] radikali giderim aktivitesi her bir ekstreden 0.04, 0.08, 1.2, 1.6, 2.0 mg'larının içinde bulunduğu test çözeltilerinin 570 nm'de absorbansları ölçülerek belirlenmiştir.

Tablo 3. 1. Ekstrakt çözeltilerinin farklı dilüsyonlarının tüplerde hazırlanışı (2 mg/mL stok ekstrakt çözeltisinden)

Tüp no	1	2	3	4	5	6
Ekstrakt (mg/mL)	Kontrol	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
(Alınan hacim)	0 μ l	20 μ l	40 μ l	60 μ l	80 μ l	100 μ l
Metanol	100 μ l	80 μ l	60 μ l	40 μ l	20 μ l	0 μ l

Antiradikal aktiviteyi belirlemek için seyreltilmiş 100 μ l solüsyonlara 2 mL metanol ve 250 μ l 1mM metanolik DPPH[•] çözeltisi ilave edilerek vortekslelendikten sonra karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda absorbans değerleri

spektrofotometre ile 517 nm’de metanole karşı ölçülmüştür. Kontrol örnek 0.1 mL metanol ile hazırlanmıştır (1 nolu dilüsyon).

Örneklerin antioksidan aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ AA (Inhibisyon)} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (1)$$

A_{kontrol} : Kontrolün absorbans değeri

$A_{\text{örnek}}$: Örneklerin absorbans değeri

DPPH radikalinin başlangıç konsantrasyonunun %50’sinin inhibisyonunu sağlayan ekstrakt konsantrasyonu EC_{50} olarak tanımlanır. EC_{50} değerlerini belirlemek için çalışılan konsantrasyonlara karşı % inhibisyon değerleri ile hazırlanan grafikler kullanılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar EC_{50} değerleri olarak verilmiştir. Ekstrakt konsantrasyonları analizde uygulan toplam 2.35 mL reaksiyon hacmine göre hesaplanmıştır (100 µl ekstrakt çözeltisi + 2 ml metanol + 0.25 ml DPPH çözeltisi).

3.5.3.2. ABTS^{•+} Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

Troloks eşiti antioksidan kapasite yöntemi ilk defa Miller ve arkadaşları tarafından raporlanmış (Miller ve ark. 1993) olup, sonrasında Re ve arkadaşları tarafından da geliştirilmiştir (Re ve ark. 1999). TEAC analizi 2,2’-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS^{•+}) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından absorbansının engellenmesi temeline dayanır. TEAC’ın karakteristik dalga boyu 660, 734 ve 820 nm’de maksimum absorbasyon yapar (Prior ve ark. 1999). Radikal katyon formunda üretilen ABTS^{•+}, temel spektrofotometrik olarak çeşitli maddelerin toplam antioksidan aktivitesini ölçmede uygulanır.

Bu yöntem; 2,2’-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS^{•+}) kromojen radikal katyonunun absorbansının, antioksidanlar tarafından inhibisyonunu temel alır. Trolox eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAC) tayini Re ve ark. (1999)’a göre yapılmıştır. Bu amaçla 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asid radikali, (ABTS^{•+}) stok solusyonu, 2.45 mM sodyum persülfat ile karıştırılarak oda sıcaklığında 12-16 saat karanlıkta stabil oksidatif duruma ulaşıncaya kadar bekletilmiştir. Analiz aşamasında ABTS^{•+} stok solusyonu 734 nm’de 0.700-0.800 absorbans aralığında olacak şekilde metanol ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Metoda göre ideal absorbans 0.720’ye yakın değerlerdir. Bu nedenle analiz

öncesinde hazırlanan ABTS^{•+} stok solüsyonu metanol ile 734 nm'de 0.70 ± 0.02 absorbands aralığında seyreltilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler için, 2 mL ABTS^{•+} çözeltisi ve 20 µL solüsyonu karıştırılmış ve absorbands değerleri numunelerin 30 °C'de 6 dakika inkübe edilmesinden sonra 734 nm'de kaydedilmiştir. Blank 2 mL ABTS^{•+} çözeltisi ve 20 µL metanol ile hazırlanmıştır. larının ABTS^{•+} radikali giderme aktiviteleri, standart eğriden elde edilen eşitlikten olarak mM troloks g⁻¹ ekstrakt olarak hesaplanmıştır.

% ABTS^{•+} radikali giderme aktivitelerinin belirlenmesi için ise aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (2)$$

ABS_{örnek}: Örneklerin absorbands değeri

ABS_{kontrol}: Kontrolün absorbands değeri

3.5.3.3.Ferrik İyon İndirgeme kapasitesi (FRAP)

Benzei ve Strain (1996) tarafından geliştirilen bu yöntemde demir (III)'in indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanlarının toplam miktar tayini yapılmaktadır. Düşük miktarlarda oluşan Fe(III)'ün, tripiridiltriazin (TPTZ) ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi koyu mavi olup 593 nm'de maksimum absorbands verir (Yıldız 2007). Sonuçlar troloks eşiti olarak ifade edilir.

Bu yöntemde öncelikle, pH 3.6'da 300 mM asetat tampon çözeltisi, 40 mM HCl'de hazırlanan 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃ çözeltileri 10:1:1 (v/v/v) olacak şekilde karıştırılarak FRAP reaktifi hazırlanmıştır. Metodun uygulanışında 75 µL Graviola ekstrakt solusyonları, 2.25 mL FRAP reaktifi ve 225 µL distile su ile vortekslendikten sonra 37 °C' de 30 dakika inkübe edilmiştir (Daihan Scientific-Wisd Heating Block MaXtable H10-set).

Reaksiyondan sonra, örneklerin absorbands değerleri 593 nm'de (Hitachi spectrophotometer, Model 121-002) spektrofotometrede ölçülmüştür. Kör numune için 2.25 mL FRAP çözeltisi 300 µL distile su ile karıştırılıp, 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Örneklerin ferrik iyon indirgeme kapasiteleri, FeSO₄.7H₂O kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiğinden belirlenmiştir ve sonuçlar µmol Fe²⁺ g ekstrakt⁻¹ olacak şekilde hesaplanmıştır.

3.5.3.4. Linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidan aktivite (β -karoten renk ağartma yöntemi)

Lipid peroksidasyon inhibisyonu ve linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan bu yöntemde, antioksidan maddeler bu tepkimenin oluşumunu engellendiğinden, aktivite yükseldikçe β -karoten çözeltisinin sarı rengi stabil kalacaktır. Graviola meyve yapraklarının ham ekstralarının, β -karoten-linoleik asit emülsiyon ortamında oksidasyon inhibisyon kapasitesi Miller (1971)'a göre, modifiye edilerek uygulanmıştır. β -karoten-linoleik asit emülsiyonunu hazırlamak için 1.6 mg β -karoten 2 mL kloroform içerisinde çözdürülmüş, 400 mg Tween 40 ve 40 μ L linoleik asit ilave edilerek hazırlanmıştır. Karışımdan kloroform uzaklaştırıldıktan sonra, emülsiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Analizin uygulanışında, uygun konsantrasyonda ekstraktlar 200 μ L örnek ve standart olarak BHA, 5 mL β -karoten-linoleik asit emülsiyonu ile vorteksenerek karıştırılmıştır. β -karoten oksidasyon hızı 50 $^{\circ}$ C'de örneklerin 180 dakika süre ile bekletilmesi sırasında 30 dakikalık aralıklarla yapılan absorbans ölçümleri ile kaydedilmiştir. Oksidasyon hızı 470 nm'de absorbans değerleri kaydedilerek saptanmıştır. Antioksidan aktivite (AA) (% inhibisyon) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$AA (\% \text{ inhibisyon}) = ([dr_{\text{kontrol}} - dr_{\text{örnek}}] / dr_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3)$$

$$dr_{\text{örnek}} = (\ln [A_0 - A_t] / t)$$

A_0 ; Ekstrakt içeren örneğin inkübasyon başlangıcı absorbans değeri,

A_t ; Ekstrakt içeren örneğin t dakikadaki absorbans değeri,

dr = degredasyon (yıkım) oranı

3.5.3.5. Bakır (II) İndirgeme Gücü (CUPRAC)

İlk olarak Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem temel olarak 2,9-dimetil-1, 10-fenantrolin (Neokuproin Nc)'in Cu (II) ile oluşturduğu bakır (II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm' de maksimum absorbans veren bakır (I)neokuproin (Cu(I)-Nc) çelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır (Apak ve ark. 2004). CUPRAC metodunun toplam antioksidan kapasite

(TAC) analizinde diğerk elektron transferi (ET) yöntemlerinden ayırıcı avantajı pH'ın kolay ayarlanabilmesi, rejanların kolay kullanılabilmesi ve stabil olması, basit, düşük maliyetli olması ve hidrofilik antioksidanların yanında lipofilik antioksidanlara uygulanabilmesidir (Özyürek ve ark. 2011).

Bu yöntemde test tüplerine 1 mL 0.02 M bakır (II) klorür çözeltisi, 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M Neokuprin ve 1 mL 1 M NH_4OAc ilave edildikten sonra iyice karıştırılıp son hacim 4.1 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. 4.1 mL nihai hacimde belirli konsantrasyonda ekstrakt çözeltisi veya standart çözelti x mL olacak şekilde (x mL) ve 1.1 mL'ye saf su ile tamamlayacak şekilde [H_2O ; (1.1-x) mL] hazırlanmıştır. Ağzı kapatılan tüpler 30 dakika oda koşullarında bekletildikten sonra içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı 450 nm'de absorbans (A_{450}) değerleri belirlenmiştir. Ekstraktların bakır indirgeme gücü (KUPRAK aktiviteleri) standart olarak Troloksun etanolde belirli konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltileri ile elde edilen standart eğriden hesaplanarak mM troloks g^{-1} ekstrakt olarak bulunmuştur

3.5.4. GC-MS Cihazı Kullanılarak, Bitki Kısımlarından Elde Edilen Ekstrelerde Uçucu Bileşiklerin Tayini

Bu tez çalışmasının, bir ayağında; bitkinin n-hekzan ve diklormetan ekstralarında bulunan uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin tayini amaçlanmıştır. Ancak, bitki kısımlarının diklormetan ekstradaki yarı uçucu bileşiklerin tayini için, GC-MS cihazında uygulanacak metod geliştirilemediğinden dolayı, bu kısım tez kapsamında çıkarılmıştır.

Bitkinin meyve, kabuk, çekirdek ve yapraklarından elde edilen n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin cinsi ve miktarının tayini Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kromatografik analiz; kütle seçici bir dedektör ile kombine edilmiş bir Hewlett-Packard HP 6890 serisi GC / MS cihazında gerçekleştirilmiştir. HP-5MS (%5 fenil metil siloksan, 30m x 250 μm x 0.25 μm) kapiler kolon kullanılmıştır. Helyum, 5 μL enjeksiyon hacmi ile 1.0 mL / dakika akış hızında taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı başlangıçta 3 dakika boyunca 60°C daha sonra, 1 dakikada 4°C artacak şekilde 250°C'ye yükseltilmiş ve enjektör sıcaklığı 250°C ulaştırılmıştır. MS tarama aralığı, elektron etkisi (EI) iyonlaşması, 70 eV ve 250°C 'lik bir iyon kaynağı sıcaklığı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin kütle spektrumlarının Wiley 9 ve NIST kütüphaneleri ile karşılaştırılması yapılmıştır. Ayrılan

bileşiklerin göreceli yüzdesi bilgisayarlı integratör tarafından, Toplam İyon Kromatografisinden hesaplanmıştır.

3.5.5. İstatistik analiz

Sonuçların istatistiki analizi, MSTAT-C programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ekstraksiyon Verimi

Graviola meyvesinin kabuk, pulp, çekirdekleri ile yapraklarından n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstre verimlerine ilişkin bulgular aşağıdaki çizelgede gösterildiği gibidir (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1. Graviola meyvesi ve yapraklarının farklı çözücülerdeki % ekstraksiyon verimi

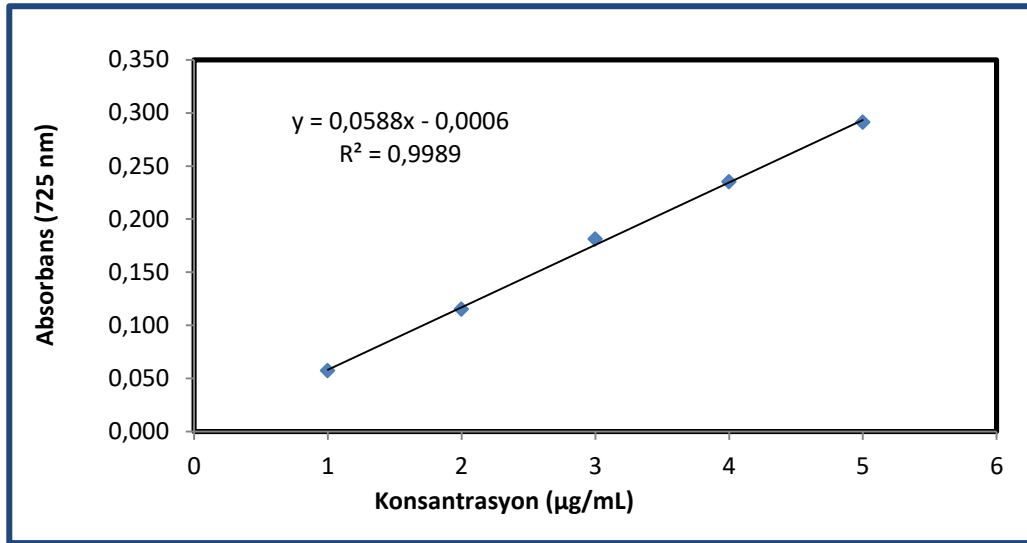
Meyve kısım	Ekstraksiyon çözücüsü	Ekstraksiyon verimi %
Çekirdek	n-Hekzan	24.26 b
	Metanol	3.66 e
	Etil asetat	0.58 h ₁
	Diklormetan	3.01 f
Pulp	n-Hekzan	0.71 h ₁
	Metanol	64.14 a
	Etil asetat	0.26 i _j
	Diklormetan	0.25 j
Kabuk	n-Hekzan	0.59 h ₁
	Metanol	16.50 c
	Etil asetat	0.25 j
	Diklormetan	0.23 j
Yaprak	n-Hekzan	3.66 e
	Metanol	12.07 gh
	Etil asetat	0.83 gh
	Diklormetan	1.10 g

Görüldüğü gibi en yüksek ekstraksiyon verimi meyvenin pulpundan ve metanol çözücüsüyle elde edilmiştir. Daha sonra kabuk metanol, yaprak metanol ve kabuk metanol ekstraktları gelmektedir. En düşük verim ise kabuk diklormetan, kabuk etil asetat, pulp diklormetan, kabuk etil asetat ekstraktlarından elde edilmiştir. Bu durumda çekirdek için en yüksek ekstraksiyon verimi n-hekzan çözücüsüyle elde edilirken, pulp, kabuk ve yaprak için ekstraksiyon etkinliği en yüksek olan çözücünün metanol olduğu görülmektedir.

4.2. Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)

Yapılan çalışmada toplam fenolik miktarını saptamak amacıyla $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ - $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ aralığında standart olarak kateşinin etanolik çözeltisi hazırlanmış ve TFM miktarına ilişkin bulgular elde edilen eğri yardımıyla $\mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$ eşdeğeri şeklinde hesaplanmıştır. Kateşinin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1’de gösterildiği gibidir.

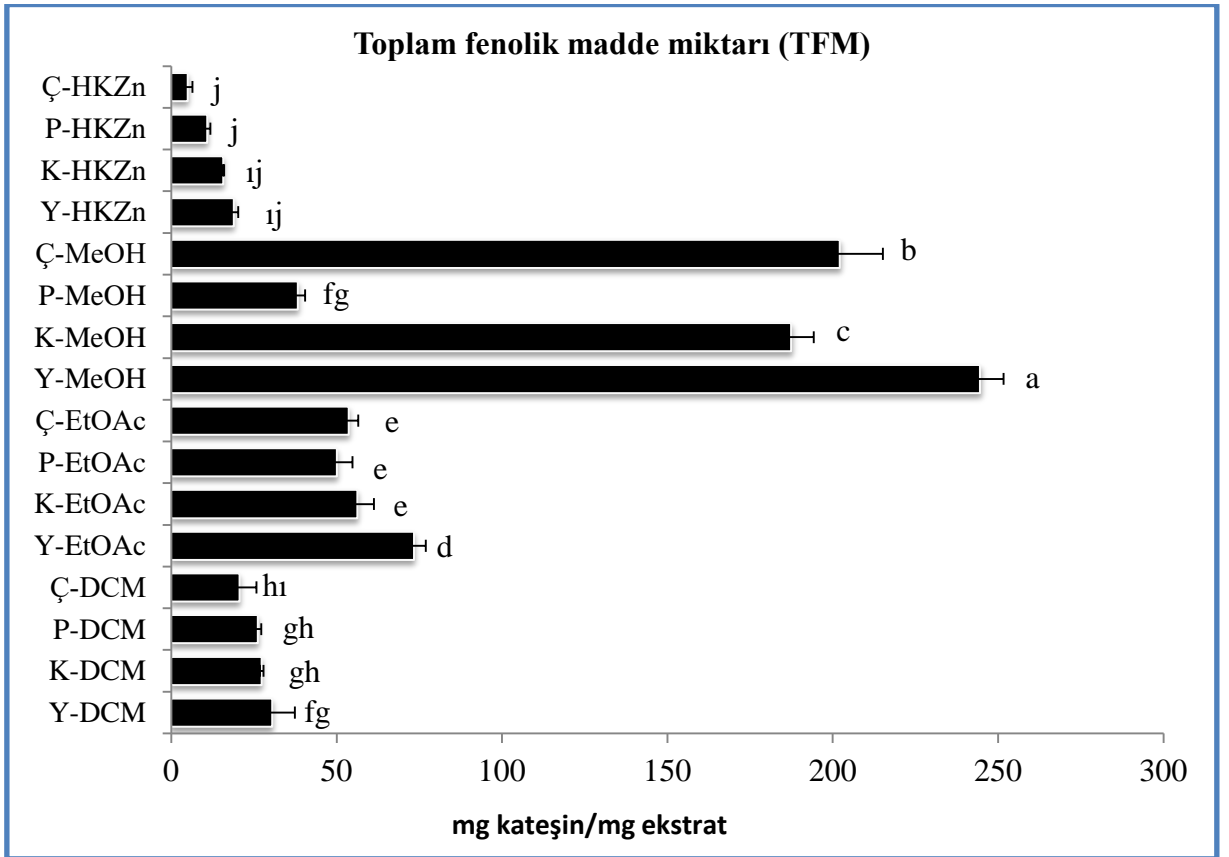
$$\text{Absorbans } (\lambda:725\text{nm}) = 0.0588\text{kateşin } (\mu\text{g}) + 0.0006 \quad (R^2: 0.9989)$$



Şekil 4. 1. Toplam fenolik madde tayini kateşin standart eğrisi

Graviola meyvesinin yaprak, kabuk, pulp ve çekirdeklerinden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı (TFM)’na ilişkin bulgular kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.2 ve Tablo 4.2’ de gösterilmiştir.

TFM miktarına ilişkin Şekil 4.2 ve Tablo 4.2’de görüldüğü üzere, en yüksek TFM içeriği meyvenin yaprak kısmından ve metanol ekstraksiyonu sonucunda 244.61 μg CAT mg ekstrakt⁻¹ olarak elde edilmiştir. Daha sonra en yüksek değer Ç-MeOH (202.17 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) ekstresinde bulunmuş, bu değerleri sırasıyla K-MeOH (187.48 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) ve Y-EtOAc (73.42 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) ekstreleri izlemiştir. K-EtOAc ekstresinin fenolik madde içeriği (56.33 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) bu değerlerden sonraki en yüksek değer olarak bulunsa da, istatistiksel analiz sonucunda K-EtOAc, Ç-EtOAc ve P-EtOAc ekstreleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. En düşük TFM içeriği Ç-HKZn eksresinden elde edilmiş (5.06 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) olup, bu değerden sonra en düşük TF içeriği P-HKZn (10.92 μg CAT mg ekstrakt⁻¹) eksresinde bulunmuştur. Y-HKZn ve K-HKZn eksreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Şekil 4.2 ve Tablo 4.2).



Şekil 4. 2. Graviola ekstrelerinin toplam fenolik madde içeriği (n=3)

*Sütun boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir (P<0.05).

Tablo 4. 2. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının toplam fenolik madde (TFM) içeriği

	Ekstre	TFM ($\mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$)*	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	5.06 \pm 1.37 j	70.16 AB
	Metanol	202.17 \pm 12.99 b	
	Etil asetat	53.73 \pm 2.81 e	
	Diklormetan	20.70 \pm 5.00 h ₁	
Pulp	n-Hekzan	19.84 \pm 0.90 h ₁	33.68 B
	Metanol	38.36 \pm 2.12 fg	
	Etil asetat	50.15 \pm 4.57 e	
	Diklormetan	26.23 \pm 0.96 gh	
Kabuk	n-Hekzan	20.75 \pm 0.20 h ₁	70.41 AB
	Metanol	187.48 \pm 6.78 c	
	Etil asetat	56.33 \pm 4.97 e	
	Diklormetan	27.35 \pm 0.50 gh	
Yaprak	n-Hekzan	10.92 \pm 1.28 ij	90.62 A
	Metanol	244.61 \pm 7.00 a	
	Etil asetat	73.42 \pm 3.48 ^d	
	Diklormetan	30.60 \pm 2.71 fg	
ORTALAMA		n-Hekzan : 13.66 C Metanol : 168.16 A Etil asetat : 56.69 B Diklormetan : 26.66 BC	

*Kateşin eşdeğeri olarak toplam flavonoid madde miktarı

**Sonuçlar ortalama değeri olarak hesaplanmış ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

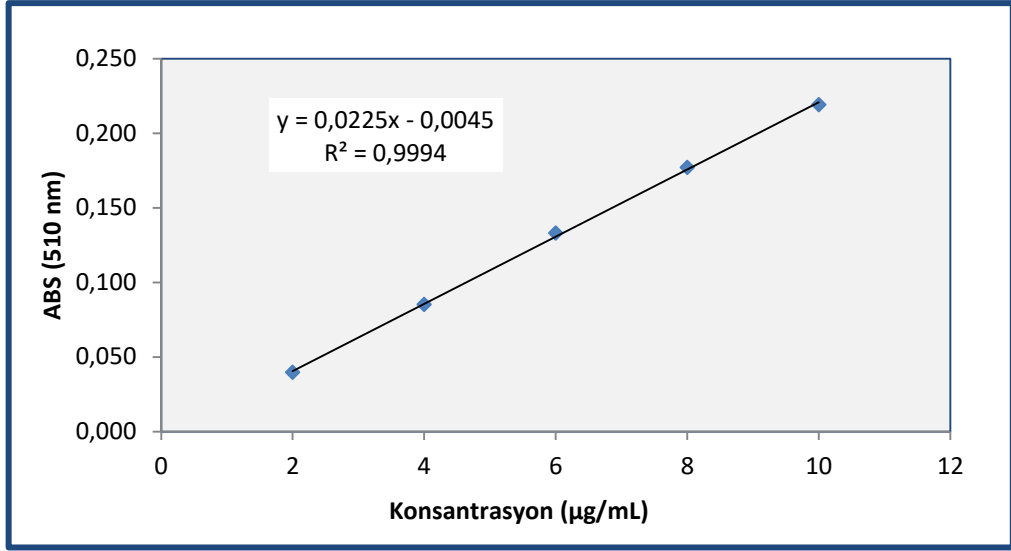
***Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

Sonuçlar, TFM madde miktarı üzerine ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin önemli düzeyde etki gösterdiğini ve meyvenin farklı kısımlarında TFM madde içeriği arasında önemli düzeyde farklılık olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$). Bu farklılıkları saptayabilmek ve değerlendirmek amacıyla bulunan çözücü ve meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarının ortalama değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Buna göre en yüksek TFM içeriğinin meyvenin yapraklarında, en düşük miktarın ise meyve pulpunda olduğu görülmektedir (Tablo 4.2). Meyvenin kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen bulgulara göre TFM içeriklerinde istatistiksel açıdan bir fark gözlenememiştir. Ekstraksiyon çözücüsü etkinliği açısından ise sıralama Metanol > Etil asetat > Diklormetan > n-Hekzan şeklinde olmuştur. Görüldüğü üzere toplam fenolik madde ekstraksiyonunda en etkin çözücü metanol, en düşük etkinliğe sahip çözücü ise n-hekzandır.

4.3.Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinin Toplam Flavonoid (TF) İçeriği

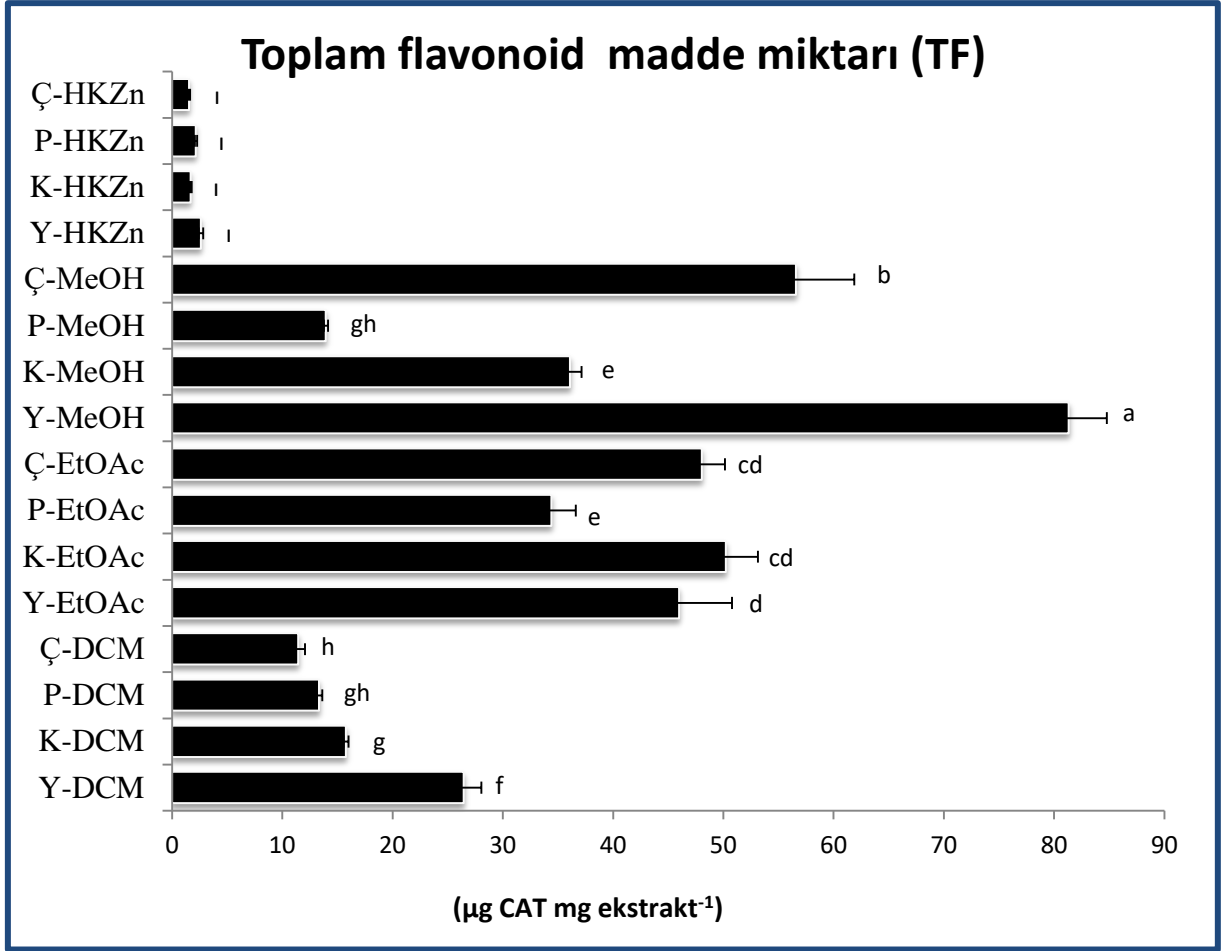
Elde edilen Graviola ekstrelerinin toplam flavonoid içeriğini belirlemek için kateşin standart bileşiği kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır (Şekil 4.3). Bu amaçla $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ - $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında etanolik kateşin çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla bulunan toplam flavonoid miktarlarına ilişkin sonuçlar kateşin eşdeğeri ($\mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$) olarak aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır.

$$\text{Absorbans } (\lambda: 510 \text{ nm}) = 0.0225 (\text{kateşin}) + 0.0045 (R^2:0.9994)$$



Şekil 4. 3. Toplam flavonoid madde içeriği kateşin standart eğrisi

Tüm graviola ekstralarının toplam flavonoid içerikleri Şekil 4.4 ve Tablo'4.3'de gösterilmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin flavonoid ekstraksiyonuna etkisini saptamak ve meyvenin yaprak, kabuk, pulp ve çekirdek kısımlarının flavonoid içeriklerini karşılaştırmak amacıyla uygulanan istatistik analiz sonuçları, farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir (Şekil 4.4 ve Tablo 4.3).



Şekil 4. 4. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının toplam flavonoid madde (TF) içeriği

*Sütün boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir ($P < 0.05$) ($n=3$).

Örneklerin TF miktarına ilişkin verilere göre, en yüksek TF içeriği meyvenin yaprak kısmından ve metanol ekstraksiyonu ile elde edildiği görülmektedir ($81.32 \mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$). Toplam flavonoid içeriği daha sonra en yüksek Y-EtOAc ($65.98 \mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$) ekstresinde bulunmuş ve onu Ç-MeOH ($56.59 \mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$) ekstresi izlemiştir. K-EtOAc ekstresinin flavonoid içeriği ($50.22 \mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$) bu değerlerden sonraki en yüksek değer olarak bulunsa da, istatistiksel analiz sonucunda K-EtOAc ve Ç-EtOAc arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Yaprakta ve çekirdekte en yüksek flavonoid ekstraksiyonu metanol çözücüsü ile elde edilirken, pulp kısmından en yüksek flavonoid ekstraksiyonu etil asetat çözücüsü ile elde edilmiştir. En düşük TF içeriği ise Ç-HKZn ekstresinde ($1.54 \mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$) olup genel olarak n-hekzana ilişkin veriler düşüktür ve ekstralar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz görülmektedir (Şekil 4.4 ve Tablo 4.3).

Tablo 4. 3. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının toplam flavonoid madde (TF) içeriği

Bitki kısım	Ekstre	TF ($\mu\text{g CAT mg ekstrakt}^{-1}$)*	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	1.54 \pm 0.08 ı	30.16 AB
	Metanol	56.59 \pm 5.29 c	
	Etil asetat	48.04 \pm 2.11 cd	
	Diklormetan	11.45 \pm 0.59 h	
Pulp	n-Hekzan	2.16 \pm 0.12 ı	16.10 C
	Metanol	13.95 \pm 0.19 gh	
	Etil asetat	34.41 \pm 2.20 e	
	Diklormetan	13.34 \pm 0.28 gh	
Kabuk	n-Hekzan	1.68 \pm 0.09 ı	25.94 B
	Metanol	36.10 \pm 1.04 e	
	Etil asetat	50.22 \pm 2.90 cd	
	Diklormetan	15.77 \pm 0.22 g	
Yaprak	n-Hekzan	2.62 \pm 0.19 ı	39.095 A
	Metanol	81.32 \pm 3.45 a	
	Etil asetat	65.98 \pm 4.79 b	
	Diklormetan	26.46 \pm 1.57 f	
ORTALAMA	n-Hekzan : 2.02 C Metanol : 46.98 A Etil asetat : 44.66 A Diklormetan: 16.75 B		

*Kateşin eşdeğeri olarak toplam flavonoid madde miktarı.

**Sonuçlar ortalama değer olarak hesaplanmış ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

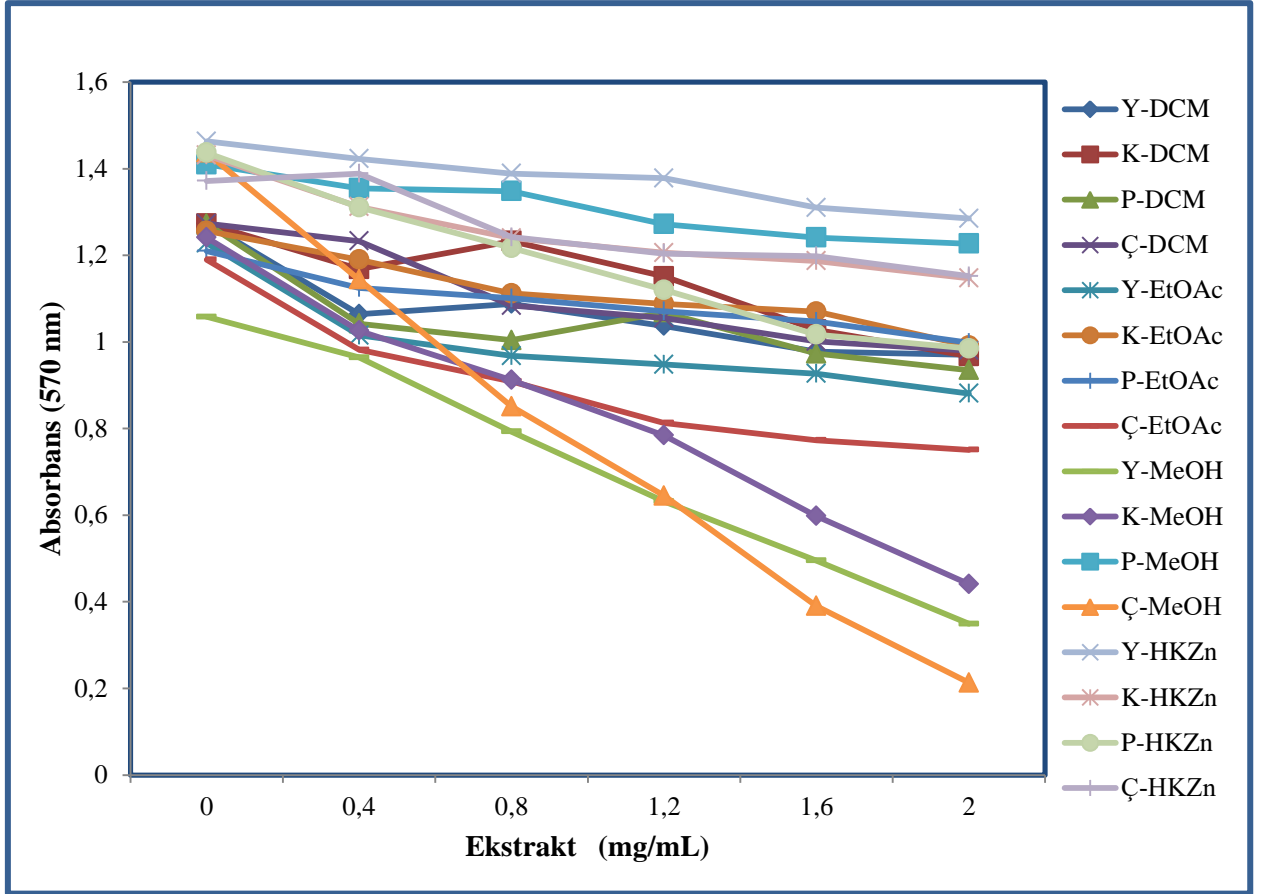
***Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, TF madde içeriğinde ekstraksiyonda kullanılan çözücülerden metanol ile etil asetat arasında önemli düzeyde bir farklılık olmadığı görülmektedir (Tablo 4.3). Diğer taraftan diklorometan bu iki çözücüden daha az flavonoid ekstraksiyon etkisine, n-hekzanın ise en düşük etkinliğe sahip olduğu görülmektedir (Metanol = Etil asetat > Diklormetan > n-Hekzan). Sonuçlar ayrıca meyvenin farklı kısımlarında TF içeriği arasında önemli düzeyde farklılık olduğunu göstermektedir. Meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarının ortalama değerlerine göre en yüksek TF içeriği meyvenin yapraklarından elde edilirken, daha sonra çekirdek ve meyvenin kabukları izlenmiş, en düşük miktar ise meyve pulpunda bulunmuştur. Meyve kısımları açısından ise TF içeriği sıralaması Yaprak > Çekirdek > Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur.

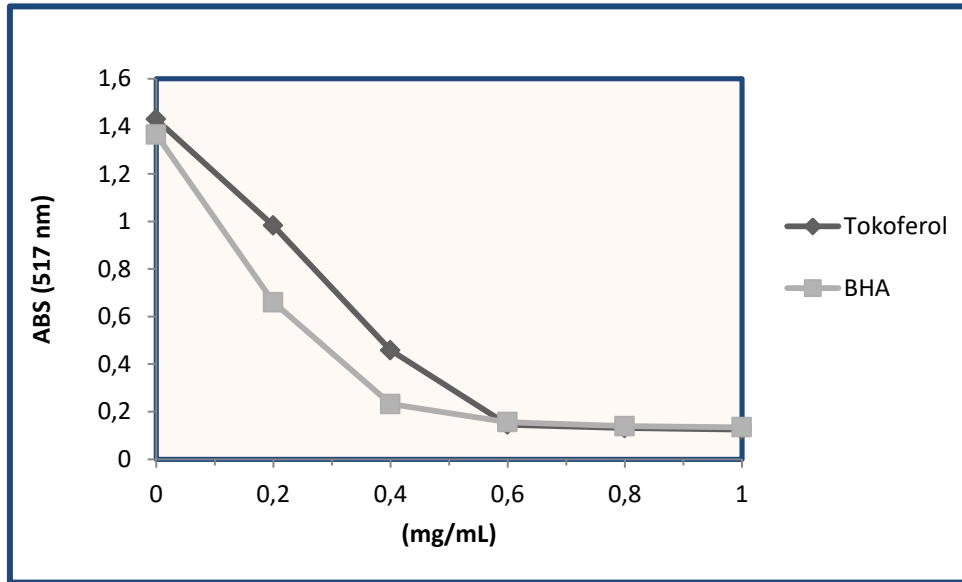
4.4.Graviola Meyve ve Yaprak Ekstrelerinde Antioksidan Aktivite Tayini

4.4.1. DPPH• Radikali Giderim Aktivitesi

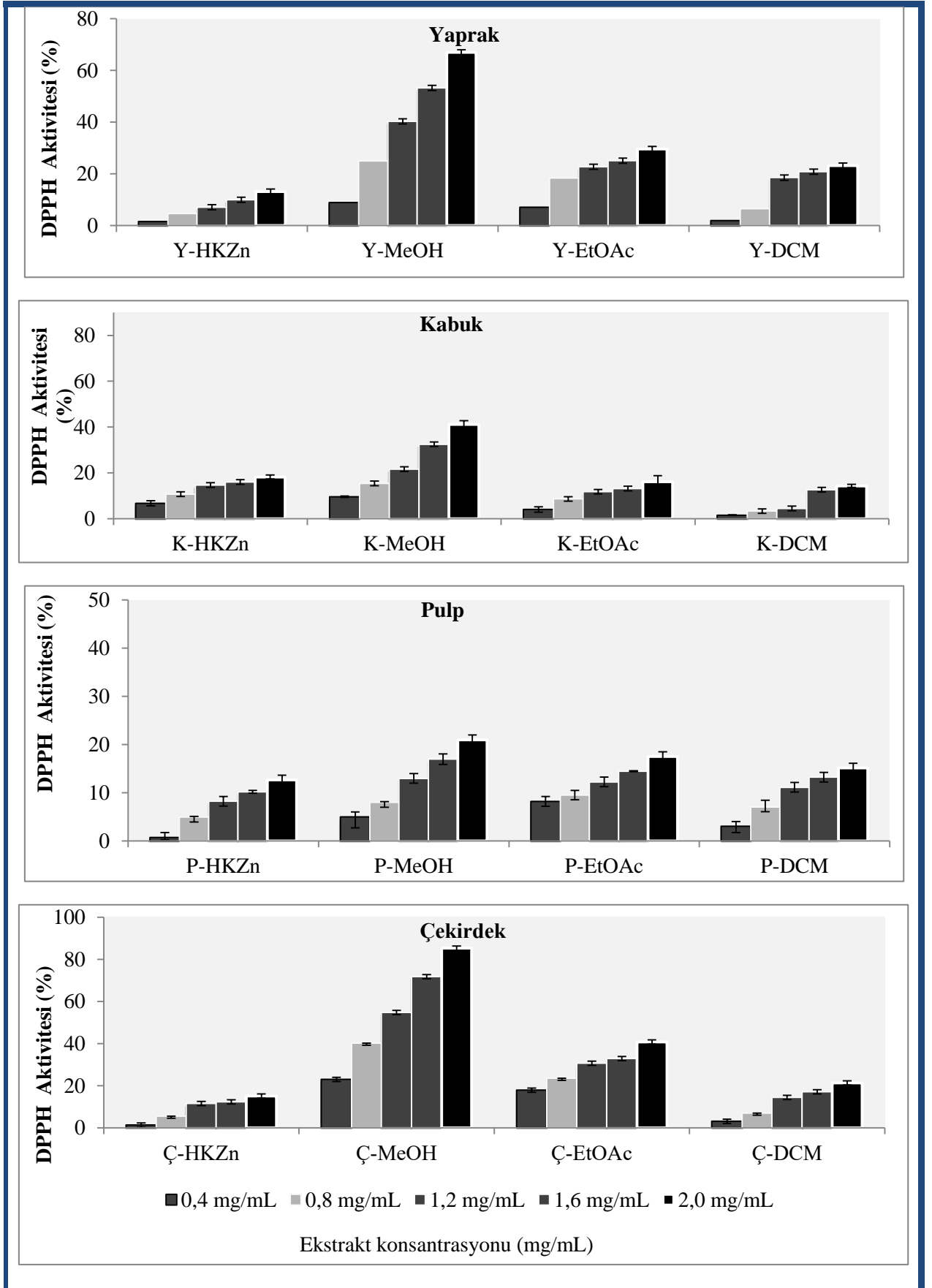
DPPH• radikal giderim aktivitesi örneklerin antioksidan potansiyellerini ölçmede hızlı ve birçok örneğin radikal süpürme aktivitesini izlemek için farklı örneklerin çözünürlüklerine elverişli bir metot olması nedeniyle yaygın kullanılan bir metottur. Antioksidan bileşikler tarafından DPPH• serbest radikale proton transferi reaksiyonun 517 nm'de absorbans azalması şeklinde gözlenmesine ve bu sürecin görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır (Albayrak 2010). Graviola ekstreleri ve standart çözeltilerin DPPH• radikali giderim aktivitesiyle ilişkili konsantrasyona bağlı absorbans değişimi Şekil 4.5 ve Şekil 4.6' da gösterildiği gibidir. Yapılan çalışmada DPPH• radikali giderim aktivitesi % inhibisyon değerleri olarak, 0.4 - 2.0 mg/mL konsantrasyon aralığında alınan test çözeltileri ile belirlenmiştir. DPPH• radikallerinin giderilmesi aktivitesi ile konsantrasyon arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır .



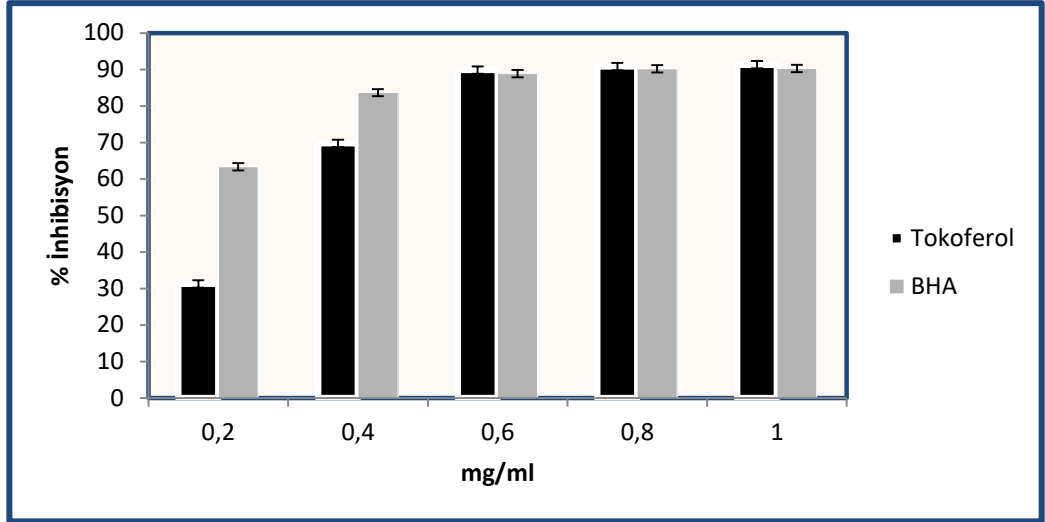
Şekil 4. 5. Graviola ekstralarının DPPH' giderim aktivitesi'ne ilişkin konsantrasyona bağlı absorbans değışimleri (n=3).



Şekil 4. 6. Tokoferol ve BHA'nın DPPH' giderim aktivitesi'ne ilişkin konsantrasyona bağlı absorbans değışimleri (n=3).



Şekil 4. 7. Graviola meyve ve yaprak ekstraktlarının DPPH' giderim aktivitesi (% İnhibisyon) (n=3).



Şekil 4. 8. Tokoferol ve BHA'nın DPPH' giderim aktivitesi (% İnhibisyon) (n=3).

Analiz sonuçlarında ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak % inhibisyon değerleri arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Konsantrasyon arttıkça radikal giderim aktivitesi önemli düzeyde yükselmiştir. Tüm ekstraktlar içerisinde Ç-MeOH ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.7). Aktivite sıralamasında en yüksek konsantrasyonda, % 85.46 (Ç-MeOH), % 67.01 (Y-MeOH), % 41.66 (K-MeOH), % 40.73 (Ç-EtOAc) değerleri ile belirtilen ekstraktlar yüksek aktiviteler göstermektedir (Şekil 4.7). Standart tokoferol ve BHA çözeltileri ile karşılaştırıldığında, çekirdek metanol ekstresinin 0.8 mg/mL ekstrakt konsantrasyonunda aktivitesinin (% 40.18) tokoferolün 0.2 mg/mL konsantrasyondaki aktivitesinden (% 31.28) yüksek olduğu görülmektedir. BHA'nın 0.2 mg/mL konsantrasyondaki aktivitesi (% 63.37) ise, çekirdek metanol ekstresinin 1.6 mg/mL ekstrakt konsantrasyonunda (% 71.24) aşmıştır (Şekil 4. 8.).

DPPH radikal giderim aktivitesini değerlendirmede reaksiyon ortamındaki DPPH radikalinin % 50'sinin giderilmesi için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu olan EC_{50} değeri hesaplanmakta ve en düşük EC_{50} değeri, en yüksek antiradikal aktiviteyi göstermektedir. Bu şekilde graviola ekstraktlarının her biri için ayrı çizilen konsantrasyon - % inhibisyon grafiklerinden yararlanarak DPPH radikali giderim aktivitesine ilişkin EC_{50} değerleri belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlar farklılıkları ortaya koymak için istatistiksel analiz yöntemiyle değerlendirilmiş ve Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi en düşük EC_{50} değeri 0.044 mg/mL değeri ile Ç-MeOH ekstresinde bulunurken, en yüksek EC_{50} değeri P-HKZn ekstresinde ve 0.411mg/mL olarak saptanmıştır.

Tablo 4. 4. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının DPPH radikal giderim aktivitesine ilişkin EC₅₀ değerleri

Bitki kısım	Ekstre	EC ₅₀ DPPH (mg/mL) *	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	0.231 ± 0.02 ı	0.145 C**
	Metanol	0.044 ± 0.02 o	
	Etil asetat	0.115 ± 0.02 m	
	Diklormetan	0.191 ± 0.04 j	
Pulp	n-Hekzan	0.411 ± 0.03 a	0.332 A
	Metanol	0.281 ± 0.04 f	
	Etil asetat	0.307 ± 0.02 d	
	Diklormetan	0.328 ± 0.05 b	
Kabuk	n-Hekzan	0.264 ± 0.02 h	0.229 B
	Metanol	0.090 ± 0.05 n	
	Etil asetat	0.277 ± 0.10 g	
	Diklormetan	0.286 ± 0.02 e	
Yaprak	n-Hekzan	0.312 ± 0.04 c	0.164 BC
	Metanol	0.063 ± 0.04 n	
	Etil asetat	0.136 ± 0.65 l	
	Diklormetan	0.143 ± 0.02 k	
	EC₅₀ (Tokoferol) : 0.011 ± 0.02		
	EC₅₀ (BHA): 0.0029 ± 0.01		
ORTALAMA	n-Hekzan : 0.304 A Metanol : 0.119 C Etil asetat : 0.209 B Diklormetan : 0.237 AB		

*Sonuçlar ortalama değer olarak hesaplanmış, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

EC₅₀ değerlerine göre -MeOH ekstresinden sonra yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi gösteren ekstrelerin Y-MeOH (0.063 mg/mL), K-MeOH (0.090 mg/mL), -EtOAc (0.115 mg/mL), Y-DCM (0.143 mg/mL), -DCM (0.191 mg/mL), Y-EtOAc (0.136 mg/mL), Y-DCM (0.143 mg/mL), -EtOAc (0.115 mg/mL) olduğu görülmektedir. Standart tokoferol ve BHA için bu değerler sırasıyla 0.011 mg/mL ve 0.0029 mg/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 4.4). Buna göre tokoferol aktivitesinin, -MeOH ekstresinin dört katı kadar yüksek olduğu görülmektedir.

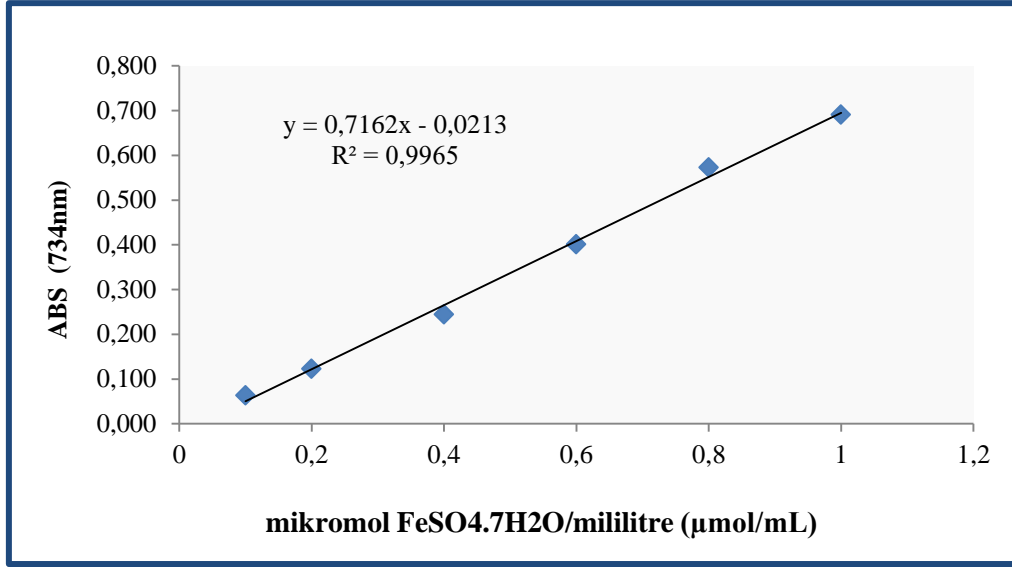
DPPH EC₅₀ değerlerine ilişkin istatistiksel ortalama değerleri meyvenin farklı kısımları ve çözücü etkinliği arasındaki farklılığın önemli düzeyde ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir. Buna göre en yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi meyvenin çekirdeklerinde belirlenirken, en düşük aktivite meyve pulpunda bulunmuştur (Tablo 4.4).

Aktivite sıralaması ekirdek > Yaprak > Kabuk > Pulp şeklinindedir. Ekstraksiyon zcs etkinliği açısından ise sıralama; Metanol > Etil asetat > Diklormetan > n-Hekzan şeklinde olmuştur. Görüldüğü zere DPPH radikal giderim aktivitesi en yüksek metanol ekstraksiyonu sonucunda elde edilen örneklerde, en düşük aktivite ise n-hekzan çözücü kullanılarak elde edilen ekstrelerde belirlenmiştir (Tablo 4.4).

4.4.2. Ferrik Demir İyon İndirgeme Kapasitesi (FRAP)

Antioksidan bileşiklerin Fe⁺³ Fe⁺²ye indirgeme kapasitelerini ortaya koyan ve elektron transfer esasına dayalı reaksiyonlarından olan ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi lmnde FeSO₄.7H₂O kullanılarak standart çalışma grafiği hazırlanmıştır (şekil 4.9). 0.1-1.0 µmol/mL FeSO₄.7H₂O konsantrasyon aralığında hazırlanan standart çalışma grafiği yardımıyla ekstrelerin ferrik demir iyon indirgeme kapasiteleri µmol Fe²⁺g⁻¹ ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Graviola ekstrelerinin ferrik demir iyon indirgeme kapasitelerini belirlemek amacıyla hazırlanan grafik ve hesaplamada kullanılan eşitlik aşağıda belirtilmiştir.

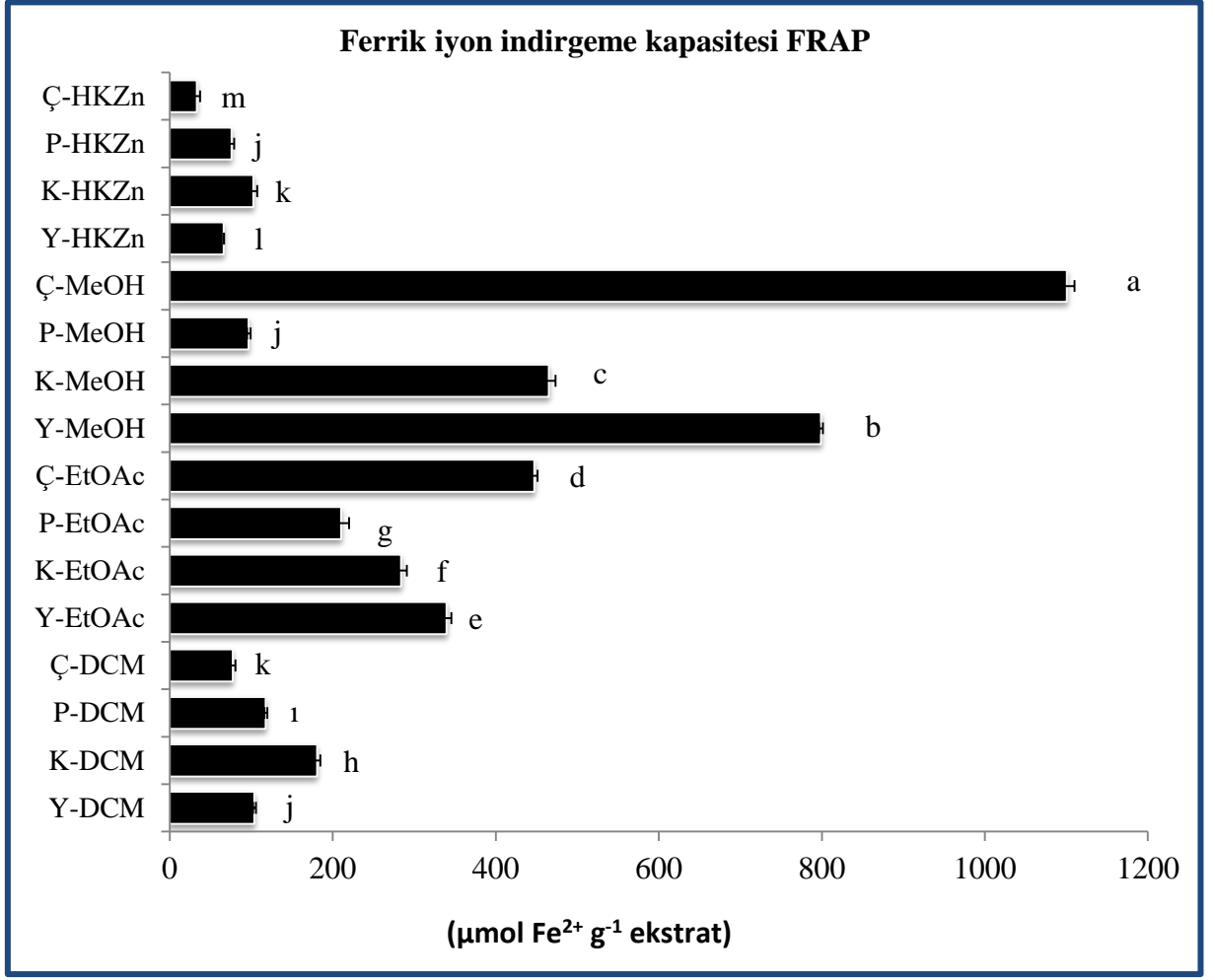
$$\text{Absorbans } (\lambda: 734 \text{ nm}) = 0.7162 \text{ Fe}^{2+} (\mu\text{mol}) + 0.0213 (R^2: 0.9965)$$



Şekil 4. 9. Ferrik iyon indirgeme kapasitesi (FRAP), FeSO₄.7H₂O standart eğrisi

Yapılan analizler sonucunda graviola meyvesinin n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ekstralarının FRAP aktivitesine ilişkin değerler ve istatistik analiz sonuçları Tablo 4.5 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

FRAP aktivitesine ilişkin Şekil 4.10 ve Tablo 4.5'de görüldüğü üzere en yüksek ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde 1100.56 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt olarak saptanmıştır. Daha sonra en yüksek değer (798.95 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt) yapraklardan metanol ekstraksiyonu sonucunda elde edilmiştir. Çekirdeklerde metanol ekstresinden sonra en yüksek aktivitenin etil asetat ekstresinde (447.39 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt) olduğu görülmektedir. Bu aktivite değerinin kabuktan metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen ekstraların (465.19 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt) aktivitesine yakın olduğu görülmekle birlikte, sonuçlar arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Tablodan da görüldüğü üzere kabuk, yaprak ve çekirdek ekstralarında en yüksek aktivite metanol ekstralarında bulunurken, pulp için etil asetat ekstraksiyonu sonrası elde edilen ekstraların FRAP aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. En düşük FRAP aktivitesi çekirdek n-hekzan ekstralarında belirlenmiştir (33.23 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt). Elde edilen bulgulara göre Ç-MeOH ekstresinin FRAP aktivitesi, Ç-HGZn ekstresinin FRAP aktivitesinden yaklaşık 33 kat daha fazladır. Diğer taraftan standart bileşikler ile karşılaştırıldığında tokoferol ferrik iyon indirgeme aktivitesinin, Ç-MeOH ekstresinin 3.77 katı, BHA'nın aktivitesinin ise 4,65 katı yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 4.5).



Şekil 4. 10. Graviola meyve ve yaprak ekstrelerinin ferrik iyon indirgeme kapasiteleri (n=3)

*Sütun boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir (P<0.05).

Meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına göre, ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi en yüksek çekirdekte bulunmuş ve aktivite sıralaması Çekirdek > Yaprak = Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur (P< 0.05). Yaprğa ilişkin değerler genel olarak yüksek bulunmakla birlikte, aralarındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı görülmektedir. Çözücü etkinliği açısından ise metanolün tüm çözücülerden daha yüksek etkinliğe sahip olduğu görülürken n-hekzanın en düşük etkinliğe sahip olduğu görülmektedir (Metanol > Etil asetat > Diklormetan > n-Hekzan) (Tablo 4.5).

Tablo 4. 5. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının ferrik iyon indirgeme kapasiteleri (FRAP)

Bitki kısım	Ekstre	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$ ekstrakt)*	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	33.23 \pm 4.19 m	417.52 A
	Metanol	1100.56 \pm 9.34 a	
	Etil asetat	447.39 \pm 3.74 d	
	Diklormetan	77.53 \pm 3.20 k	
Pulp	n-Hekzan	75.95 \pm 3.00 k	132.08 B
	Metanol	97.03 \pm 2.14 j	
	Etil asetat	210.44 \pm 9.60 g	
	Diklormetan	117.88 \pm 1.79 ı	
Kabuk	n-Hekzan	102.85 \pm 4.29 j	254.07 AB
	Metanol	465.19 \pm 7.99 c	
	Etil asetat	284.10 \pm 6.83 f	
	Diklormetan	180.71 \pm 4.16 h	
Yaprak	n-Hekzan	66.46 \pm 0.38 l	328.59 AB
	Metanol	798.95 \pm 2.41 b	
	Etil asetat	339.71 \pm 5.89 e	
	Diklormetan	104.00 \pm 1.66 j	
	BHA	5118.67 \pm 3.40	
	Tokoferol	4153.48 \pm 1.92	
ORTALAMA	n-Hekzan : 71.09 C Metanol : 619.21 A Etil asetat : 321.63 B Diklormetan: 120.32 C		

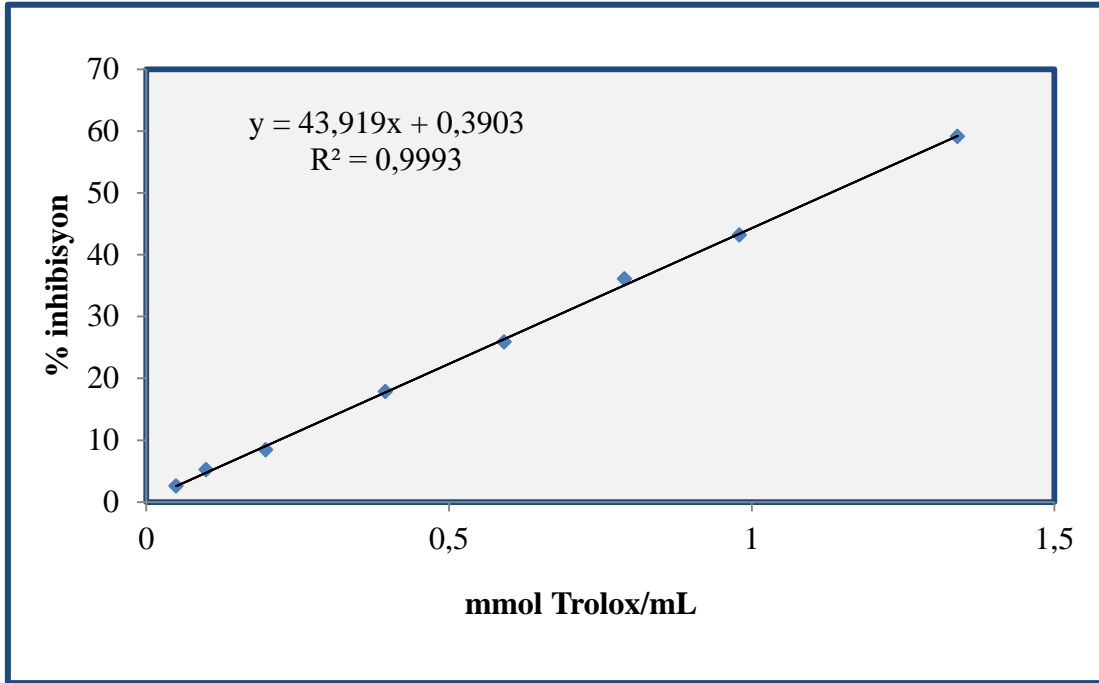
*Sonnular ortalama değer olarak hesaplanmış. ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak onemli farklılıkları gostermektedir (P<0.05).

4.4.3. ABTS•⁺ Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

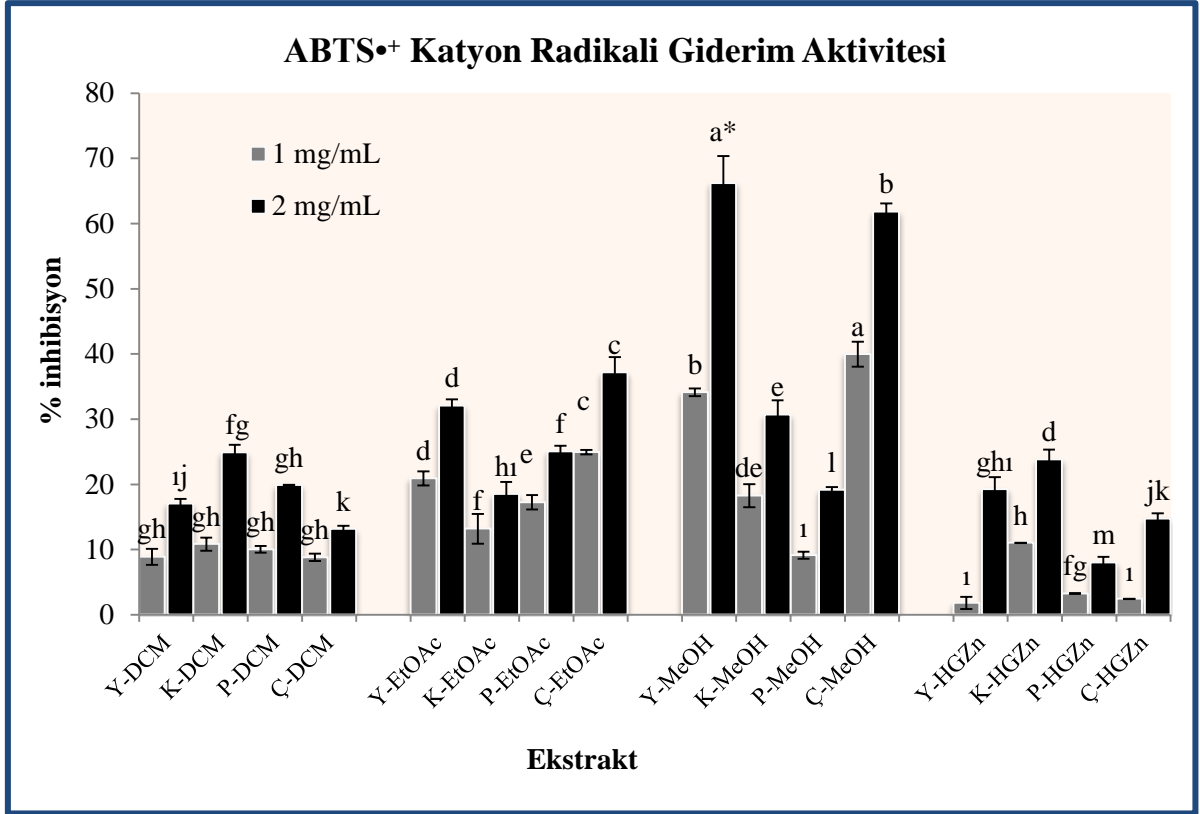
Graviola ekstrelerinde ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesi Trolox eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Örneklerin belirlenen konsantrasyonlarda TEAC değerlerinin hesaplanması amacıyla $4.93 \times 10^{-2} - 1.34 \times 10^{-1}$ mmol Trolox mL⁻¹ konsantrasyon aralığında hazırlanan Troloks çözeltisi kullanılarak standart çalışma grafiği hazırlanmıştır. *Graviola* ekstraktlarının ABTS•⁺ radikali giderme aktiviteleri standart eğriden elde edilen aşağıdaki eşitlikten, troloks eşdeğeri (mmol TE g⁻¹ ekstrakt) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.11).

$$y = 43.919 \text{ Trolox (mmol)} + 0.3903 \text{ (R}^2: 0.9993)$$



Şekil 4. 11. Troloks için TEAC standart çalışma grafiği

Graviola meyvesinin n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ekstrelerinin ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesi'ne ilişkin bulgular iki farklı konsantrasyonda % inhibisyon olarak Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri ise Troloks eşdeğeri (TEAC) olarak Şekil 4.11'de ve Tablo 4.6'da görülmektedir. Tablo 4.6'da ayrıca istatistiksel analiz sonuçlarına göre farklılıklar arasındaki önem düzeyini göstermektedir (P<0.05).

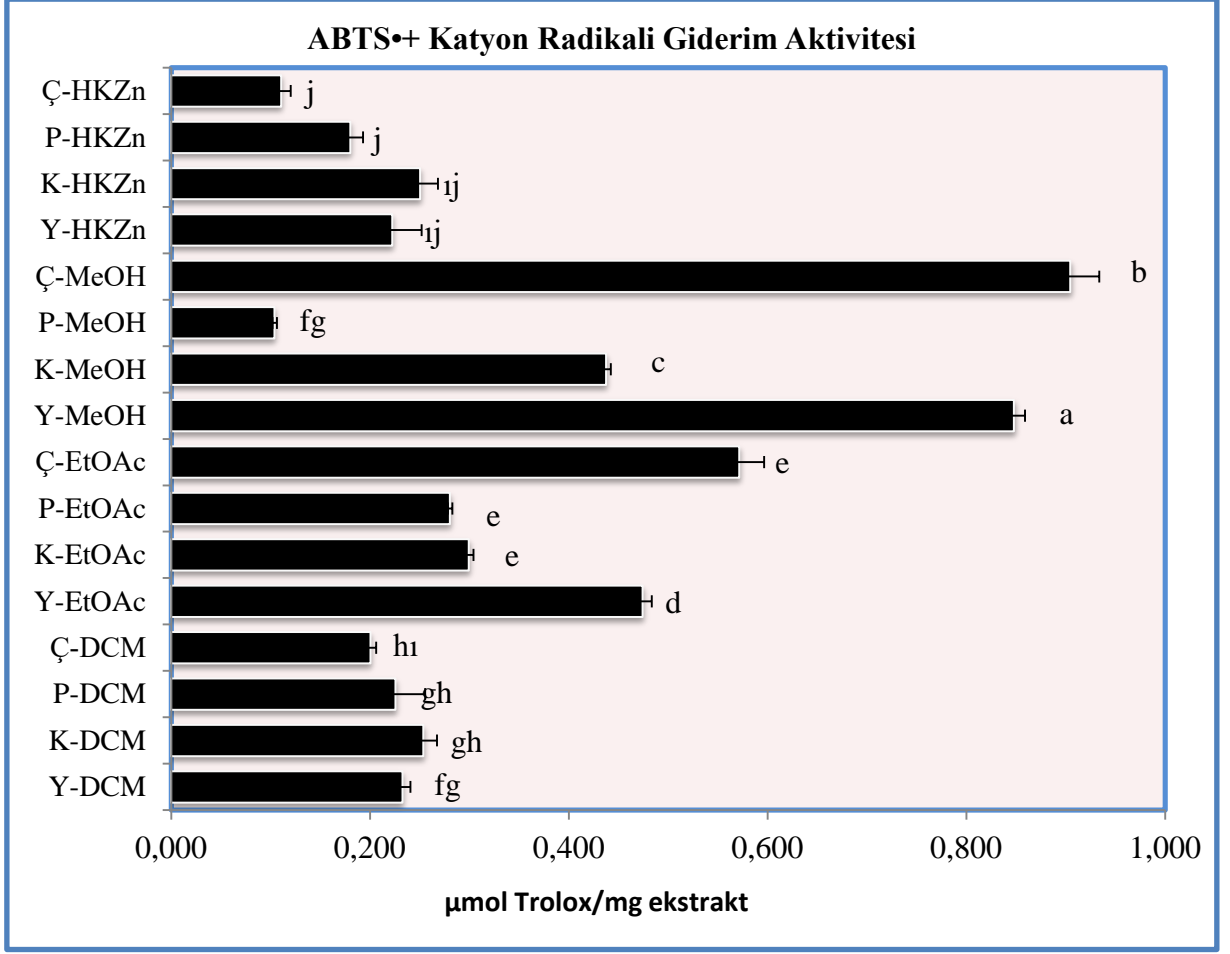


Şekil 4. 12. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının farklı konsantrasyonda ABTS•⁺ radikali giderme aktivitesi (n=3).

*Sütun boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir (P<0.05) (n=3).

Yapılan analizler sonucunda graviola ekstralarında ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesinde önemli artış olduğu görülmektedir. En yüksek aktivite Y-MeOH ekstresinde saptanmış olup, 2 mg/mL'lik konsantrasyonda çalışılan eksrelerde % 66.19 aktivite göstermiştir. En düşük aktivitenin ise P-HKZn ekstresinde ve % 8.01 düzeyinde olduğu görülmektedir.

Ekstrelerin ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesi istatistiki olarak da önemli farklılıklar ortaya koymuştur (P< 0.05) (Şekil 4.13).



Şekil 4. 13. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının ABTS•⁺ radikali giderme aktivitesi.

*Sütün boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir (P<0.05) (n=3).

Graviola meyvesinin n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde; en yüksek aktivitenin meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde (0.905 µmol TE/mg ekstrakt) olduğu görülmektedir (Tablo 4.6 ve Şekil 4.13). Daha sonra en yüksek değer (0.848 µmol TE/mg ekstrakt) Y-MeOH ekstresinde bulunmuş, onu Ç-EtOAc ekstresi izlemiştir (0.572 µmol TE/mg ekstrakt). ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesi değerlerine göre, Ç-EtOAc ekstresinden sonra yüksek aktivite gösteren ekstraların Y-EtOAc (0.474 µmol TE/mg ekstrakt), K-MeOH (0.438 µmol TE/mg ekstrakt), K-EtOAc (0.300 µmol TE/mg ekstrakt), P-EtOAc (0.280 µmol TE/mg ekstrakt) olduğu görülmektedir (Tablo 4.13). En düşük aktivite P-MeOH (0.104 µmol TE/mg ekstrakt) ekstresinden elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Ç-MeOH ekstresinin ABTS•⁺ radikali giderim aktivitesi P-HKZn ekstresinin aktivitesinden yaklaşık 8.7 kat daha fazladır.

Tablo 4. 6. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının ABTS•⁺ radikali giderme aktivitesi

Bitki kısım	Ekstre	ABTS (µmol Trolox/mg ekstrakt)	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	0.110 ±0.009 k	0.456 A**
	Metanol	0.905 ±0.029 a	
	Etil asetat	0.572 ±0.025 c	
	Diklormetan	0.201 ±0.006 ı	
Pulp	n-Hekzan	0.180 ±0.012 j	0.192 B
	Metanol	0.104 ±0.002 k	
	Etil asetat	0.280 ±0.002 g	
	Diklormetan	0.225 ±0.029 ı	
Kabuk	n-Hekzan	0.251 ±0.018 h	0.316 AB
	Metanol	0.438 ±0.005 e	
	Etil asetat	0.300 ±0.005 f	
	Diklormetan	0.253 ±0.014 h	
Yaprak	n-Hekzan	0.222 ±0.029 ı	0.449 A
	Metanol	0.848 ±0.011 b	
	Etil asetat	0.474 ±0.009 d	
	Diklormetan	0.242 ±0.008 h	
	BHA	2.213± 0.76	
	Tokoferol	1.489 ± 3.40	
ORTALAMA		n-Hekzan : 0.186 B Metanol : 0.588 A Etil asetat : 0.413 A Diklormetan :0.227 B	

*Sonuçlar ortalama değer olarak hesaplanmış ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

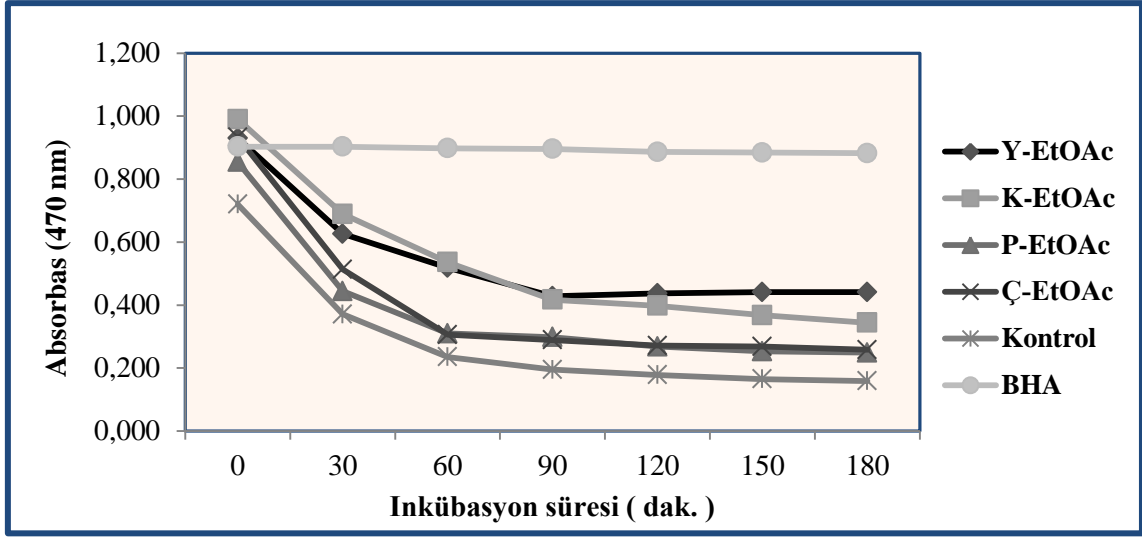
Standart bileşikler ile karşılaştırıldığında tokoferol ABTS^{•+} katyon radikali giderim aktivitesinin, Ç-MeOH ekstresinin 1.65 katı, BHA'nın aktivitesinin ise 2.47 katı yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 4.6).

Çözücü etkinliği açısından en yüksek aktivite metanol ekstralarında bulunurken, istatistiksel analiz sonuçlarına göre çözücülerden metanol ile etil asetat arasında önemli düzeyde bir farklılık olmadığı bulunmuştur (Tablo 4.6). Diğer taraftan, diklormetan ve n-hekzan arasındaki farklılık da ABTS^{•+} katyon radikali giderim aktivitesi açısından önemli bulunmamış, bu çözücüler birbirlerine benzer özellik göstermişlerdir (Metanol = Etil asetat > Diklormetan = n-Hekzan) (Tablo 4.6).

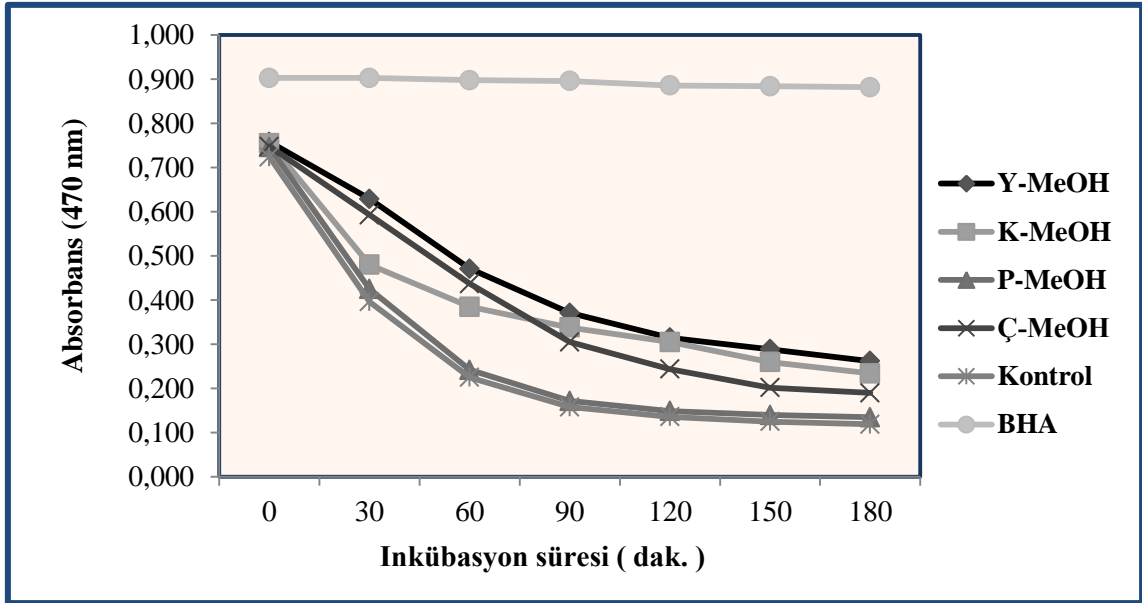
Kabuk, yaprak, pulp ve çekirdek meyve kısımları açısından en yüksek aktivite meyvenin çekirdeklerinde ve yapraklarında bulunmuş, aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı görülmektedir. ABTS^{•+} katyon radikali giderim aktivitesi açısından daha sonra kabuk yüksek aktivite göstermiş, en düşük aktivite ise meyve pulpunda bulunmuştur. Meyve kısımları açısından sıralama Çekirdek = Yaprak > Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur.

4.4.4. β-Karoten Renk Giderim Aktivitesi

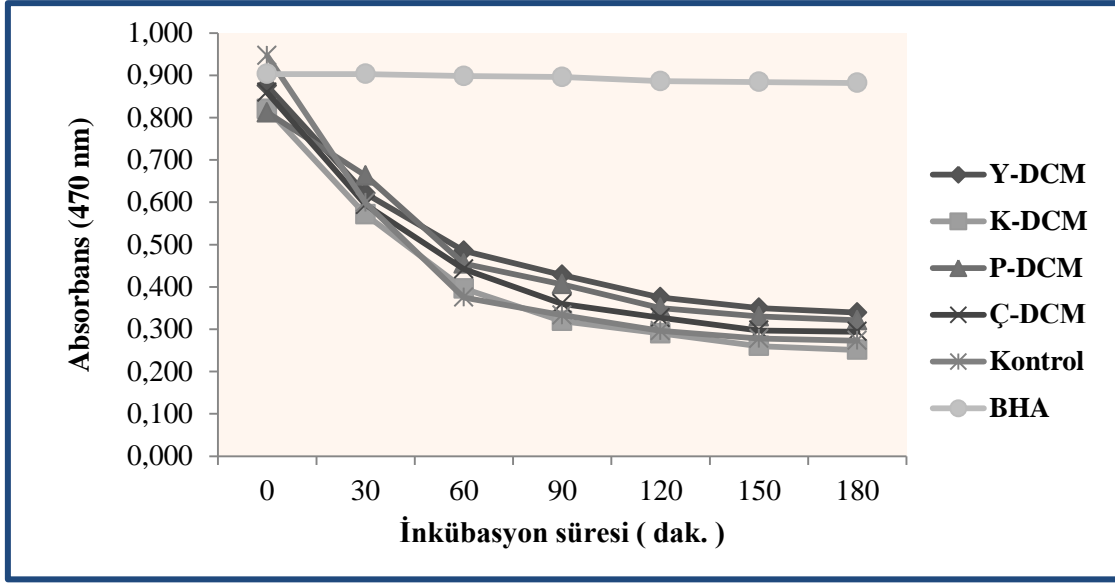
Graviola ekstradaki antioksidan aktiviteyi belirlemede β-karotenin renginin açılmasına dayanan ve linoleik asit oksidasyon hızını ölçen β-karoten-linoleik asit yöntemi uygulanmıştır. Ekstrelerin aktivitesi standart madde olarak kullanılan BHA ile karşılaştırılmıştır. Ekstrelerin 470 nm'deki absorbans değişimleri Şekil 4.14-15-16-17'de gösterilmiş ve reaksiyonun % inhibisyon esasına dayalı olarak hesaplanan aktivite değerleri ise Tablo 4.7'de gösterilmiştir.



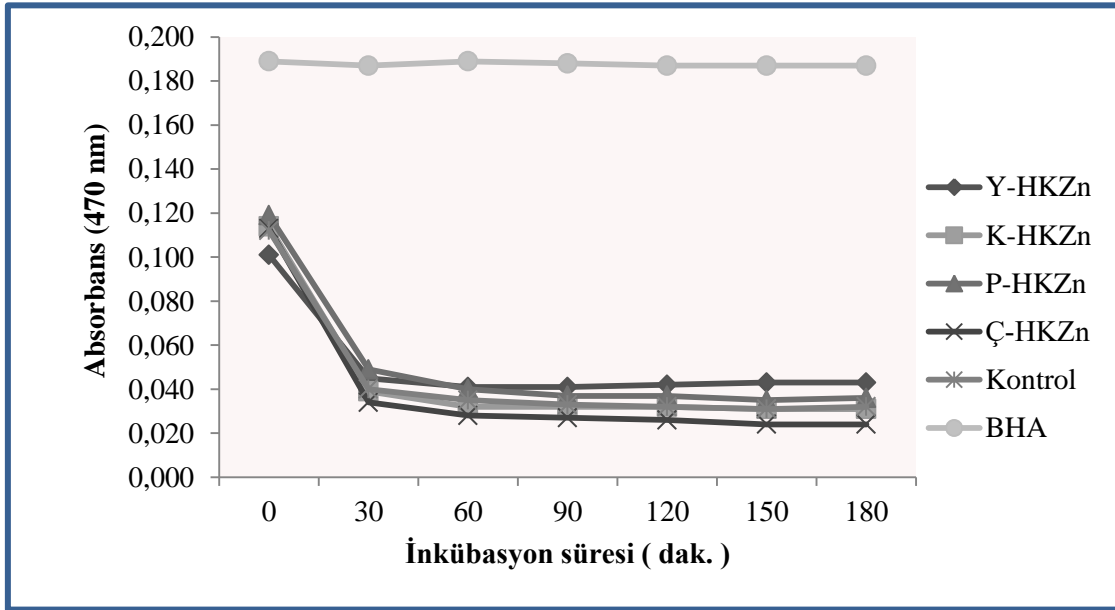
Şekil 4. 14. β -karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola etil asetat ekstralarının zamana karşı absorpsiyon değışim grafiği.



Şekil 4. 15. β -karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola metanol ekstralarının zamana karşı absorpsiyon değışim grafiği.



Şekil 4. 16. β -karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola diklorometan ekstralarının zamana karşı absorpsiyon değışim grafiği.



Şekil 4. 17. β -karoten linoleik asit emülsiyon sisteminde graviola n-hekzan ekstralarının zamana karşı absorpsiyon değışim grafiği.

Graviola ekstralarının linoleik asit ve β -karotenin oksidasyon hızına ve renk ağarmasına karşı en yüksek inhibisyon etkisinin 180. dakikada bulunan değerlere göre, K-MeOH ekstresinde (% 45.13) olduğu ve ardından Y-MeOH ekstresinin geldiği (% 30.82) görölmektedir. Aktivite azalış sıralamasına göre daha sonra Ç-MeOH (% 26.30), K-EtOAc (% 20.94), P-MeOH (% 19.34), Ç-EtOAc (% 9.79) ektreleri gelmektedir. Diğer taraftan en

düşük aktivitenin n-hekzan ve diklormetan ekstralarında olduğu görülmektedir (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının β -karoten lineoleik asit emülsiyon sisteminde oksidasyon hızına etkisi (% inhibisyon)

Ekstraktlar	İnkübasyon Süresi					
	30 dak.	60 dak.	90 dak.	120 dak.	150 dak.	180 dak.
Y-DCM	21.61 _ı	10.24 _j	4.68 _ı	0.00 _k	0.00 _j	0.00 _ı
K-DCM	8.79 _k	0.00 _ı	0.00 _ı	0.00 _k	0.00 _j	0.00 _ı
P-DCM	17.98 _j	0.24 _ı	0.00 _ı	0.00 _k	0.00 _j	0.00 _ı
Ç-DCM	2.93 _ı	0.00 _ı	0.00 _ı	0.00 _k	0.00 _j	0.00 _ı
Y-EtOAc	54.66 _e	30.20 _g	28.97 _f	25.31 _e	19.06 _e	16.06 _e
K-EtOAc	48.20 _f	44.23 _d	37.94 _d	42.49 _b	28.87 _d	20.94 _d
P-EtOAc	40.24 _g	16.96 _ı	12.87 _h	8.19 _ı	8.14 _h	8.14 _g
Ç-EtOAc	60.67 _d	42.48 _e	29.12 _e	20.25 _f	15.54 _g	9.79 _f
Y-MeOH	69.08 _b	59.29 _b	49.08 _a	40.69 _c	35.58 _b	30.82 _b
K-MeOH	66.30 _c	65.93 _a	47.94 _b	45.85 _a	45.63 _a	45.13 _a
P-MeOH	61.45 _d	36.20 _f	28.97 _f	19.06 _g	19.34 _f	19.34 _e
Ç-MeOH	73.43 _a	53.35 _c	45.20 _c	37.20 _d	30.24 _c	26.30 _c
Y-HKZn	26.32 _h	26.83 _h	18.01 _g	10.09 _h	7.85 _h	6.49 _h
K-HKZn	1.32 _ı	0.00 _ı	3.53 _j	3.53 _j	1.19 _ı	0.00 _ı
P-HKZn	7.89 _k	3.66 _k	3.53 _k	3.53 _k	0.00 _j	0.00 _ı
Ç-HKZn	1.89 _ı	0.00 _ı	0.00	0.00 _k	0.00 _j	0.00 _ı
BHA	102.44	101.17	102.34	101.75	101.16	101.16

*Sonaçlar ortalama değeri olarak hesaplanmış ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

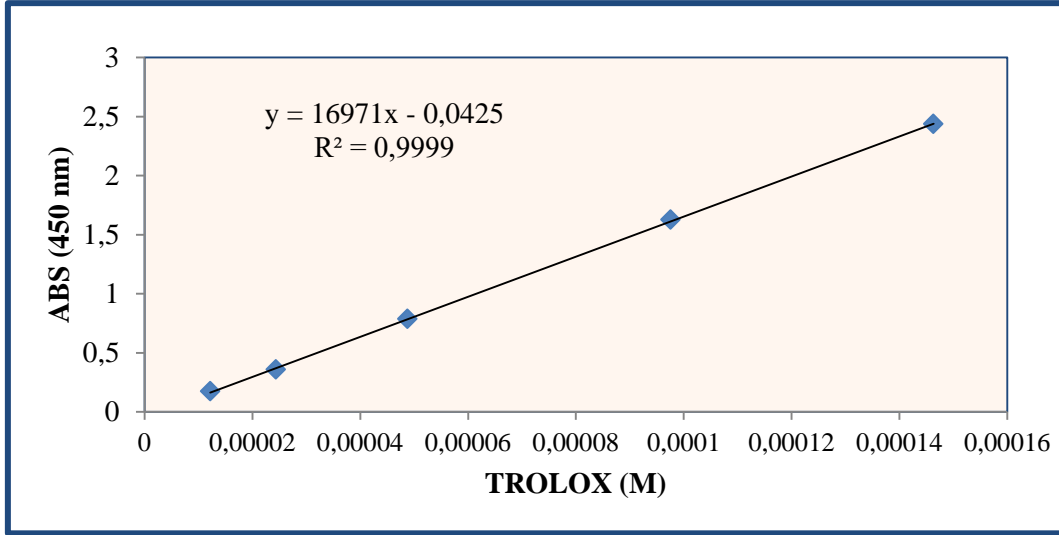
4.4.5. Bakır (II) İndirgeme Gücü (CUPRAC)

Yöntemin esası, Cu (II) klorür çözeltisi neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat (pH=7 tamponu) çözeltilerinin antioksidan varlığında ve 30 dakika sonunda antioksidan madde içermeyen referansa karşı 450 nm’de absorbands değerlerinin ölçülmesine dayanmaktadır. Cuprac yönteminde kalibrasyon eğrisi, etanolde hazırlanan troloks çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen hacim-konsantrasyon-absorbans değerlerine ilişkin bulgular Şekil 4.18’te verilmiştir. Kalibrasyon eğrilerinden elde edilen ve aşağıda gösterilen grafik denkleminde Graviola meyvesinin ekstraktlarının aktiviteleri Troloks eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Ekstrelerin bakır indirgeme gücü (CUPRAC aktiviteleri) standart eğriden elde edilen aşağıdaki eşitlikten hesaplanarak mM TR g⁻¹ ekstrakt olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.18).

$$\text{Absorbans } (\lambda: 450 \text{ nm}) = 16971 \text{ Trolox (Molar)} - 0.0425 (R^2: 0.9999)$$

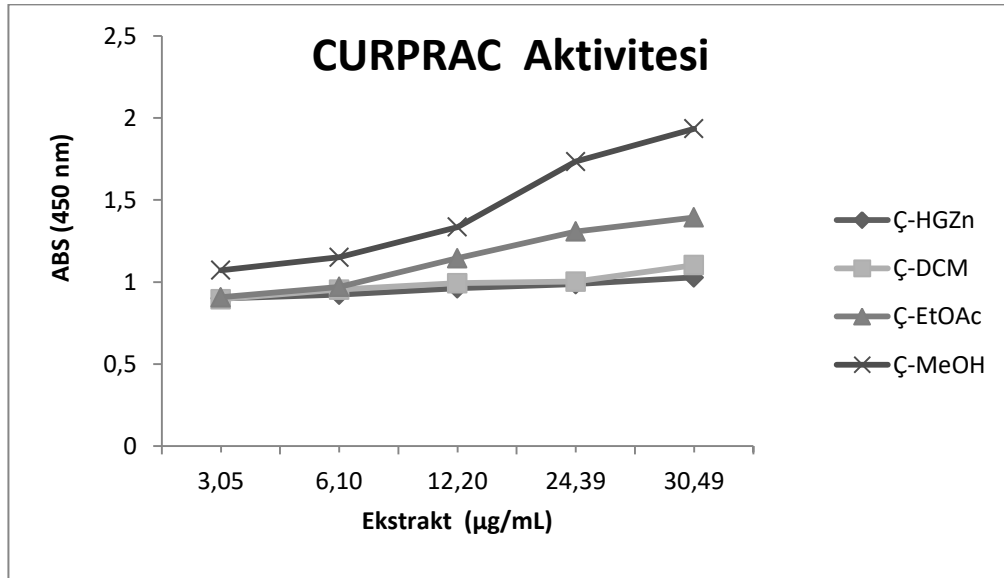
Tablo 4. 8. Standart eğri için Troloksun hacim-konsantrasyon-absorbans değerleri

C1 (STOK)	C1 (STOK)	Alınan hacim (Trolox çöz.)	C2	C2	Reaksiyon hacmi	Absorbans (λ: 450 nm)
1 mg/ml	Molar	V1 (µL)	mg Trolox/mL	Molar	V2 (µL)	
1	0.004	6.25	3.04878E-06	1.21951E-05	2050	0.173
1	0.004	12.5	6.09756E-06	2.43902E-05	2050	0.358
1	0.004	25	1.21951E-05	4.87805E-05	2050	0.785
1	0.004	50	2.43902E-05	9.7561E-05	2050	1.625
1	0.004	75	3.65854E-05	0.000146341	2050	2.435
1	0.004	100	4.87805E-05	0.000195122	2050	2.783
1	0.004	125	6.09756E-05	0.000243902	2050	2.783
1	0.004	200	9.7561E-05	0.000390244	2050	2.783
1	0.004	250	0.000121951	0.000487805	2050	2.783

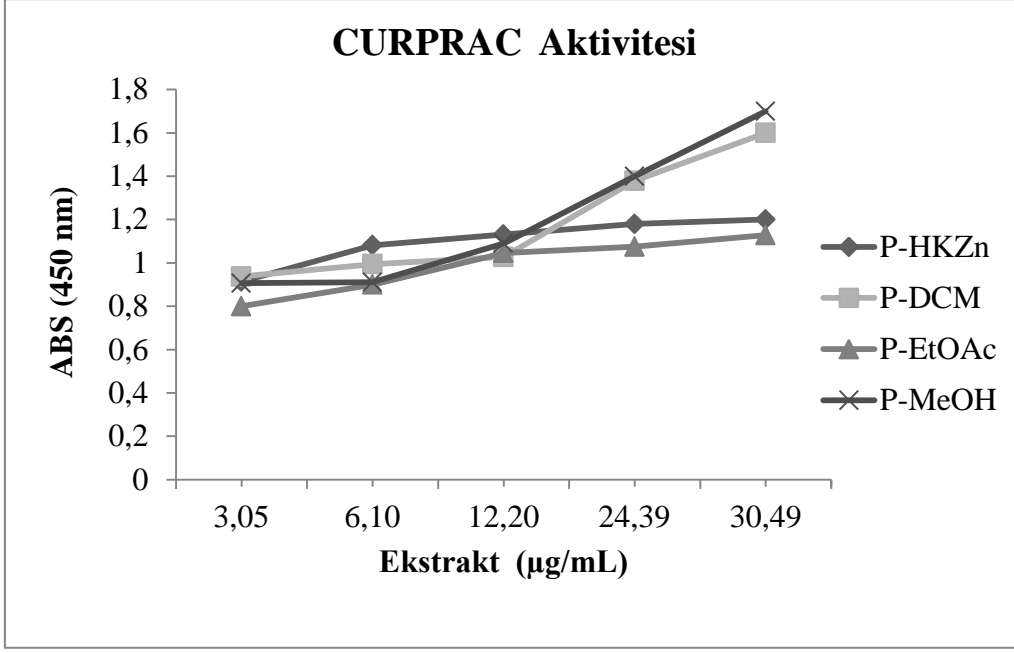


Şekil 4. 18. Troloks için CUPRAC standart çalışma grafiği ve doğru denklemi

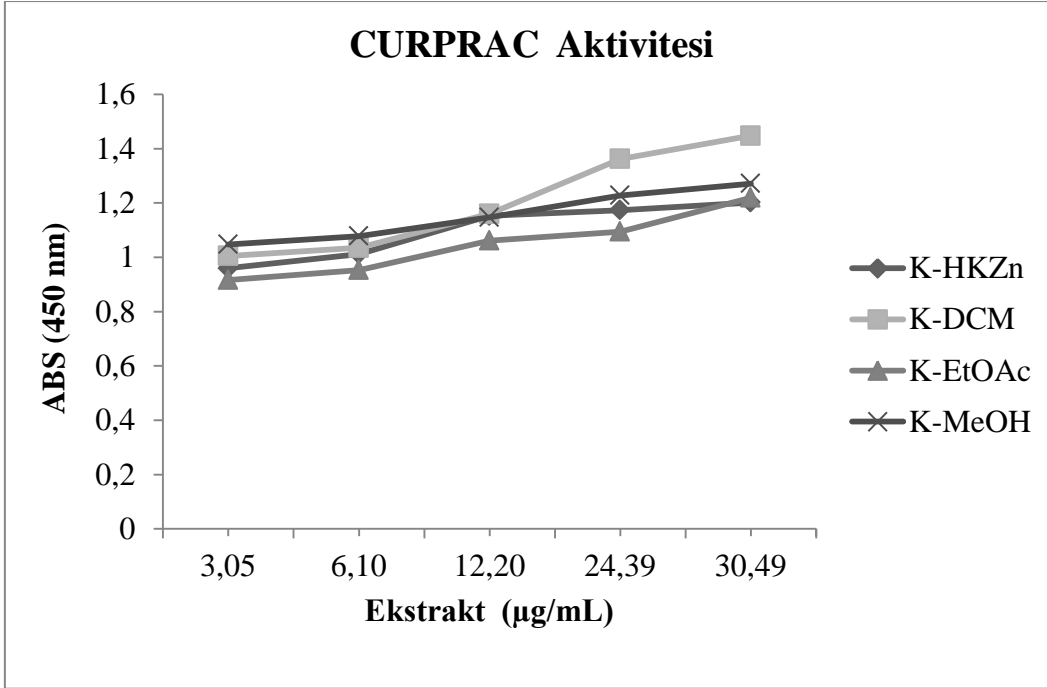
Graviola meyvesinin n-hekzan, metanol, etilasetat ve diklormetan ekstralarının, farklı çözücü ve konsantrasyonda, CUPRAC iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi ilişkin bulgular absorbansa bağlı değişim grafiği olarak Şekil 4.19 ; 4.20 ; 4.21 ve 4.22'de gösterilmiştir. Şekillerde de görüldüğü üzere indirgeme kapasiteleri ekstraktların artan konsantrasyonları ile önemli bir artış göstermektedir. Şekil 4.19'da da görüldüğü üzere çekirdek ekstraları daha yüksek absorbans değerlerine sahip olurken, en yüksek absorbans verileri, Ç-MeOH ekstralarından elde edilmiştir. Sonra yaprak, kabuk ve pulp gelmiştir.



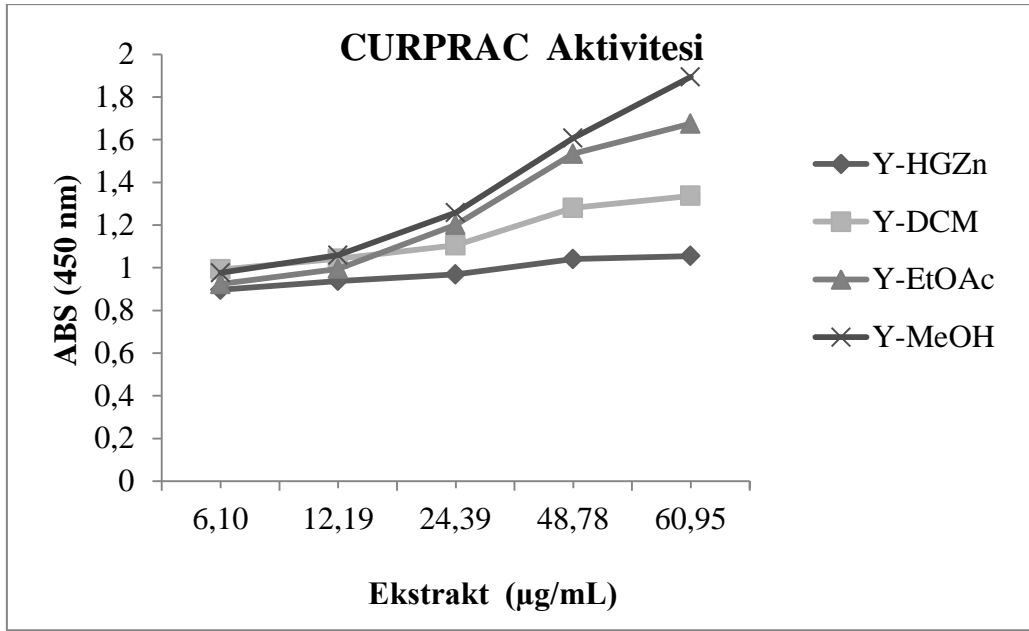
Şekil 4. 19. Graviola çekirdek ekstralarının farklı konsantrasyonda absorpsiyon değişim grafiği



Şekil 4. 20. Graviola pulp ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorpsiyon değişim grafiği



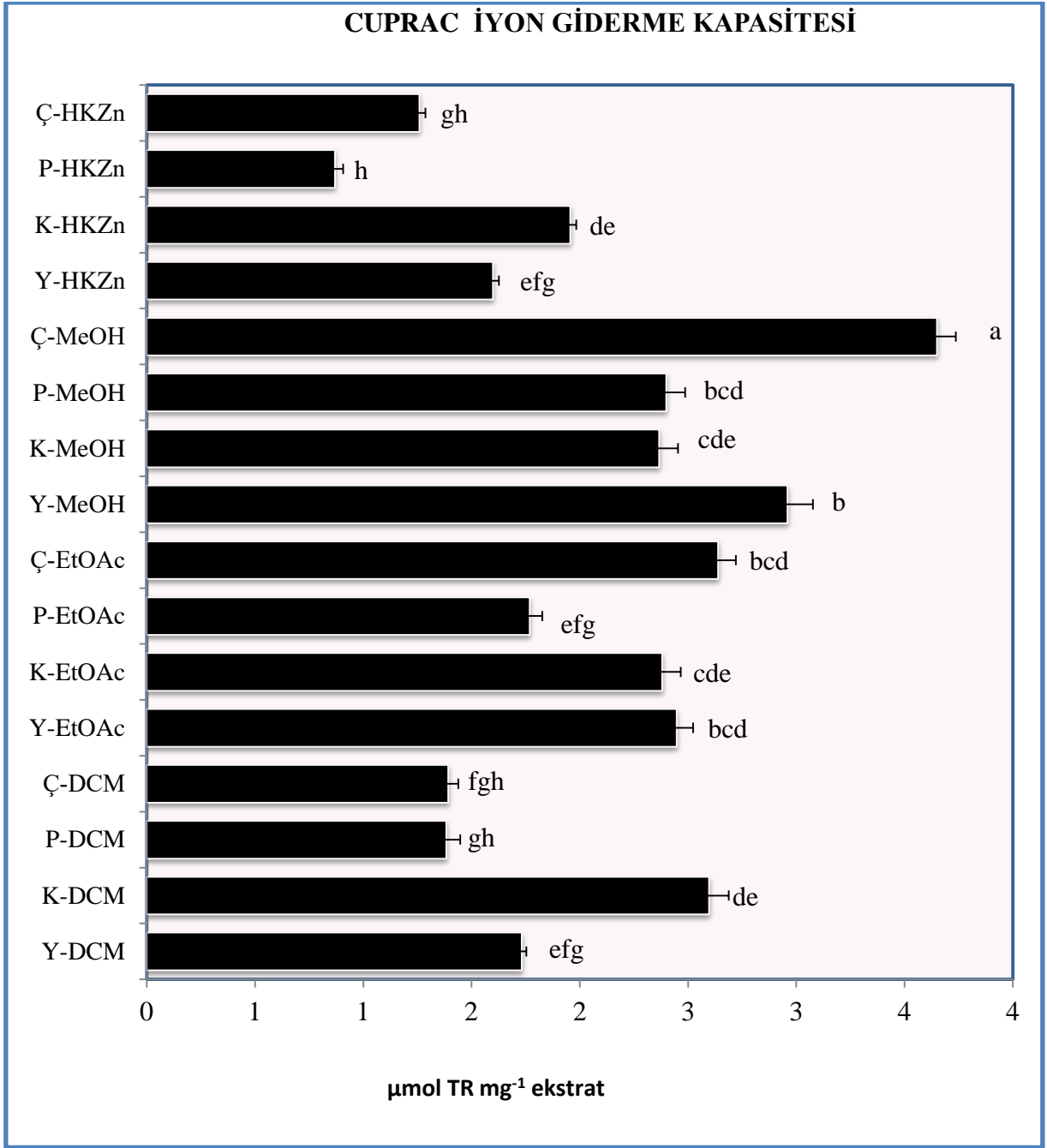
Şekil 4. 21. Graviola kabuk ekstrelerinin farklı konsantrasyonda absorpsiyon değişim grafiği



Şekil 4. 22. Graviola yaprak ekstralarının farklı konsantrasyonda absorpsiyon değışim grafiği

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri ise Troloks eşdeğeri olarak hesaplanmış, sonuçlar Şekil 4.23 ve Tablo 4.9’da gösterilmiştir. Tablo 4.9 ayrıca istatistiksel analiz sonuçlarına göre meyve kısımları ve ekstraksiyon çözücöleri arasındaki farklılıkların önem düzeyini göstermektedir.

Graviola meyvesinin hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde en yüksek aktivitenin meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde ($3.65 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) olduğu görölmektedir (Tablo 4.9 ve Şekil 4.23). Daha sonra en yüksek değer ($2.96 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) P-MeOH ekstresinde bulunurken, onu Ç-EtOAc ($2.64 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) ve P-EtOAc ekstraları ($2.44 \mu\text{mol Trolox/mg}$ ekstrakt) izlemiştir. CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesi değerlerine göre Y-EtOAc ekstresinden sonra yüksek aktivite gösteren ekstraların Y-MeOH ($2.40 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt), K-MeOH ($2.10 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt), K-DCM ($2.00 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt), K-EtOAc ($1.98 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) ekstraları olduğu görölmektedir (Tablo 4.9). En düşük aktivite Y-HKZn ($0.87 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) ekstresinde bulunmuştur.



Şekil 4. 23. Graviola meyve ve yaprak ekstratlarının CUPRAC iyon indirgeme indirgeme kapasiteleri.

*Sütun boyunca farklı harfler, istatistik olarak farkları göstermektedir ($P < 0.05$) ($n=3$).

Tablo 4. 9. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının CUPRAC iyon indirgeme kapasiteleri

Bitki kısım	Ekstre	CUPRAC ($\mu\text{mol TR mg}^{-1}\text{ekstrakt}$)*	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	1.26 \pm 0.06 gh	2.25 A
	Metanol	3.65 \pm 0.08 a	
	Etil asetat	2.64 \pm 0.08 bc	
	Diklormetan	1.39 \pm 0.15 fgh	
Pulp	n-Hekzan	1.60 \pm 0.15 efg	1.65 A
	Metanol	2.96 \pm 0.11 b	
	Etil asetat	2.44 \pm 0.09 bcd	
	Diklormetan	1.73 \pm 0.02 efg	
Kabuk	n-Hekzan	1.99 \pm 0.14 de	1.96 A
	Metanol	2.10 \pm 0.07 cde	
	Etil asetat	1.98 \pm 0.12 cde	
	Diklormetan	2.00 \pm 0.08 de	
Yaprak	n-Hekzan	0.87 \pm 0.08 h	2.18 A
	Metanol	2.40 \pm 0.06 bcd	
	Etil asetat	1.76 \pm 0.07 efg	
	Diklormetan	1.38 \pm 0.05 gh	
ORTALAMA		n-Hekzan : 1.43 A Metanol : 2.78 A Etil asetat : 2.20 A Diklormetan: 1.89 A	

*Sonuçlar ortalama değeri olarak hesaplanmış ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

Tablo 4. 10. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının CUPRAC radikal giderim aktivitesine ilişkin EC₅₀ değerleri

Bitki kısım	Ekstre	EC ₅₀ CUPRAC (mg/mL) *	ORTALAMA
Çekirdek	n-Hekzan	28.60 ± 0.05 d	17.84 CD
	Metanol	7.38 ± 0.02 m	
	Etil asetat	11.78 ± 0.02 j	
	Diklormetan	20.63 ± 0.03 g	
Pulp	n-Hekzan	38.31 ± 0.40 a	24.25 A
	Metanol	11.91 ± 0.03 k	
	Etil asetat	11.51 ± 0.04 k	
	Diklormetan	35.28 ± 0.11 b	
Kabuk	n-Hekzan	23.79 ± 0.08 e	18.16 C
	Metanol	11.49 ± 0.03 k	
	Etil asetat	15.27 ± 0.04 ı	
	Diklormetan	22.11 ± 0.05 f	
Yaprak	n-Hekzan	28.70 ± 0.04 d	21.79 B
	Metanol	10.33 ± 0.03 l	
	Etil asetat	17.18 ± 0.05 h	
	Diklormetan	33.90 ± 0.04 c	
ORTALAMA	n-Hekzan : 27.85 A Metanol : 10.28 C Etil asetat : 13.94 B Diklormetan :27.98 A		

*Sonnular ortalama değer olarak hesaplanmış ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n = 3).

**Analiz edilen karaktere ilişkin farklı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesi değerlendirmede reaksiyon ortamındaki CUPRAC iyon radikali % 50'sinin giderilmesi için etkili antioksidan konsantrasyonu olan EC₅₀ değeri hesaplanmakta ve düşük EC₅₀ değeri en yüksek antiradikal aktiviteyi göstermektedir. Bu şekilde graviola ekstrelerinin her biri için ayrı çizilen konsantrasyon-absorbans grafiklerinden yararlanarak CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesine ilişkin EC₅₀ değerleri belirlenmiştir. EC₅₀ değeri absorbansın 0.5 olduğu etkin konsantrasyonu ifade etmektedir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel analiz yöntemiyle değerlendirilmiş ve Tablo 4.10'da gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi en düşük EC₅₀ değeri ve en yüksek aktivite 7.38 mg/mL değeri ile Ç-MeOH ekstresinde bulunurken, en yüksek EC₅₀ değeri ve en düşük aktivite (38.31 mg/mL) P-HKZn ekstresinde belirlenmiştir. EC₅₀ değerlerine göre Ç-MeOH ekstresinden sonra yüksek CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesi gösteren ekstrelerin Y-MeOH (10.33 mg/mL), Y-EtOAc (17.18 mg/mL), K-MeOH (11.49 mg/mL) ekstreleri olduğu görülmektedir (Tablo 4.10).

Meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarının ortalama değerlerine göre en yüksek CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesi Çekirdek > Yaprak > Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesine ekstraksiyonda kullanılan çözücülerden en yüksek etkiyi metanol gösterirken etil asetat ile arasında önemli düzeyde bir farklılık olmadığı görülmektedir (Tablo 4.10). Diğer taraftan diklormetan ve n-hekzan bu iki çözücüden daha az etkisine sahip olup bu çözücüler birbirlerine benzer özellik göstermişlerdir. (Metanol = Etil asetat > Diklormetan = n-Hekzan)

4.5. Korelasyon Analizi

Graviola meyvesinin meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam fenolik, toplam flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite karakterleri arasındaki korelasyon ilişkilerini gösteren bulgular Tablo 4.11'de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere, meyvenin toplam fenolik madde içeriği ile toplam flavonoid madde içeriği arasında $r=0.761^{**}$ düzeyinde önemli bir ilişki bulunmaktadır. Toplam flavonoid madde içeriği ile antioksidan aktivite karakterleri arasındaki en yüksek korelasyon, FRAP aktivitesi ile bulunmuş ($r=0.900^{**}$), daha sonra ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesi $r=0.887^{**}$ düzeyinde önemli olmuştur. TF içeriği ile CUPRAC arasındaki önemlilik derecesi $r=0.646^{**}$ iken, DPPH arasındaki korelasyon $r=0.760^{**}$ 'tır.

Tablo 4. 11. Graviola meyve ve yaprak ekstralarının toplam fenolik, flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite karakterleri arasındaki korelasyon ilişkileri

	TF	TFM	FRAP	ABTS	CUPRAC	DPPH EC ₅₀	DPPH	β- karoten renk ağartma ^a
TF	1	0.761**	0.900**	0.887**	0.646**	-0.680**	0.760**	0.713**
TFM		1	0.899**	0.872**	0.589**	-0.719**	0.788**	0.865**
FRAP			1	0.968**	0.724**	-0.753**	0.922**	0.739**
ABTS				1	0.731**	-0.807**	0.895**	0.640**
CUPRAC					1	-0.655**	0.741**	0.388**
DPPH EC ₅₀						1	-0.751**	-0.477**
DPPH							1	0.349*
β-karoten renk ağartma								1

^a β-karoten renk ağartma kativitesi 180. dakikadaki reaksiyon düzeyinde yapılmıştır
**Korelasyonlar P < 0.05 düzeyinde önemlidir.

Toplam fenolik madde açısından değerlendirildiğinde, benzer sonuçlar görülmektedir. TFM ile en yüksek korelasyon FRAP aktivitesi arasında olup, $r=0.899^{**}$ düzeyindedir. Hem TF, hem de TFM içeriği de tüm antioksidan aktivite özellikleri ile güçlü ve önemli bir korelasyon göstermiştir (Tablo 4.11).

Diğer taraftan antioksidan aktivite özelliklerinin birbiri ile olan ilişkileri incelendiğinde, FRAP aktivitesi ve ABTS radikal giderim aktivitesi arasında ($r=0.968^{**}$) düzeyinde çok yüksek bir korelasyon görülmekte onu sırasıyla DPPH ($r=0.922^{**}$), β-Karoten ile ($r=0.739^{**}$) ve CUPRAC ($r=0.724^{**}$), takip etmektedir. Tablodan, ABTS radikal giderim aktivitesi arasında ile DPPH aktivitesi arasında $r=0.895^{**}$ düzeyinde önemli bir ilişki olduğu görülmektedir (Tablo 4.11).

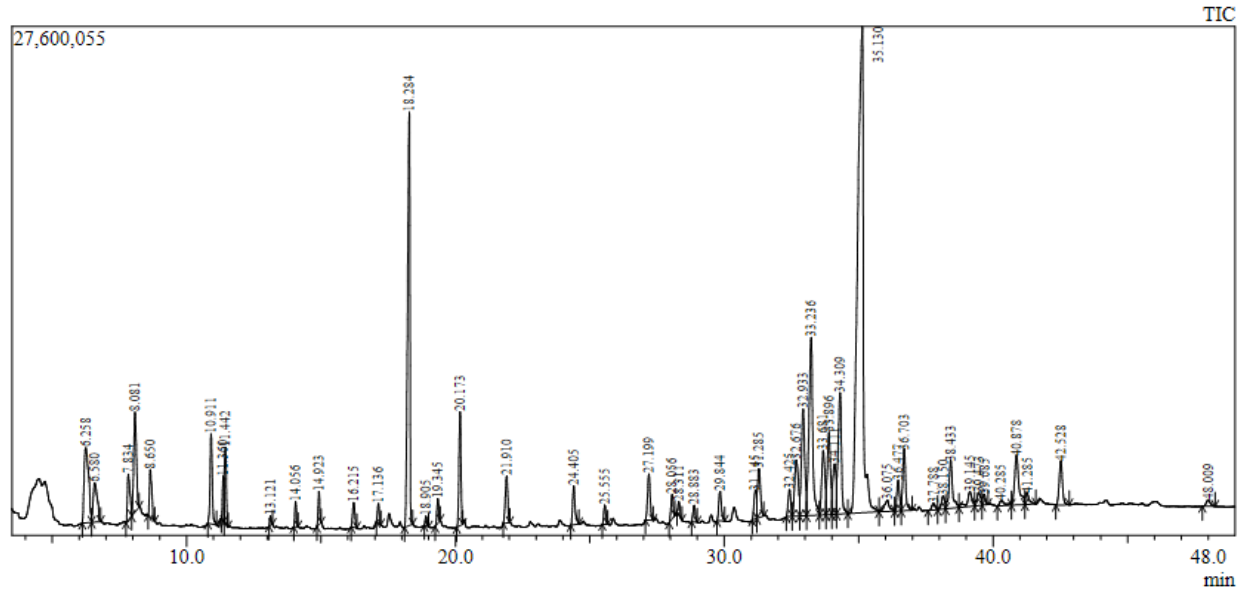
4.6. Bitkinin n-Hekzan Ekstrelerinde Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları

4.6.1. Graviola Yaprak n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları

Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresinde uçucu bileşiklerin kompozisyonu GC-MS cihazıyla tayin edilerek, 38 bileşik tanımlanmıştır (Tablo 4.12 Şekil 4.24). Temel bileşikleri; 3- β -lup-20(29)-en-3-ol, asetat (% 36.82), 3- β -stigmast-5-en-3-ol (% 3.66), olean-18-en (% 4.74) ve lup-20(29)-en-3-on (% 4.07) olan terpenoid yapıları oluşturmaktadır.

Tablo 4. 12. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)

No	Bileşik	% miktar	No	Bileşik	% miktar
1	oktadekanoik asid	3.41	20	3- β -9,19-siklolanost-23-en-3,25-diol, 3-asetat	0.38
2	1-nonadeken	1.61	21	stigmasterol	1.43
3	fitol	1.19	22	tarakseron	2.84
4	Z,Z-9,12-oktadekadienoik asid	2.76	23	3- β -stigmast-5-en-3-ol	3.66
5	1-trikosen	1.10	24	3- β -lup-20(29)-en-3-ol, asetat	36.82
6	9-oktadesenamid	1.97	25	olean-18-en	4.74
7	1-eikosanol	1.58	26	Longifolenaldehit	1.64
8	hekzandioik asit, bis(2-etil,hekzil)-ester	1.40	27	lup-20(29)-en-3-on	4.07
9	pentakosan	0.14	28	24,metilen sikloartanol	0.57
10	ftalik asit mono (2-etil,hekzil)ester	0.49	29	stigmast-4-en-3-on	0.86
11	sgualen	2.82	30	1,37-oktatriakontadien	1.75
12	di(2-etil,hekzil)-isofталat	9.70	31	friedelanol	0.21
13	Z-13-dokosenamid	0.17	32	hekzatriakontan	0.42
14	pentatriakontan	1.14	33	friedelin	1.72
15	1-hentetrakontanol	2.02	34	4,22-stigmastdien-3-on	0.73
16	oktadekanal	4.03	35	3-eikosin	0.52
17	tetratetrakontan	1.19	36	neofitadin	0.30
18	α -tokoferil- β -D-mannosid	0.54	37	5- α -stigmastan-3,6-dion	2.22
19	dekan,1,10-dibrom	0.24	38	propanoik asit,2,2-dimetil-,2,6-bis(1-metiletil)fenil ester	0.42



Şekil 4. 24. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı.

Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımına bakıldığında; temel bileşen olarak terpenoitler (%53.52) görülmektedir. Bunun yanında, esterler (% 12.01) ve steroidlerde (% 9.85) diğer önemli iki bileşik grubunu oluşturmuştur (Tablo 4.13).

Tablo 4. 13. Graviola bitkisinin yaprak n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı

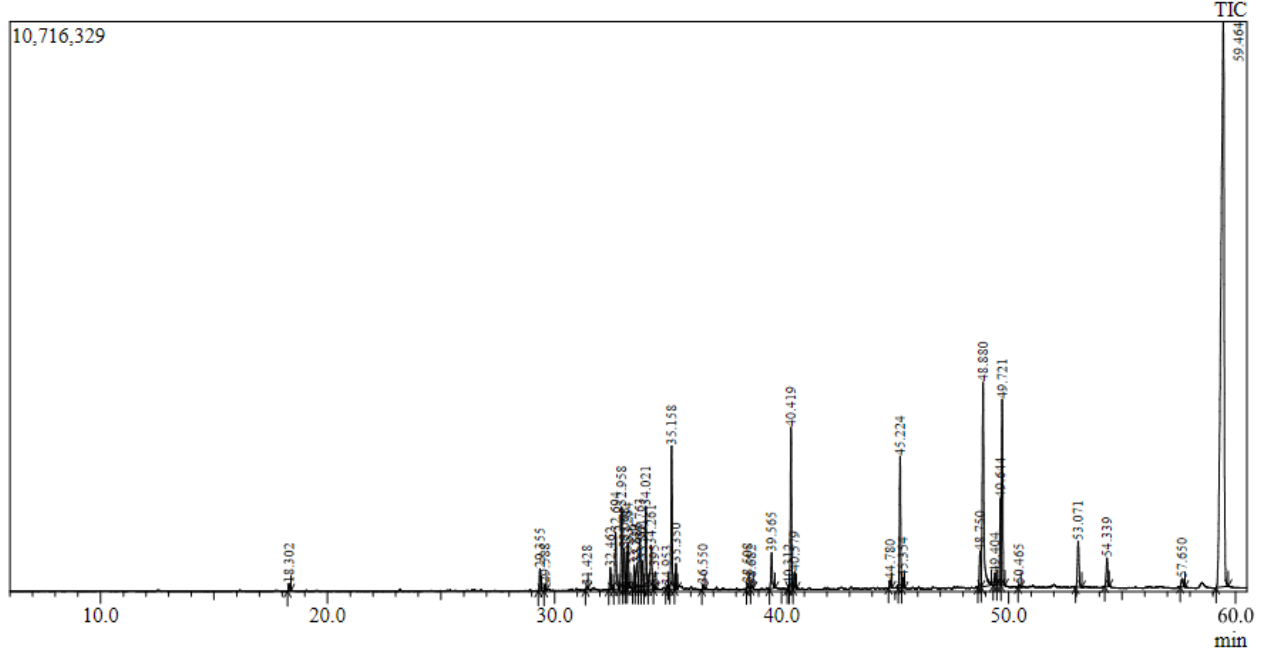
Bileşik Sınıfı	% Miktar
Terpen	53.52
Ester	12.01
Steroid	9.85
Yağ Asidi	6.17
Alkan, alken, alkin	7.87
Alkol	4.79
Aldehit	2.59
Amid	2.14
Alkil Halojenür	0.24
Fenolik Bileşik	0.54
Toplam	99.72

4.6.2. Graviola Kabuk n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları

Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresinde uçucu bileşiklerin kompozisyonu GC-MS cihazıyla tayin edilerek, 38 bileşik tanımlanmıştır (Tablo 4.14, Şekil 4.25). Di(2-etil, heksil) isofitalat (%44.65) esteri, *Graviola* kabuk n-hekzan ekstresinin temel bileşenini oluşturmuştur. *Graviola* bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımına bakılırsa; temel bileşen olarak esterler (% 52.2) görülmektedir. Bunun yanında, alifatik hidrokarbonlar (alkan ve alken) (% 17.84) ve fenolik bileşiklerde (% 12.90) diğer önemli iki bileşik grubunu oluşturmuştur (Tablo 4.15).

Tablo 4. 14. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)

No	Bileşik	% miktar	No	Bileşik	% miktar
1	E-2-dekenal	0.22	20	2-pentadekanon,6,10,14-trimetil	0.11
2	1-pentadeken	0.54	21	7,9-di-ter-bütül-1-oksaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion	0.12
3	pentadekan	0.15	22	metil palmitat	0.09
4	fenol,4-(1,1,3,3-tetrametil,bütül)	1.94	23	glisin, N-metil,N-oksodesil	1.25
5	p-bütoksi isopropilbenzen	0.66	24	E-5-eikosen	0.1
6	dodesil fenol	2.49	25	1-nonadeken	4.5
7	nonilfenol	1.22	26	heneikosan	0.43
8	p-(2,2,3,3-tetrametil,bütül)fenol	0.96	27	oktadekanamid	0.22
9	fenol,2-metil-4-(1,1,3,3-tetrametil,bütül)	1.31	28	1-oktadeken	3.74
10	heksetrol	0.71	29	dokosan	0.28
11	asetamid,(2,4-dimetil,fenil)	1.08	30	2-metil-Z,Z-3,13-oktadekadienol	1.27
12	p-(1-etil-1-metil,bütül)fenol	1.6	31	Z-13-dokosenamid	8.22
13	4-bütül benzilalkol	0.87	32	tetradekanamid	0.41
14	fenol,4-(1,1-dimetil,propil)	2.58	33	1-eikosanol	2.55
15	1,3-siklopentadien,5,5-dimetil-1,2-dipropil	2.01	34	heksandioik asit, bis(2-etil,heksil) ester	5.65
16	3,5-di-ter-bütül-4-hidroksi benzaldehit	0.09	35	ftalik asit mono(2-etil,heksil) ester	1.81
17	benzestrol	0.09	36	Z-9-trikosen	1.03
18	E-9-eikosen	4.00	37	tetratetrakontan	0.39
19	nonadekan	0.67	38	di(2-etilheksil) isofitalat	44.65



Şekil 4. 25. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı

Tablo 4. 15. Graviola bitkisinin kabuk n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı

Bileşik Sınıfı	% Miktar
Ester Türüvi	52.2
Alkan, Alken	17.84
Fenolik Bileşikler	12.90
Amid	9.93
Alkol	4.69
Aminoasit	1.25
Aromatik Hidrokarbonlar	0.66
Aldehit, Keton	0.54
Toplam	100.01

4.6.3. Graviola Pulp n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları

Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresinde uçucu bileşiklerin kompozisyonu GC-MS cihazıyla tayin edilerek, 46 bileşik tanımlanmıştır (Tablo 4.16, Şekil 4.26). Tanımlanan bileşikler arasında, di(2-etilheksil) isofitalat (% 35.33) ve dietil,hekzil adipoat (% 8.12) temel

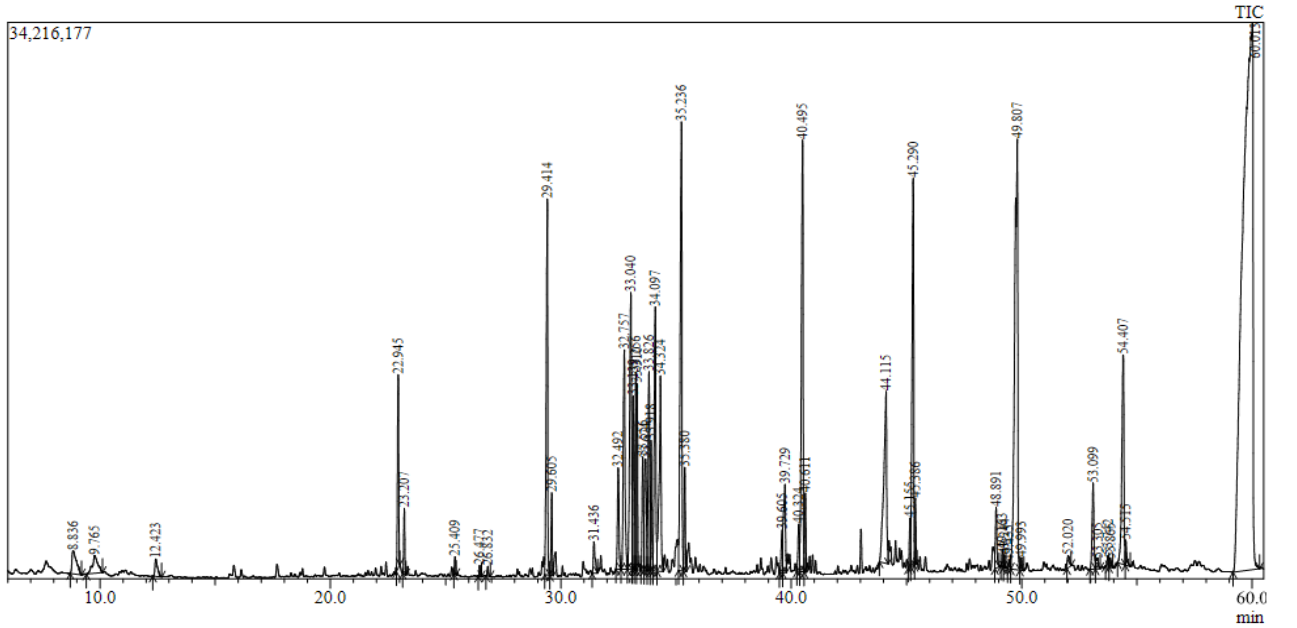
ester bileşiklerini oluşturmuştur. *Graviola* bitkisinin pulp n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımına bakılırsa; temel bileşen olarak esterler (% 47.32) görülmektedir. Bunun yanında, alifatik hidrokarbonlar (alkan, alken ve sikloalkan) (% 19.84) ve fenolik bileşiklerde (% 15.46) diğer önemli iki bileşik grubunu oluşturmuştur (Tablo 4.17).

Tablo 4. 16. *Graviola* bitkisinin pulp n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)

No	Bileşik	% miktar	No	Bileşik	% miktar
1	Dekan	0.67	24	dibütil ftalat	0.42
2	2-etil heksanol	0.61	25	pentadekanoik asit	1.09
3	Undekan	0.29	26	E-5-eikosen	0.44
4	1-tetradeken	1.41	27	1-oktadeken	4.70
5	Tetradekan	0.44	28	eikosan	0.59
6	2,5-sikloheksadien-1,4-dion,2,6-bis(1,1-dimetil,etil)	0.11	29	oleik asit	3.18
7	Pentadekan	0.07	30	Z-9-trikosen	0.38
8	fenol,2,4-bis(1,1-dimetil,etil)	0.07	31	1-eikosanol	4.09
9	1-heksadeken	3.53	32	heneikosan	0.45
10	Heksadekan	0.58	33	Z-9-oktadekenamid	0.55
11	fenol,4-(1,1,3,3-tetrametil,bütil)	3.87	34	dihidrofitol	0.13
12	Benzestrol	1.00	35	Z-2-undeken,9-metil	0.09
13	p-nonil,fenol	3.19	36	3-heksadekanol	0.07
14	4-metil-2-ter-oktil,fenol	1.46	37	heksandioik asit, bis(2-etil,heksil) ester	8.12
15	fenol,4-(2,2,3,3-tetrametil,bütil)	1.77	38	1H-1,2,4-triazol, 1-oktadekanoil	0.11
16	fenol,2-metil-4-(1,1,3,3-tetrametil,bütil)	1.17	39	1-pentakontanol	0.17
17	asetamid, N-(2,4-dimetil,fenil)	1.38	40	ftalik asit mono(2-etil,hekzil) ester	0.98
18	1,4,4,7,7-pentametilbisiklo[3.3.0]oktan-3-on	1.89	41	1-pentadeken,2-metil	0.16
19	4-bütil benzilalkol	1.03	42	tridekanol	0.10
20	fenol,4-(1,1-dimetil,propil)	2.93	43	siklopropan, 1-(2-metil,bütil)-1-(1-metil,propil)	0.09
21	o-toluikasit,1-adamantimetil ester	2.47	44	1-tetrakosanol	2.83
22	1-nonadeken	4.95	45	heksakosan	0.25
23	Nonadekan	0.75	46	di(2-etilheksil)isofitalat	35.33

Tablo 4. 17. Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı

Bileşik Sınıfı	% Miktar
Ester Türevi	47.32
Alkan, Alken, Sikloalkan	19.84
Fenolik Bileşikler	15.46
Alkol	8.9
Yağ Asidi	4.27
Aldehit, Keton	2.0
Amid	1.93
Terpenoid	0.13
Alkoloid	0.11
Toplam	99.96



Şekil 4. 26. Graviola bitkisinin pulp n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı

4.6.4. Graviola Çekirdek n-Hekzan Ekstresindeki Uçucu Bileşik Tayini Sonuçları

Graviola bitkisinin çekirdek n-hekzan ekstresinde uçucu bileşiklerin kompozisyonu GC-MS cihazıyla tayin edilerek, 46 bileşik tanımlanmıştır (Tablo 4.18, Şekil 4.27). Çekirdek n-hekzan ekstresindeki temel bileşikler; doymamış yağ asitleri olan, oleik asit (% 27.3) ve

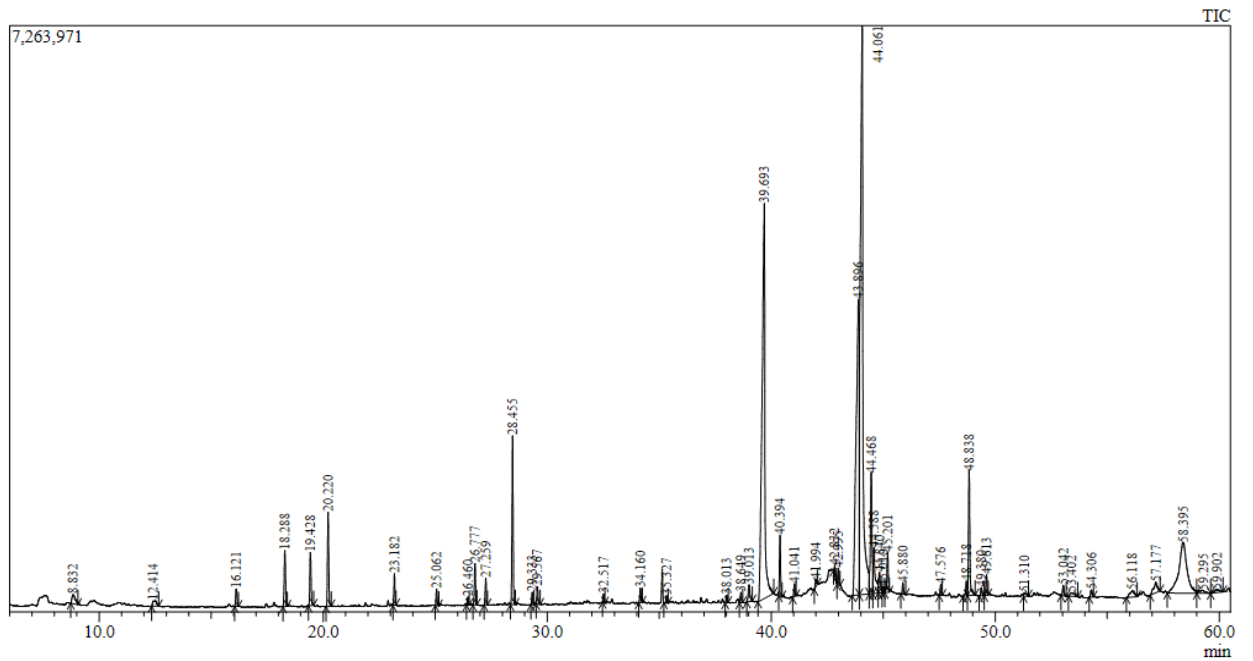
linoleik asit (% 15.58) ile bir terpenoid bileşiği olan 3- β -stigmast-5-en-3-ol (% 7.45) bileşiği oluşturmuştur. *Graviola* bitkisinin çekirdek n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımına bakılırsa; temel bileşen olarak yağ asitleri (% 67.22) görülmektedir. Özellikle, bitkinin çekirdek kısmında, doymamış yağ asitleri oranının % 43.4 olması, bu meyve çekirdeğinin esansiyel yağlar açısından potansiyel bir meyve çekirdeği olduğunu göstermiş bulunmaktadır. Bunun yanında, terpenoidlerde (% 9.92), çekirdekte bulunan ikinci uçucu bileşik kompozisyonunu oluşturmaktadır (Tablo 4.19).

Tablo 4. 18. *Graviola* çekirdek n-hekzan ekstresinin uçucu bileşik kompozisyonu (%)

No	Bileşik	% miktar	No	Bileşik	% miktar
1	dekan	0.57	24	Z,Z-9,12-oktadekadienoik asid, metil ester	0.17
2	undekan	0.34	25	Z-6,oktadekenoik asid, metil ester	0.31
3	tridekan	0.45	26	Z,Z-9,12-oktadekadienoik asid	15.58
4	E-2-dekenal	1.28	27	9-oktadekenoik asid	31.37
5	E,E-2,4-dekadienal	3.23	28	oktadekanoik asid	3.4
6	tetradekan	0.55	29	Z-9-oktadekenoik asid, etil ester	1.7
7	E-nerolidol	0.31	30	hekzadekanamid	0.64
8	pentadekan	0.14	31	hekzadekanoik asid, butil ester	0.2
9	β -bisabolen	0.83	32	1-nonadeken	0.94
10	β -seskifellandren	0.53	33	oktadekanal	0.23
11	E-1,6,10-dodekatrien-3-ol,3,7,11-trimetil	3.31	34	heneikosan	0.2
12	1-heptadeken	0.24	35	Metil,elaidat	0.39
13	oktadekan	0.34	36	Z-9-oktadekenamid	3.04
14	heptadekan	0.15	37	oktadekanamid	0.2
15	tetradekanoik asid	0.29	38	1-eikosanol	0.61
16	nonadekan	0.13	39	di-(9-oktadekanoil)-gliserol	0.13
17	2-nonadekanon	0.15	40	ftalikasit-mono(2-etil,hekzil) ester	0.27
18	hekzadekanoik asid, metil ester	0.21	41	oksiran, hekzadesil	0.27
19	oleik asid	0.52	42	humulan-1,6-dien-3-ol	0.52
20	pentadekanoik asid	19.92	43	gliseril-trioleat	0.67
21	1-nonadeken	1.17	44	3- β -stigmast-5-en-3-ol	7.45
22	hekzadekanal	0.26	45	bis-2-etil,hekzil isoftalat	0.34
23	heptadekanoik asid	0.16	46	urs-12-ene	0.28

Tablo 4. 19. Graviola bitkisinin çekirdek n-hekzan ekstresindeki uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı

Bileşik Sınıfı	% Miktar
Yağ Asidi	67.22
Doymuş Yağ Asidi	(23.82)
Doymamış Yağ Asidi	(43.40)
Terpen	9.92
Karbonil Bileşikleri (Aldehit, Keton)	5.15
Alkol	4.05
Amid	3.88
Ester	4.26
Alkan	5.22
Epoksit	0.27
Toplam	99.97



Şekil 4. 27. Graviola çekirdek n-hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Graviola meyvesinin kabuk, pulp, çekirdekleri ile yapraklarından n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ekstraksiyonu sonucunda elde edilen bulgular ışığında sonuçlar şöyle özetlenebilir.

En yüksek ekstraksiyon verimi meyvenin pulpundan ve metanol çözücüsüyle elde edilmiştir. Çekirdek için en yüksek ekstraksiyon verimi n-hekzan çözücüsüyle elde edilirken, pulp, kabuk ve yaprak için ekstraksiyon verimi açısından en etkin olan çözücünün metanol olduğu görülmektedir.

En yüksek TFM içeriği meyvenin yaprak kısmından ve metanol ekstraksiyonu sonucunda, 244.61 µg CAT mg ekstrakt⁻¹ olarak, elde edilmiştir. Daha sonra en yüksek değer, Ç-MeOH (202.17 µg CAT mg ekstrakt⁻¹) ekstresinde bulunmuştur. En düşük TFM içeriği ise Ç-HKZn eksresinden elde edilmiştir (5.06 µg CAT mg ekstrakt⁻¹). Toplam fenolik madde ekstraksiyonunda en etkin çözücü metanol, en düşük etkinliğe sahip çözücü ise n-hekzandır. Meyvenin kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen bulgulara göre TFM içeriklerinde istatistiksel açıdan bir fark gözlenememiştir.

Nam ve ark. (2017), Kore'de yetiştirilen *Annona muricata*'nın en yüksek ve en düşük toplam polifenol içeriğini, % 80 metanol ile ekstre edilen köklerde ve dallarda (839.69 ± 0.72 ve 705.94 ± 11.76 mg CAE / g) bulmuşlardır. Araştırmacılar, yaprakların metanol ekstrelerinin polifenol içeriğini 763.36 ± 11.65 mg CAE/g olarak belirlemişlerdir. Sonuçlar bizim bulgularımızdan yüksektir. Moraes ve ark (2015), Brezilyada ticari olarak yetiştirilen liyofilize graviola meyvesinin yapraklarında toplam fenolik madde miktarını metanolik ve etanolik ekstraktlarda sırasıyla, 100.3 ± 2.8 ve 93.2 ± 2.0 mg gallik asit / g örnek bulmuşlardır. Ancak sonuçlar gallik asit cinsinden hesaplanmıştır.

Diğer taraftan Hindistan'da yetiştirilen *A. muricata* metanol yaprağının toplam fenolik madde içeriği El-Chaghaby ve ark (2014)'nın yaptığı çalışmada $36.21 \mu\text{g} / \text{GAE} / \text{g}$ olarak çok düşük bulunmuştur.

Fitri ve ark. (2016), bizim bulgularımızdan farklı olarak soursoup meyvesinin kabuklarında toplam fenolik madde içeriğini (317.0 ± 29.2 mg GAE/g) çekirdeklerinden (134.9 ± 4.7 mg GAE/g d. b.) daha yüksek bulmuşlardır.

Silva ve ark.'nın (2014) Brezilya'da yetişen 12 çeşit tropikal meyvenin biyoaktif bileşenlerinin saptandığı çalışmada, soursoup meyvesinin fenolik madde miktarının pulpta

2886.60 mg GAE/100 g ve kabukta 1439.63 ± 22.32 mg GAE/100 g olduğunu açıklamışlardır.

Toplam fenolik içeriğindeki farklılıklar *A. muricata*'nın yetiştirildiği ve ekildiği alanlardaki iklim, sıcaklık, nem, rüzgar koşulları ve toprak özellikleri arasındaki farktan kaynaklanıyor olabilir.

Örneklerin toplam flavonoid içeriğine miktarına ilişkin verilere göre, en yüksek TF içeriği meyvenin yaprak kısmından ve metanol ekstraksiyonu ile elde edilmiştir (81.32 µg CAT mg ekstrakt⁻¹). Meyve kısımları açısından ise TFL içeriği sıralaması Yaprak > Çekirdek > Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur.

Nam ve ark., (2017) % 80 metanol ekstresinde TF içeriğini, toplam fenolik madde içeriğine benzer şekilde bizim bulgularımızdan yüksek (168.52 mg RE/g) olarak belirlemişlerdir. Ancak sonuçlar rutin eşdeğeri olarak verilmiştir.

EC₅₀ değerlerine göre Ç-MeOH (0.044mg/mL) ekstresinden sonra yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi gösteren ekstresin Y-MeOH (0.063 mg/mL), K-MeOH (0.090 mg/mL), Ç-EtOAc (0.115 mg/mL), Y-DCM (0.143 mg/mL), Ç-DCM (0.191 mg/mL) Y-EtOAc (0.136 mg/mL) ekstresleri olduğu görülmektedir.

En yüksek ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde 1100.56 µmol Fe²⁺ g⁻¹ ekstrakt olarak saptanmıştır. Meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına göre ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi en yüksek çekirdekte bulunmuş ve aktivite sıralaması Çekirdek > Yaprak = Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur ($P < 0.05$).

Graviola meyvesinin n-hekzan, metanol, etil asetat ve diklormetan ABTS•⁺ katyon radikali giderim aktivitesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde, en yüksek aktivitenin meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde (0.905 µmol Trolox/mg ekstrakt) olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgulara göre Ç-MeOH ekstresinin ABTS•⁺ radikali giderim aktivitesi P-HKZn ekstresinin aktivitesinden yaklaşık 8.7 kat daha fazla fazladır. Meyve kısımları açısından sıralama Çekirdek = Yaprak > Kabuk > Pulp şeklinde olmuştur

Graviola ekstresinin linoleik asit ve β-karotenin oksidasyon hızına ve renk ağarmasına karşı en yüksek inhibisyon etkisinin 180. dakikada bulunan değerlere göre, K-MeOH ekstresinde (% 45.13) olduğu ve ardından Y-MeOH ekstresinin geldiği (% 30.82) bulunmuştur.

Graviola meyvesinin hekzan, metanol, etil asetat ve diklorometan CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde en yüksek aktivitenin meyvenin çekirdeklerinde ve metanol ekstresinde ($3.65 \mu\text{mol TR mg}^{-1}$ ekstrakt) olduğu saptanmıştır. CUPRAC için en yüksek aktivite EC_{50} değeri, 7.38 mg/mL değeri ile Ç-MeOH ekstresinde bulunurken, en yüksek EC_{50} değeri ve en düşük aktivite (38.31 mg/mL) P-HKZn ekstresinde belirlenmiştir. Meyve kısımlarına ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarının ortalama değerlerine göre en yüksek CUPRAC iyon radikali giderim aktivitesi Çekirdek > Yaprak > Kabuk > Pulp şeklindedir. Tüm antioksidan karakterler açısından istatistiksel değerlendirme yapılmış, farklılıklar ve ilişkiler önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bu çalışmada, Graviola bitkisinin farklı kısımlarının (çekirdek, kabuk, pulp ve yaprak) n-hekzan ekstraktlarındaki uçucu bileşik kompozisyonları GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, bitki kısımlarında bulunan uçucu bileşikler, hem fonksiyonlu grup açısından, hem de miktar açısından farklılık göstermiştir.

Graviola bitki kısımlarının n-hekzan ekstraktları, bulundukları uçucu bileşik sınıfına göre değerlendirildiğinde; yapraklarda temel bileşen olarak terpenoitler (% 53.52), esterler (% 12.01), steroidler (% 9.85); kabuklarda temel bileşen olarak esterler (% 52.2), alifatik hidrokarbonlar (% 17.84), fenolik bileşikler (% 12.90); meyvenin pulpunda temel bileşen olarak esterler (% 47.32), hidrokarbonlar (% 19.84) ve fenolik bileşikler (% 15.46) gözlenirken, çekirdek ekstresindeki temel bileşenler, yağ asitleri (% 67.22) ve terpenoidler (% 9.92) olarak tespit edilmiştir.

Çalışma sonuçlarını literatür ile değerlendirdiğimizde; Benin'de yetişen *A. muricata* yapraklarının su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağ kompozisyonunda, terpenoidler (% 39.4) temel bileşenleri oluşturmuştur (Kossouh ve ark. 2007). Pelissier ve ark. (1994), yaprak ve pulptaki uçucu bileşik kompozisyonunu GC-MS ile tayin etmişler ve yaprak yağında terpenoidler (% 47.9, β -karyofilen, δ -kadinen, α -muurolen, α -kadinol ve bazı seskiterpenler) baskın olarak bulunurken, meyve yağındaki temel bileşikler ise, alifatik asitler, esterler ve (E)-metil-2-hekzenoat (% 39.8) olarak bulunmuştur. Jirovetz ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada ise, pulptaki uçucu bileşik kompozisyonuna bakılmış ve esterler (2-hekzenoik asid metil ester, 2-hekzenoik asid etil ester) ile seskiterpenoidler temel bileşenler olarak tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, Graviola çekirdeklerinde, doymamış yağ asitleri (% 12–33 linoleik asit, % 41–58 oleik asit) ve doymuş yağ asitleri (% 16 palmitik asit, % 5 stearik asit) temel bileşenleri oluşturmuştur (Aecco de Castro 1984).

Bu tez çalışmasında da, bitkinin çekirdek kısmında, doymuş yağ asitleri oranının % 23.82 ve doymamış yağ asitleri oranının % 43.4 olması, bu bitkiyi doymuş ve doymamış yağ asitleri açısından, potensiyel bir bitki yapmaktadır (Paull 1998). Çekirdekteki oleik asit miktarı % 27.30 iken, linoleik asit miktarı % 15.58 olarak tespit edilmiştir. Oleik asit tek çift bağ içeren, linoleik asit iki çift bağ içeren doymamış bir yağ asittir. Ayrıca, Linoleik asit, vücut tarafından sentezlenemeyen, dışardan alınması gereken elzem yağ asidi olmakla birlikte, vücut metabolizmasında prostaglandin sentezinde rol almaktadır (Eromosele, 2002). Ayrıca, tez çalışmasında yaprak n-hekzan ekstresinin temel bileşeni olan, 3-O-asetil lupeol (% 36.82), anti-kanser, antiprotozal, antienflamatuar, antimikrobiyal ve kemopreventif özellikler gibi farmakolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Gallo 2009). Sonuç olarak, Graviola (*A. muricata* L.) n-hekzan ekstresinin GC-MS analizi, ekstredeki farklı kimyasal yapıya sahip çeşitli farmasötik önemi kimyasal bileşiklerin varlığını göstermiştir. Bu tez çalışmasıyla, Dominik adasında yetişen Graviola (*A. muricata* L.) türlerinin, kemotaksonomik bakımından değerlendirilmesine katkı sağladığı gibi bu türlerdeki biyoaktif bileşenlerin araştırılmasıyla bilimsel birikime de katkı sağlamış bulunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Acar J. (1998). Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri. Saldamlı, İ.(Editör), Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 527 ss.
- Aecco de Castro F, Arraes Maia G, Holanda LFF, Guedes ZBL, & J. De Anchieta Moura FE (1984). Physical and chemical characteristics of soursopfruit. Pesquisa Agropecuária Brasileira Brasília, 19, 361–365 (Portuguese).
- Adefegha SA, Oyeleye SI, Oboh G, (2015). Distribution of Phenolic Contents, Antidiabetic Potentials, Antihypertensive Properties, and Antioxidative Effects of Soursop (*Annona muricata* L.) Fruit Parts In Vitro. Functional Foods and Nutraceutical Unit, Department of Biochemistry. Functional Foods and Nutraceutical Unit, Department of Biochemistry.
- Adewole SO, Caxton-Martins EA, (2006). Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic B-cells of streptozotocin-treated diabetic rats. African Journal of Biomedical Research, 9:173–187.
- Adewole SO, Ojewole JAO (2008). Protective effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin- Treated Diabetic Rats. African Journal of Traditional Complement Alternate Medicine 6(1): 30-41.
- Adewole SO, Ojewole J (2009). Protective effects of *Annona muricata* linn.(annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. African Journal of Traditional Complement Alternate Medicine 6: 30–41.
- Ak T (2006). Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alarcon E, Campos AM, Edwards AM, Lissi E, Lopez-Alarcon C (2008). Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: a comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies. Food Chemistry, 107: 1114-1119.
- Alves RE, Filgueiras HAC, Mosca JL, Silva SM, Menezes JB (2008). Postharvest physiology and biochemistry of some non-traditional American tropical fruits. Acta Horticulturae, 768, 233–238.
- Amarowicz R, Wrobel M, Karamac M, Frqczek E, Weidner S (2005). Metabolism of phenolic compounds in *Vitis riparia* seeds during stratification and during germination under optimal and low temperature stress conditions. Acta Physiologiage Plantarum, 27(3A), 313-320.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7970-7981.

- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Altun M (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free Radical Research*, 39: 949-961.
- Arnao MB, Cano A, Acosta M (1998). Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2: 893-905.
- Ayala-Zavala JF, Vega-Vega V, Rosas-Domínguez C, Palafox-Carlos H, Villa-Rodriguez JA, Siddiqui MW, Dávila-Aviña E, González-Aguilar GA (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44:1866-74.
- Badrie N, Schauss AGA (2010). Soursop (*Annona muricata L.*): Composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology. *Bioactive Foods in Promoting Health*, 621 – 643.
- Baskar R, Rajeswari V, Kumar TS (2007). *In vitro* antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian Journal of Experimental Biology*., 45:480-485.
- Başer K, Gülbaba A, Azcan N, Kara M, Kırimer N, Kürkçüoğlu M, Özek T, Özkurt N (1998). Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Okaliptüs (*Eucalyptus*) Türlerinin Uçucu Yağ Verim ve Bileşimlerinin ve Üretim Teknolojilerinin Belirlenmesi, Orman Bakanlığı Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, 11, 17-20.
- Başer KHC (2000). “Uçucu yağların parlak geleceği”. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni Sayı: 15, Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi, Eskişehir.
- Başer KHC, Kırimer N, Koşar M, Tunalı Z, (2005). Bitkisel drogların kimyasal incelenmesi, *Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı*, Eskişehir, 13-15.
- Baysal T, Ersus S. 1999. Karotenoidler ve insan sağlığı. *Gıda*, 24(3): 177-185.
- Becker EM, Nissen LS, Skibsted LH, (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 10.107/s00217-004-1012-4.
- Benzie IFF, Strain JJ (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’, the Frap Assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70–76
- Bicas J, Molina G, Dioniso PA, Barros FF, Wagner R, Marostica M, Pastore G (2011). Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Research International* 44: 1843–1855
- Bilaloğlu, Guliyev V, Harmandar M, (2000) Flavonoidler: Molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Bradie N, Schauss AG, (2010). Soursop (*Annona muricata L.*) uses: composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology. In: Watson, R.R., Preedy, V. (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. Academic Press, Oxford, pp. 621–643.
- Brand-Williams W, Cavalier ME, Berset C, (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Brown JE. 1999. *Nutrition Now*. 2nd edition, West/Wadsworth, Belmont

- Blois MS (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 29:1199-1200.
- Boakye AA, Wireko-Manu FD, Agbenorhevi JK, Oduro I, (2015). Antioxidant activity, total phenols and phytochemical constituents of four underutilised tropical fruits. *International Food Research Journal*, 22 (1), 262-268.
- Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ (2000). Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* 13, 135– 160.
- Büyüktuncel E (2013). Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler, *Marmara Pharmaceutical Journal* 17: 93-103
- Cao G, Sofic E, Prior P, (YIL)Antioxidant and prooxidant behaviour off flavonoids: Structure -activity relationships.*Free Radical Biol.Med.*, 22, 749-760.
- Cao G, Alessio HM, Cutler RG (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14: 303-11.
- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P (2011). Phenolic compounds in Brassica vegetables. *Molecules Basel Switzerland* 16 (1): 251 - 280.
- Cellat K, Gül S (2011). Everest Investigation of Essential Oil Composition of *Stachysrupestris* Montbret Et Aucher Ex Bentham from Mersin, VII. Lokman Hekim Days. Poster Discussion
- Cemeroğlu B, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Kitabı, 2, Ankara, 2004.
- Cemeroğlu, B, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Kitabı, 2, Ankara, 2011.
- Ceylan A, (1996). Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu yağ bitkileri), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 481. ISBN 975- 483- 362- 1
- Ceylan A, (1997). Tıbbi Bitkiler-II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 500s.
- Cheong KW, Tan CP, Mirhosseini H, Hamid NSA, Osman A, Basri M, (2010). Equilibrium headspace analysis of volatile flavor compounds extracted from soursop (*Annona muricata*) using solid-phase microextraction. *Food Research International* 43(5): 1267-1276.
- Connolly JD, Hill RA, (1991). *Dictionary of Terpenoids, Mono and Sesquiterpenoids*, London, 1, 333-337.
- Correa-Gordillo J, Ortiz J, Sa´ nchez-Mejı´ a M, Pacho´ n H, (2012). Actividad antioxidante en guana´ bana (*Annona muricata* L.) una revisio´ n bibliogra´ fica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11, 111–126.
- Cotelle N, Bernier JL, Catteau JP, Pommery J, Wallet JC, Gaydou EM, (1996): Antioxidant properties of hydroxy-flavones, *Free Radical Biology and Medicine*, 20(1), 35-43.
- Cuttler RG and Pryor WA (1984). In free radical in biology. *Free Radicals in Biology*, 6: 371-423.
- Çimen MBY (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19, 296-304.
- De Sousa OV, Vieira GD-V, de Pinho JDJR, Yamamoto CH, Alves MS (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. *International Journal of Molecular. Science*, 11:2067–2078.

- De Moraes IVM, Ribeiro PRV, Schmidt FL, et al (2015). UPLC-QTOFMS and NMR analyses of graviola (*Annona muricata*) leaves. *Braz J Pharmacog.* Submitted.
- Demirçakmak B (1994). *Cedrus Libani* Uçucu Yağının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.
- Devon TK, Scott AI, (1972). *Handbook of Naturally Occurring Compounds, Terpenes*, New York, 2, 87-138.
- Di Mambroa VM, Azzolini A, Valim Y, Fonseca M. 2003. Comparison of antioxidant activities of tocopherols alone and in pharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 262: 93–99
- Diri M, (2006) *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. Uçucu Yağının Analizi, Su ve Etanol Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi, Muğla Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 101 s. MUĞLA
- Dinis TCP, Madeia VMC, Almeida LM. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 315: 161-169 (1994).
- Djerass C, (1994)a. *Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index*, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 7.
- Djerassı C, (1994)b. *Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index*, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 3, 2632-26.
- Djerassı C, (1994)c. *Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index*, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 2, 2301.
- Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen MJ (2003). Characterization of the antioxidant properties of de-odorized aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83(2): 255-262.
- Dos Santos AF, Sant'Ana AEG (2001). Molluscicidal properties of some species of *Annona*. *Phytomedicine*, 8(2): 115-120.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2009). Compendium of botanicals that have been reported to contain toxic, addictive, psychotropic or other substances of concern on request of EFSA. *EFSA Journal* 7 (9): 1 - 100.
- El-Chaghaby GA, Ahmad AF, Ramis ES (2014) Evaluation of the antioxidant and antibacterial properties of various solvents extracts of *Annona squamosa* L. leaves. *Arabian Journal of Chemistry*. 7:227–233
- Elliot JG (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technol.* 53: 46-48.
- Eromosele CO; Eromosele IC. (2002). Fatty acid compositions of seed oil of *Haematostaphis barteri* and *X. Americana*, *Bioresource Technology*. 82: 303 – 304.
- Fekam Boyom F, Amvam Zollo PH, Menut C, Lamaty G, Bessiere JM (1996). Aromatic Plants of Tropical Central Africa, Part XXVII. Comparative study of the volatile constituents of five Annonaceae species growing in Cameroon. *Flavour Fragr. J.* ; 11(6): 333–338.

- Fischer NH, Jeffrey DW, James LR, Leovigildo Q, Marias AM (1990). Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structureactivity study, *Phytochemistry*, 29, 8, 2479-2483
- Fitri A, Andriani M, Sudarman A, Toharmat T, Yonekura L, Tamura H, Ramli N (2016). Screening of antioxidant activities and their bioavailability of tropical fruit byproducts from Indonesia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(6):96-100.
- Freeman BA (1982). Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*. 47:412
- Galanakis CM (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26:68-87.
- George VC, Kumar DN, Suresh P, Kumar RA (2015). Antioxidant, DNA protective efficacy and hplc analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. *J Food Sci Technol.*; 52:2328-2335.
- Gerber M (2002). Food and Cancer: state of the art about the protective effect of fruits and vegetables. *Bull Cancer*, 89: 293-312.
- Gorinstein S, Poovarodom S, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Vearasilp S, Haruenkit R, Ruamsuke P, Katrich E, Tashma Z (2011). Antioxidant properties and bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits. In vitro and in vivo studies. *Food Research International*, 44 (7): 2222–2232.
- Gökalp H, Kaya M, Zorba Ö (2002). Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:320, s:137 Erzurum
- Guidi I, Galimberti D, Lonati S, Novembrino C, Bamonti F, Tiriticco M, Fenoglio C, Venturelli E, Baron P, Bresolin N (2006). Oxidative imbalance in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 27, 262–269.
- Güçlü K, Sözgen K, Tütem E, Özyürek M, Apak R (2005). Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. *Talanta*, 65: 1226-1232.
- Hacıoğlu S (2006). Bazı *Heracleum* L. (Umbelliferae) Taksonlarında Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 3-6 s.
- Hall JN, Moore S, Harper SB, Lynch JW (2009). Global variability in fruits and vegetables consumption, *American Journal of Preventive Medicine*, 36 (5): 402 - 409.
- Hallıwell B, Gutteridge JMC (1990). "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview." In: *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- Hallıwell B (1994). "Free radicals and antioxidants: A personal view." *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- Handelman GJ (2001). The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, 17: 818-822
- Hanson JR (1971). Diterpenoids in "Terpenoids and Steroids" (Overton, K.H., ed.) Vol. 2, The Chemical Society, Burlington House, London

- Hışıl Y, Ünlü ZN (1996). Süperkritik Akiskanlarla Ekstraksiyon Teknolojisi ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları, Gıda Teknolojisi, 1 (8), 46–54.
- <http://www.mustafaaltinisik.org> (Ocak 2007)
- Huang DB, Prior RL (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Ik.an, R (1969). *Natura Products*, Academic Press, New York.
- Hyun DH, Hernandez JO, Mattson MP, De Cabo R (2006). The plasma membrane redox system in aging. *Aging Res. Rev.* 5, 209– 220
- Ikawa M, Schaper TD, Dollord CA, Sosner JJ (2003). Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7): 1811-1815.
- Jackman RL, Yada RY, Tung MA, Speers RA (1987). Anthocyanins as food colorants - a review. *J. Food Biochemistry*. 11:201-247.
- Jiménez VM, Gruschwitz M, Schweiggert RM, Carle R, Esquivel P (2014). Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection, *Food Research International*, 65: 42–46.
- Jirovetz L, Buchbauer G, Ngassoum MB (1998). Essential oil compounds of the *Annona muricata* fresh fruit pulp from Cameroon. *J Agric Food Chem.*; 46 (9): 3719-3720.
- Kabouche A, Kabouch, Z, Öztürk M, Kolak U, Topçu G, (2007). Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*, *Food Chemistry*, 102, 1281–1287.
- Kaur C, Kapoor HC (2001). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 37(2): 153-161.
- Keaney JF, Frei B, (1994). “ Antioxidant protection of LDL and its role in the prevention of atherosclerotic vascular disease.” p.303-309, *In: Natural Antioxidants in Health and Disease*, Ed: Frei B., Academic Pres Inc.
- Khayyat SA, Ve Roselin LS (2018). “Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils,” *Journal of Saudi Chemical Society*, 27.7, 855–875.
- Koca N, Karadeniz F (2005). Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. *Gıda* 30: 229-236
- Kolar FR, Kamble VS, Dixit GB (2011). Phytochemical constituents and antioxidant potential of some underutilized fruits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5 (18): 2067 – 2072.
- Kossouh C, Moudachirou M, Adjakidje V, Chalchat JC, Figuéredo G (2007). Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. Leaves from benin. *Journal of Essential Oil Research*; 19:307–309.
- Kinnula VL, Crapo JD (2004). Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 718–744.
- Larson RA (1988). The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*, 27 (4), 969-978,
- Leong LP, Shui G (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69–75.
- Linskens HF, Jackson JF (1997)a. *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 19: Plant Volatile Analysis, Springer, Germany.

- Linskens HF, Jackson JF (1997)b. *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 12: Essential Oils and waxes, Springer, Germany.
- Liu RH (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition* 78 (suppl): 517 – 520.
- Liu RH (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition* 78 (suppl): 517 – 520.
- Lopez-Alarcon C, Lissi E (2005). Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. *Free Radical Research*, 39(7): 729-736.
- Lopez-Alarcon C, Lissi E (2006). A novel and simple ORAC methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. *Free Radical Research*, 40 (9): 979-985.
- MacLeod AJ, Pieris NM (1981). Volatile flavor components of soursop (*Annona muricata*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 29: 488–490.
- Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK (1996). Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. *Markel Dekker, Newyork*, pp 41-50.
- Maier G, Mayer P, Ditrach H (1990). *Wucherphenning Flüs Obst*. 57:230.
- Marquez CJ, Jimenez M, Osorio C, Cartegena JR (2011). Volatile compounds during the ripening of Colombian soursop (*Annona muricata* L. cv. Elita) Vitae, *Revista De La Facultad De Quimica Farmaceutica*, 8: 3, 245-250.
- Miliauskas G, Venskutonis PR, van Beek TA (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts *Food Chemistry*, 85 (2): 231-237.
- Miller AL (1996). Antioxidant flavonoids structure, function and clinical usage, *Alternative Medicine Review*, 1: 103-111
- Miller NJ, Luiz-Larrea MB (2002). “Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants.” *Journal of Nutritional and Environmental Medicine*, 12, 39-51.
- Middleton E, Kandaswami C (1994). *Food Technol.* 48 (11) 115.
- Mishra S, Ahmad S, Kumar N, Sharma BK (2013). *Annona muricata* (the cancer killer): Areview. *Glob. J. Pharm. Res.*, 2:1613–1618.
- Mogalhaes LM, Segundo MA, Reis S, Lima LLFC, Rangel OSS (2006). Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (15): 5241-5246.
- Moghadamtousi SZ, Goh BH, Chan CK, Shabab T, Kadir HA (2013). Biological activities and phytochemicals of *Swietenia macrophylla* king. *Molecules*, 18:10465-10483.
- Moghadamtousi SZ, Kamarudin MNA, Chan CK, Goh BH, Kadir HA (2014). Phytochemistry and biology of *Loranthus parasiticus* merr, a commonly used herbal medicine. *Am J Chin Med.*, 42:23-35.

- Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA (2015)a. *Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 15625–15658.
- Moharram HA, Youssef MM (2015). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology* 11 (1), 31-42
- Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA (2000). “Comparison of the free radical-scavenging activity of Propolis from several regions of Argentina” , *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 109–114.
- Morton JF (1987). Soursop. In *Fruits of Warm Climates* (pp. 75–80). Greensboro, NC: Media Incorporated.)
- Moyler DA (1993) Extraction Of Essential Oils With Carbon Dioxide. *Flavour and Fragrance J.* Vol.8, 235- 247.
- Mujtaba IM, (2004). Batch Distillation Design and Operation, Series on Chemical Engineering, Vol. 3, Imperial College Press, London, 4–10.
- Murray RK, Graner DK, Mayes PA, Rodwell VW (1996). Harper’ın Biyokimyası 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nam JS, Park SY, Jang HL, Rhee YH (2017). Phenolic compounds in different parts of young *Annona muricata* cultivated in Korea and their antioxidant activity. *Applied Biological Chemistry*. 60:535-543. DOI: 10.1007/s13765-017-0309-5.
- Nerio LJ, Olivero-Verbel E (2010). Stashenko, Repellent activity of essential oils: a review, *Bioresour. Techol.* 101, 372–378
- Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B (2005). Comparison of the 2,2’-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to asses the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Mol Nutr Food Res*; 49:239-46.
- Nishikimi M, Rao NA, Yagi K (1972). “The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen.” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46(2), 849-854.
- Olakunle S, Onyechi O, James O (2014). Toxicity, anti-lipid peroxidation, in vitro and in vivo evaluation of antioxidant activity of *Annona muricata* ethanol stem bark extract. *American Journal of Life Sciences*. 2, 271–277.
- Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Ed.) (2002). İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan J, Deemer EK, Prior RL, Huang D (2002). Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2772-2777.
- Ötleş S, Atlı Y (1997). Karotenoidlerin insan sağlığı açısından önemi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 3(1), 249-254.
- Paull RE (1998). Soursop. In P. E. Shaw, & H. T. Chan, (Eds.), *Tropical and Subtropical Fruits*, 386–400.

- Polat Ö, Ötleş S (1997). Esansiyel yağların ekstraksiyon yöntemleri. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri B, 15, (1-2), 155-161.
- Packer L, Witt EH, Tristchler HJ (1995). "Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant." *Free Radical Biology and Medicine*, 19(2), 227-250.
- Pelissier Y, Marion C, Kone D, Lamaty G, Menut C, Bessiere JM (1994). Volatile components of *Annona muricata* L. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4): 411-414.
- Pelletier SW (1983). *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 1, Wiley-Interscience, New York.
- Percival M (1998). "Antioxidants." *Clinical Nutrition Insights*, 10, 1-4.
- Pisoschi AM, Cheregi MC, Danet AF (2009). Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. *Molecules* 14: 480 - 493.
- Pratt DE, Hudson BJB (1990). Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Amsterdam, 17- 192
- Prior RL, Cao GH (2000). Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *Journal of AOAC International*, 83 (4): 950-956.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 3396-3402
- Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S (1988). Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36, 732-737
- Rao GR, Konjilal G, Mohan KR (1978). extended application of Folin- Ciocalteu reagent in the determination of drugs. *The Analyst*, 103: 993-994.
- Re R, Pellegrini N, Protrgente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Reiter RJ, (1998). Melatonin and human reproduction. *The Finnish Medical Society Duodecim*, 30(1), 103-108.
- Rice-Evans C (1999). "Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity." Chapter 16, p.239-253, *In: Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.
- Rice-Evans CA, Miller NJ (1984). Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology*, 234: 279-293.
- Ross JA, KASUM CM (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22, 19-34.
- Sanchez-Nieva F, Igaravidez L, Lopez-Ramos B (1953). The preparation of soursop nectar. University of Puerto Rico Agriculture Experimental Stational Technical Paper, 11:5-19.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI (2006). *Natural Products Isolation*, 2nd Edition, HUMANA Press Inc., New Jersey, 27 - 46 ve 47 -76.

- Sas K, Robotka H, Toldi J, Vecsei L (2007). Mitochondrial, metabolic disturbances, oxidative stress and kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *Journal of The Neurological. Sciences.* 257, 221–239.
- Saura-Calixto F, Goni I (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94: 442–447.
- Scott BC, Auroma OI, Evans PJ, O’neill C, Van Der Vliet A (1994). “Lipoic acid and dihydrolipoic acid as antioxidants. A critical.” *Free Radical Biology and Medicine*, 20 (2), 119-133.
- Serteser A, Gök V (2003). Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. (2-4 Ekim 2003), Ankara.
- Seven A, Candan G (1996). Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.
- Shashirekha MN, Baskaran R, Rao LJ, Vijayalakshmi MR, Rajarathnam S (2008). Influence of processing conditions on flavour compounds of custard apple (*Annona squamosa* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 41: 236-243.
- Silva LM, Figueiredo EA, Ricardo NM, Vieira IG, Figueiredo RW, Brasil IM, Gomes LC (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil *Food Chemistry*, 143, pp. 398–404.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- Sousa MP, Matos MEO, Matos FJA, Machados MIL, Craveiro AA (2004). *Constituintes Químicos Ativos e Propriedades Biológicas de Plantas Mediciniais Brasileiras*, 2nd ed.; Editora UFC: Fortaleza, Brazil, 281-283.
- Sousa D, J. Gonçalves, L, Quintans-Junior J, Cruz D, Araújo R (2006). Almeida, Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents, *Neuroscience Letters*. 401 (3)231–235
- Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G (2000). Oxidative stress in Alzheimer’s disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1502, 139–144.
- Stahl W, Sies H (1999). “Carotenoids: Occurance, biochemical activities, and bioavailability.” Chapter 13,183-202 In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.
- Steel RGD, Torrie JH (1960). *Principles and Procedures of Statistics*, McGraw Hill Book Co. Inc. NewYork
- Stryer L (1995). *Biochemistry*, 4th Ed., W.H. Freeman and Company, NewYork.
- Tanker M, Tanker N, (1990). *Farmakognozi*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No.65, Ankara, s. 269-393.
- Tanker M, Tanker N. *Uçucu yağlar*, *Farmakognozi Cilt 2*, Ankara Üniversitesi
- Teixeira J, Gaspar A, Garrido EM, Garrido J, Borges F (2013). Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. *BioMed Research. International.* 251-754
- Tirzitis G, Bartosz G (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: Basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica.* 57, 139–142

- Thomas BR (1970). Modern and Fossil Plant Resins in "Phytochemical Phylogeny" (Harborne, J.B., ed.) Academic Press, London.
- Tohma H, Gülçin İ, Bursal E, Gören AC (2017). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS – Journal of Food, 2017-Springer.
- Trouillas P, Calliste CA, Allais DP, Simon A, Marfak A, Delage C, Duroux JL (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. Food Chemistry, 80(3): 399-407.
- Türk M (2010). Bazı önemli tıbbi bitkilerin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde sub ve süperkritik akışkanların etkisi., Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 6-16
- Türkyılmaz Z (2003). "İskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması." Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi. Edirne
- Umay A (2007). Lavandula stoechas, Melissa officinalis ve Tribulus terrestris Bitkilerinin Kimyasal içeriklerinin Araştırılması, Çukurova Ün. Fen Bil. Ens., Yüksek Lisans tezi, Adana.
- Upston JM, Kritharides L, Stocker R (2003). The role of vitamin E in atherosclerosis. Progress in Lipid Research. 42, 405–422.
- Uylaşer V (2000). Karatenoidler ve bazı özellikleri. Dünya Gıda, 5: (12), 79-84.
- Van den Berg R, Haenen RMM, Van den Berg H, Bast A (1999). Applicability of and improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurement of mixtures. Food Chemistry, 66: 511-517.
- Vera de Rosso V (2013). Bioactivities of Brazilian Fruits and the Antioxidant Potential of Tropical Biomes. Food and Public Health 3 (1): 37 – 51.
- Vinson J, Zubik L, Bose P, Sammon N, Proch J (2005). Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. Journal of the American College of Nutrition, 24(1): 44-50.
- Wang H, Cao G, Prior RL (1996). Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agricultural Food Chemistry., 44, 701-705
- Wright ME, Park Y, Subar AF, Freedman ND, Albanes D, Hollenbeck A, Leitzmann MF, Schatzkin A (2008). Intakes of fruit, vegetables, and specific botanical groups in relation to lung cancer risk in the nih-aarp diet and health study. American Journal of Epidemiology (available online).
- Yazıcı C, Köse K, (2004). Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 13(2), 56-65.
- Yeşilkaya A, Yeğin A, Özdem S, Aksu TA, (1998). The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide-treated erythrocytes. International Journal of Clinical and Laboratory Research, 28, 230-234.
- Yu L, Perret J, Harris M, Wilson J, Haley S (2003). Antioxidant properties of bran extracts from "Akron" wheat grown at different locations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 1566–1570

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Edirne’de doğdu. İlköğretim eğitimini Şükrüpaşa İlköğretim Okulu’nda tamamladı. Orta öğretimini İlhami Ertem Lisesi’nde tamamladı. Lisans eğitimi Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü’nü 2.63/4 ortalama ile tamamladı

Yüksek Lisansını Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Organik Kimya Anabilim Dalı’nda tamamladı. “Investigation of Some Antibacterial and Antioxidant Properties of Wild *Cirsium vulgare* from Turkey” başlıklı makalede yer aldı.