

***Solanum nigrum* L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN
YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE *Solanum
dulcamara* L. (SOLANACEAE)
BİTKİSİNİN DİKLORMETAN/METANOL
EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ
Gizem KIYAK
Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. TEMİNE ŞABUDAK**

2013

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Solanum nigrum L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU
VE *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN DİKLORMETAN/METANOL
EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Gizem KIYAK

KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. TEMİNE ŞABUDAK

TEKİRDAĞ-2013

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Temine ŞABUDAK danışmanlığında, Gizem KIYAK tarafından hazırlanan “*Solanum nigrum* L. (Solanaceae) Bitkisinin Yağ Asidi Kompozisyonu ve *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) Bitkisinin Diklormetan/Metanol Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Doç. Dr. Temine ŞABUDAK

İmza :

Üye : Prof. Dr. Naciye Gülkız ŞENLER

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşe AFACAN

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Solanum nigrum L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN DİKLORMETAN/METANOL EKSTRELERİNİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Gizem KIYAK

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. TEMİNE ŞABUDAK

Bu çalışma ile, Trakya bölgesinde yetişen, *Solanum nigrum* L. (Solanaceae) bitkisinin yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi; *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) yaprak ve meyvelerinin diklormetan ile metanol ekstralarının üç farklı yöntemle (β -karoten-Linoleik asit, DPPH serbest radikali giderimi ve CUPRAC) antioksidan aktivitesinin tayini amaçlanmıştır.

Çalışılacak bitkiler, Temmuz-Ağustos ayları arasında Trakya bölgesinden toplandıktan sonra, gölgede kurutulmuştur. *S. dulcamara* bitkisi meyve ve yapraklarına ayrılarak, her iki bitki kısmı, ayrı ayrı, diklormetan ve metanol ile maserasyon yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen iki ham ekstreye üç farklı yöntem kullanılarak, antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. Antioksidan aktivite tayin bulgularına göre; β -Karoten renk açılım ve CUPRAC metoduyla yapılan aktivite sonuçlarında, meyve metanol ekstresi, bitkinin diğer ekstraları arasında daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla yapılan antioksidan aktivite sonuçlarında ise, meyve ve yaprak diklormetan / metanol ekstralarının eşdeğer minimum inhibisyon konsantrasyonu gösterdiği tespit edilmiştir. *S. dulcamara* bitkisinin, diklormetan ve metanol ekstralarında antioksidan aktivite tayini ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır.

Çalışmanın ikinci ayağında da, *S. nigrum* bitkisinin bütünüyle (kök, sap, meyve, yaprak) çalışılmıştır. *S. nigrum* bitkisi kurutulduktan sonra, maserasyon yöntemi kullanılarak n-hegzan ile ekstrakte edilmiştir. Bitkinin n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin tayini GC yöntemiyle belirlenmiştir. *S. nigrum* bitkisinin n-hegzan estresinde temel yağ asitleri, C 18:3 linolenik asit (% 27.55), C 16:0 palmitik asit (%23.85), C 20:0 araşidik asit (%16.43) ve C 18:2 linoleik asit (%16.21) olarak tespit edilmiştir.

S. dulcamara bitkisinin, diklormetan ve metanol ekstralarında antioksidan aktivite tayini ilk defa bu çalışma ile literatüre sunulmuş olacaktır. Ayrıca, *S. nigrum* bitkisinin yağ asidi bileşiminin tayiniyle, coğrafi bölgesel farklılıkların, aynı türdedeki yağ asidi bileşimine etkisi araştırılacak ve bu familyadaki bitkilerin kemotaksonomik bakımdan değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Solanaceae, *Solanum dulacamara*, *Solanum nigrum*, antioksidan aktivite, yağ asitleri.

2013, 93 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS OF *Solanum nigrum* L. (SOLANACEAE) AND DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DICHLOROMETHANE/METHANOL EXTRACTS OF *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE)

Gizem KIYAK

Namik Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical

Supervisor : Assoc. Prof. Dr.Temine SABUDAK

In this thesis, fatty acid content and antioxidant activity were determined some *Solanum* species which are grown in Thrace.

The contents of fatty acids of n-hexane extract of *Solanum nigrum* L. (Solanaceae) were determined by gas chromatography (GC) in this study. However, The antioxidant activity of dichloro methane / methanol extracts of *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) was investigated by β - carotene bleaching method, (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DPPH free radical scavenging activity and CUPRAC methods.

Solanum dulcamara and *Solanum nigrum* were collected in their flowering time (July and August 2012). *S. dulcamara* were separated fruit and leaves. The dried both plant parts (fruit and leaves) were macerated with dichloromethane and methanol in room temperature. The solvent will be evaporated under vacuum. The antioxidant activity of dichloromethane and methanol extracts of *S. dulcamara* were investigated by three methods (β -carotene-linoleic acid, DPPH free radical- scavenging and CUPRAC). The according to antioxidant activity results in the by β -carotene-linoleic acid and CUPRAC methods, fruit methanol extract of *S. dulcamara* have antioxidant activity higher than another extracts. The according to antioxidant activity results with DPPH free radical method, methanol extracts and dichloromethane extracts of leaves and fruits were shown same minimum inhibition concentration.

The antioxidant activity of dichloromethane and methanol extracts of *S. dulcamara* are presented for the first time in this study.

The second part of the study, dried *S. nigrum* (root, scape, leave and fruit) were macerated with n-hexane in room temprature. The fatty acids of n-hexane extract of *S. nigrum* were investigated with Gas Chromatography (GC). The major fatty acids were C 18:3 linolenic acid (% 27.55), C 16:0 palmitic acid (%23.85), C 20:0 arachidic acid (%16.43) and C 18:2 linoleic acid (%16.21) in the n-hexane extracts of *S. nigrum*.

Key words: Solanaceae, *Solanum dulcamara*, *Solanum nigrum*, antioxidant activity, fatty acids.

2013 , 93 pages

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle daima yol gösteren ve hiçbir konuda yardımını esirgemeyen çok değerli hocam sayın Doç. Dr. Temine Şabudak'a teşekkürlerimi sunarım.

Muratlı Meslek Yüksek Okulu'nda çalışan sayın hocam Yrd. Doç. Ayşe Afacan'a çalışmalarında yardımcı olduğu için ve Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümünde, Botanik Ana Bilim Dalında çalışan Yrd. Doç. Dr. Necmettin Güler'e bitkilerimizin teşhisinde yardımcı olduğu için teşekkür ederim.

NKUBAP.00.10.AR.12.13 proje numaralı çalışmamızı destekleyen Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın tamamlanmasında yardımını esirgemeyen arkadaşım Tarık Ortaköy'e ve çalışmamda katkısı olan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışma hayatım boyunca yüksek lisans çalışmamı destekleyen ve bu süre içinde her konuda yardımcı olan BMCOLOR yöneticilerine ve ders programlarının düzenlenmesinde yardımcı olan Namık Kemal Üniversitesi Kimya Bölümü hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tez çalışmam boyunca benimle birlikte tüm sıkıntılara katlanıp sabır gösteren Fatih Fener'e, manevi desteğini esirgemeyen Şeyna Gacal'a ve benim bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan bir parçası olmakla her zaman gurur duyduğum sevgili annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

min	Dakika
°	Derece
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta
λ	Lamda
μm	Mikrometre
m	Metre
μl	Mikrolitre
N	Normal
mg/mL	miligram/mililitre
mV	milivolt
Me	Metil
Et	Etil
EtO	Etoksi
MeO	Metoksi
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
GA	Gallik asit
ODS	Oktadesilsilan
PG	Propil gallat
TBHQ	Tersiyer bütillhidrokinon
2,6-DCPIP	2,6-diklorofenolindofenolün
MDA	Malondialdehit
IgG	İmmünoglobülin G
ET	Elektron Transferi
GC	Gaz kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektroskopisi
GLC	Gaz sıvı kromatografisi
GSC	Gaz katı kromatografisi
IR	İnfrared
MS	Kütle spektroskopisi
NMR	Nükleer magnetik rezonans
RPC	Ters faz kromatografisi
TCD	Termal iletkenlik dedektörü
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UV	Ultraviyole
DKM	Diklormetan
MeOH	Metanol
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ROS	Reaktif oksijen türlerinin
SLE	Sistemik lupus eritematozusta
RA	Romatoit artrit
HAT	Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar
SET	Tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE ÖNCEKİ ARAŞTIRMALAR.....	3
2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı.....	3
2.1.1. Solanaceae familyasının özellikleri.....	3
2.1.2. Trakya bölgesinde Solanaceae familyası.....	3
2.1.3. <i>S. dulcamara</i> türünün genel özellikleri.....	5
2.1.4. <i>S. nigrum</i> türünün genel özellikleri.....	8
2.1.5. Trakya bölgesindeki <i>S.dulcamara</i> ve <i>S.nigrum</i> türleri.....	10
2.2. Solanaceae Familyası ve <i>Solanum</i> Türleri ile Yapılan Çalışmalar.....	10
2.3.Genel Bilgiler.....	14
2.3.1.Yağ asitleri.....	14
2.3.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması.....	16
2.3.2.1. Doymuş yağ asitleri.....	17
2.3.2.2. Doymamış yağ asitleri.....	20
2.3.2.2.1. Çift bağ içeren (alken) yağ asitleri.....	21
2.3.2.2.1.1. Monoen yağ asitleri.....	21
2.3.2.2.1.2. Polien yağ asitleri.....	24
2.3.2.2.2.İsolen yağ asitleri.....	25
2.3.2.2.3. Konjuge yağ asitleri.....	25
2.3.2.2.4.Alkin yağ asitleri.....	26
2.3.3.Yağ asitlerinin fizikokimyasal özellikleri.....	27
2.3.3.1. İyot indisi.....	28
2.3.3.2. Yağ asitlerinin çözünürlükleri.....	28
2.3.3.3. Yağ asitlerinin optik aktivitesi.....	28
2.3.3.4. Yağ asitlerinin esterleşmeleri	29
2.3.3.5. Yağ asitlerinin ışık absorpsiyonu.....	29
2.3.3.6. Yağların bozulması.....	30
2.3.3.7. Sabunlaşma.....	31
2.3.3.8.Yağ asidi türevlerinin deterjan etkileri.....	31
2.3.4. Yağ asitlerinin ayırt edilmeleri.....	32
2.3.4.1. ¹ H NMR spektroskopisi ile yağ asitlerinin tayini.....	32
2.3.4.2.Kromatografik yöntemler ile yağ asitlerinin tayini.....	34
2.3.4.2.1. GC yöntemi İle tayini.....	36
2.3.4.2.1.1.Taşıyıcı gaz	36
2.3.4.2.1.2.Örnek enjeksiyon sistemi.....	37
2.3.4.2.1.3.Kromatografik fırın.....	38
2.3.4.2.1.4.Kromatografik kolonlar.....	38
2.3.4.2.1.5.Dedektörler.....	40
2.4.Antioksidan Aktivite.....	40
2.4.1. Serbest radikaller.....	46

2.4.2. Serbest radikallerin etkileri.....	48
2.4.2.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri.....	48
2.4.2.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri.....	50
2.4.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri.....	51
2.4.2.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri.....	51
2.4.3. Serbest radikallere karşı savunma sistemleri.....	51
2.4.3.1. Serbest radikallere karşı nonenzimatik korunma.....	52
2.4.3.1.1. Tokoferoller.....	52
2.4.3.1.2. Flavonoidler ve fenolik asitler.....	53
2.4.3.1.3. Karotenoidler.....	55
2.4.3.1.4. Likopen.....	57
2.4.3.1.5. Askorbik asit (C vitamini).....	58
2.4.4. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri.....	61
2.4.4.1. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar.....	61
2.4.3.1.1. β -karoten renk açılım yöntemi.....	62
2.4.4.2. Elektron transferine dayanan reaksiyonlar (ET).....	63
2.4.4.2.1. DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	63
2.4.4.2.2. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini.....	65
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	67
3.1. Kullanılan Kimyasallar.....	67
3.2. Yöntem.....	67
3.2.1. Bitkinin toplanması.....	67
3.2.2. Bitkinin ekstraksiyonu.....	68
3.2.3. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin meyve ve yapraklarında antioksidan aktivite tayini.....	69
3.2.3.1. β -karoten renk açılım yöntemi.....	69
3.2.3.2. DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	69
3.2.3.3. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini.....	70
3.2.4. <i>S. nigrum</i> bitkisinin yağ asidi bileşimi tayini.....	70
3.2.4.1. <i>S. nigrum</i> bitkisinin n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin metil esterlerine dönüştürülmesi.....	71
4. BULGULAR.....	72
4.1. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin meyve ve yaprağının diklormetan ve metanol ekstralarında, üç farklı yöntem ile antioksidan aktivite tayini.....	72
4.1.1. β -karoten renk Açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayini.....	72
4.1.1.1. Meyve ekstralarının diklormetan ve metanol ekstralarında, β -karoten renk açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayini.....	72
4.1.1.2. Yaprak ekstralarının diklormetan ve metanol ekstralarında, β -karoten renk açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayini.....	73
4.1.2. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini.....	75
4.1.2.1. Meyve ekstralarının diklormetan ve metanol ekstralarında, CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	75
4.1.2.2. Yaprak ekstralarının diklormetan ve metanol ekstralarında, CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	76
4.1.3. DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	78

4.1.3.1. Meyve ekstrlerinin diklormetan ve metanol ekstrlerinde, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini	78
4.1.3.2. Yaprak ekstrlerinin diklormetan ve metanol ekstrlerinde, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini.....	80
4.2. <i>S. nigrum</i> bitkisinin yağ asidi kompozisyonunun tayin sonuçlar	81
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	84
6.KAYNAKLAR.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>S. dulcamara</i> yaprak.....	6
Şekil 2.2. <i>S. dulcamara</i> çiçek.....	7
Şekil 2.3. <i>S. dulcamara</i> olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyve.....	8
Şekil 2.4. <i>S. nigrum</i> yaprak.....	9
Şekil 2.5. <i>S. nigrum</i> çiçek.....	9
Şekil 2.6. <i>S. nigrum</i> olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyve.....	10
Şekil 2.7. β -sitosterol ve stigmasterol yapıları.....	11
Şekil 2.8. Bir yağ asidinin genel formülü.....	15
Şekil 2.9. Doymuş yağ asidi zincirinde C atomları.....	17
Şekil 2.10. Doymamış yağ asidi zincirinde C atomları.....	21
Şekil 2.11. Omega 3 yapısı.....	24
Şekil 2.12. Konjuge olmayan (izolen) yağ asidi zinciri.....	25
Şekil 2.13. Konjuge yağ asidi zinciri.....	26
Şekil 2.14. İsanik asit yapısı.....	27
Şekil 2.15. Kaproik asit yapısı.....	28
Şekil 2.16. Oleik asit ve linoleik asit yapıları.....	28
Şekil 2.17. Yağ asitlerinin alkoller ile esterleşmeleri.....	29
Şekil 2.18. Sabunlaşma.....	29
Şekil 2.19. Deterjan oluşumu.....	31
Şekil 2.20. NMR Spektroskopisi.....	32
Şekil 2.21. Bir gaz kromatografi cihazı.....	36
Şekil 2.22. Tipik bir bölücülü enjeksiyon sistemi.....	37
Şekil 2.23. Açık borusal kapiler kolonlar.....	39
Şekil 2.24. Propil Gallat molekülünün yapısı.....	43
Şekil 2.25. BHA (Bütillendirilmiş hidroksi anisol) molekülünün yapısı.....	44
Şekil 2.26. BHT(Bütillendirilmiş hidroksi toluene) molekülünün yapısı.....	44
Şekil 2.27. TBHQ (tersiyerbütihidrokinon) molekülünün yapısı.....	45
Şekil 2.28. Lineoleik asidin otoksidasyon reaksiyon şeması.....	50
Şekil 2.29. $\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \gamma \rightarrow \delta$ -Tokoferolün molekül yapısı.....	53
Şekil 2.30. Sesamolin ve Sesamol molekül yapıları.....	54
Şekil 2.31. Karnosik asit ve Rosmarinik asitin molekül yapısı.....	54
Şekil 2.32. Flavonoidin genel molekül yapısı.....	55
Şekil 2.33. β -karotenin molekül yapısı.....	57
Şekil 2.34. Likopenin molekül yapısı.....	58
Şekil 2.35. Askorbikasidin molekül yapısı.....	59
Şekil 4.1. β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> meyve ekstrelerinin ve standartlarının zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği.....	72
Şekil 4.2. β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> meyve ekstrelerinin ve standartların yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği.....	73
Şekil 4.3. β -karoten-lineoleik asit emülsiyon sistemindeki 2 mg/mL <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstrelerinin ve standartların zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği.....	74
Şekil 4.4. β -karoten-lineoleik asit emülsiyon sistemindeki 2 mg/mL <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstrelerinin ve standartların yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği.....	74
Şekil 4.5. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstrelerinin, konsantrasyona karşı absorbans (450 nm) grafiği.....	75

Şekil 4.6. Cuprac yöntemi ile elde edilen standart troloksun, meyve için çizilen kalibrasyon grafiği ($\lambda = 450$ nm maksimum).....	76
Şekil 4.7. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbens (450 nm) grafiği.....	77
Şekil 4.8. Cuprac yöntemi ile elde edilen standart troloksun, yaprak için çizilen kalibrasyon grafiği ($\lambda = 450$ nm maksimum).....	77
Şekil 4.9. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbens (517 nm) grafiği.	78
Şekil 4.10. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği.	79
Şekil 4.11. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbens (517 nm) grafiği.....	80
Şekil 4.12. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstralarının konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği.....	80
Şekil 4.13. <i>S. nigrum</i> n- hegzan ekstrasına ait GC-kromatogramı.....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı Yağ Asitleri.....	16
Çizelge 2.2. Doğada bulunan başlıca doymuş yağ asitleri ve bazı özellikleri.....	19
Çizelge 2.3. Doğada bulunan monoen yağ asitleri ve bunların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	22
Çizelge 2.4. β, α, α' olarak adlandırılan yağ asitleri.....	27
Çizelge 2.5. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar.....	47
Çizelge 4.1. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) ilişkin % antioksidan aktivite ve absorbans değişim oranları	73
Çizelge 4.2. <i>S.dulcamara</i> yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) ilişkin % antioksidan aktivite ve absorbans değişim oranları	75
Çizelge 4.3. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstrelerinin, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC _{TEAK} değerleri) karşılaştırılması.....	76
Çizelge 4.4. <i>S.dulcamara</i> yaprak ekstrelerinin, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC _{TEAK} değerleri) karşılaştırılması.	78
Çizelge 4.5. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit, BHA ve BHT)) ilişkin IC ₅₀ değerleri.....	79
Çizelge 4.6. <i>S.dulcamara</i> yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit, BHA ve BHT)) ilişkin IC ₅₀ değerleri.....	81
Çizelge 4.7. <i>S. nigrum</i> n-hegzan ekstresinin yağ asidi kompozisyonu (%).....	83

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Bitkiler insan sağlığının sürdürülmesinde ve insan yaşamının kalitesinin artırılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Dünya Sağlık örgütü (WHO) dünyada yaşayan insanların %80 kadarının primer sağlık ihtiyaçları için geleneksel ilaçları kullandıklarını ve bu tedavilerin çoğunun bitki ekstrelerini ve etkin maddelerini kullanarak ortaya çıktığını tahmin etmektedir. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1980 yılında tıbbi bitkileri "bir veya birden fazla organıyla tedavi edici veya hastalıkları önleyici olabilen veya herhangi bir kimyasal-farmasötik sentezin öncüsü olabilen bitki çeşitleridir." şeklinde tanımlayarak bitkisel ilaçları kabul etmiştir. Bitkisel ürünlerin kullanım geçmişi binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Bu ürünlerin kullanımı İ.Ö.3000 lerden beri kayıtlarda bulunmakta olup, Paleolitik çağlardan beri (60.000 yıldır) kullanıldıkları bilinmektedir. ([http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/.](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/))

Dünya üzerinde 1 milyondan fazla bitki türü bulunmakta olup, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 20 bin kadarı pek çok biyolojik aktif özelliklerinden dolayı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Türkiye’de ise tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin miktarı 500 civarındadır. Bu sebeple son yıllarda bitkilerden biyolojik aktif bileşiklerin izolasyonu ve moleküler yapılarının açıklanmasıyla ilgili araştırmalar artmaktadır.

Günümüzde bitkisel doğal ürünlere olan ilgi her zamankinden daha fazladır. Bitkiler antikarsinojenik, anti-enflamatuar, antiallerjik, antifungal, antibakteriyel, antioksidan etkiler gibi pek çok biyolojik aktif özellikleri nedeniyle bilim adamlarının ilgisini çekmektedirler.

Yaşam için gerekli olan oksijen aynı zamanda toksik etkiye de sahiptir. Bu toksisite oksijenin oluşturduğu reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azaltırlar veya ortadan kaldırırlar. Antioksidan savunma mekanizmalarının savunmada yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkabilecek hastalıklardan korunmak için antioksidan etkiye sahip meyve, sebze ve şifalı bitkilerin tüketilmesinin insan sağlığı açısından faydalı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma vardır.

Solanum dulcamara L.(yabanyasemini, sofru), çiçekleri mor, meyvesi kırmızı renkli olan, tırmanıcı çok yıllık bir bitkidir. Halk arasında, idrar arttırıcı, hafif uyutucu, romatizma ağrılarını giderici, terletici, balgam söktürücü, deri hastalıklarında kan temizleyici ve hafif müshil etkilere sahip olduğu bilinmektedir. *S. dulcamara*, cilt hastalıkları, sigil, tümör, dolama, artrit, romatizma, nefes darlığı, kalp rahatsızlıkları, kalın bağırsak ülserleri, göz iltihaplanmaları, sarılık ve zatüre hastalıklarında kullanılan tıbbi bir bitkidir (Baytop 1963,1999, Tanker ve ark. 1998).

Solanum nigrum, halk arasında köpek üzümü olarak bilinen çiçekleri beyaz, meyvesi siyah renkli olan, tek yıllık zehirli bir bitkidir. *S. nigrum*'un çok değişik formları vardır. Tek bitki yaklaşık 500 adet tohum oluşturabilir. Tohumları 40 yıl sonra çimlenebilir (Uygur ve ark. 1986). Bitkinin yaprak ve meyvelerinde solanin alkaloidi bulunur. İyi bir yatıştırıcı uyuşturucu etkisi vardır. Ağrı kesici olarak, astıma, epilepsi ve romatizmaya karşı kullanılır. Birçok preparatların terkiibine girer.

Bu tezin amacı; Trakya bölgesinde yetişen, *S. nigrum* (Solanaceae) bitkisinin n-hegzan ekstresinde, yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi ve *S. dulcamara* bitkisinin yaprak ve meyvelerinden hazırlanan diklormetan ve metanol ekstralarının, β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderimi ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitesinin tayini amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE ÖNCEKİ ARAŞTIRMALAR

2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı

2.1.1. Solanaceae familyasının özellikleri

Solanaceae familyası, bir veya çok yıllık, otsu, tırmanıcı, çalı veya ağaç formunda bitkiler içeren bir taksondur. Bu familya bitkilerinden tropan alkoloitleri taşıyanlar eczacılıkta kullanılır ve zehirlidir. Ayrıca sebze olarak kullanılan bitkiler yönünden de önemli bir familyadır. Solanaceae familyasından yeryüzünde 85 cins ve 2200 den fazla tür bulunur. Türkiye’de ise, 9 cins ve 31 tür doğal olarak yetişir. Bunların yanında kültürü yapılmakta olan bitkiler de bulunmaktadır (Tanker 2007). Solanaceae familyasındaki, bazı cinslerin ve türlerin özelliklerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

Hyoscyamus (banotu, gavurhaşaşı) cinsi, bir, iki veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Yaprakları basit veya loplu; çiçekleri biraz zigomorf; çiçek durumu uzamış bir salkımdır. Kaliks tüpsü, tepede 5 dişli ve kalıcıdır. Meyva, kaliks tüpü içinde, kapaklı bir kapsüle (piksidyum) tipindedir (Tanker 2007).

H.niger’in yaprakları sapsız, çiçekleri kirli sarıdır. Meyva döneminde kaliks orta bölgede daralmış, alt kısmı şişkindir. Bu tür yurdumuzda yol kenarları ve tarla içlerinde yaygın olarak yetişmektedir. Bitki çiçekliyken toplanıp kurutulmuş yaprakları **Folia Hyoscyami** T.K. (Banotu yaprağı), birçok kodeks ve farmakopede kayıtlı olan bir drogdur; **hiyosiyamin** ve **skopolamin** alkaloitleri içerir; skopolaminden dolayı atıştırmacı ve ağrı kesici etkileri vardır; hem haricen, hem de dahilen kullanılan bir drogdur. Bitkinin kökleri **Radix Hyoscyami** ve tohumları **Semen Hyoscyami** de aynı amaçlarla verilir. Yaprakları tütüne karıştırılarak nefes darlığına karşı, sigara olarak da kullanılır (Tanker 2007).

H.reticulatus yurdumuzda yetişen diğer bir *Hyoscyamus* türüdür, çiçekleri kirli-mor renklidir; Orta ve Doğu Anadolu’da tarlalarda yetişir (Tanker 2007).

H.aureus’ un çiçekleri sarı renkli ve boğazı mor lekeli. Güney Anadolu’da kayalarda ve tarihi yerlerin duvarlarında yetişir (Tanker 2007).

H.albus’ ta çiçekler yeşilimsi-beyaz renklidir. Akdeniz bölgesinde kaya ve duvar diplerinde rastlanır. *H.leptocalyx*’ in çiçekleri altın sarısı renklidir; Güney-doğu Anadolu’da kaya ve duvarlar üzerinde yetişir. *H.pusillus*, çiçekleri sarı renkli olan türdür; Anadolu’nun kuru

yamaçlarında yetişen yıllık bir bitkidir. Bu türlerin hepsi de **alkaloit** taşır ve zehirli bitkilerdir (Tanker 2007).

Datura stramonium (tatula, boru çiçeği) yol kenarları, çöplük ve viraneliklerde oldukça yaygın olan, tek yıllık otsu bir bitkidir. Boyu 0.5-2 m gövdesi dallanmış; yaprakları mavimsi-yeşil renkli, büyük, ovat ve topludur. Kaliks tüp şeklinde uzun, korolla beyaz renkli ve huni biçimindedir. Meyva ceviz büyüklüğünde, üzeri dikenli, 4 yarıkla açılan septisit kapsüldür; kaliks düşücü fakat taban kısmı kalıcıdır. **Folia Stramonii** T.K. (Tatula yaprağı), *D.stramonium*: un çiçek açma zamanı toplanıp kurutulmuş yapraklarıdır; **hiyosiyamin**, **atropin** ve **skopolamin** içerir. Drog antispazmodik etkilidir. Sigara halinde nefes darlığında kullanılır. Tohumları da aynı etkilere sahiptir (Tanker 2007).

D.metel, vatanı Meksika olduğu halde tropiklerde ve Akdeniz bölgesine de yayılmış bir türdür; *D.stramonium*'dan önemli farkı, meyvası dikenli değil, kabartılıdır, çok yıllık bir bitkidir. Korollası sigara halinde, nefes darlığında kullanılır. **Skopolamin** kaynağı olarak yetiştirilir (Tanker 2007).

D.innoxia da Orta Amerika bitkisidir, Adana-Hatay çevresinde doğal olarak yetişir. Bunun da meyvaları uzun dikenli ve tüylüdür (Tanker 2007).

Nicotiana (tütün) türleri, Amerika kökenli kültür bitkileridir. Yaprakları basit, çiçekleri tepede salkım durumundadır; meyva küçük ve kapsül tipindedir (Tanker 2007).

N. tabacum (tütün), boyu yaklaşık 1 m kadar olan bir kültür bitkisidir; 17. yüzyılda Avrupa'ya, oradan da yurdumuza getirilmiştir; halen yurdumuzda ve dünyanın birçok ülkesinde yaprakları için kültürü yapılmaktadır. Yaprakları büyük, ovat-lanseolat; çiçekleri tüpsü, pembe veya yeşilimsi-beyaz renklidir. **Folia Nicotianae** (tütün yaprakları), bitki çiçekliyken toplanıp kurutulmuş yapraklarıdır; başlıca **nikotin** alkaloidini taşır. **Nikotin** sıvı, uçucu ve çok zehirli bir alkaloittir. Mukozadan absorbe olduğundan sigara içilen ortamda, sigara içmeyenler de aynı derecede etkilenir. Uzun süre sigara içenlerde kalp-damar ve akciğer hastalıkları çok yaygındır. Tütün yaprakları işlendikten sonra sigara ve püro haline getirilir. Ayrıca yapraklardan hazırlanan ekstreler insektisit preparatlara girer (Tanker 2007).

N.rustica (delitütün, hasankeyf tütünü); 1-1.5 m boyunda, tek yıllık bir bitkidir. Yaprakların yüzeyi buruşuk; çiçekleri yeşilimsisarı renklidir. Gaziantep ve K.Maraş çevrelerinde yetiştirilir, keyif verici olarak çiğnenir. Yapraklarından pipo ve nargile tütünü hazırlanır. **Nikotin** oranı *N. Tabacum*'dan yüksektir (Tanker 2007).

Capsicum annuum (biber, paprika), sebze olarak da kültürü yapılan bir yıllık bir bitkidir. Kapsüle benzeyen bakka tipinde meyvaları vardır. Bu meyvalar **Fructus Capsici** T.K. (Kırmızı biber) yeşil iken **C vitamini** yönünden çok zengindir. Acı biber çeşitleri **kapsaisin** alkaloidi taşır. Bu alkaloidin cildi yakıcı ve kan çekici etkisi vardır; bu nedenle dışarıdan romatizma ağrılarını gidermede kullanılır (Tanker 2007).

Bazı biber çeşitleri, renkli ve uzun süre kalıcı meyvaları nedeniyle saksılarda süs bitkisi olarakta yetiştirilir. Bu familyada sebze olarak kullanılan ve bu amaçla kültürü yapılan bitkiler de vardır. Bunlar, *Solanum tuberosum* (patates), *S.melongena* (patlıcan), *Lycopersicum esculentum* (domates) dur (Tanker 2007).

2.1.2. Trakya bölgesinde Solanaceae familyası

Solanaceae familyası, tıbbi ve ekonomik yönlerden önemli bir familyadır. Memleketimizin Trakya bölgesini ve İstanbul'un Anadolu cephesini içine alan kısmında, bu bölgenin florası ile ilgili çalışmalara ve şahsî araştırmalarımıza göre, bu familyada, yerli ve yetiştirilmiş olarak bulunan bitkilerin 10 cins altında toplandığı görülür: *Atropa*, *Datura*, *Hyoscyamus*, *Lycium*, *Physalis*, *Solanum*, *Lycopersicum*, *Capsicum*, *Nicotiana*, *Petunia*. Bu cinslerin ve bunların altında görülen türlerin özellikleri belirtilmiş, yayılışları kaydedilmiş ve tayin anahtarları tertip edilmiştir (Baytop 1971).

S. dulcamara, *S. nigrum*, ve *Solanum Moench* bütün bölgede yetişir. *Solanum alatum* örnekleri, olgunlaşmış turuncu meyvaları bulunmasa dahi, sapı çok hücreli ve başı tek hücreli salgı tüyleri taşımasıyla *S. nigrum*' dan ayırt edilir (Baytop 1971).

2.1.3. *S. dulcamara* türünün genel özellikleri

S. dulcamara (yabanyasemini, sofru), çiçekleri mor, meyvesi kırmızı renkli olan, tırmanıcı çok yıllık bir bitkidir. Halk arasında, idrar arttırıcı, hafif uyutucu, romatizma ağrılarını giderici, terletici, balgam söktürücü, deri hastalıklarında kan temizleyici ve hafif müshil etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Baytop, 1963, Tanker ve ark. 1998).

S.dulcamara, 1-2 m ye kadar yükselen yarı çalimsı bitkilerdir. Gövde olgunlaşmış, ancak genç dallar otsu ve tırmanıcı, az çok köşeli, köşeler bariz yollar halindedir. Dalların genç uçları tüylüdür. Yapraklar alternan dizilişli, saplı, sap boyu laminanın 1/2-1/3 ü kadardır. Lamina tam, ovat-lanseolat, 10 cm ye kadar uzunlukta, tepede sivri veya uzun olarak sivrilmiş, tabanca hafifçe

kalp şeklinde veya trunkat, veya kulakçık şeklinde karşılıklı iki loplul veya yalnız tek tarafta bulunan bir loplul laminanın her iki yüzü de kısa ve seyrek tüylüdür. Çiçekler saplı, sap çiçek boyu kadar veya daha uzundur. Çiçekler gevşek ve sarkık bir durum halinde toplanmış, durum – saplı, 3-25 çiçekli, panikulaya benzer şekilde, genç dallar üzerinde, nodustaki yaprağın karşı tarafındadır. Meyve kısa yumurtamsı, parlak, kırmızı, sarkık, takriben 1 cm boyundadır. Meyve sapı tepede tecriden kalınlaşmıştır. Meyve kaliksi küçüktür. Tohum yassı, böbrek şeklinde, üzeri bal peteği gibi alımsı, 2-3 mm çapındadır (Baytop 1971).



Şekil 2.1. *S. dulcamara* yaprak



Şekil 2.2. *S. dulcamara* çiçek



Şekil 2.3. *S. dulcamara* olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyve

2.1.4. *S. nigrum* türünün genel özellikleri

S. nigrum halk arasında köpek üzümü olarak bilinen çiçekleri beyaz, meyvesi siyah renkli olan, tek yıllık zehirli bir bitkidir. *S. nigrum*'un çok değişik formları vardır. Tek bitki yaklaşık 500 adet tohum oluşturabilir. Tohumları 40 yıl sonra çimlenebilir (Uygur ve ark. 1986). Bitkinin yaprak ve meyvelerinde solanin alkaloidi bulunur. İyi bir yatıştırıcı uyuşturucu etkisi vardır (Tanker 2007). Ağrı kesici olarak, astıma, epilepsi ve romatizmaya karşı kullanılır. Birçok preparatların terkibine girer.

S. nigrum, 10-50 cm yüksekliğinde, bir senelik otlardır. Gövde dallanmış, gövde ve dallar köşelice, köşeler 2-4 bariz yol halindedir. Gövde ve dalların üzeri az çok tüylü, tüyler örtü tüyü ile sapı çok hücreli ve başı tek hücreli salgı tüyleri şeklindedir. Yapraklar alternan dizilişli, saplı, sap boyu laminanın 1/3-1/4 ü kadardır. Lamina tam, geniş ovat veya üç köşemsi, 8 cm ye kadar uzunlukta, tepede sivrice, tabanda kuneat ve sapın kenarlarında devamlı, kenarları az çok tam veya az derin ve geniş körfezli, her iki yüzde seyrekçe tüylüdür. Çiçekler saplı, takriben çiçek boyu kadardır. Çiçekler basit umbellaya benzeyen bir salkım durumunda, durum saplı, 3-7 çiçekli, dala nodusların alt tarafında tek olarak bağlı, durum sapı takriben durum boyundadır. Meyve siyah, parlak, toparlak, takriben 9 mm çapındadır. Meyve sapı kalınlaşmış, aşağı doğru yönelmiş, 1-1,5 cm boyundadır. Tohum esmer renkli, az çok böbrek şeklinde, yassıca, 2 mm boyunda, yüzeyi bal peteği gibi çukurcukludur. Meyve kaliksi şeklinde yayık, yeşil, lopları geri kıvrık, 7-8 mm çapındadır (Baytop 1971).



Şekil 2.4. *S. nigrum* yaprak



Şekil 2.5. *S. nigrum* çiçek



Şekil 2.6. *S. nigrum* olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyve

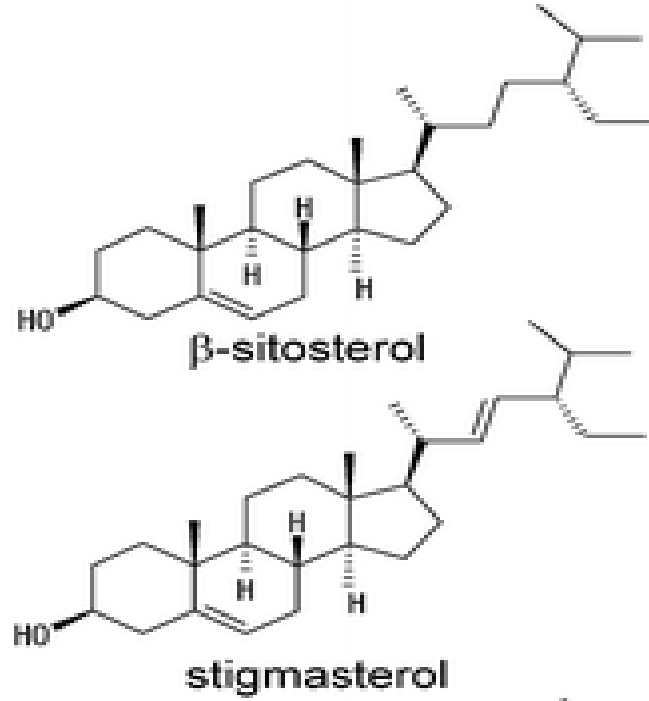
2.1.5. Trakya bölgesindeki *S.dulcamara* ve *S.nigrum* türleri

S.dulcamara, nemli yerlerde, çalılıklarda, dere kenarlarında ve çitlerde görülen bir bitkidir. Trakya,'da ve İstanbul'un heriki yakasında bulunur. Bugüne kadar, Trakya'nın Kuzey, Güneybatı ve Doğu bölgelerinde yetiştiği kaydedilmiştir. Çiçeklenme zamanı Haziran ve Eylül ayları arasındadır (Baytop 1971).

S.nigrum, sebze ve meyve bahçelerinde, pamuk tarlalarında, yol kenarlarında, harabeliklerde sık görülen bir bitkidir. Trakya ve İstanbul'da yaygındır. Haziran ve Kasım ayları arasında çiçek açar (Baytop 1971).

2.2. Solanaceae Familyası ve Solanum Türleri ile Yapılan Çalışmalar

Lucini ve ark. (1994) *Solanum argentinum*'un yağlı tohum içeriği ile yapılan çalışma sonucunda bu bitkide linoleik asit, oleik asit ve palmitik asitin daha yüksek oranda bulunduğunu, hentriakontan, tritriacontan ve pentatriacontan'nın baskın olarak bulunan alkanlar olduğunu tespit etmişlerdir. Sterol kompozisyonuna bakıldığında, β -sitosterol ve stigmasterol yüksek oranda gözlenmiştir (Şekil 2.7.). Yapılan çalışma ile *S. Argentinum*'un değerli bir yağlı tohum bitkisi olabileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 2.7. β -sitosterol ve stigmasterol yapıları

Dhellot ve ark. (2006) *S. nigrum* tohumlarını, üç farklı yöntemle ekstrakte etmişlerdir (Soxhlet, Bligh and Dyer, and Folch). *S. nigrum* tohum yağının yağ asidi kompozisyonunda, linoleik asit içeriğinin % 67.9 ve diğer önemli yağ asitlerinin de % 4,6 stearik, %10,19 palmitik ve %16 oleik asit olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Maestri ve ark. (1994) Arjantin'de yetiştirilen 19 *Solanum* türünün yapraklarındaki, yağ asidi kompozisyonunu gaz-sıvı kromatografisi ile incelemişler ve incelenen türlerin yüksek oranda linolenik, palmitik ve oleik asit içerdiğini bulmuşlardır.

Solanaceae familyasındaki, beş cins üzerinde yapılan çalışmada, bitkilerin çekirdek yağları araştırılmış ve palmitik asit, oleik asit ve linoleik asidin çalışılan tüm türlerde temel bileşenler olduğu gözlenmiştir (Maestri ve ark.1995).

Maestri ve ark. (1995) *Brunfelsia uniflora* (Solanaceae) tohumlarının % 30.5 oranında yağ içerdiğini, yağın IR spektrofotometresi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile

yapılan analiz sonucunda bileşenlerinin; %75.5 linoleik asit, %11.8 oleik asit, %7.25 palmitik asit ve az miktarda da risinoleik asit (% 0.52) içerdiğini saptamışlardır.

Cyphomandra (Solanaceae) türlerinin tohumları n-hegzan ile ekstrakte edilerek, yağın bazı fiziksel özellikleri analiz edilmiştir. Yağ asidi kompozisyonlarına bakıldığında, linoleik asit olduğu, sterol, sitosterol'ün ana bileşen olduğu tespit edilmiştir (Zygadlo ve ark. 1994).

Maestri ve ark. (1992) *Nicotianae* ve *Salpiglossis* (Solanaceae) ailesinden 11 çeşit yaprakta, 30 alkan ve 14 yağ asidi dağılımını gaz-sıvı kromatografisi ile incelemişler, hentriakontane ve palmitik asidin çalışılan türlerin çoğunda önemli bileşenler olduğunu görmüşlerdir.

Solanum fastigiatum yapraklarının sulu ekstresinin, antioksidan ve karaciğeri koruyucu aktivitesinin tayini amacıyla yapılan bu çalışmada; *S. fastigiatum*'un karaciğer hastalıklarının tedavisi için iyileştirici olarak kullanılabilmesi ve potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğu ortaya çıkarılmıştır (Sabir ve ark. 2008).

S. nigrum meyvelerinin etanol ekstresinin, antioksidan aktivitesi ve antihiperlipidemik aktivitesi, fareler üzerinde araştırılmıştır. Bulunan sonuçlara göre, *S. nigrum* meyvesinin önemli bir antioksidan ve antihiperlipidemik aktivitesi olduğu saptanmıştır (Arulmozhi ve ark. 2010).

Jimoh ve ark. (2010) *S. nigrum* ve *Leonotis leonorus* bitki yapraklarının aseton, metanol ve su ekstratlarını, beslenme değerleriyle biyolojik aktivitelerini kıyaslayıcı bir çalışma yapmışlardır. Yapraklarda kayda değer miktarda besinsel değerlerin (protein, yağ) bulunduğunu ve polifenolik bileşikler bakımından zengin olup, iyi bir antioksidan kaynağı olarak düşünülmesi gerektiğini ortaya koymuşlardır.

Solanum torvum swartz bitkisinin meyvesindeki, fenolik bileşikler, antidiyabetik ve antioksidan aktiviteler incelendiğinde, meyvenin doğal bir antidiyabetik ve antioksidan ilaç olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir (Gandhi ve ark. 2011).

Kumar ve ark. (2009) *S. dulcamara* bitkisinin çeşitli kısımlarının antibakteriyel aktiviteleri incelemişlerdir. Çalışma için *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, gibi bakteriler seçilmiştir. En yüksek aktivite *E. aerogenes* bakterisine karşı gözlenmiştir.

Türker ve ark. (2008) bazı Türkiye’de yetişen bazı bitki ekstralarının antibakteriyel aktivite ve toksisite taramasını yapmışlardır. Antibakteriyel aktivite *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* olmak üzere altı bakteri ile denenmiştir. *S. dulcamara*’nın üst kısımları, *S. pyogenes*, *S. aureus* ve *S. Epidermidis*’e karşı en iyi inhibitör aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Mimica-Dukic ve ark. (2005) *S. dulcamara* ve *S. nigrum* bitkilerinin kurutulmuş yaprak ekstralarında, toplam flavonoid ve toplam alkaloid içeriğini araştırmışlardır. Bunun yanında, bu bitkilerin yapraklarında yapılan antioksidan aktivite sonuçlarına göre, her iki bitkininde doğal bir antioksidan bitki türü olarak gösterilebileceğini açıklamışlardır.

Abas ve ark. (2006) Malaysian Malays' daki *Pithecellobium confertum*, *Solanum torvum*, *S. nigrum*, *Pandanus amaryllifolius* gibi 12 tane bitkide antioksidan aktiviteyi araştırmışlardır. Sonuç olarak, *P. confertum*, *S. torvum* ve *P. amaryllifolius* bitkisinin antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Tunón H. ve ark. (1995) İsveç’te yetişen halk arasında antiinflamatuar amaçla kullanılan bazı bitkilerin (*Geum rivale*, *G. urbanum*, *S. dulcamara*, *Symphytum uplandicum*, *Vaccinium vitis-idaea*) prostoglandin sentezindeki inhibitör aktivitesini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda bulunan prostoglandin inhibitör aktivite; *Geum rivale* bitkisinin 14 ± 2 , *G. urbanum* köklerinin 58 ± 3 , *S. dulcamara* bitkisinin 12 ± 0 , *Symphytum uplandicum* bitkisinin -12 ± 5 ve köklerinin -30 ± 4 , *Vaccinium vitis-idaea* yapraklarının 45 ± 1 ve meyvelerinin 20 ± 0 olarak bulunmuştur.

Al-Fatimi ve ark. (2007) tarafından 30 adet tedavi edici özelliği olan bitkinin metanol, diklorometan ve sulu ekstrelerinde antimikrobiyal, antibakteriyal ve sitotoksik aktivite araştırılmıştır. Bunlardan, *Solanum incanum* meyvesinin antifungal aktivitesi gözlenirken, *S. nigrum* meyvelerinin metanol ekstralarının DPPH deneyinde etkili serbest radikal tutucu aktiviteleri ortaya çıkarılmıştır.

Nguelefacka ve ark. (2008) mide rahatsızlıklarında kullanılan *Solanum torvum'un* (Solanaceae) yapraklarından elde edilen sulu ve metanollü ekstraların anti-ülser potansiyelini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada metanol ekstresinin ülser oluşumunu engellediğini ortaya çıkarmışlardır. Flavonoidler ve triterpenler içeren fraksiyonunun en aktif bir inhibitör yüzdesi (%84.74) sergilediğini belirtmişlerdir.

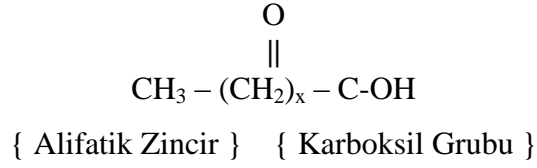
S. dulcamara (yaban yasemini) bitki ekstralarında, antibakteriyal ve antitümör aktiviteleri araştırılmıştır. Deneylerde kullanılan dört ekstre antitümör aktivite göstermiş ve kontrol (su) ile karşılaştırılarak elde edilen tümör inhibisyon yüzdesi % 40'dan fazla bulunmuştur. Metanol ekstresi, su ekstresine göre daha yüksek antitümör aktivite göstermiştir (Cansever 2006).

2.3.Genel Bilgiler

2.3.1.Yağ asitleri

İnsanoğlunun beslenme alışkanlıkları zamanla köklü değişikliklere uğramıştır. Yapılan araştırmalar, insanların beslenme alışkanlıkları ile karşılaştıkları hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle günümüzde, özellikle gelişmiş ülkelerde, sağlıklı yaşam sürmek isteyen insanlar beslenmelerine özen göstermektedir. Karbonhidrat, protein ve yağlar yaşayan organizmanın varlığını sürdürebilmesi için en önemli yapı taşı ve enerji kaynaklarıdır. Yağlar, insan ve hayvan diyetlerinde önemli yer tutan temel bileşendir; birim ağırlıkta en yüksek enerjiyi verir ve enerji depolamak için çok uygundur. Genel olarak suda çözünmeyen ancak eter, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünebilir değişik yapıdaki bileşikler yağ (veya lipit) adı altında toplanmaktadır (Özdemir ve Denkbaş 2003). Katı ve sıvı yağlar, gliserol ve yağ asitlerinden oluşan trigliseritlerin hakim olduğu bileşikler grubudur. Yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini içerdikleri yağ asitlerinin kompozisyonu belirlemektedir. Bu özelliklerine göre,

yemeklik sıvı yağ, sabun, parfümeri ve diğer endüstri kollarında kullanılmasını sağlamaktadır. Yağı meydana getiren öğelerden gliserol, bütün yağ bitkilerinde aynı, buna karşılık yağı oluşturan diğer unsur olan yağ asitleri her bir yağ bitkisinde değişik bir kompozisyonda bulunmaktadır (Baydar 2000). İçerdikleri yağ asitleri kompozisyonu yağın kullanım alanlarını belirlemektedir. Yağ asidi, yapısında karboksil grubu (-COOH) taşıyan düz bir hidrokarbon zinciri olup, yağın en önemli öğesidir (Şekil 2.8). Yağlarda hakim yağ asitleri, çift karbon atomu sayılı ve bir karboksil grubu içeren yağ asitleridir (Nas ve ark. 2001, Kayahan 2003). Yağ asitleri; hidrokarbon zincirinde karbon sayısı, karbon atomları arasında çift bağ bulunup bulunmaması, çift bağ varsa yeri ve sayısı gibi özellikler bakımından birbirinden ayrılırlar (Baydar 2000).



Şekil 2.8. Bir yağ asidinin genel formülü

Bitkisel yağların özellikleri; elde edildiği bitkiye ve içerdikleri yağ asitlerinin oranları ile çeşitlerine göre değiştiği için, tüketim amacına yönelik olarak üretim yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, uzmanlara göre beslenme zinciri içerisinde mutlaka yer alması gereken yağların yağ asitleri kompozisyonunun bilinmesi, daha uygun amaçlar için kullanılmasını sağlayacaktır.

Çizelge 2.1. Bazı Yağ Asitleri (MEGEP 2008)

Adı	Karbon Sayısı	Formülü
Doymuş Yağ Asitleri		
Butirik asit	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Kaproik asit	6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Kaprilik asit	8	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Kaprik asit	10	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Laurik asit	12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Miristik asit	14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitik asit	16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Arakhidik asit	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
Doymamış Yağ Asitleri		
Oleik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (1 çift bağ)
Linoleik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (2 çift bağ)
Linolenik asit	18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (3 çift bağ)
Arakhidoni k asit	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ (4 çift bağ)

2.3.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması

Doğada bulunan yağ asitlerinin farklı yapılarına karşın, belirli gruplar hâlinde incelendiğinde, kendi aralarında homolog seriler oluşturdukları görülür. Ayrıca genel bir kaide olarak, zincir yapısı dallanma göstermeyen, ya da düz zincirli yağ asitleri şeklinde adlandırılan yağ asitleri, yapılarında çift sayıda karbon atomu içerirlerken, zincir yapısı dallanma gösteren izo-yağ asitlerinin içerdiği karbon atomu sayısı, çift ya da tek sayıda olabilmektedir. Ancak yağ asitlerinin zincir yapısındaki farklılıklar, yalnızca düz ya da dallanmış yapıda olmaları ile sınırlı değildir. Bunun yanında substitüe, doymuş, doymamış veya halkalı yapıda olup olmamalarına göre de, bu farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (MEGEP 2008).

Düz zincirli (n-) yağ asitleri

1. Doymuş yağ asitleri

1.1. Monokarbonik yağ asitleri

1.2. Dikarbonik yağ asitleri

2. Doymamış yağ asitleri

2.1. Çift bağlı yağ asitleri (alken yapısında olanlar)

2.1.1. Monoen yağ asitleri

2.1.2. Polien yağ asitleri

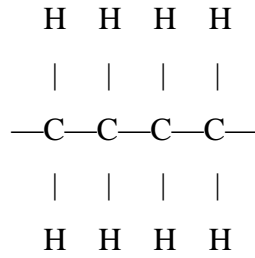
2.2. İzolen yağ asitleri

2.3. Konjuge yağ asitleri

2.4. Üç bağlı doymamış yağ asitleri (alkin yapısında olanlar)

2.3.2.1. Doymuş yağ asitleri

Bütün yağların doğal yapılarında, çift sayıda karbon atomlarından oluşan doymuş yağ asitlerinin yer aldığı bilinmektedir. Genel formülleri, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ ya da çok daha genel bir yaklaşımla, R-COOH şeklindedir. Karbon-karbon atomları arasında tek bir kovalent bağdan (-C-C-) oluşan (Nas ve ark. 2001) ve oda sıcaklığında genelde katı olan yağ asitleri (Anon 2004) **doymuş yağ asitleri** olarak adlandırılır. Bu yağ asitlerince zengin olan yağlara da **doymuş yağlar** denir (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. Doymuş yağ asidi zincirinde C atomları

Doğadaki yağların yapısında gliserit formunda olmak üzere en küçük üye olarak, bütirik aside [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{-COOH}$] rastlanmıştır. Bu grubun doğadaki yağlarda rastlanan en uzun zincirli

üyesi lignoserik (tetrakosanoik) asittir. Doğada bulunan daha uzun zincirli doymuş asitler, mumların yapısında serbest veya ester formunda bulduklarından, mum asitleri olarak adlandırılırlar (MEGEP 2008).

Laurik asit (C12:0), Miristik asit (C14:0), Palmitik asit (C16:0), Stearik asit (C18:0), Arasidik asit (C20:0) ve Behenik asit (C22:0) bitkisel yağlarda bulunan en önemli doymuş yağ asitleridir. Özellikle palmitik ve stearik asit bitkisel yağlarda bulunan en yaygın doymuş yağ asitleridir. Doymuş yağ asitleri insan vücudunda sentez edilirler; hiç yağ yenilmese bile bu tip yağ asitleri karbonhidrat metabolizması ile oluşan moleküllerden sentez edilebilir (Kümeli 2006).

Doymuş yağ asitleri yukarıda da değinildiği gibi, büyük bir çoğunlukla çift sayıda karbon atomundan oluşmalarına karşın, margarin asidi (C₁₇H₃₃COOH) gibi, yapılarında tek sayıda karbon atomu içeren yağ asitlerine de rastlanabilmektedir. Aynı şekilde insan saçından izole edilen yağda, 7, 9, 11 ve 13 adet karbon atomundan oluşmuş doymuş yağ asitlerinin varlığına da rastlanmıştır (MEGEP 2008).

Çizelge 2.2. Doğada bulunan başlıca doymuş yağ asitleri ve bazı özellikleri(MEGEP 2008)

Kapalı Formül	Sistematik adı	Yaygın adı	Mol. ağı. (g)	Donma nok. (°C)	Ergime nok. (°C)	Kay. nok. (°C)	Asit sayısı	Doğada bulunduğu yerler
C_3H_7OOH	Bütanoik Asit	Bütirik Asit	88.10	-8.0	-5.6	163.5/760	636.8	Süt yağında %2.5-4.5
$C_5H_{11}C_3OH$	Heksanoik Asit	Kapronik Asit	116.16	-3.4	-1.5	205.8/760	483.0	Süt yağında %1-2
$C_7H_{15}COOH$	Oktanoik Asit	Kaprilik Asit	144.21	16.0	16.0	239.7/760	389.0	Koko yağında %6-8
$C_9H_{15}COOH$	Dekanoik Asit	Kaprinik Asit	172.26	31.3	31.3	270.0/760	325.7	Süt ve palm çekirdeği yağında
$C_{11}H_{23}COOH$	Dodekanik Asit	Laurik Asit	200.31	43.5	43.6	130.5/1 mm	280.1	Süt ve Palm yağında
$C_{13}H_{27}COOH$	Tetradekanoik Asit	Miristik Asit	228.36	54.4	54.8	149.2/1 mm	245.7	Pek çok bitkisel ve hay. yağlarda
$C_{15}H_{26}COOH$	Heksadekanoik Asit	Palmitik Asit	256.42	62.9	62.6	167.4/Imm	218.8	Bütün yağlarda
$C_{17}H_{33}COOH$	Oktadekanoik Asit	Stearik Asit	284.47	69.6	69.6	183.6/1 mm	197.2	Hayvan vücut yağı, süt yağı ve tropikal bitki. tohum yağında
$C_{19}H_{39}COOH$	Eikosanoik Asit	Araşidik Asit	312.52	75.4	75.3	205.0/1 mm	179.5	Yerfıstığı yağında %3, diğer yağlarda eser miktarda
$C_{21}H_{43}COOH$	Dokosanoik Asit	Behenik Asit	340.57	79.9	79.9	306.0/60 mm	164.7	Kolza ve yer fıstığı yağlarında %1'den az
$C_{23}H_{47}COOH$	Tetrakosanoik Asit	Lignoserik Asit	368.62	84.2	84.1	--	152.2	Yerfıstığı ve kolza yağlarında %3'den az

Doymuş yağ asitlerinin, moleküldeki karbon atomu sayısının artışına paralel olarak, gerek erime, gerekse kaynama noktaları yükselirken, buhar basınçları ters yönde değişerek düşmektedir. Bu nedenle serinin ilk üyeleri normal basınç altında gösterdikleri kaynama noktasına bağlı olarak destile edilebilirken, 12 karbon atomu içeren laurik asit dahil olmak üzere serinin daha yüksek moleküllü üyeleri, ancak vakum altında ve su buharı destilasyonu yoluyla destile edilebilmektedir. Aksi koşullarda yüksek moleküllü üyelerin, kaynama için çok yüksek

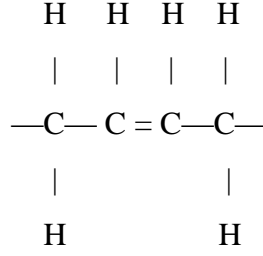
sıcaklığa gereksinim duymaları nedeniyle, kaynama sıcaklığına ulaşmadan parçalanmaları söz konusudur (MEGEP 2008).

2.3.2.2. Doymamış yağ asitleri

Karbon zinciri üzerinde çeşitli konumlarda, karbon- karbon arasında bir veya daha fazla kovalent çift bağ içeren yağ asitleri **doymamış yağ asitleri** olarak isimlendirilir (Şekil 2.10.). Bu yağ asitlerince zengin olan yağlara da **doymamış yağlar** denir (Nas ve ark. 2001).

Doğal yağlarda bulunan doymamış yağ asitleri, zincir yapısında bir veya birkaç çift bağ, ya da üçlü doymamış bağın yer alması ile karakterize edilir. Yüksek molekül yapısında ve kuvvetli doymamışlık gösteren yağ asitleri üzerinde yapılan çalışmalar, izomerizasyon ve polimerizasyon tepkimelerine çok yatkın olduklarını ortaya koymuştur. Yapılarındaki çift bağlar nedeniyle, doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine göre daha reaktiftir. Bu reaktivite yağ asidi zincirindeki çift bağ sayısına göre artmaktadır (Nas ve ark. 2001). Doymamış yağlar vücudun gereksinim duyduğu zorunlu yağ asitlerindedir. Oda sıcaklığında sıvı haldedirler ve büyük çoğunluğu bitkisel kaynaklıdır (Kümeli 2006).

Doğada rastlanan tüm doymamış yağ asitleri de, zincir yapıları dallanma göstermediği takdirde, çift sayıda karbon atomu içerir ve aynı sayıda karbon atomundan oluşan doymuş yağ asitlerine kıyasla bilinen çözenlerde daha kolaylıkla çözünür. Diğer yandan kimi konjuge yapıdaki yağ asitleri ile trans formdaki yağ asitleri dışındaki doymamış yağ asitlerinin erime ve donma noktaları, aynı zincir uzunluğundaki doymuş yağ asitlerine kıyasla daha düşüktür. Buna karşın kaynama noktaları ile buhar basınçları, aynı zincir uzunluğundaki doymuş yağ asitleri ile kıyaslandığında, önemli bir farklılık söz konusu değildir. Bu arada doymamış yağ asitlerinin yoğunlukları ile kırılma indisleri, aynı zincir uzunluğundaki doymuş yağ asitlerine kıyasla daha yüksektir (MEGEP 2008).



Şekil 2.10. Doymamış yağ asidi zincirinde C atomları

2.3.2.2.1. Çift bağ içeren (alken) yağ asitleri

Doymamış yağ asitleri içerisinde doğada çok yaygın olarak bulunurlar. Alken yağ asitlerinin doğada bugüne değin rastlanan en küçük molekülülleri on karbonlu, en uzun zincirlisi ise, otuz karbonludur. Doğada bulunan doymamış yağ asitleri içinde, izolen yapıda olanlarda en çok altı adet çift bağ bulunurken, konjuge yapıda olanlarda bu sayı ancak dörde yükselmektedir (MEGEP 2008).

2.3.2.2.1.1. Monoen yağ asitleri

Bu grup yağ asitlerinin genel formülü $C_nH_{(2n-2)}O_2$ olup, zincir uzunluğuna, çift bağın zincirdeki yerine ve gösterdiği yerel ya da geometrik izomeriye bağlı olarak, farklı yapıda pek çok monoen yağ asidini formüle etmek mümkündür. Ancak olası monoen yağ asitlerinin tümüne, en azından bugüne değin, doğada rastlamak mümkün olmamıştır. Bu serinin küçük molekülüllü olanları doğal yağların yapısında yer almamaktadır. Buna karşın zincir uzunluğu 10-14 karbon atomu arasında değişen monoen yağ asitlerinin ise, bazı familyalara ait bitkilerin değişik aksamlarından elde edilen yağlarda ve oldukça düşük miktarlarda buldukları saptanmıştır (MEGEP 2008).

Bu serinin tipik ve en yaygın olan iki üyesi, heksadesenoik (palmitoleik) asit ile oktadesenoik (oleik) asittir. Bunlardan palmitoleik asit daha çok deniz hayvanları yağları için karakteristik bir bileşenken, oleik asit bugüne değin bilinen bütün doğal yağların yapısında yer almıştır. Serinin yüksek yapılı olan 22 karbonlu asitlerinden erusik asit dışındaki tüm diğer üyeleri, yine münferit kimi familyalara ait bitkilerin yağlarında düşük miktarlarda bulunmaktadır (MEGEP 2008).

Doğal yağlarda bugüne değin saptanmış olan başlıca monoen yağ asitlerine ait kimi özellikler, Çizelge 2.3. 'te topluca verilmiştir.

Çizelge 2.3. Doğada bulunan monoen yağ asitleri ve bunların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (MEGEP 2008)

Kapalı formülü	Sistematik adı	Yaygın adı	Mol . ağı- sı	Asit sayı sı	İyot sayı sı	Ergi me nok. (°C)	Kay n. nok. (°C)	Bulunduğu Yerler
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4-Desenoik asit	Obtusilik asit	170. 2	330	149	--	150/ 3	Lindera yağı
$\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9-Desenoik asit	Kaprolei k asit	170. 2	330	149	--	148/ 5	Süt yağında
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4- Dodesenoik asit	Linderik asit	198. 3	283	128	1.3	172/ 3	Laureceae toh
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	5- Dodesenoik asit	Laurolei k asit	198. 3	283	128	--		Balina yağı
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Dodesenoik asit		198. 3	283	128	--		Süt yağında
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4- Tetradese- noik asit	Tsuzuik ast	226. 3	248	112	16- 18.5		Lauraceae toh.
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	5- Tetradese- noik asit	Fiseterik asit	226. 3	248	112			Deniz hay. yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Tetradese- noik asit	Miristole ik asit	226. 3	248	112	-4.5- (4)		Depo ve Süt Yağı

Çizelge 2.3. Doğada bulunan monoen yağ asitleri ve bunların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (MEGEP 2008)

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Heksadesen oik asit	Palmito- eik asit	254. 4	221	100	0-5		Tüm yağlarda
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Oktadesenoi k asit	Oleik asit	282. 5	199	90	13- 16	$\frac{235}{5}$	Tüm yağlarda
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	11- Oktadesenoi k asit	Vakseni k a (t)	282. 5	199	90	39		Sığır iç yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	6- Oktadesenoi k asit	Petroseli k asit	282. 5	199	90	32-33		Umbellifera T.
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Eikosenoik asit	Gadoleik asit	310. 5	181	82	23- 23.5		Deniz hy. Yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	11- Eikosenoik asit	---	310. 5	181	82	20		Yoyoba yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	11- Dokosenoi k asit	Setoleik asit	338. 6	166	75			Deniz hy. Yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	13- Dokosenoi k asit	Erusik asit	338. 6	166	75	33.5	$\frac{254}{2}$	Krusifera T.yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	15- Tetrakoseni k asit	Selaholei k as.	366. 6	153	69	39		Balık yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	9- Heksakoseni k asit	---	394. 7	142	64	-		Yosun yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$	17- Hexacoseno ik asit	Ximenik asit	394. 7	142	64			Ximenin Th.Yağı
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{19}\text{COOH}$	21- Triacotenoi c asit	Lumekui k asit	450. 8	124	56			Ximenin Th. Yağı

2.3.2.2.1.2. Polien yağ asitleri

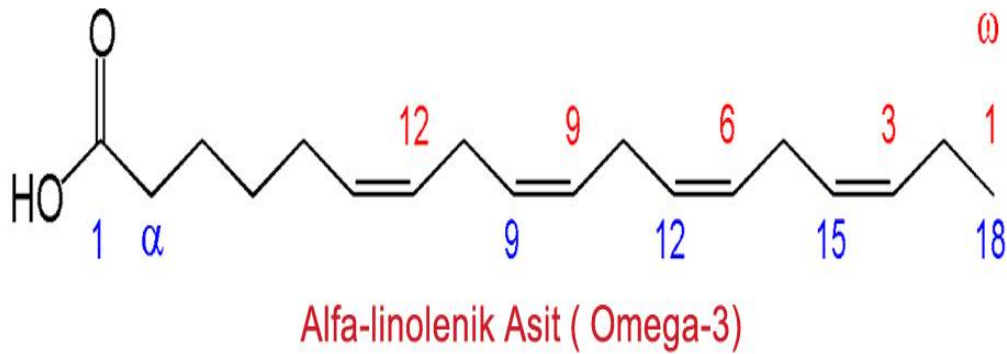
Yapısında iki veya daha fazla sayıda çift bağ içeren düz zincirli yağ asitleri de, doğada oldukça yüksek sayı ve miktarda bulunmaktadır. Sadece bitkiler veya kara hayvanları söz konusu olduğunda, bu asitlerin büyük bir çoğunluğu, 18 karbon atomundan oluşan seriye aittir. Buna karşın soğukkanlı hayvanların yağlarında ise, daha uzun zincirli polienik yağ asitleri yer almaktadır (MEGEP 2008).

Bir yağdaki polienik yağ asitlerinin çeşit ve miktarı, o yağın kuruyan veya yarı kuruyan karakterde olmasını belirlediği gibi, diğer bazı özelliklerini de etkilemektedir.

Örneğin, bir polienik yağ asidindeki çift bağların zincir üzerinde münavebeli olarak sıralanıp sıralanmaması, onun konjuge ya da isolen yapı kazanmasına neden olurken, bu çift bağların zincirdeki sayısı ve yeri, o asidin biyolojik aktivitesini (esas yağasidi) ve düzeyini belirlemektedir (MEGEP 2008).

Diyetle omega 3 yağ asitlerinin alınmasının kalbi korumada etkili olduğu, günde 0,5-2,0 g omega 3 yağ asidi alınmasının kardiyovasküler hastalık (KVH) ölümlerini azalttığı, daha yüksek dozun ek yarar sağlamadığı ileri sürülmektedir (Konukoğlu,2008).

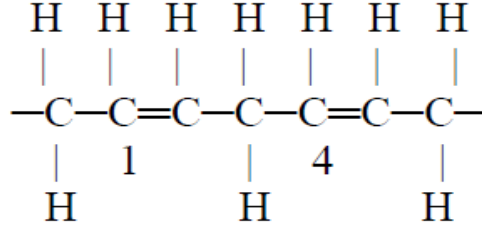
Omega 3 yağ asitlerinin zincir uzunluğunun ve çift bağ sayısının etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, çift bağ sayısının artışının bu yağ asitlerinin kalp hastalıklarını önleyici özelliklerini arttırdığı ancak zincir uzunluğu artışının ek etki yapmadığı gözlenmiştir (Konukoğlu 2008).



Şekil 2.11. Omega 3 yapısı

2.3.2.2.2. İsolen yağ asitleri

Yapısındaki doymamış bağların tek ve çift bağ şeklinde birbirini izleyen bir sıralanma göstermediği bütün polienik yağ asitlerine, isolen yağ asitleri denir. Bu yağ asitleri, iki doymamış bağ arasında bir (-CH-) gurubunun yer aldığı konjuge yağ asitlerine kıyasla, fiziksel ve kimyasal yönden farklı özellik gösterirler.



Şekil 2.12. Konjuge olmayan (izolen) yağ asiti zinciri

İsolen yağ asitlerinin özellikle beslenme açısından önem taşıyan grubunu, memeliler tarafından sentezlenemedikleri için, esas yağ asitleri olarak adlandırılan ve yüksek biyolojik aktivite gösteren yağ asitleri oluşturur. Bu asitlerin ortak özellikleri yapılarında 18 veya 20 adet karbon atomu içermeleri ve karbon atomları metil grubundan başlayarak numaralandırıldığında, zincirdeki çift bağların yerinin dokuzuncu karbon atomundan öteye gitmesidir. Ayrıca tümü cis-formda olan bu asitler, taşıdıkları biyolojik aktivite, (ω) harfi ile sembolize edildiğinden, omega yağ asitleri olarak da adlandırılırlar (MEGEP 2008).

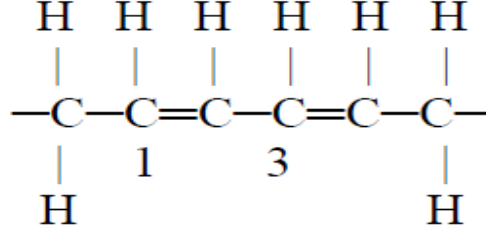
Bunlardan aynı zamanda esas yağ asidi, olan linoeik asidin bulunduğu yerler, çoğunlukla bitkisel alemle sınırlı kalırken, daha fazla doymamışlık ve zincir uzunluğu gösteren isolen yağ asitleri, su ürünlerinin lipitlerinde yer almaktadır (MEGEP 2008).

2.3.2.2.3. Konjuge yağ asitleri

İsolen yağ asitlerine kıyasla, konjuge yağ asitlerinin değişik bitkisel ve hayvansal lipitlerin yapı taşı oldukları ve çift bağlarına ait özellikleri oldukça geç açıklığa kavuşturulabilmiştir.

Konjuge yağ asitleri, benzer kapalı formül ile gösterilebilen isolen yağ asitlerine kıyasla, fiziksel ve kimyasal yönden oldukça farklı özellik gösterirler. Her şeyden önce bu yağ asitleri,

çift bağların konjuge yapıda olmaları nedeniyle, isolen yağ asitlerine kıyasla kimyasal tepkimelere daha kolaylıkla girerler (MEGEP 2008).



Şekil 2.13. Konjuge yağ asidi zinciri

Özellikle sahip oldukları dien-konjugasyon yapının değişik kimyasal tepkimelere çok meyilli olması, bu tip asitlerin sanayide çok yönlü işlenmelerini mümkün kılmaktadır. Bu asitlerin konjugasyona bağlı olarak kromofor yapı içermeleri, belirli dalga boylarındaki ışığı soğurmalarını ve yapısında yer aldıkları bileşiklerde saptanabilmelerini sağlamaktadır. Bu yağ asitlerini yüksek oranda içeren yağlar, konjuge yapı özelliğinin doğal bir sonucu olarak hava oksijeni ile kuruma tepkimesi verirler ve ağırlık kaybına uğramaksızın dayanıklı film oluştururlar. Bu özellikleri nedeniyle de, bu tip yağlar lak ve yağlı boya sanayi için önemli ve aranan ham maddelerdir. Yine bu tip yağlar yüksek sıcaklık derecelerinde ısıtıldıklarında, bir yandan serbest yağ asitlerini, diğer yandan bunların polimerizasyon ürünlerini oluşturduğundan, giderek jelimsi bir yapıya dönüşürler (MEGEP 2008).

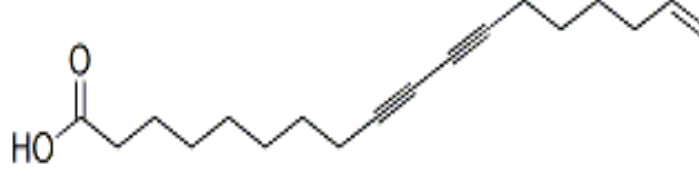
2.3.2.2.4. Alkin yağ asitleri

Günümüze değin alkin yağ asitleri serisinden oldukça fazla miktarda alkin örnek saptanmışsa da, bunlar içinde taririnek asit, isanik asit ve ximenik asit, yapıları en iyi açıklığa kavuşturulmuş olanlarıdır (MEGEP 2008).

Bunlardan taririnek asitin sistematik adı, 6-oktatesinoik asit olup, orta Amerika'da doğal olarak yetişen picramnia çeşitlerinin tohum yağlarında %90'a kadar yer almaktadır. Günümüzde sentetik yolla ve doğal taririnek asitle aynı özellikte olmak üzere elde edilebilmektedir.

İsanik asit, yüksek derecede doymamışlığına karşın, normal koşullarda katı formdadır. Hidrojene edildiğinde 10 hidrojen atomu alarak stearik aside dönüşen ve yapısında bir adet çift

bağ ve iki adet üçlü bağ içeren bir yağ asididir. Bu yapısına rağmen kuruma tepkimesi vermeyen isanik asit, ısıtıldığında ekzoterm tepkime sonucu polimerize olarak, lastiksi bir kitleye dönüşmekte ve bu kitle ısıtılmaya devam edildiğinde 250°C sıcaklıkta patlamalarla değişimini sürdürmektedir (MEGEP 2008).



Şekil 2.14. İsanik asit yapısı

2.3.3.Yağ asitlerinin fizikokimyasal özellikleri

Yağ asitleri uzun veya kısa zincirli olabilirler. Zincir içerisindeki karbon atomlarının numaralanması cebirsel sayılara veya Yunan alfabesine göre yapılır. Sayılarla açıklanmasında karboksil grubundaki karbon atomundan başlamak üzere, 1, 2, 3, diye numaralanır. Yunan harfleri ile işaretlenmede ise karboksil grubundaki karbon atomundan sonra gelen karbon atomundan başlamak üzere β, α, γ şeklinde işaretlenir .

Çizelge 2.4. β, α, α' olarak adlandırılan yağ asitleri

MONO-, Dİ- ve TRİGLİSERİDLER		
$\begin{array}{c} \text{H}_2 - \alpha\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \\ \\ \text{H} - \beta\text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{H}_2 - \alpha'\text{C} - \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_2 - \alpha\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \\ \\ \text{H} - \beta\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \\ \\ \text{H}_2 - \alpha'\text{C} - \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_2 - \alpha\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \\ \\ \text{H} - \beta\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \\ \\ \text{H}_2 - \alpha'\text{C} - \text{O} - \text{CO} - \text{R} \end{array}$
Monogliserid (T.85-1)	Digliserid (T.85-2)	Trigliserid (T.85-3)

2.3.3.1. İyot indisi

Yağ asitlerindeki doymamış gruplar, iyot indisi ile belirlenir. İyot indisi yükseldikçe yağın kuruma özelliği artar. Kuruma, yağın oksijen tutma kabiliyetidir.

Teknik özelliklerine göre kuruyan yağlar (iyot indisi 130'un üzerinde olanlar), yarı kuruyan yağlar (iyot indisi 90-130 olanlar), kurumayan yağlar (iyot indisi 90'ın altında olanlar) olmak üzere üç gruba ayrılırlar. İyot indisi doymamışlık özelliğinin bir belirtisidir.

Yağ asitlerinin veya yağların kuruma özellikleri kuruma indisi ile de belirlenir.

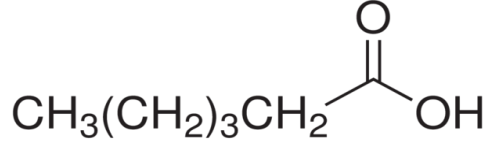
Kuruma indisi = (% linoleik asit + 2 x % linolenik asit)

Kuruma indisi 70'ten yüksek ise yağlar kurur.

2.3.3.2. Yağ asitlerinin çözünürlükleri

Yağ asitleri daha önce de belirtildiği gibi organik solventlerde kolaylıkla çözünürler.

Kısa zincirli yağ asitleri suda çözünürler. Kaproik asit ve daha uzun zincirli olanlar ise suda çözünmezler. Bunlar ancak yağ eritkenlerinde çözünürler. Uzun zincirli yağ asitlerinin sadece alkali metal tuzları suda çözünebilirler.

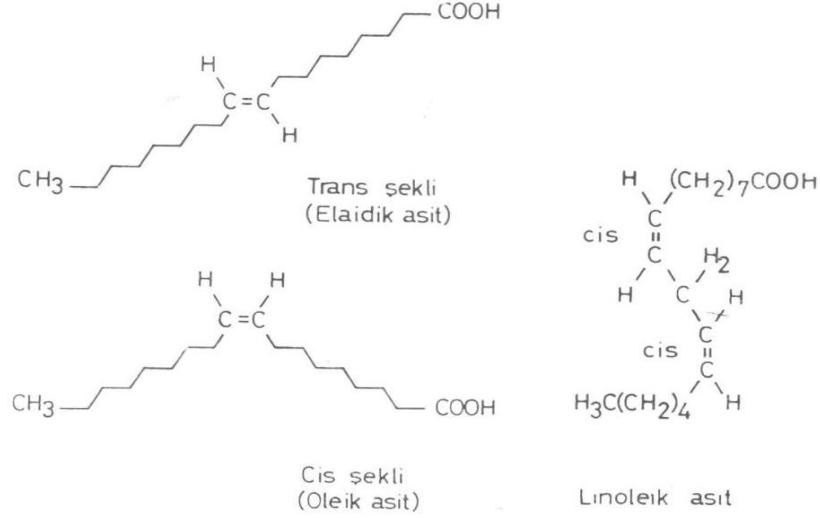


Şekil 2.15. Kaproik asit yapısı

2.3.3.3. Yağ asitlerinin optik aktivitesi

Çifte bağ ihtiva eden yağ asitleri geometrik izomerizm gösterebilirler. Geometrik izomerizm daha çok "cis" şekillerinde görülür. Çifte bağın yerine ve çift bağ eksenini etrafındaki grupların durumuna göre değişik izomerler meydana gelir.

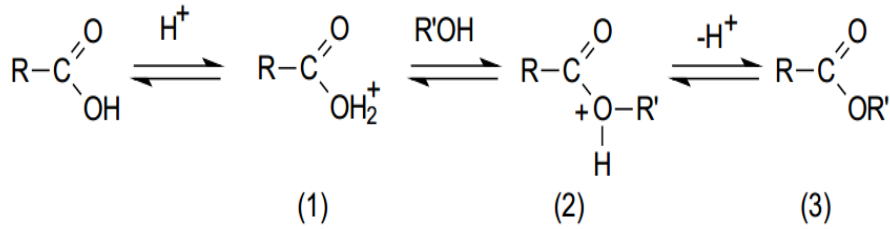
Örneğin oleik asidin cis ve trans şekilleri vardır. Oleik asitin trans şeklindeki izomerine elaidik asit denir.



Şekil 2.16. Oleik asit ve linoleik asit yapıları

2.3.3.4. Yağ asitlerinin esterleşmeleri

Yağ asitleri karboksil gruplarının en önemli reaksiyonlarından birisini alkollerle esterler yapmaları teşkil eder. Reaksiyon sonucunda bir molekül ester ve bir molekül su meydana gelir. Bu reaksiyonun yeterli bir hızda meydana gelebilmesi için ısı ve hidrojen iyonları yardımı ile katalize edilmesi gerekmektedir.



Şekil 2.17. Yağ asitlerinin alkoller ile esterleşmeleri

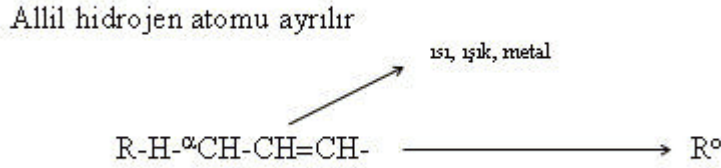
2.3.3.5. Yağ asitlerinin ışık absorpsiyonu

Doğal olarak elde edilen sature (doymuş) ve ansature (doymamış) yağ asitleri vizibil ve ultravioleeye yakın alandaki ışınları absorbe etmezler. Ancak yapılarında birden fazla çifte bağ bulunan yağ asitleri KOH ile ısıtıldıklarında bunların içerisinde konjuge halde çifte bağları bulunan izomerleri meydana gelir. Bu çeşit izomerler 230-260 nm dalga uzunluğundaki ışınları

absorbe etmek yeteneğindedirler. İzomerize edilen yağ asitlerinin bu özelliklerinden yararlanılmak sureti ile spektrofotometrik olarak miktar tayini yapmak olanağı vardır.

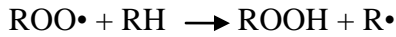
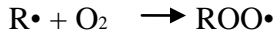
2.3.3.6. Yağların bozulması

Işık, sıcaklık, oksijen ve lüzumlu katalitik madde de dahil olmak üzere uygun şartları buldukları vakit doymamış (Volatil) yağ asitlerini ihtiva eden yağlar otooksidasyona maruz kalırlar. Belki de bu, "Ransidifikasyon" denilen değişiklikler kompleksinde meydana gelen ana faktörü teşkil etmektedir. Ransidifikasyon, ekşime, bozulma demektir. Bozulmuş bir yağın sadece lezzet ve kokusu değişmekle kalmaz. Böyle bir yağ aynı zamanda peroksit tipi grupları da ihtiva eder. Bu gruplar münhal vitaminler üzerine tahrip edici bir etki husule getirirler. Ancak E grubu vitaminleri (Tokoferoller) ve yağda eriyen diğer vitaminler antioksidan olarak tesir ederek yağların oksidasyonuna mani olurlar. Bozulma böyle oksidatif bir şekilde olduğu gibi, yağ asitlerinin hidrolizi yoluyla da olabilir. Doymamış yağ asitlerinin çifte bağlarının oksidasyonu suretiyle asit grupları teşekkül edebilir.

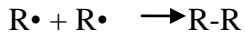
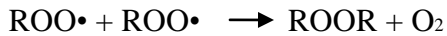


Aktif radikal ortamdaki peroksitle birleşerek peroksit oluşturur.

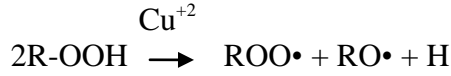
Çoğalma:



Sonlanma:

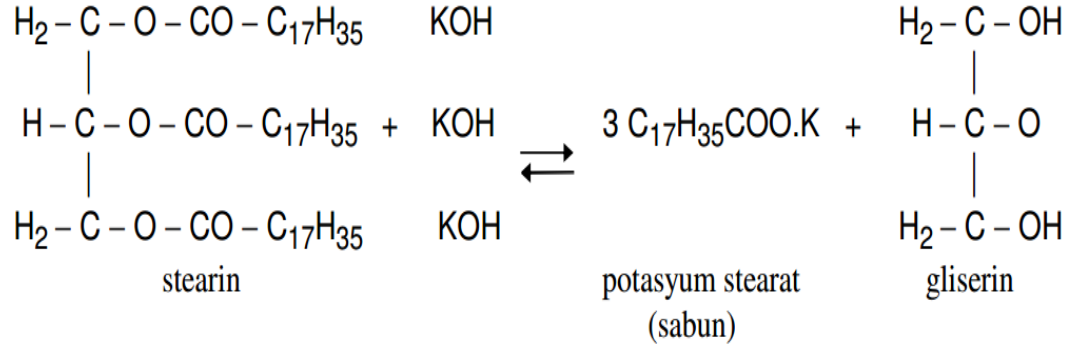


Metallerin etkisiyle gerçekleşen oksidasyon reaksiyonları redoks tepkimeleridir. Bu reaksiyonlarda oluşan ilk bileşik hidroperoksitlerdir. Hidroperoksitler tatsız ve kokusuz olduklarından yağın tadında ve kokusunda bir değişikliğe neden olmazlar ancak parçalandıklarında kokulu karbonilli bileşikler olan aldehit ve ketonlar, melanil aldehitler, alkan ve alken yapısında hidrokarbonlar oluşur. Bu bileşikler çok az miktarlarda bile yağların tat ve kokusunda değişikliğe neden olurlar.



2.3.3.7. Sabunlaşma

Yağlar asit ve alkali ile hidroliz olarak yağ asitleri ve gliserole parçalanırlar. Bu olay bağırsaklarda enzimler aracılığı ile olur. Yağların alkali hidrolizinin endüstriyel bir önemi vardır. Buna saponifikasyon, yani *Sabunlaşma* denir. Yağ asitlerinin metalik tuzları olan sabunların alkalik metallere yaptıkları tuzlarının suda çözünür olmasına rağmen, ağır metal tuzları çözünmezler. Doymamış yağ asitlerinin sabunları doymuşlara kıyasla daha çok çözünürler.

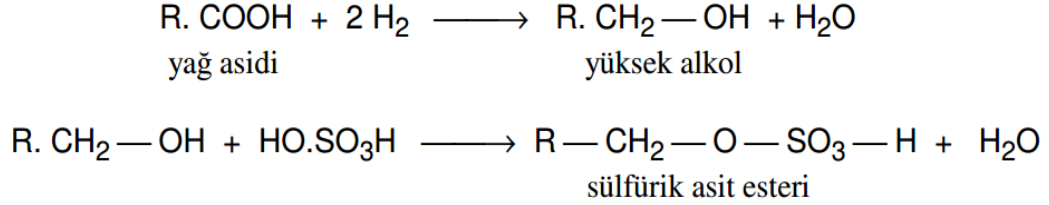


Şekil 2.18. Sabunlaşma

2.3.3.8. Yağ asidi türevlerinin deterjan etkileri

Triaçilgliserollerin incebağırsaklarda hidrolizi ile di ve monoaçilgliseroller meydana gelir. Monoaçilgliseroller zincir yapısının bir ucunda hidrofilik diğer ucunda hidrofobik bir grup ihtiva ederler. Böylece monoaçilgliserollerde olduğu gibi bir ucunda hidrofobik (yağda eriyen bir

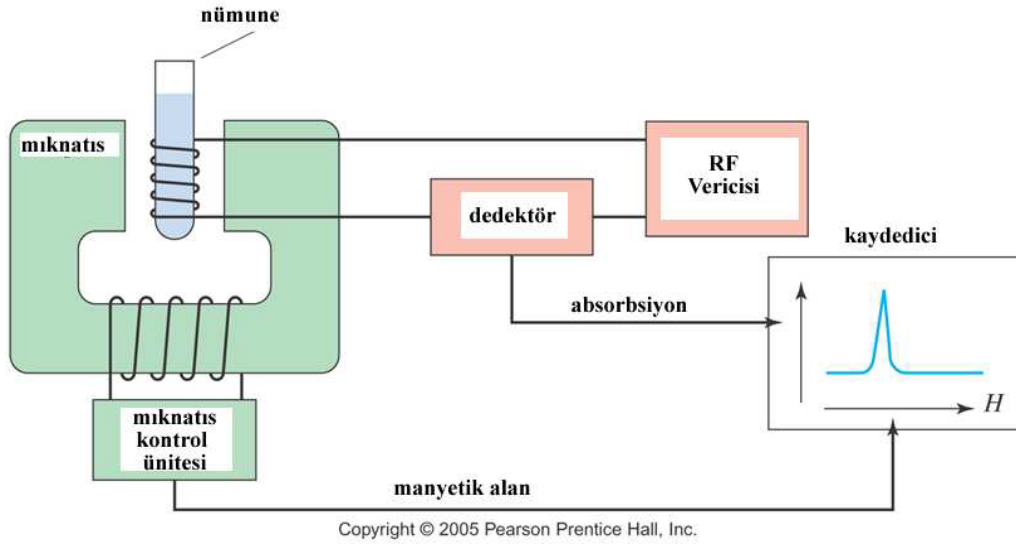
grup) öbür ucunda hidrofilik (suda eriyen bir grup) ihtiva eden kimyasal bileşikler deterjan ve emülsifiyan olarak etki yaparlar. Yağların bu hali bunların sindiriminde önemli bir rol oynayabilir. Bu tip maddeler sentetik olarak yapılan deterjanlar için model olarak kullanılmıştır.



Şekil 2.19. Deterjan oluşumu

2.3.4. Yağ asitlerinin ayırt edilmeleri

2.3.4.1. ¹H NMR spektroskopisi ile yağ asitlerinin tayini



Şekil 2.20. NMR Spektroskopisi

NMR spektrometreleri, günümüzdeki teknolojik gelişmeler sayesinde akademik araştırma, sağlık gibi temel alanların yanısıra bilhassa, petrol, petro-kimya, gıda-içecek, ilaç

eczacılık ve diğer birçok endüstriyel alanda çok farklı uygulamalarda kullanılmaktadır (<http://obs.iszu.edu.tr/dosyalar/DersMateryal/nmr.docx>).

NMR kısaltması Nükleer Manyetik Rezonans kelimelerinden oluşan ve bu spektroskopi tekniğine verilen isimdir. En basit anlatımı ile NMR; analiz edilen numunenin içindeki hidrojen atomunun çekirdeğindeki protonlar bir radyo frekans kaynağından gelen bir belirli frekanstaki bir elektromanyetik bir enerjiye maruz kaldıklarında manyetik sahanın gücüne bağlı olarak bu enerjiyi absorplaması olayıdır. Analiz edilen maddeye ait moleküllerin bu maddenin üzerine radyo frekans formunda gelen manyetik sahadan etkilenmesi; bu moleküllerin içindeki atomların çekirdeklerinin pozisyonlarına göre olmakta ve dolayısı ile gelen enerjiyi absorplama frekansı da bu durumdan etkilenmektedir (<http://obs.iszu.edu.tr/dosyalar/DersMateryal/nmr.docx>).

Frekans farklılaşmasına bağlı olarak ortaya çıkan sinyal maddenin yapısına ait NMR spektrumunu vermektedir. Moleküler yapıdaki ve/veya numunenin bileşimindeki değişimler üzerinden elde edilen spektroskopik sinyal profili olan NMR spektrumu üzerindeki değişiklikler görüntülenmekte ve böylece proses özelliklerinin ayarlanabilmesindeki ilişki sağlanabilmektedir. Analiz edilen maddenin moleküler yapısının bu özgünlükte gözlenebilmesi NMR spektroskopisini proses kontrol üzerinde eşsiz bir teknik haline getirmektedir (<http://obs.iszu.edu.tr/dosyalar/DersMateryal/nmr.docx>). Laboratuvar masa üstü NMR cihazlarının endüstriyel alanlardaki uygulamalarına ait tipik örneklerin bir kısmı aşağıda verilmiştir.

- Çiğ kahvenin içerdiği yağ tainlerinde.
- Balmumlarının ve emülsiyonların içerdiği yağ tainlerinde.
- Yenilebilir yağ ve yağlı maddelerin içerdiği katı yağ tainlerinde.
- Şeker pancarı ve glikoz gibi şekerli maddelerdeki su tainlerinde
- Poliamidlerdeki elastomer ve polietilen tainlerinde.
- Polietilen/polipropilen gibi maddelerin yoğunluk tainlerinde.
- Sentetik elyaf çekiminde elyaf damarları üzerinde toplanan yağ tainlerinde.
- Tütün mamullerinin içerdiği su tainlerinde.
- Et ürünlerindeki ve etlerin içerdiği yağlardaki su tainlerinde.
- Bağlı su ve hidrasyon araştırmalarında.

- Margarin içerisindeki su damlacıklarının boyut dağılımı ve düşük seviyeli yağ yaygınlığı tayinlerinde.
- Süt tozlarındaki yağ, su tayinlerinde.
- Çikolata içerisindeki toplam yağ miktarı tayinlerinde.
- Yağlı tohumlardaki yüzde yağ ve rutubet tayini.
- Peynirlerdeki yağ ve su tayinlerinde.
- Margarinlerde katı yağ miktarı tayini (SFC).

Yağ analizinde, numune genelde eter veya petrol eteri ile ekstrakte edilir ve ekstraktaki kalıntı gravimetrik olarak analizlenir. Bu yöntem özellikle hayvansal yağlarda hatalı sonuçlar verir. Bu nedenle yağ miktarı tayinin yağ asitleri ve gliserin üzerinden yapılması gerekir. Besinlerde yağ tayini için çok basit ve doğru sonuç veren ¹H-NMR spektroskopisi yöntemidir. ¹H-NMR yönteminin esası, sıvılardaki H çekirdeklerinin katılardakine göre daha magnetik rezonans etkisi göstermesine dayanır. Özellikle sıvı yağlardaki hidrojen; karbonhidrat ve proteinlerdekenden daha etkindir. Böylece yağlı tohumlardaki yağ miktarı tayin edilebileceği gibi bir karışımdaki katı ve sıvı yağ oranı da tesbit edilebilir.

2.3.4.2.Kromatografik yöntemler ile yağ asitlerinin tayini

Kromatografi, bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Yöntem karışımın gözenekli bir ortamda, hareketli bir çözücü etkisiyle, karışım bileşenlerinin farklı hareketleri sonucu birbirinden ayrılması olgusuna dayanır. Hareket eden faza hareketli faz, bahsedilen gözenekli ortama ise adsorban veya sabit faz denir. Kromatografi yardımıyla başka metotlarla birbirinden ayrılmaları çok zor ve hatta imkânsız olan maddeleri saf olarak ayırmak mümkündür.

Kromatografi; laboratuarlarda pek çok organik ve anorganik maddenin tayininde (karbonhidrat, lipit, yağ asitleri, aminoasitler, proteinler ve türevleri, vitaminler) doping kontrollerinde, kanda, alkol ve zehirli gazların tespitinde, sentezlenen veya ayrıştırılan maddelerin saflıklarının kontrolünde başarıyla kullanılan bir metottur. Kromatografik çalışmaların ortak amacı; madde karışımlarını analitik veya preparatif amaçla birbirlerinden

ayrılmaktır ve kromatografik metotların bütün farklı modellerinde esas olan; hareketli (mobil) bir fazın, sabit (stasyoner, hareketsiz) yapıda bir faz içerisinde akması veya geçmesidir.

Bütün kromatografik metotlar numune içerisindeki maddelerin sabit ve hareketli fazla etkileşimi sonucu ayrışmaları esasına dayanır. Bu ayrışmanın nedeni, maddelerin hareketli veya sabit faza olan farklı ilgileridir (Ertaş 2008).

Bir kantitatif analiz tekniği olan kromatografide ayırmayı etkileyen parametreler:

Kolon ile ilgili olanlar;

- Kolonun türü
- Kolonun boyutları

Hareketli faz ile ilgili olanlar;

- Hareketli fazın türü
- Hareketli fazın bileşimi
- Hareketli fazın akış hızı

Ölçüm ile ilgili olanlar;

- Detektör türü
- Dalga boyu vb

Örnek ile ilgili olanlar;

- Örneğin derişimi
- Örneğin hacmi

Kromatografi Tipleri

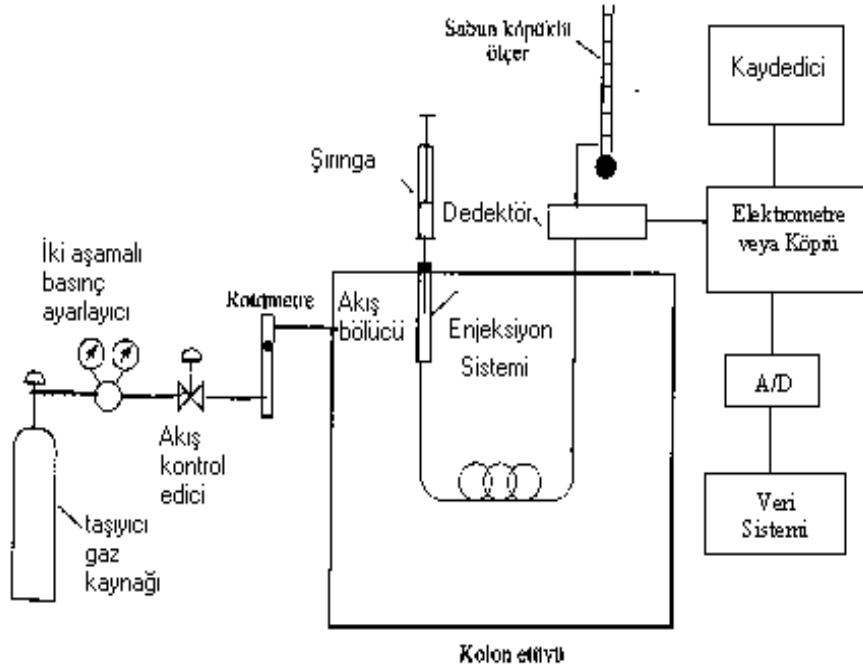
- 1- Kolon Kromatografisi (Column Chromatography)
- 2 - İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography-TLC)
- 3 - Kağıt Kromatografisi (Paper Chromatography)

4 - Gaz Kromatografi (Gas Chromatography-GC) & Kütle Spektrofotometre (Mass Spectrometry-MS)

5 - Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography-HPLC)

2.3.4.2.1. GC yöntemi ile tayini

Gaz kromatografi cihazı birçok ünite içerir. Şekil 2.21 de temel bir cihaz şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.21. Bir gaz kromatografi cihazı

2.3.4.2.1.1. Taşıyıcı gaz

Hareketli faz olarak azot, argon, helyum ve karbon dioksit gibi inert bir gaz veya hidrojen kullanılır. Gaz seçiminde dedektörün türü de göz önüne alınmalıdır. Taşıyıcı gaz su ve diğer safsızlıklardan moleküler elek ve benzeri tutucular kullanılarak arındırılmalıdır. Oksijen safsızlığının giderilmesi de gerek ayırma ve gerekse kolondaki sıvı fazın yükseltgenerek bozulmasını önlemek açısından zorunludur (Ertaş 2008).

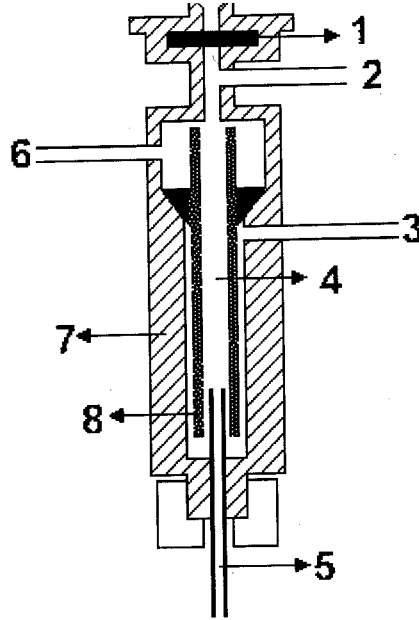
Tekrarlanabilir kromatogramlar elde edebilmek için taşıyıcı gaz hızının gaz silindirlerine bağlı iki basamaklı basınç ayarlayıcıları ile kontrol edilmesi gerekir. Gaz basıncı genellikle kolon girişinde oda basıncının 1-5 atmosfer üzerindedir. Taşıyıcı gaz hızı genellikle dolgu kolonlar

için 20-150 mL/dak ve açık boru tipi kapiler kolonlarda 1-25 mL/dak kadardır. Gaz hızı kolon girişi gaz basıncı ayarlanarak kontrol edilir ve bilyeli rotametreler veya kolon çıkışında bir sabun köpüğü büreti ile ölçülür (Ertaş 2008).

2.3.4.2.1.2. Örnek enjeksiyon sistemi

Kolonda iyi bir ayırma yapabilmek için örnek kolona gaz fazında ve çok kısa sürede verilmelidir. Bu nedenle kolon önüne monte edilmiş enjeksiyon bölümü, örneği hızlı buharlaştırabilmek için örnekteki en az uçucu bileşenin 20-50°C üzerinde tutulur (Ertaş 2008).

Kolon ayırma kapasitesinin farklılığı nedeni ile kapiler ve dolgulu kolonlar için örnek enjeksiyon sistemleri farklıdır. Dolgulu kolonlarda kapasite daha büyük olduğu için sızdırmayan silikon lastik bir septumdan enjekte edilen örneğin tamamı kolona gönderilir. Kapiler kolonlarda ise kapasitenin aşılması için bir bölüştürücü ile enjekte edilen örneğin ancak küçük bir kısmı kolona gönderilir. Tipik bir enjeksiyon ünitesi Şekil 2.22 de görülmektedir. Nicel çalışmalarda örneği daha tekrarlanabilir olarak kolona verebilmek için örnek vanaları da kullanılmaktadır. Vanaların tekrarlanabilirliği %0.5 civarındadır. Buna karşılık şırınga ile enjeksiyonların tekrarlanabilirliği daha kötü olup genellikle %2-5 arasındadır (Ertaş 2008).



Şekil 2.22. Tipik bir bölücülü enjeksiyon sistemi

Enjeksiyon amacı ile otomatik örnek vericiler de kullanılmaktadır. Bu düzenekler istenilen hacimdeki örnekleri otomatik olarak kolona enjekte ederler. Özellikle rutin analizlerde çok yararlıdırlar (Ertaş 2008).

2.3.4.2.1.3.Kromatografik fırın

Bir maddenin kolonda alıkonması kolon sıcaklığına bağlıdır. Bu nedenle kolon içerisinde sıcaklık homojen olarak dağılmalı ve $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ile sabit tutulmalıdır. Fırınlar elektriksel olarak oda sıcaklığı ile 400°C arasında ısıtılabilir. Isıtılmış bir kolonun zamandan kazanabilmek için kısa sürede soğutulabilmesi ve seçilen programa göre hızla ısıtılabilmesi gerekir. Sıcaklık programlayarak yapılan kromatografik ayırmalarda programlama koşullarının 0.2°C veya daha iyi tekrarlanabilir olması gerekir (Ertaş 2008).

2.3.4.2.1.4.Kromatografik Kolonlar

Başlangıçta gaz kromatografik çalışmalar toz şeklindeki inert katı destek üzerine kaplanmış sıvı fazla doldurulan *dolgulu kolonlar*da yapılmaktaydı. Daha sonra, dolgusuz boru şeklindeki *kapiler kolonlar*la da daha başarılı ayırmaların yapılabileceği görüldü. Kapiler kolonlarda sabit faz kapiler boru çeperlerine mikrometre veya daha az kalınlıklarda kaplanmaktadır. Bu tür kolonlar 1950'lerde bulunmuş olmasına rağmen, ancak 1970'li yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu gecikmenin nedeni düşük örnek kapasitesi, kolonun kırılabilirliği ve ayrıca örnek vermedeki, kolon çeperlerinin tekrarlanabilir olarak kaplanmasındaki ve dedektöre bağlanmasındaki teknik zorluklardı (Ertaş 2008).

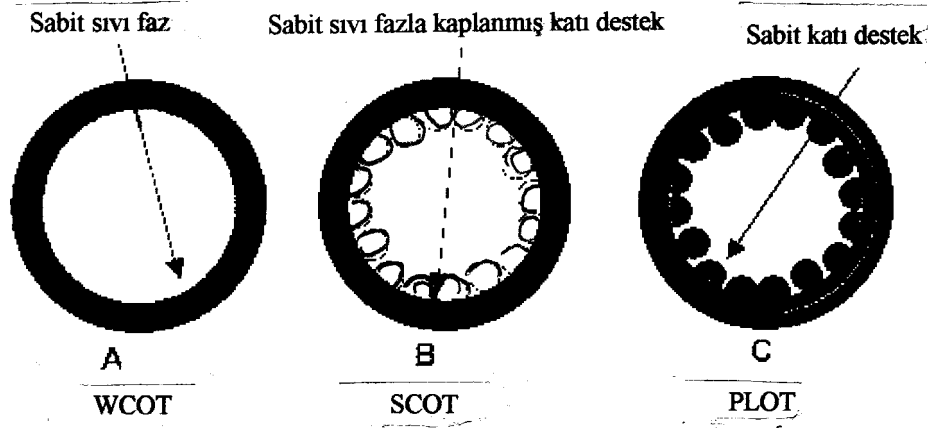
Dolgulu kolonlarla kıyaslandığında açık borusal kolonların

1. Daha büyük ayırma gücü,
2. Daha kısa analiz süresi,
3. Daha büyük seçiciliği gibi avantajları ve daha düşük örnek kapasitesi gibi dezavantajı vardır.

Üç tür açık borusal kapiler kolon vardır.

- Çeper kaplı açık borusal kolonlar (WCOT). Sabit sıvı faz kapiler kolonun iç çeperlerine ince bir tabaka halinde kaplanır (Şekil 2.23.a.).

- Destek kaplı açık borusal kolonlar (SCOT). Sıvı faz kapiler borunun iç çeperlerine tutturulmuş katı destek üzerine kaplanır (Şekil 2.23.b).
- Gözenekli tabaka kaplanmış açık borusal kolonlar (PLOT). Katı sabit faz kolonun iç çeperlerine kaplanır (Şekil 2.23.c).



Şekil 2.23. Açık borusal kapiler kolonlar

Günümüzde açık kapiler borusal kolonların çoğu erimiş silikadan yapılmaktadır ve dayanıklılığı artırmak için 350°C ye kadar dayanan poliimid plastik ile kaplanmaktadır. Bu kolonların boyu 10-100 m ve iç çapları 0.10 – 0.53 mm arasındadır. Çeper kaplamalı kapiler kolonlarda (WCOT) çeperler genellikle 0.1 ile 0.5 µm kalınlığında sabit faz filmi ile kaplanır. Kaplama kalınlığının azalması ile ayırım artar ve alıkonma zamanını azalır, fakat örnek kapasitesi de azalmaktadır. Destek kaplı kolonların (PLOT ve SCOT) yüzey alanı ve bu nedenle kapasiteleri çeper kaplı kolonlara göre daha büyüktür (Ertaş 2008).

Kolonlarda kullanılan sabit fazlar ayrılacak analitlerin yapısına göre seçilirler. Apolar maddeleri ayırmak için apolar kolonlar ve polar maddeleri ayırmak için ise polar kolonlar kullanılır (Ertaş 2008).

Dolgulu kolonlarda ya kolon sabit bir katı fazla (GKK) veya katı destek üzerine kaplanmış sıvı fazla (GSK) doldurulur. Bu kolonların ayırma güçleri kapiler kolonlar kadar iyi değildir, ancak daha az karmaşık örneklerin ayrılmasında ve kapasiteleri daha fazla oldukları için preparatif amaçlarla kullanılmaktadırlar. Bu kolonlar genellikle paslanmaz çelik, nikel veya

camdan yapılmaktadırlar. Boyları 1-6 metre ve iç çapları 2-6mm arasındadır. Katı destekler genellikle diatome toprakları, teflon ve bazı gözenekli polimerlerdir (Ertaş 2008).

2.3.4.2.1.5.Dedektörler

Örnek karışımının bileşenleri kolonda ayrıldıktan sonra kolon çıkışında uygun bir dedektörle belirtilmesi gereklidir (Ertaş 2008). İdeal bir dedektörde şu özellikler aranır:

- Uygun duyarlık
- Kararlılık ve tekrarlanabilirlik
- Solüt derişimine birkaç mertebeye uzanan doğrusal yanıt aralığı
- Oda sıcaklığı ile en az 400°C derece arasında kullanılabilirlik.
- Akış hızından bağımsız kısa yanıt süresi
- Yüksek güvenilirlik ve kullanma kolaylığı
- Tüm solütler için benzer yanıtlar, veya bir veya daha fazla tür solütler için yüksek ve seçimli yanıtlar.
- Örneği bozmaması

Mevcut dedektörlerin hiçbiri bu özelliklerin hepsini taşımamaktadır. Günümüzde çok sayıda dedektör bulunmakla beraber bunlardan en yaygın kullanılan birkaç tanesi açıklanacaktır. Bazı dedektörler birim zamanda dedektöre ulaşan madde miktarına göre yanıt verirler (kütle duyar dedektörler),örneğin: alev iyonlaştırmalı ,alev fotometrik ve elektron yakalama dedektörleri. Diğer tür dedektörler ise taşıyıcı gaz içindeki madde derişimine yanıt verirler (derişim duyar dedektörler),.örneğin: termal iletkenlik dedektörü (Ertaş 2008).

2.4.Antioksidan Aktivite

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

Serbest radikal, bir orbitalde sadece bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal türlerdir. Radikallerin aktiviteleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle radikal olmayan türlerden daha az kararlıdırlar. En basit serbest radikal, bir proton ve bir elektron ihtiva eden hidrojen atomudur. Hemen her radikal türü diğer bir radikali veya molekülü farklı bir mekanizma ile etkileyebilir. Bu tür etkileşimlerin seçiciliği, radikallerin konsantrasyonuna, radikalde bulunan ortaklanmamış elektronların delokalizasyonuna ve radikallerin etkileştiği moleküllerin zayıf bağlar içermesine bağlıdır. Tıpta, biyolojide, toksikolojide ve gıda ile farmasotik sanayinde serbest radikaller gittikçe artan yoğun bir ilgi alanına sahip olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun serbest radikalik reaksiyonları, gıda endüstrisinde imalat prosesleri boyunca karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. İmalatçılar, antioksidanları kullanarak, lipid içeren gıdaların oksidasyonunu yavaşlatmayı hedeflerler. Bunun yanısıra biyomedikalçiler ve klinisyenler de organizmayı, reaktif oksijen türleri tarafından oluşan hasara karşı korudukları için antioksidanlara ilgi duymuşlardır (Aruoma 1993, Papas 1993).

Diğer bir deyişle serbest radikal çiftlenmemiş tek elektronlu atomik ya da moleküler yapılara verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere “oksidan moleküller” veya reaktif oksijen partiküller de denilmektedir (Çavdar, Sifil ve Çamsarı, 1997). Bu radikaller hücredeki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücrel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve antioksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Radikaller: lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücrel bileşenlerde hasara yol açabilme özelliğine sahiptir. Oluşan bu hasar kanser, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilidir ve biyolojik yaşlanma süresinde rol almaktadır. Günümüzde hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edilmektedir (Çakatay ve Kayalı 2004). Canlı organizmalar serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidatif korunma sistemine sahiptirler. İnsanoğlu hayatı boyunca yaşamın beraberinde getirdiği stres ve benzeri zorlukları aşmak ve hastalıklardan korunmak için, yaşamak için gerekli olmazsa olmazların yanında, takviye kuvvetler almalıdır. Bu tür koruyucu engelleyici maddelere genellikle son zamanlarda önemi gittikçe artan antioksidan maddeler denir. Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidan maddeler nerdeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidan maddelerin en önemlileri:

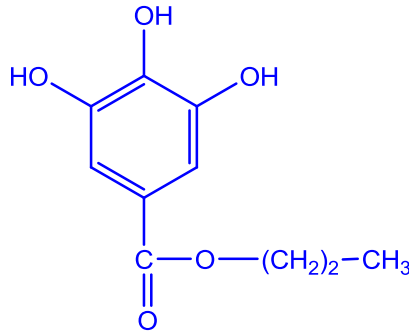
tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asitdir (Yanishlieva 2001, Hudson 1990). Bitkilere renklerini veren de büyük ölçüde bu polifenolik yapılı flavonoidir ve 4000 civarında flavonoid bileşiminin kimyasal yapısı aydınlatılmıştır. Canlı sistemlerinde bulunan bütün fizyolojik prosesler; enzim, hormon ve iz elementleri gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgeme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve doku fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir. Antioksidan maddeler farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenler ve dokularda doğal bir şekilde bulunur. Ayrıca antioksidan maddeler veya antioksidan telafi sistemlerinde bulunan bazı bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir yetersizlik, farklı hastalık türlerini meydana getirir. Hücrelerde çok sayıda savunma mekanizması bulunur. Organizmanın normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendisini koruması için bu mekanizmalar gereklidir. Bu bakımdan biyolojik sistemlerde antioksidatif savunma mekanizmasının araştırılması ile ilgili çalışmalar son derece önem kazanmıştır (Ramarathnam 1988). Son zamanlarda tıp alanında, bir yandan hastalıkların tedavisinde yeni yöntemler araştırılırken, öte yandan da sağlıklı bir hayat sürdürme ve hastalıkları önleme yolunda yoğun çabalar sarf edilmektedir. Bu kapsamda özellikle bu günlerde gerek görsel basında gerekse yazılı basında üzerinde en çok durulan ve konuşulan konulardan biri de doğal antioksidanlardır. Teknolojinin gelişmesi, oluşan çevre kirliliği ve diğer pek çok etken çeşitli toksik maddelere maruz kalmamıza neden olmaktadır. Bu toksik maddelerden dolayı insanlarda oluşan hastalıkların (kalp, kanser, erken yaşlanma vb. gibi) sayısı da her geçen gün artmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek, öncelikle bu hastalıkların oluşumunu tetikleyen etkenlerin başlıca sorumluları olan serbest radikallerin kontrol edilmesiyle gerçekleşebilir. Yaş ilerledikçe insanların savunma mekanizmaları zayıfladığından, vücudun serbest radikal dengesi bozulmaktadır. Çünkü vücudun doğal antioksidanları olan endogenaz enzimlerin üretim miktarı azalmaktadır. Bu yüzden dengenin yeniden sağlanması için antioksidan içerikli doğal besinlerin alınması önem kazanmaktadır. Doğal yollardan aldığımız besinlerde bulunan ve antioksidan özelliğe sahip olan maddeler (doğal antioksidanlar), serbest radikallerin etkilerini azaltarak, kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkları ve erken yaşlanmaya neden olan zincir reaksiyonlarının oluşumunu önlemekte veya geciktirmektedir (Floyd 1990). Son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin ya da bulundukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen olduğu veya negatif sağlık etkilerine neden olduğu pek

çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Namiki 1990, Pokorny 1991). Bunun doğal sonucu olarak da doğal kaynaklı antioksidanlara olan eğilim gittikçe artmaktadır. Ülkemizin bitki florası yönünden önemli bir potansiyele sahip olması ve özellikle de endemik türlerin çokluğu bu talebe paralellik arz etmektedir.

Antioksidanların birçok tanımı yapılmakla beraber en genel tanımı, lipid peroksidasyonunu yavaşlatan veya başlamasını geciktiren kimyasal bileşikler şeklinde-dir.

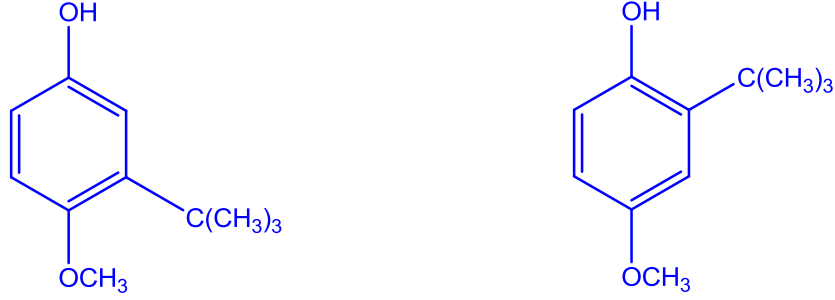
Amerika Bileşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından yapılan tanımlama ise şu şekildedir; oksidasyondan dolayı oluşan acılaşmayı, bozulmayı ve renk bozukluğunu geciktirerek gıdaların korunması amacıyla kullanılmasına izin verilen maddelerdir (Elitok 1996). Günümüze kadar kullanıla gelen antioksidanlar, gıdaların raf ömrünü korumanın yanı sıra serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı vücudun savunma mekanizmasına yardımcı olmaları nedeniyle sağlık açısından da büyük önem arz etmektedir. Sağlık ve gıda alanında son derece önemli olan bu bileşikleri sentetik ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki grup altında toplayabiliriz.

Gıda sanayinde en yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar; PG (propil gallat), BHA (bütil hidroksianisol), BHT (bütil hidroksitoluen) ve TBHQ (tersiyer bütilhidrokinon) dır (Elitok 1996).



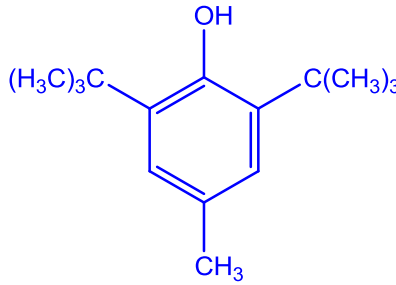
şekil 2.24. Propil Gallat molekülünün yapısı

PG(propil gallat): Gallik asitin esteri olan ve beyaz renkte katı kristaller halindeki propil gallat, hayvansal ve bitkisel yağlarda en çok kullanılan sentetik antioksidandır (Gökalp ve Çakmakçı 1992).



Şekil 2.25. BHA (Bütillendirilmiş hidroksi anisol) molekülünün yapısı

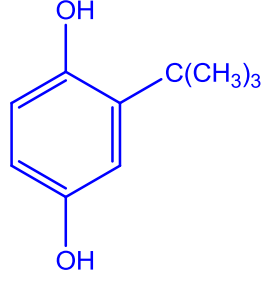
BHA: Bu antioksidan, ticari olarak 3-tertiyerbutil-4-hidroksianisol (%85) ile 2-tertiyerbutil-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı halindedir. Beyaz mumsu katı bir yapıya sahip olup, bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılmaktadır. Bitkisel yağlardaki antioksidatif etkisi, hayvansal yağlardaki etkisine göre daha azdır.



BHT

Şekil 2.26. BHT(Bütillendirilmiş hidroksi toluene) molekülünün yapısı

BHT: BHT (2,6-ditersiyeer bütül-4-metil fenol); beyaz renkli kristal yapıdadır. Bu antioksidan da BHA gibi ısıya oldukça dayanıklıdır. Bu yüzden fırında pişirme ve kızartma gibi işlemlerde daha fazla ortamda kalır ve gıdaya dayanıklılık kazandırır. BHA ile sinerjistik etki gösterirken, PG ile göstermez (Yanishlieva 2001).



TBHQ

Şekil 2.27. TBHQ (tersiyerbütihidrokinon) molekülünün yapısı

TBHQ: TBHQ, beyaz ile açık kahverengi arası renkte kristal yapıda olup bitkisel yağlar için çok etkili bir antioksidandır. Birçok uygulamada diğer antioksidanlara kıyasla en iyi etkiyi gösterdiği belirtilmektedir (Yanishlieva 2001 ve Altuğ 2001).

Yapılan bazı araştırmalara göre sentetik antioksidanların, bazı yan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden tüketiciler bunların sağlık açısındanki güvenilirlikleri hakkında ciddi endişeler taşımaktadır. Örneğin BHT non-toksik olmakla beraber, karaciğerde sitokrom P-450 sistemine hasar verdiğine dair bazı kanıtlar ve çalışmalar mevcuttur. Fareler yüksek dozlarda verildiğinde ise karaciğerde hasara sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca Amerikan halkı üzerinde yapılan araştırmalarda, BHT gibi sentetik antioksidanların fazla alınması durumunda vücuttan atılamayıp adipoz dokuda depolandığı da saptanmıştır (Halliwell ve Gutteridge 1989). Sentetik antioksidanlar geniş kullanım alanına sahip olmalarına rağmen, bu istenmeyen yan etkilerinden dolayı son zamanlarda kullanım alanları ciddi şekilde sınırlandırılmıştır. Bu sebeplerden dolayı birer doğal antioksidan olan α -tokoferol ve askorbik asit; BHA, BHT, PG ve TBHQ gibi sentetik antioksidanlardan daha düşük aktiviteye sahip olmalarına rağmen, yağlı maddelerin üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Nisihina ve ark. 1991). Bazı sentetik antioksidanların insan sağlığı açısından zararlı olması insanları doğal antioksidan ihtiva eden bitkilere doğru yöneltmiştir.

2.4.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller, hücre zarındaki yağlardan birine saldırdığında yağ molekülü değişime uğrar. Bu değişim bitkisel yağların acılaştırılmasına sebep olan küçük bir değişikliktir. Yağlar vücutta değişime uğradığında; hücre zarının yapısı ve fonksiyonları zarara uğrar, hücre zarı gıdaların, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz, harcanan ürünlerin atılmasını düzenleyemez. Serbest radikal saldırısının devamı; hücre zarının yapısında bulunan yağların parçalanmasına, zarın yırtılmasına ve hücre bileşenlerinin dağılmasına sebep olur. Hücre içi bileşenlerin hücre dışına akması etraftaki dokulara da zarar verir. Serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı "Yağların Oksidasyonu" veya "Oksidatif Zarar" olarak adlandırılır. Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir. Oksidatif zararlar parçalanmış kan hücrelerinin (platelet olarak) arter (atardamar) duvarlarına yapışması ve kolesterolün yükselmesi atardamarlara zarar verir (Ak 2006). Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli meydana gelmektedir. Örneğin süperoksitler ($O_2^{\cdot-}$) ve H_2O_2 in beyin ve sinir sisteminde meydana geldiği bilinmektedir. İnsan beyninin bazı bölgeleri demir bakımından zengindir, bu durumda serbest radikal reaksiyonları kolayca uyarılabilen bir formda mobilize olurlar. Antioksidan savunma mekanizması, mevcut ($O_2^{\cdot-}$) ve H_2O_2 giderilebilir. Süperoksit dismutaz hızlı bir şekilde $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'e çevirebilir. Peroksisomlarda ise katalaz H_2O_2 'i su ve oksijene kolayca çevirilebilmektedir (Ak 2006).

Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini vücudu saran organizmaları yok ederek arttırır. Buna karşın fazla üretildiğinde vücuttaki bazı yerlerde hasara neden olarak hastalıklara yol açar. Serbest radikal reaksiyonlarının neden olduğu hastalıklarda giderek bir artış olmaktadır. Bunları üç grupta toplayabiliriz (Çizelge 2.5.).

Çizelge 2.5. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar

Kardiyovasküler sistem patolojisi	
Aterosklerozis (Damar sertliği)	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Beyindeki düzensizlikler	
Anoksia	Kandaki oksijen azlığı
Nöral lipofuskinosis	Hücrelerdeki yapısal bozunmalar
Alzheimer hastalığı	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ve HClO üretimi
Parkinson hastalığı	Hücrelerdeki yapısal bozunmalar
Down sentromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Multiple sklerozis	Hücrelerdeki yapısal bozunmalar
Kronik granülomatöz hastalık	Antioksidan sistemdeki gen hasarı
Diabetes Mellitus	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
İnflamatory (ateşli) düzensizlikler	
Astım	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 üretimi
Romatizmal artrit	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 üretimi
Demir yüklenmesi	
İdiyopatik hemokromatozis	Geçiş metallere oksijene elektron transferi sonucu
Talesemi	Geçiş metallere oksijene elektron transferi sonucu
Akciğer düzensizlikleri	
Asbestozis	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 üretimi
Yetişkin solunum stresi solunumu	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 üretimi

Radyosyon hasarları	
Zedelenme (reperfüzyon)	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
Deri bozuklukları	
Solar radyosyon zehirlenmesi	Yüksek veya düşük radyosyon enerjisi ile doku hasarı
Bloom sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Oluşan zararlı (toksik) maddeler	
Zenobiyotikler	İlaç ve toksin kullanımında
Metal iyonları (Hg, Fe, Cu)	Geçiş metallere oksijene elektron transferi
Sitositotikler (blomyein)	İlaç ve toksin kullanımında
Kanser	Mesane, Bağırsak, Göğüs, Kolorektal, Karaciğer, Akciğer, Lösemi, Deri, Prostat

Canlılarda hidroksil $\text{OH}\cdot$, süperoksit $\text{O}_2\cdot^-$, nitrik oksit $\text{NO}\cdot$ ve peroksit $\text{ROO}\cdot$ gibi serbest radikaller oldukça önemlidir. Tıp ve biyolojide serbest radikallerin rolü ve önemi ile ilgili çalışmalar bir hayli fazladır (Halliwell ve Gutteridge 1989).

2.4.2.Serbest radikallerin etkileri

2.4.2.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri

Çoklu doymamış yağ asitleri, doymuş yağ asitlerine göre hidrojen koparılmasıyla oluşan radikalin çift bağın konjüksiyonuyla kararlı hale getirilmesi ve böylece de hidrojenin daha kolay koparılmasına sebep olmasından dolayı, otoksidasyona daha yatkındırlar (Halliwell ve Gutteridge 1989).

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

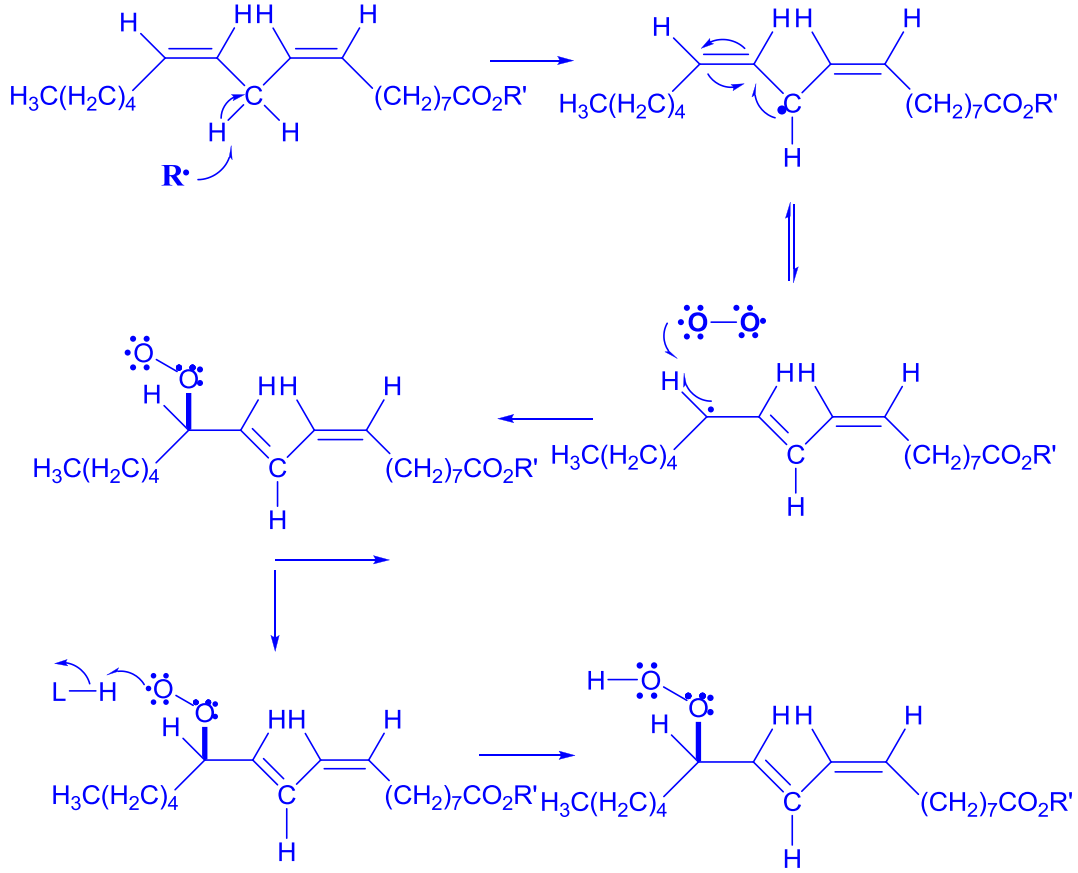
Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L•) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO•) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir.

Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar.

Lipid radikali (L•) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin (L•) moleküler oksijenle (O₂) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri (LOO•) oluşur. Lipid peroksit radikalleri (LOO•), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine (LOOH) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.



Şekil 2.28. Lineoleik asidin otoksidasyon reaksiyon şeması

2.4.2.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur.

Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immüoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri (ROS) üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobün gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle

oksihemoglobinin süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur.

2.4.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH^{\bullet}) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve romatoid artrit (RA) dolaşımında anti-DNA antikolar bulunur.

2.4.2.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar.

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir.

2.4.3. Serbest radikallere karşı savunma sistemleri

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

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler;

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

- 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.

Serbest radikallerdeki aşırı yüklenme vücut için tehlike oluşturur. Ancak vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için de gereklidirler. Serbest radikaller vücutta çok hassas bir dengeyle kontrol edilmektedirler:

2.4.3.1. Serbest radikallere karşı nonenzimatik korunma

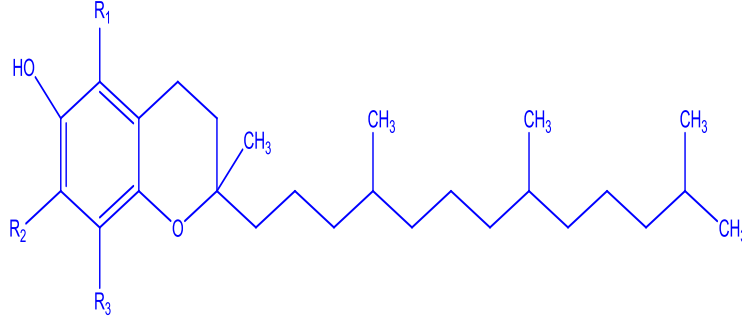
2.4.3.1.1. Tokoferoller:

Doğal antioksidanlar hemen hemen tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hatta hayvansal dokularda dahi bulunmakta olup çoğunlukla polifenolik yapısındaki maddelerdir. Bu antioksidanların en önemlileri; tokoferoller, sesamol, sesamolin, karnosik asit, rosmarinik asit, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asit'dir (Yanishlieva 2001, Hudson 1990).

Tokoferoller doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturmaktadır. Genellikle E vitamini (α -tokoferol) olarak bilinen monofenolik yapısındaki antioksidanlar olup güçlü biyolojik antioksidatif aktiviteleri sayesinde gıda, ilaç ve kozmetik alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

E vitamini, kimyasal yapı itibarı ile bir tokol olup antisterilite vitamin olarak da bilinir. E vitamini yağda çözünen önemli bir antioksidandır ve özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli antioksidan işlevler görmektedir. Epidemiyolojik ve sınırlı ara çalışmalar, E vitamininin kardiyovasküler hastalıkların, bazı kanserlerin ve öteki kronik hastalıkların riskini azalttığını belirlemektedir. Bazı büyük klinik deneylerle E vitamininin sağlığa yararları daha derinlemesine değerlendirilmektedir. Tokollerin (tokoferol ve tokotrienol) farklı bileşikleri E vitamini aktivitesi gösterir. En aktifi alfa-tokoferoldür. Geçmişte asıl olarak α -tokoferol üzerinde yoğunlaşmışken, bugün öteki tokoferoller ve tokotrienoller daha fazla ilgi çekmektedir. İlk sonuçlara göre bunlar, α -tokoferolden farklı antioksidan ve diğer fonksiyonlara sahiptir. En fazla soya ve buğday da en düşük ise Hindistan cevizinde bulunur. Tokoferoller; metil grubunun aromatik tokol halkası üzerindeki pozisyonuna bağlı olarak, α -, β -, γ -, δ -tokoferol olarak dört temel isim alır

(Mukhopadhyay, 2000). Bunların antioksidatif etkisi; tokoferolün kimyasal yapısına ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Ancak genel olarak şu şekilde sıralayabiliriz; α -> β -> γ -> δ -tokoferol' dür. Birçok ülkede yapılan klinik çalmalar ve deneyler sonucunda düzenli olarak E vitamini alınmasının çeşitli hastalıkların (kalp-damar, erken yaşlanma, şeker ve kanser türleri) oluşumunun önlenmesinde önemli oranda katkılar sağladığı tespit edilmiştir (Shahidi, 2000).



α -> β -> γ -> δ -Tokoferol

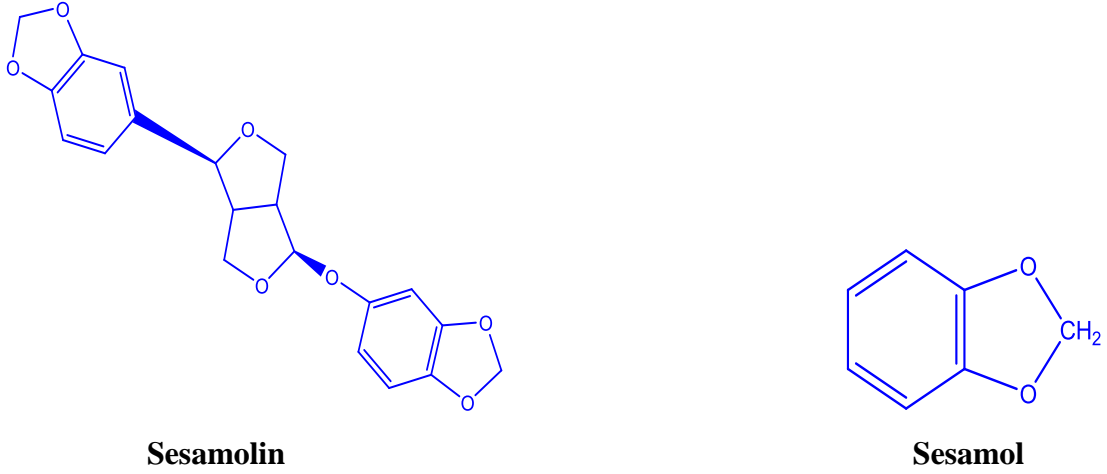
Şekil 2.29. α -> β -> γ -> δ -Tokoferolün molekül yapısı

Tokoferol ve karotenoidler gibi doğal antioksidanların depolandığı temel organ karaciğerdir. Bunun yanısıra adipoz dokuda, akciğer ve böbreklerde de depolandığı belirtilmiştir (Surai ve ark. 1998). Bitkilerde farklı antioksidan bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir (Larson 1988, Ramarahman ve ark. 1988).

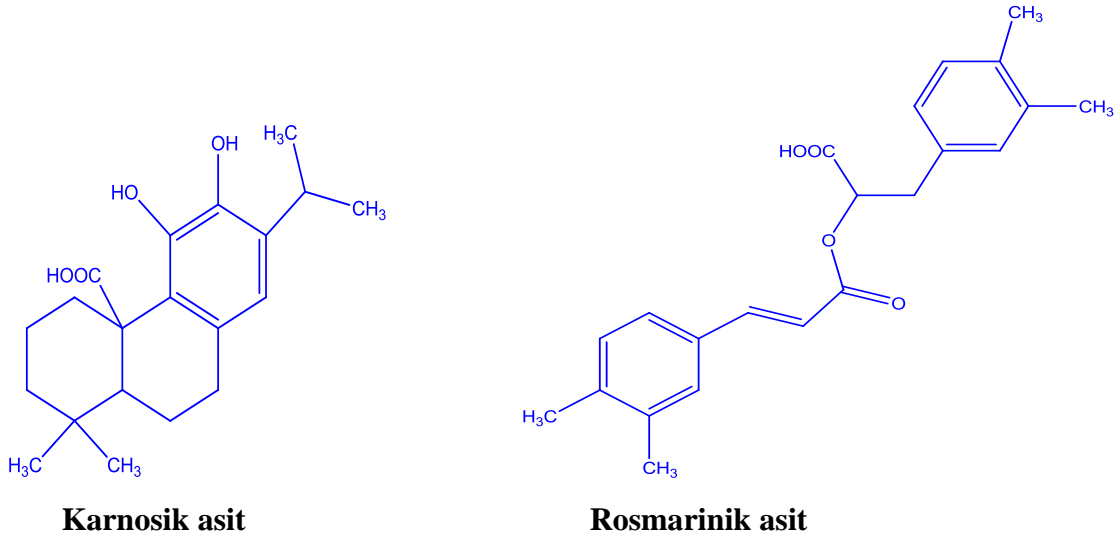
2.4.3.1.2. Flavonoidler ve fenolik asitler

Flavonoidler polifenolik yapıda olup birçok bitki, meyve ve sebze bol miktarda bulunmaktadır. Son zamanlarda hakkında en çok araştırma yapılan doğal antioksidan gruplarından biridir. Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları başta olmak üzere bütün dokularında meydana gelebilmektedir. Bunun yanısıra sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve ark. 1990). Yapılan araştırmalarda bol miktarda sebze meyve tüketimi sonucu, hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayde değer azalmalar olduğu (Ames ve ark. 1993) bildirilmiştir. Baharatlar ve şifalı bitkiler geleneksel olarak gıdaların tadını artırmak ve raf ömrünü korumak amacıyla yıllardan beri kullanılmaktadır. Baharatlar ve şifalı bitkiler arasında en fazla kendine yer

edinenler biberiye, kekik ve ada çayıdır. Karnosik asit ve Rosmarinik asit biberiyenin en etkili **fenolik antioksidan** bileşenleridir. Ada çayı ve biberiye ekstraktlarında yaygın olarak bulunan bu rosmarinik asit ve türevlerinin süperoksit bağlama etkisinin trolox (sentetik bir antioksidan)'a kıyasla 15-20 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Lu ve Foo 2001). Yapılan bir başka çalışmada ise biberiye ekstraktının soya yağında peroksit oluşum hızını yavaşlattığı ve lezzet stabilitesini artırdığı tespit edilmiştir (Altuğ 2001). Yalnızca susam bitkisinin tohumlarından elde edilen bu antioksidanlar, sıvı ve katı yağlara katıldıklarında, çok yüksek antioksidatif etki gösterirler (Kayahan 1998).

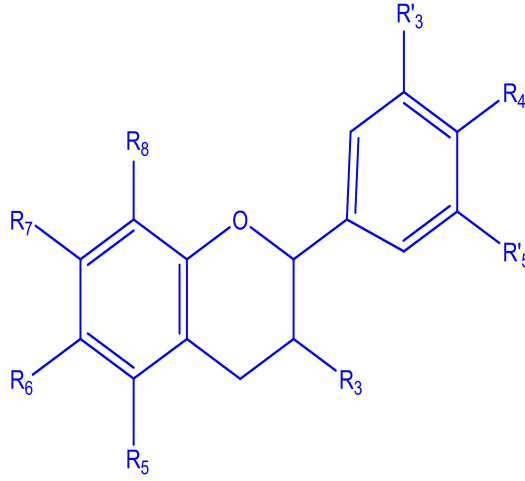


Şekil 2.30. Sesamolin ve sesamol molekül yapıları



Şekil 2.31. Karnosik asit ve rosmarinik asitin molekül yapısı

Flavonoidlerin; antosiyaninler, kateşinler, izoflavonlar ve flavonoller gibi türleri vardır (Hertog ve ark 1992). Yapılan araştırmalar sonucunda bu grup antioksidanların başta kalp-damar hastalıkları olmak üzere daha birçok hastalığın oluşumunun önlenmesinde olumlu etkiler sağladığı tespit edilmiştir (Pratt ve Hudson 1990).



Şekil 2.32. Flavonoidin genel molekül yapısı

İnsanlarda flavonoidlerin adsorbsiyon ve metabolizması ile ilgili farklı farmakokinetik özelliklerin varlığı düşünülmektedir. Kateşinler, oral alımı takiben bağırsaklarda adsorbe edilir. Flavonoidlerin bakır iyonlarıyla kompleks oluşturma kabiliyeti gösterilmiştir. Bu kompleks oluşumu, AO etkilerine bağlıdır. Metal iyon şelasyonu katalitik olarak inaktivasyon sağlar (Burak ve Çimen 1999).

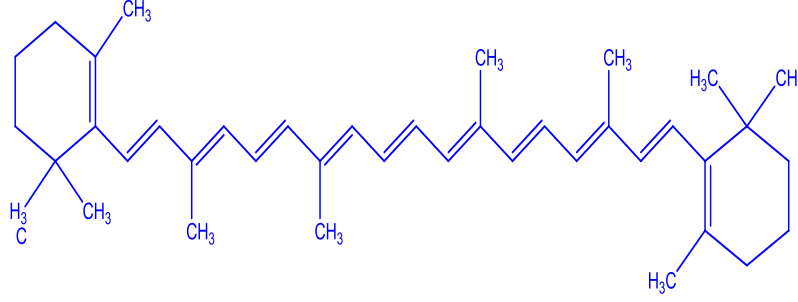
2.4.3.1.3. Karotenoidler:

Karotenoid bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda (yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde) bulunan pigmenttir. Karotenler tetraterpenlerdir yani kuyruk kuyruğa bağlanmış diterpenlerden oluşurlar. (Terpenler hidrokarbonların geniş ve çeşitli bir sınıfıdır, başlıca bitkiler, özellikle iğne yapraklılar, tarafından üretilmekle beraber bazı böceklerde de (örneğin; *Papilionidae* cinsindeki kelebekler) osmeteriyumlarında terpenler salgırlar. Reçinenin ve ondan elde edilen terebentinin ana bileşkesidir. Terpen sözcüğü “terebentin” sözcüğünden türetilmiştir. Terpenler kimyasal olarak değişime uğradıklarında

örneğin; yükseltgenme veya karbon iskeletinin düzenlenmesi ile, meydana gelen bileşiklere genel olarak terpenoid olarak değinilir. Bazı yazarlar terpen sözcüğünü terpenoidleri kapsayacak şekilde kullanırlar. Terpen ve terpenoidler, çoğu bitki ve çiçekteki esans yağlarının başlıca bileşikleridir. Esans yağları gıdalara tatlandırıcı katkısı olarak, parfümeride, aromaterpide, ayrıca geleneksel ve alternatif tıpta kullanılırlar. Doğal terpenlerin sentetik değişiklikleri ve türevleri, parfümeride gıda tatlandırıcı katkı maddelerindeki çeşitliliği çok artırmıştır.

Altı yüzün üzerinde bilinen karetonoid vardır; ksantofiller ve karotenler olarak iki sınıfa ayrılır. Karetonoidler, C₄₀ çoklu doymamış (polyunsaturated) hidrokarbonların (karotenler) ve bunların oksitlenmiş türevlerinin (ksantfiller) bir sınıfını oluşturur. Bu bileşikler, yağa zengin bir portakal rengi-kırmızı renk verir. Ham hurma yağı en zengin bitkisel karoten kaynaklarından. Havuca göre 15, domatese göre 300 kat daha fazla retinol eşdeğerine sahiptir. Analizler, α - ve β -karotenlerin toplam karotenoid muhtevasının yaklaşık %90'ını oluşturduğunu gösterir; geri kalanı ile γ -karoten α ve β -karoten, fitofluen, fitoen, zeakaroten, likopen, neurosporen ve α -ve β -zeakarotenlerdir.

Karetonoidlerin pek çok fizyolojik işlevi vardır. Yapıları gereği serbest radikalleri etkili bir şekilde bertaraf ederler ve bağışıklık sistemini güçlendirirler. Epidemiyolojik çalışmalarda diyetinde ve kan plazmasında yüksek oranda beta-karoten bulunan kişilerde akciğer kanser riskinin anlamlı ölçüde azaldığı bulunmuştur. Öte yandan sigara kullananların yüksek dozda beta-karoten kullanılmasının kanser riski artırdığı bulunmuştur. Bir olasılıkla aşırı miktardaki beta-karotenin yıkım ürünleri plazmadaki A vitamini azaltıp, sigara dumanının neden olduğu akciğer hücrelerindeki çoğalmayı kötüleştirmektedir. Ayrıca turuncu renkli ve A vitaminin öncüsü olan β -karoten, genellikle eşit renklendirme oluşturmak için gıda maddelerine katılır (Mukhopadhyay 2000). Aynı zamanda β -karoten, vücutta A vitaminine dönüşür. A vitaminin bütün fonksiyonlarının yanı sıra serbest radikalleri etkisiz hale getirerek yaşlanmayı geciktiricidir, cildi güzelleştirir, güneşin zararlı etkilerinden cildi koruyarak cilt kanseri oluşumunu önler (Albanes ve ark 1996).



Şekil 2.33. β -karotenin molekül yapısı

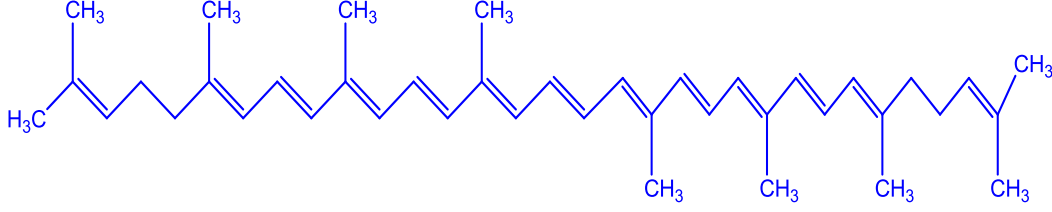
Karotenler, karaçiğerde enzimler yardımı ile A vitaminine dönüşürler (Karotenler A vitaminin ön maddesidir). A vitamini; görme, büyüme, çilt sağlığı için gereklidir. Hemen hemen tüm yeşil bitkilerde bulunmaktadır.

Hayvanlar karotenoidleri sentezleyemezler ve onları beslenme yoluyla elde etmek zorundadırlar. Buna rağmen bu bileşikler yaygın olarak ve genelde gösteriş amaçlı kullanılırlar. Örneğin, flamingo ve somon balıklarının pembe renkleri, istakozların kırmızı renkleri karotenoidlere bağlıdır. En yaygın karotenoidler likopen ve A vitaminin öncülü olan β -karotendir. Bitkilerde ksantofil lutein en bol karotenoiddir. Bitkilerin yapraklarında bulunan lutein ve diğer karotenoidler bariz değildir çünkü klorofil gibi diğer pigmentler tarafından maskelenir.

2.4.3.1.4. Likopen:

Likopen sekiz izoprenden meydana gelmiş bir terpendir. Likopenin rengi onun eşlenik (konjuge) karbon çift bağlarından kaynaklanır. Her bir çift bağ elektronların bir üst enerji seviyesine çıkmaları için gereken enerjiyi azaltır, böylece molekülün gittikçe daha büyük dalga boylarında görünür ışık soğurabilmesini sağlar. Likopen görünür spektrumunun çoğunu soğurduğu için kırmızı görünür. Likopen yükseltgenirse (oksitlenirse) karbon atomlarının arasındaki çift bağlar parçalanır, molekül daha küçük parçalara bölünür, her biri bir oksijen atomuyla çift bağ kurmuş olur. Bu C=O bağları da ışığı soğursalar da soğurdukları ışığın dalga boyu bu moleküllerin renkli görünmesi için yeterli değildir. Likopen indirgendiği zaman da benzer bir sonuç olur, indirgenme sonucu çift bağlar tek bağa dönüştüğü için görünür ışığı soğurmazlar (<http://wikipedia.org/wiki/likopen>).

Likopeni yüksek meyve sebzeler arasında domates, karpuz, greyfurt, pembe guava ve kuşburnu bulunur.



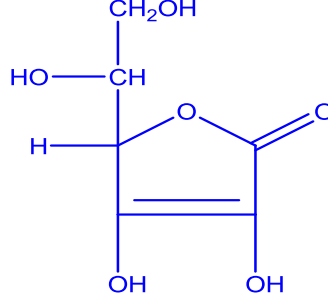
Şekil 2.34. Likopenin molekül yapısı

Likopenin sık kullanımının kalp damar hastalığı, kanser (özellikle prostat kanseri), diyabet, osteoporoz ve hatta erkeklerde kısırlık riskini azalttığı yönünde bulgular vardır. Likopenin özofagus, kolorektal ve ağız kanseri riskinde azalmayla ilgili olabilir.

Likopenin doğada yaygın olarak bulunmasından dolayı bir gıda boyası olarak kullanılmasına izin verilmiştir. Likopen suda çözünmez ve çoğu porlu malzemeyi ve çoğu plastiği hemen boyar. Domates lekesi çoğu kumaştan kolaylıkla çıkarılabilir de (eğer leke yeni olmuşsa), likopen plastiklerin içine geçişir ve bu yüzden sabun veya deterjanla çıkarılamaz (ama çamaşır suyu likopeni yok eder). Plastikler özellikle daha evvel ısıtılmış, çizilmiş, yağlanmış ve oyulmuşlarsa (asit etkisiyle), lekelenmeye çok müsaitlerdir. İnsan vücudu likopen'i üretemez. Domates, kavun, greyfurt ve portakal da diğerlerine göre en fazla miktarda bulunmaktadır. Ancak likopen'in % 85'i domates ve domates ürünlerinde bulunmaktadır.

2.4.3.1.5. Askorbik asit (C vitamini):

C vitamini, Askorbik asit olarak da bilinir, suda eritebilen ve birçok görevi olan vitamindir. Çoğu hayvanlar ve bitkiler, kendi C vitaminlerini glukozdan üretebilirler. İnsanlar, bazı meyve yarasaları, hint domuzu ve insan benzeri primatlar C vitamini üretmediklerinden bunu besinlerden almak zorundadırlar. Bütün taze sebze, meyve ve etler bir miktar C vitamini içerirler. Ancak C vitamini ısıya hassas olduğundan pişirme esnasında hızla bozunur.



Şekil 2.35. Askorbikasidin molekül yapısı

Askorbik asit kimyasal olarak tanınmadan önce hastalıklarda olan ilişkisi bilinmekteydi. Askorbik asidin yetersizliğine bağlı skorbüt hastalığını Hipokrat M.Ö. 450 yıllarında diş etlerinin kangreni, diş kaybı ve askerlerin ayaklarında şiddetli ağrılar gibi belirtilerle tanımlanmıştır. İskoçyalı bir doktor olan James Lind 1753'te portakal ve limonla askerlerdeki skorbüt hastalığının önlenmesine dair deneme ve gözlemlerini yayınlamışlardır.

Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel çalışmayı 1907'de Holst ve Frolich tarafından deneylerle başlar. Araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır. C. Funk 1912'de skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koymuş ve bu maddeye antiskorbütik vitamin vermiştir. Daha sonra Drummond 1920'de antiskorbüt vitamini için vitamin C adını kullanmıştır. Zilva ve arkadaşları (1918-1929) limondan antiskorbütik faktörünü yoğunlaştırma üzerinde yoğunlaşmışlar ve hemen hemen saf Askorbik asit bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenerek izole edilmiştir. Zilva bu çalışmaları esnasında 2,6-diklorofenolindofenolün (2,6-DCPIP) vitamin çözeltisi tarafından indirgenliğini de bulmuştur. Zilva deneyleri sürdürürken Szent-Gyorki 1928 yılında dek bu maddenin antiskorbüt vitamini olduğunu anlayamamıştır. Buluşunu yayımlamadan King bu araştırmadan habersiz heksuronik asit ile aynı olduğunu kabul ettikleri kristal maddenin limon suyundan izolasyonunu bildirmiştir. Bundan sonra birçok bağımsız araştırmacılar özellikle Tillmans, Vedder, Nelson, Harris ve Von Vargha vitaminin kimliğini saptamışlar ve glikozdan sentezini gerçekleştirmişlerdir. Askorbik asit ismi Szent-Gyorki'e izafeten verilmiştir ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

Askorbik asit ve vitamin C, L-ksiloAskorbik asidin günümüzde yaygın olarak kullanılan iki ismidir. Bununla beraber tarihsel gelişimi sırasında C vitamik asit, antiskorbütik vitamin, heksuronik asit, skorbutamin ve redokson olarak adlandırılmışlardır ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

Askorbik asit bir monosakkarit türevi olup yapıca glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Renksiz, beyaz, dikdörtgen kristallerdir. Polarize ışığı sağa çevirir. Asetonda çok zor çözünür. Eter, petrol eteri, benzen, kloroform ve yağlarda çözünmez. C vitamini kimyasal olarak Askorbik asidin ışığı sola döndüren enantiyomeridir. Ticari C vitamini genelde Askorbik asit kristallerinden veya Askorbik asidin kalsiyum veya sodyum tuzlarından oluşmaktadır.

C vitamini (Askorbik asit) omurilik, akciğer ve göz gibi pek çok hayvansal dokunun sulu bölümlerinde oldukça yüksek yoğunlukta (milimolar ve üstü) bulunur. Bazı meyveler % 1'den fazla (6 mM) içerebilir. İnsan kanı plazmasında normal olarak 0,1 mM düzeyinde bulunur. Çoğu organizma C vitaminini sentezleyebilmesine rağmen, insanlar dahil birkaçı onu diyetle almak zorundadırlar. Endiol yapısından ötürü, hayli düşük bir ilk pKa sergiler (4,2 civarında) ve buna bağlı olarak da çoğu dokularda nonanyon olarak var olur. 3-pozisyonundaki hidrojen de ki en asidik olanıdır, tek elektronlu oksidasyon reaksiyonlarında çıkarılan hidrojen atomudur ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

C vitaminin kesin ölçümü hem onun biyokimyasal hem de farmokokinetik özellikleri için zorunludur. Biyolojik sistemlerde askorbik asidin rolü, C vitaminin in vivo fonksiyon ve gerekleri iki faktörle birlikte ele alınmalıdır. Birincisi, C vitaminin hem antioksidan hem de bir enzim kofaktörü olarak hareket etme yeteneği dahil biyokimyasal özellikleridir. İkincisi, bağırsakta emilmeyi, serum konsantrasyonunu, hücresel dağılımı, kullanım ve dışarı atılımı içeren farmokokinetiğidir. Askorbik asit bütün canlı dokularda bulunur. Doğada çok yaygın bulunan bu vitaminin en zengin kaynaklarını taze meyve ve sebzeler oluşturur. Meyveler arasında en çok askorbik asit içerenler; limon, portakal, greyfurt, kivi, ananas, çilek ve frenk üzümüdür. Elma, armut ve erik ise bunlara göre daha az miktarda askorbik asit içerir. Bu meyvelerden özellikle sitrus meyveleri (limon, portakal, greyfurt), kivi ve domatesin dış kısımları (kabuk) askorbik asit bakımından zengindir ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

Askorbik asit oksijen tutma özelliğine sahip olması nedeniyle antioksidan olarak kullanılır. Yağların ve yağlı besinlerin uzun süre saklanabilmesi, beyaz renkteki sebze ve

meyvelerin kararmasının önlenmesi için kullanılır. Ayrıca çabuk soğutularak dondurulmuş meyveler erime sırasında doğal renk ve kokularını yitirir. Bunları dondurmadan önce saf Askorbik asit katmakla bu sakıncalar önlenmektedir. Bu şekilde dondurulmuş kayısı, şeftali, elma, üzüm, muz, armut, ananas gibi meyvelerde 25 yıldan beri Askorbik asit antioksidan olarak yeğlenerek kullanılır ve yaygın biçimde de gıda sanayiinde kullanılır. Sadece tek tek yanlı zincir hidroksil grubunun konfigürasyonun da değişiklik gösteren sentetik izomer eritorbik asit de kuvvetli bir antioksidandır fakat tam tersine pek az vitamin aktivitesi vardır. Bundan başka Askorbik asit birçok preparatlarında, besin ve içeceklerin vitamince zenginleştirilmesinde kullanılır ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

Askorbik asit kuvvetli bir indirgeyici ajandır; 280 mV'lik düşük bir redoks potansiyelie sahip olması onun hemen tüm diğer okside olan serbest radikallerle reaksiyona girmek termodinamik potansiyelinin varolduğu anlamına gelir.

Askorbik asit tipik peroksil radikallerle suda tepkimeye girer; daha aktif trikloromeetilperoksil radikaliyle 100 kat daha hızlı tepkimeye girer (Aruoma 1993). C vitamininin vücudun çoğu dokusuna sağlamlığını veren kolajenin üretiminden alyuvarların işlemesine yol açar. Bu hastalık, halsizlik, kolayca kanayan diş etleri, ciltte morluklara neden olan deri altında küçük kanamalar, saçların kıvrılması, hiperkeratosis, eklem ağrısı, nefes darlığı ve letarji (uyuşukluk) şeklinde kendini gösterir. C vitamini eksikliğinin önemli bir erken belirtisi de bitkinliktir ([http://wikipedia.org/wiki/C vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini)).

2.4.4. Antioksidan aktivi te tayin yöntemleri

Reaksiyon mekanizmalarına göre antioksidan kapasite tayinleri başlıca iki gruba ayrılabilir:

1. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT)
2. Tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET)

Üçüncü bir grup hem HAT hem de SET reaksiyon mekanizmalarını içerir.

Bu çalışmada, kullanılan antioksidan aktivite tayin yöntemlerini aşağıdaki gibi açıklayabiliriz.

2.4.4.1. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar

HAT mekanizmasına dayanan tayinlerin çoğu yarışmalı reaksiyon kinetiğini izler ve kantitasyon kinetik eğrilerinden yapılır. HAT'a dayanan metotlar genellikle sentetik bir radikal

üreticiden, yükseltgenabilir moleküler probdan ve bir antioksidan bileşikden oluşur. ORAC, TRAP gibi HAT-temelli metodlarda peroksil radikali (ROO•) üretmek üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Eklenen antioksidan radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. ROO• tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuçta ROO• ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir (Büyüktünel 2013).

2.4.4.1.1. β -Karoten renk açılım yöntemi

Bu sistem, linoleik asidin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin, β -karotenin karakteristik sarı rengini tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi temeline bağlıdır (Eryiğit 2006). Reaksiyon sonunda çözeltide β -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbanı 490 nm’de spektrofotometrede ölçülür. Reaksiyon genellikle 50°C civarında başlar.

β -Karoten-lineolik asit emülsiyon sistemi yöntemi, emülsiyondaki lineolik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin, β -karoten’le reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic ve ark 2004). β -karoten-lineolik asit sisteminde test süresi 180 dakika boyunca sarı rengin solmasının önlenmesi, yüksek potansiyel antioksidan varlığını göstermektedir

Ortamda antioksidanların bulunması ya da antioksidan içerikli özütlerin ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötralize edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Dolayısıyla daha yüksek absorban, daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir (Eryiğit 2006). Bu yöntemin üstünlüğü; hızlı, basit ve duyarlı bir yöntem olmasıdır (Koleva ve ark. 2002).

β -karotenin renk açılımı ve bozunma hızı arasında, en düşük β -karoten bozunma hızına sahip ekstrenin, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu (Othman ve ark. 2007) şeklinde bir ilişki vardır.

Avantajları:

Krosin ağartma tekniği, mikrolakalar gibi yüksek işlem hacimli metodolojilere kolaylıkla adapte edilebilir. Bununla birlikte sıcaklık kontrolü kritiktir (Büyüktünel 2013).

Dezavantajları:

Krosin ağartma tekniğinin, gıda örneklerinde uygulamaları sınırlıdır. ROO• ve fitokimyasallar arasındaki reaksiyon hız sabitleri büyük ölçüde değişebilir. Bazı fitokimyasalların

reaksiyon hızları krosine benzerdir. Bu durumda, inhibe edilmiş ağartma hızları çok küçüktür ve metot antioksidanlardaki konsantrasyon değişimine duyarlı değildir. Krosin 450 nm’de absorbans yapar ve karotenoid gibi pek çok meyve pigmenti ışığı aynı dalgaboyunda absorplar. Her bir örneğe girişimi önlemek için, yalnızca gıda örneği ve AAPH içeren bir karışım aynı zamanda denenmelidir. Krosin safrondan ekstrakte edilen bir doğal pigment karışımıdır ve çok çeşitlilik gösterir. Bu yüzden partiler arası (inter-batch) farklılık fazladır. Bu problemler metodun güvenilirliğini ve kantitatif endüstriyel uygulamalarda kullanımını kısıtlar (Büyüktüncel 2013).

2.4.4.2.Elektron transferine dayanan reaksiyonlar (ET)

Spektrofotometrik ET-dayanan metotlar; bir reaksiyon karışımında iki bileşen içerir. Antioksidan ve oksidan. Oksidan antioksidandan bir elektron alır ve bu oksidanda renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi, antioksidan derişimiyle orantılıdır.



2.4.4.2.1.DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini

Bitkisel ekstrelerin serbest radikal giderim aktivitesinin; ekstre bünyesinde yer alan ve antioksidan etkili bileşiklerin ortama ilave edilen serbest radikal ajanına protonlarını verebilme yeteneğine ve aynı zamanda yapısal konformasyonlarına göre değiştiği ifade edilmektedir (Fukumoto ve Mazza 2000). Lipid oksidasyonunun antioksidanlar tarafından önlenmesi olarak bilenen mekanizmalardan biri serbest radikal süpürmedir. DPPH serbest radikal süpürme metodu, spesifik bileşiklerin veya ekstraktların antioksidan aktivitelerinin kısa sürede değerlendirilmesinde kullanılabilir (Cheung ve ark. 2003).

DPPH• radikali, birkaç kararlı organik azot radikalinden bir tanesidir. Koyu menekşe renktedir. UV-GB absorpsiyon maksimumu 517 nm’dir. Ticari olarak bulunur. Bu metot DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır.

Bu metotta DPPH• radikalinin indirgenmeden önce rengi koyu mor renkte olup antioksidan maddeler tarafından indirgendiğinde ise açık pembe renge dönmektedir. Buda DPPH• radikalinin indirgenip difenil-pikrilhidrazine dönüştüğünü gösterir. Bu metodun temeli hidrojen veren guruplara sahip antioksidan maddelerin DPPH• radikalini indirgemesine

dayanmaktadır. DPPH• molekülü 517 nm’de absorpsiyon vermekte iken indirgendiği zaman 517 nm’den kayma gösterirken antioksidan miktarına bağlı olarak absorpsiyonda düzenli bir azalma meydana gelir. Bir bitki özütünün IC₅₀ parametre değeri ne kadar düşük olursa, ekstre o derecede güçlü radikal süpürme etkisi gösterir (Othman ve ark. 2007).

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalinin metanolik çözeltisinin rengi koyu violeedir. Ortama antioksidan içerikli ekstre ilave edildiğinde bu koyu renk açılır. Bu renk açılımı spektrofotometrik olarak 517 nm de absorbansları ölçülerek tespit edildi (Molynex 2004).

Avantajları:

DPPH yöntemi basit ve hızlıdır. Doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Yalnızca UV-GB spektrofotometresine ihtiyaç duyar. Çok sayıda örnek analizi mikropilaka kullanılarak yapılabilir (Büyüktuncel 2013).

Dezavantajları:

DPPH yalnızca organik ortamda çözülebilir (özellikle alkol ortamında), sulu ortamda çözünmez. Bu hidrofilik antioksidanların rolünün yorumlanmasında önemli bir sınırlamadır. Fenolik bileşiklerin ve gıdaların antioksidan kapasitesini ölçmek ve karşılaştırmak için geniş ölçüde kullanılmaktadır, fakat ölçümlerde ışığın etkisi göz ardı edilmemelidir. Metanol ve aseton içindeki DPPH’ın 517 nm’deki absorbansı ışık altında, 120 dakikalık süre boyunca %20 ve %35 azalmaktadır. Karanlıkta ise 150 dakika süre boyunca önemli bir değişim olmadığı bulunmuştur. Yukarıda belirtildiği gibi çözücünün su içeriği antioksidan kapasitesini azaltan önemli bir sınırlamadır. Çünkü DPPH’ın bir kısmı koagüle olur ve antioksidanlarla kolay reaksiyona giremez. Bazı örnek bileşenleri, örneğin karotenoidler, DPPH’ın 517 nm’deki absorbans spektrumuyla çakışabilirler. DPPH, canlı organizmalarda bulunan radikallerin tersine, kararlı, uzun ömürlü bir azot radikalidir ve yüksek reaktiflikte, kısa ömürlü, lipid peroksidasyonunda rol alan peroksil radikallerine benzemez. Peroksil radikalleriyle hızlı reaksiyon veren çoğu antioksidan DPPH ile yavaş reaksiyona girebilir veya sterik engel nedeniyle DPPH’a karşı inert olabilir. Ayrıca DPPH ile öjenol reaksiyonunun tersinir olduğu rapor edilmiştir. Bu durum öjenol ve benzer yapıya sahip polifenollerini içeren numunenin antioksidan kapasitesinde düşük okumalara neden olur.

DPPH radikaline sterik ulaşabilme reaksiyonun başlıca belirleyicisidir. Küçük moleküller radikale daha kolay ulaşabildiklerinden daha yüksek antioksidan kapasite değerlerine sahiptirler (Büyüktuncel 2013).

2.4.4.2.2. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini

Bu yöntem, bir numunedeki antioksidanlar tarafından Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi temeline dayanır. Apak ve arkadaşlarının geliştirdiği bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10- fenantrolin (Neokuproin veya Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorpsiyon veren bakır(I) neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır.

Fenantrolin kompleksleri suda çok düşük çözünürlüğe sahiptirler ve %95'lik etanol gibi organik çözücülerde çözümlenirler ve seyreltilmelidirler. Polifenoller için FRAP değerleri oldukça düşük iken, CUPRAC değerleri TEAC değerleriyle benzerdir (Büyüktuncel 2013).

Avantajları:

Bu reaktif seçicidir, çünkü fenantrolin veya tripiridiltriazin türü ligandlarla bağlı demire göre daha düşük redoks potansiyeline sahiptir. FRAP yönteminde girişime neden olan basit şekerler ve sitrik asit, CUPRAC reaktifiyle okside olmaz. CUPRAC reaktifi, tiyol tipi antioksidanları okside etmek için yeterince hızlıdır. FRAP metodu canlı bitki ve hayvan hücrelerinin önemli düşük molekül ağırlıklı tiyol bileşeni olan glutatyon gibi tiyol tipi antioksidanları ölçmez. Bunun nedeni Fe(III)'ün, kimyasal olarak inert olmasına neden olan yüksek spinli yarı dolu d orbitalleri olabilir. Oysa Cu(II)'nin elektronik yapısı, hızlı kinetiğe imkan verir. Sisteinin Fe(III) ile indirgenme reaksiyonunun 1,10-fenantrolin varlığında yavaş ilerlediği rapor edilmiştir. Fakat bu reaksiyon katalizör olarak Cu(II) kullanılmasıyla hızlandırılmıştır. CUPRAC reaktifi, ABTS ve DPPH gibi, kromojenik radikal reaktiflerden daha kararlıdır ve daha kolay temin edilebilir. Renkli Cu(I)-Nc şelatı veren redoks reaksiyonu, hava, güneş ışığı, nem ve pH gibi parametrelerden etkilenmez (Büyüktuncel 2013).

Dezavantajları:

CUPRAC yöntemi askorbik asit, ürik asit, gallik asit ve kersetin için birkaç dakika içinde tamamlanır, fakat daha kompleks moleküller için 30-60 dakika gereklidir. CUPRAC yönteminde

kompleks antioksidan karışımında uygun reaksiyon zamanını seçme açısından problemlidir (Büyüktuncel 2013).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Kullanılan Kimyasallar

Bütilahidroksianisol (BHA) (ALDRICH, 1001362298)
Bütilahidroksitoluen (BHT) (SAFC, 101075504)
L-Askorbik asit (Sigma-Aldrich, 101089006)
1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) (ALDRICH)
neokuprin (2,9-dimetil-1,10- fenantrolin) (Sigma-Aldrich, N1501)
Amonyum asetat (Sigma-Aldrich, Lot:099K1541)
Bakır(II) klorür dihidrat (Merck, 1.02 733.0250)
Kloroform (Teknik)
Metanol (Teknik)
Hegzan (Teknik)
Diklormetan (Teknik)
Ethanol (Merck)
linoleik asit (Aldrich, technical %60-74)
 β -Karoten (Sigma-Aldrich, 22040-5G-F)
polioksietilensorbitan monolaurat (Tween-20) (merck-8.22184.0500).

3.2. Yöntem

3.2.1 Bitkinin toplanması

Bu çalışmada, proje kapsamında araştırılacak olan *S. dulcamara* bitkisinin hem meyve hem de yapraklarıyla çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, yaprağın kurumadan, aynı zamanda da meyvenin yeşil renkli değil de kırmızı renkli olduğu durumda yani olgunlaşma mevsiminde toplanmıştır.

Bir botanikçi ile birlikte, Edirne-Tekirdağ civarında yapılan arazi çalışmaları sonucunda, Edirne'den (Söğütlük) 27 Ağustos 2012 tarihinde *S. dulcamara* ve *S. nigrum* bitkisi toplanmıştır. Bitkiler toplandıktan sonra, Trakya Ün. Biyoloji Bölümünde, Botanik Ana Bilim Dalında çalışan Yrd. Doç. Dr. Necmettin GÜLER tarafından tanımlanarak, bitkilere bir Herbaryum numarası

verilmiştir (*S. dulcamara*: EDTU 13162; *S. nigrum*: EDTU 13380). Toplanan bitkiler bir hafta açık havada kurutulmuştur.

3.2.2. Bitkinin ekstraksiyonu

Kurutulan *S.dulcamara* bitkisinin yaprak ve meyveleri ayrılarak maserasyon yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyona, n-hegzan ile başlanmış, ardından da bitki kalıntıları polarite artış sırasına göre, diklormetan, etilasetat ve metanol ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra çözücüler evaporatörde uçurularak, ham ekstrele ulaşmıştır. Ham ekstre miktarları;

S. dulcamara yaprak n-hegzan ekstresi: 25,369 g

S. dulcamara yaprak diklormetan(DKM) ekstresi: 28.75 g

S. dulcamara yaprak etilasetat (EA) ekstresi: 56.47 g

S. dulcamara yaprak metanol ekstresi: 96.44 g

S. dulcamara meyve n-hegzan ekstresi: 1.37 g

S. dulcamara meyve diklormetan (DKM) ekstresi: 8.48 g

S. dulcamara meyve etilasetat (EA) ekstresi: 12.67 g

S. dulcamara meyve metanol ekstresi: 65.93 gramdır.

Bu çalışmada *S. nigrum* bitkisinin bütünüyle (kök, sap, meyve, yaprak) çalışılmıştır. Kurutulan *S.nigrum* bitkisi maserasyon yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyona, n-hegzan ile başlanmış, ardından da bitki kalıntıları polarite artış sırasına göre, eter, etilasetat ve n-butanol ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra çözücüler evaporatörde uçurularak, ham ekstrele ulaşmıştır. Ham ekstre miktarları;

S. nigrum n-hegzan ekstresi: 5.11g

S. nigrum eter ekstresi: 3.45 g

S. nigrum etilasetat ekstresi: 9.61 g

S. nigrum n-butanol ekstresi: 15.97 g

3.2.3. *S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yapraklarında antioksidan aktivite tayini

Bitkinin meyve ve yapraklarının diklormetan ve metanol ekstralarında antioksidan aktivitesi üç farklı yöntemle (β -Karoten, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, CUPRAC metodu) tayin edilmiştir.

3.2.3.1. β -Karoten renk açılım yöntemi

Bu yöntem, β -karotenin renginin açılmasına dayanan bir yöntemdir. Numunelerin ve sentetik antioksidan maddelerin konsantrasyonu 2mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Kontrol çözeltisi ise 1 ml etanol ve 4 ml emülsiyon karışımından oluşur. Her bir örnek ve karşılaştırma için 3 paralel çalışıldı. 1 ml örnek içeren çözeltilerin üzerine 4 mL β -karoten karışımı ilave edildi. Emülsiyon, test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Kontrol olarak 1 mL metanol kullanıldı. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 180dk) inkübasyona devam edildi. β -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t}$$

In: doğal logaritma, *a*: başlangıç absorbansı, *b*: inkübasyondan sonraki absorbans, *t*: inkübasyon süresi (180 dk).

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \times 100$$

$R_{Kontrol}$ kontrolün renginin açılma hızı ve $R_{Örnek}$ örneğin renginin açılma hızıdır.

3.2.3.2. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini

Bitki ekstralarının, fraksiyonların ve saf maddelerin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois, 1958). 0.02 mg/mL ile 0.1 mg/mL arasında

değişen konsantrasyonlardaki 1 mL örnek içeren örneklerin üzerine DPPH çözeltisinden 4 mL ilave edildi. Kontrol olarak 1 mL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.2.3.3. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini

Bu analiz Apak ve ark. (2006) yöntemine göre yapılmıştır. İçerisine sırasıyla Cu(II) klorür çözeltisi, 1.0×10^{-2} M olacak şekilde bakır(II) klorür dihidrat’tan ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.4262 g tartım alınıp su ile 250 mL’ye tamamlanarak hazırlandı. Amonyum asetat (NH_4OAc) tamponu, 1 M (pH=7.0) olacak şekilde NH_4OAc ’dan 19.27 g tartım alınıp su ile 250 mL’ye tamamlanarak hazırlandı. Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) çözeltisi, 7.5×10^{-3} M olacak şekilde 0.039 g tartım alınıp mutlak etil alkolle çözülüp 25 mL’ye tamamlanarak hazırlandı.

Bir deney tüpü içerisine sırasıyla 1 mL 1.0×10^{-2} M Cu(II) klorür çözeltisi, 1 mL 1 M amonyum asetat tampon (pH 7.0) çözeltisi, 1 mL 7.5×10^{-3} M neokuproin çözeltisi ilave edildi. Daha sonra x mL antioksidan çözeltisinden ve son olarak (1.0– x) mL distile su ilave edilerek çözeltiler karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildi. Süre sonunda çözeltilerin içinde örnek bulunmayan referans çözeltiliye karşı 450 nm’deki absorbansları ölçüldü .

3.2.4. *S. nigrum* bitkisinin yağ asidi bileşimi tayini

Bitkinin n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin, cinsi ve miktarının tayini Gaz Kromatografisi cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan Kapiler Gaz Kromatografisine ait özellikler ve çalışma parametreleri aşağıda verilmiştir.

Kapiler gaz kromatografisi	: Agilent Technologies 7890 A
Dedektör	: Alev iyonizasyon dedektörü (FID)
Kolon	: % 88 siyanopropil aril-polisiloksan, silika kapiler kolon HP-88, 100 m x 0.25 mm ID, 0.20 µm film
Sıcaklıklar	: 250/320 °C sıcaklık limiti
Dedektör	: 280°C
Kolon	: 120°C, 1 dk. 10 °C / dk. 175 °C, 10 dk. 5 °C / dk. 210°C, 5 dk. 5 °C / dk. 230 °C, 5 dk.
Enjeksiyon bloğu	: 250°C
Gazlar ;	
Taşıyıcı gaz, Helyum	: 30 ml/dk.
Hava (yüksek saflıkta)	: 450 ml/dk.
Hidrojen	: 40 ml/dk

Elde edilen pikler göreceli çıkış zamanlarına göre tanımlanıp, alanları ise integratör vasıtasıyla her yağ asidinin bütün içindeki oransal niceliği olarak hesaplanarak, kalitatif ve kantitatif olarak analizleri yapılmıştır.

3.2.4.1. *S. nigrum* bitkisinin n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin metil esterlerine dönüştürülmesi

Yağı çıkarılan örnekler, TS 4504 EN ISO 5509 "Hayvansal ve Bitkisel Katı ve Sıvı Yağlar – Yağ Asitleri Metil Esterlerinin Hazırlanması" metoda göre bortriflörür-metanol ile yağ asiti metil esterlerine dönüştürülmüştür. Bunun için 100 mg'lık örnek 20 ml'lik kapaklı bir test tüpüne alındı. 10 ml hegzan ile çözüp, 100 µl 2 N KOH (metanolde çözülmüş) çözeltisi ilave ettikten sonra kapağı kapatılarak 30 sn. boyunca Santrifüj edildi. Berrak olan üst fazdan 2 ml analiz şişesine aktarıldı. Daha sonra cihazın tablasına yerleştirip esterleştirilen örneklerden 1 µl alınarak, Gaz Kromatografisi cihazına enjekte edilerek, yağ asidi bileşimlerini gösteren kromatogramlar alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1. *S. dulcamara* Bitkisinin Meyve ve Yaprağının Diklormetan ve Metanol Ekstrelerinde, Üç Farklı Yöntem ile Antioksidan Aktivite Tayini

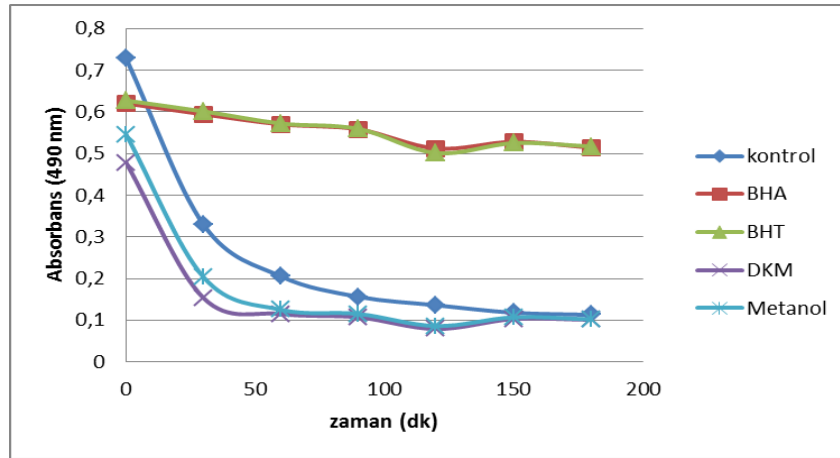
Bu tez çalışmasında, *S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprağının diklormetan ve metanol ekstralarının antioksidan aktivite tayinleri, β -karoten renk açılım metodu, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve Cuprac metodu yöntemleriyle yapıldı.

S. dulcamara bitkisinin meyve ve yaprağının, diklormetan ve metanol ekstralarında antioksidan aktivite tayini ilk kez bu çalışmada incelenmiştir.

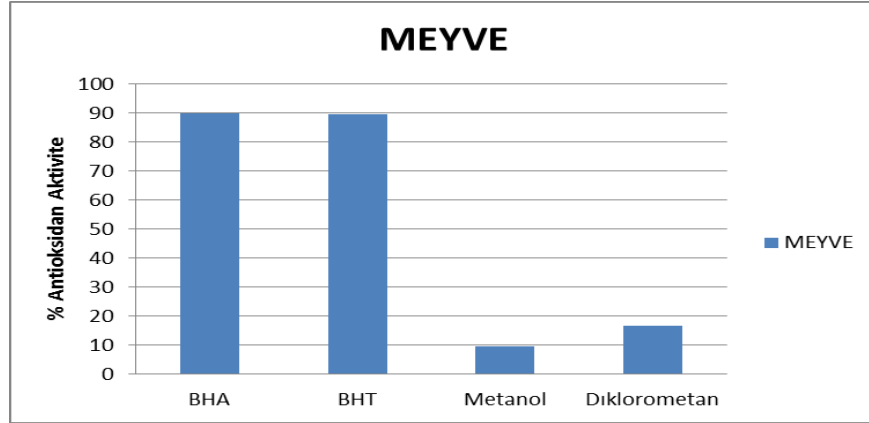
4.1.1. β -Karoten renk açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayin sonuçları

4.1.1.1. Meyve ekstralarının β -karoten renk açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayini sonuçları

S. dulcamara bitkisinin meyve-diklormetan ve metanol ekstralarında, β -karoten- lineoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Çizelge 4.1.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL *S.dulcamara* meyve ekstralarının ve standartlarının zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği.



Şekil 4.2. β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL *S.dulcamara* meyve ekstralarının ve standartların yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği.

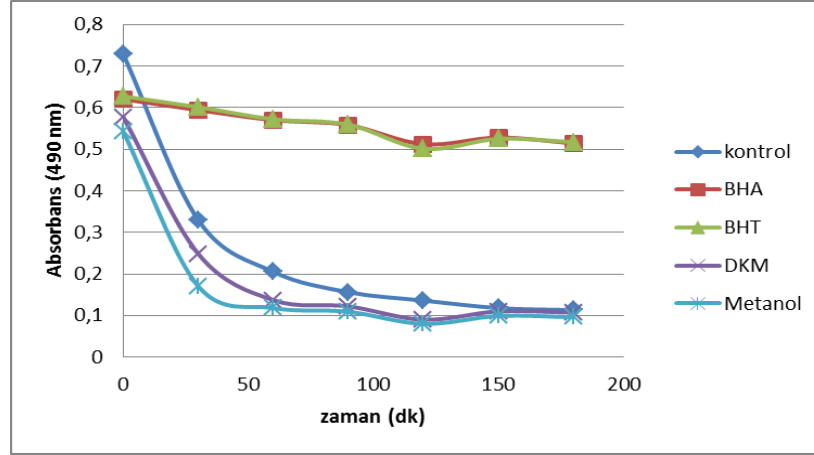
Yapılan β -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde *S. dulcamara*, bitkisinin meyve-DKM ekstresi, metanol ekstresine göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuç bize, meyve-diklorometan ekstresinin daha yüksek antioksidan molekül içerdiği yönde fikir verir.

Çizelge 4.1. *S. dulcamara* meyve ekstraları ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) ilişkin % antioksidan aktivite ve absorban değişim oranları

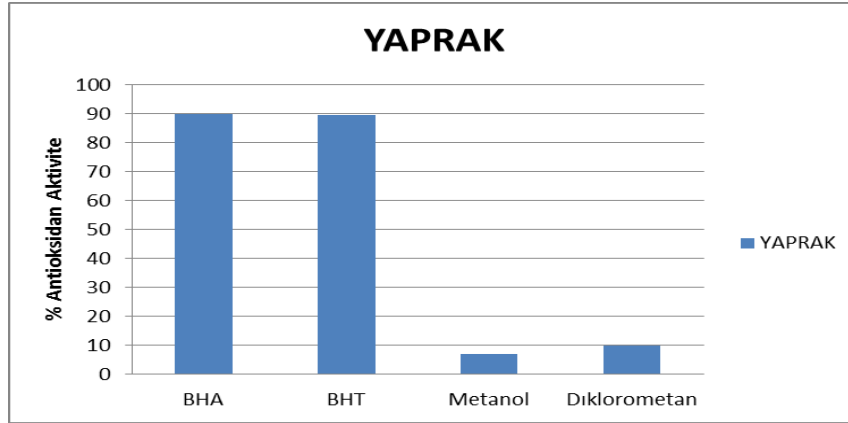
	Absorbans Değişim Oranı	% Antioksidan Aktivite
Kontrol	0,01035	
BHA	0,00104	89,94
BHT	0,001071	89,65
Metanol	0,009445	9,52
Diklorometan	0,008622	16,69

4.1.1.2. Yaprak ekstralarının β -karoten renk açılım yöntemiyle antioksidan aktivite tayini sonuçları

S. dulcamara bitkisinin yaprak-diklorometan ve metanol ekstralarında ekstralarında, β -karoten- lineoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.3., Şekil 4.4. ve Çizelge 4.2.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. β -karoten-lineoleik asit emülsiyon sistemindeki 2 mg/mL *S. dulcamara* yaprak ekstralarının ve standartların zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği.



Şekil 4.4. β -karoten-lineoleik asit emülsiyon sistemindeki 2 mg/mL *S. dulcamara* yaprak ekstralarının ve standartların yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği.

Yapılan β -karoten- lineoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde *S. dulcamara* yaprak-DKM ekstresi, metanol ekstresine göre yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuç bize, yaprak-diklorometan ekstresinin daha yüksek antioksidan molekül içerdiği yönde fikir verir.

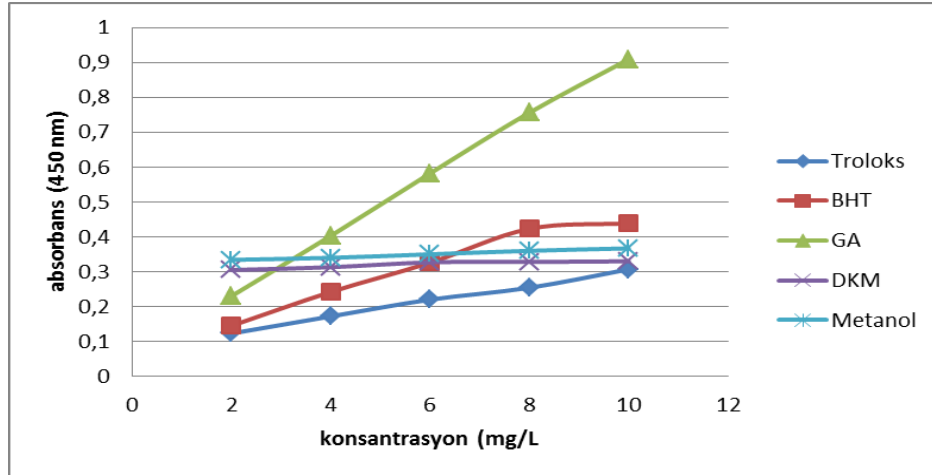
Çizelge 4.2. *S.dulcamara* yaprak ekstraları ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) ilişkin % antioksidan aktivite ve absorban değişim oranları

	Absorbans Değişim Oranı	% Antioksidan Aktivite
Kontrol	0,01035	
BHA	0,00104	89,94
BHT	0,001071	89,65
Metanol	0,009623	7,01
Diklorometan	0,00933	9,85

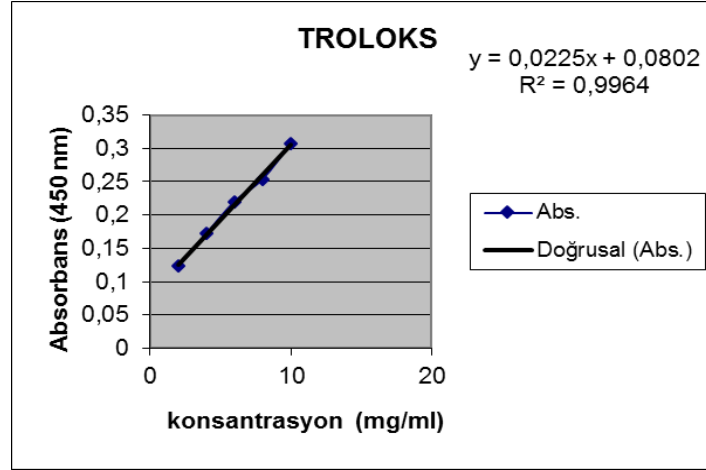
4.1.2. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayin sonuçları

4.1.2.1. Meyve ekstralarının CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayin sonuçları

S. dulcamara bitkisinin meyve-diklorometan ve metanol ekstralarında, CUPRAC metoduna göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.5., Şekil 4.6. ve Çizelge 4.3.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. *S. dulcamara* meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorban (450 nm) grafiği.



Şekil 4.6. Cuprac yöntemi ile elde edilen standart troloksun, meyve için çizilen kalibrasyon grafiği ($\lambda = 450$ nm maksimum).

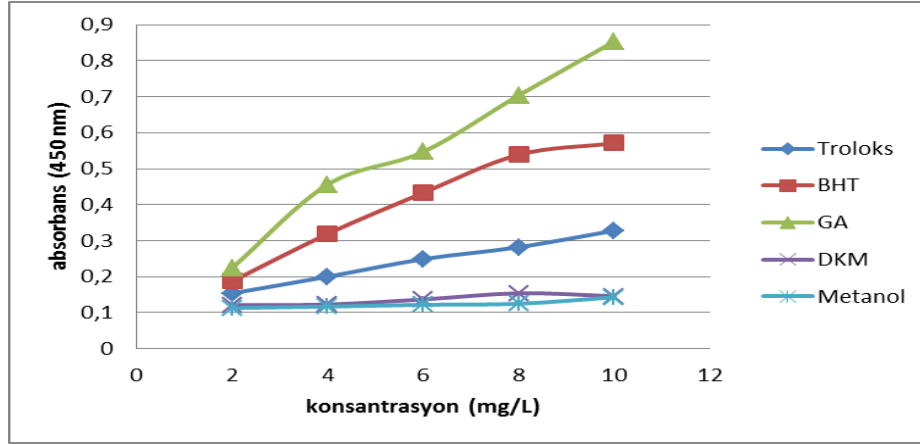
Çizelge 4.3.' te verilen sonuçlara göre *S. dulcamara* bitkisinin, meyve-MeOH ekstresinin, daha fazla kuprik iyonunu, kupröze indirgeyerek troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) miktarının, DKM ekstresine göre yüksek olduğu gözlenmiştir. TEAC değeri ne kadar büyük ise antioksidan aktivitesi o kadar büyüktür.

Çizelge 4.3. *S.dulcamara* meyve ekstralarının, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC_{TEAK} değerleri) karşılaştırılması.

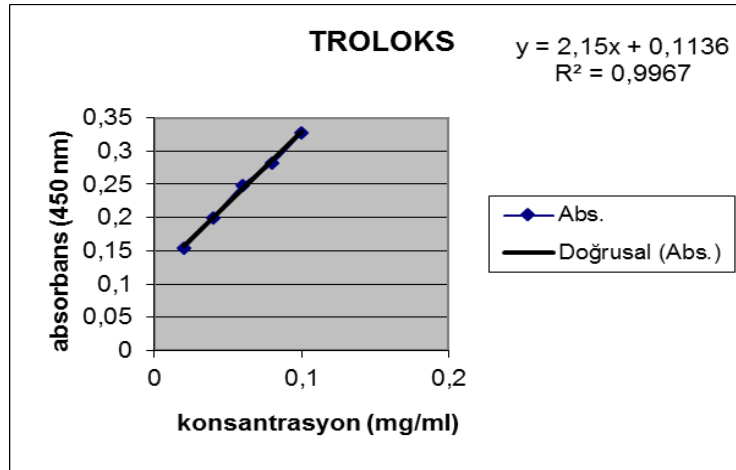
	Troloks	Gallik Asit	BHT	CH ₂ Cl ₂ (DKM)	MeOH
Eğim	0,0225	0,0856	0,0385	0,0033	0,0043
TEAC	1	3,804	1,711	0,146	0,191

4.1.2.2. Yaprak ekstralarının CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayin sonuçları

S. dulcamara bitkisinin yaprak-diklormetan ve metanol ekstralarında, CUPRAC metoduna göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.7., Şekil 4.8. ve Çizelge 4.4.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. *S. dulcamara* yaprak ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbans (450 nm) grafiği.



Şekil 4.8. Cuprac yöntemi ile elde edilen standart troloksun, yaprak için çizilen kalibrasyon grafiği ($\lambda = 450$ nm maksimum).

Çizelge 4.4.' te verilen sonuçlara göre *S. dulcamara*, bitkisinin yaprak-DKM ekstresinin, daha fazla kuprik iyonunu, kupröze indirgeyerek trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) miktarının MeOH ekstresine göre yüksek olduğu gözlenmiştir. TEAC değeri ne kadar büyük ise antioksidan aktivitesi o kadar büyüktür.

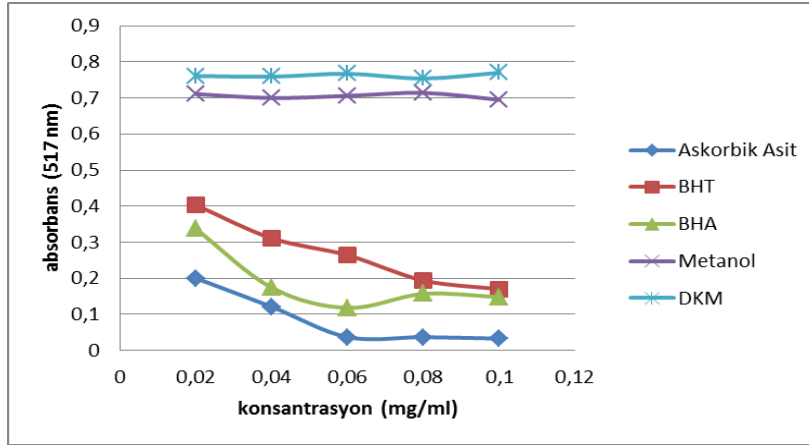
Çizelge 4.4. *S. dulcamara* yaprak ekstrilerinin, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC_{TEAK} değerleri) karşılaştırılması.

	Troloks	BHT	Gallik Asit	CH ₂ Cl ₂ (DKM)	MeOH
Eğim	2,15	4,94	7,54	0,405	0,34
TEAC	1	2,2976	3,5069	0,1883	0,1581

4.1.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla, antioksidan aktivite tayin sonuçları

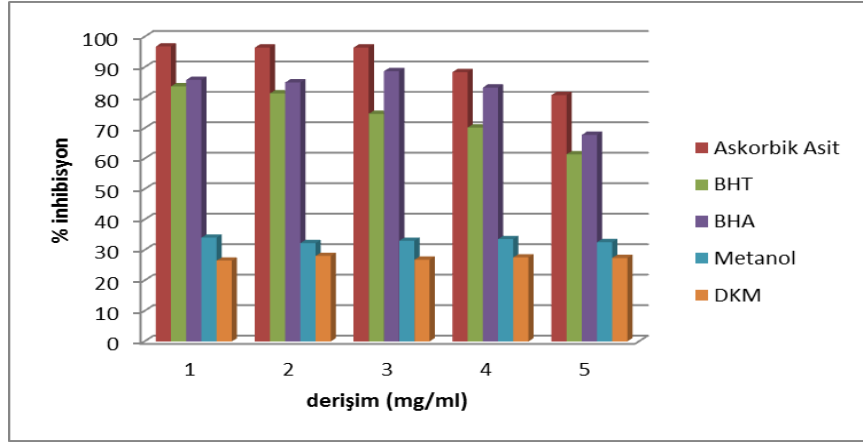
4.1.3.1. Meyve ekstrilerinin DPPH serbest radikali giderim, aktivitesi metoduyla, antioksidan aktivite tayin sonuçları

S. dulcamara bitkisinin meyve-diklormetan ve metanol ekstrilerinde, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi metoduna göre antioksidan aktivite sonuçları; Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Çizelge 4.5' te gösterilmiştir.



Şekil 4.9. *S. dulcamara* meyve ekstrilerinin, konsantrasyona karşı absorbans (517 nm) grafiği.

S. dulcamara meyve-DKM ve MeOH ekstrilerinin, DPPH radikal giderme aktivitesi Şekil 4.9.' da görüldüğü gibi birbirine yakın değerler olmakla birlikte konsantrasyon artışına rağmen fazla değişiklik göstermemiştir.



Şekil 4.10. *S. dulcamara* meyve ekstrelerinin konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği.

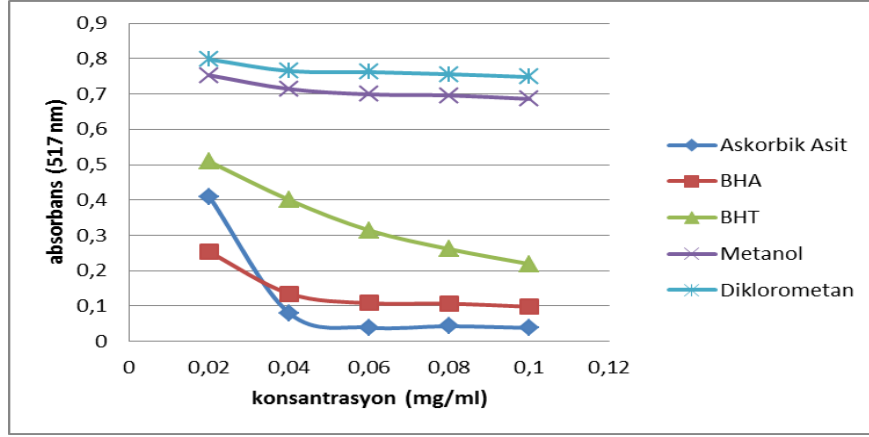
Çizelge 4.5.'deki IC_{50} verileri değeriendirildiğinde birbirine yakın değerieler olmakla birlikte, *Solanum dulcamara* meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlar (Askorbik asit , BHA ve BHT)) arasında en düşük IC_{50} değeriinin Askorbik asit'e ait olduğunu gormekteyiz. Çizelge 4.5.'e göre, bitki meyve ekstrelerinde, DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında, metanol ekstresinin IC_{50} değeri, diklormetan ekstresinden daha düşük olduğu gormelmektedir. Bu sonuç, metanol ekstresinin, diklormetan ekstresine göre daha fazla antioksidan madde içeriğini gormermektedir.

Çizelge 4.5. *S. dulcamara* meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit, BHA ve BHT)) ilişkin IC_{50} değerieleri.

Numuneler	IC_{50} (mg/ml)
Askorbik Asit	0,1
BHA	0,1685
BHT	0,2015
Metanol	0,3570
Diklorometan	0,3850

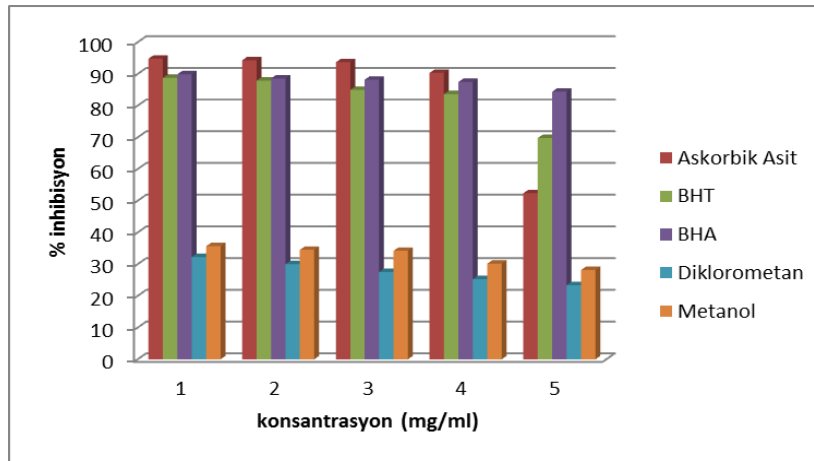
4.1.3.2. Yaprak ekstrlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayin sonuçları

S. dulcamara bitkisinin yaprak-diklorometan ve metanol ekstrlerinde, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi metoduna göre antioksidan aktivite sonuçları; Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Çizelge 4.6' da gösterilmiştir.



Şekil 4.11. *S. dulcamara* yaprak ekstrlerinin, konsantrasyona karşı absorbands (517 nm) grafiği.

S. dulcamara yaprak-DKM ve metanol ekstrlerinin DPPH radikal giderme aktivitesi Şekil 4.11'de görüldüğü gibi az da olsa, konsantrasyon ile ters orantılı olarak azaldığı görülmektedir.



Şekil 4.12. *S. dulcamara* yaprak ekstrlerinin konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği.

Çizelge 4.6.'daki IC₅₀ verileri değerlendirildiğinde birbirine yakın değerler olmakla birlikte *S. dulcamara* yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlar (Askorbik asit, BHA ve BHT) arasında en düşük IC₅₀ değerinin BHA'a ait olduğunu görmekteyiz. Çizelge 4.6.'ya göre, bitki yaprak ekstrelerinde, DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında, metanol ekstresinin IC₅₀ değeri, diklormetan ekstresinden daha düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuç, metanol ekstresinin, diklormetan ekstresine göre daha fazla antioksidan madde içeriğini göstermektedir.

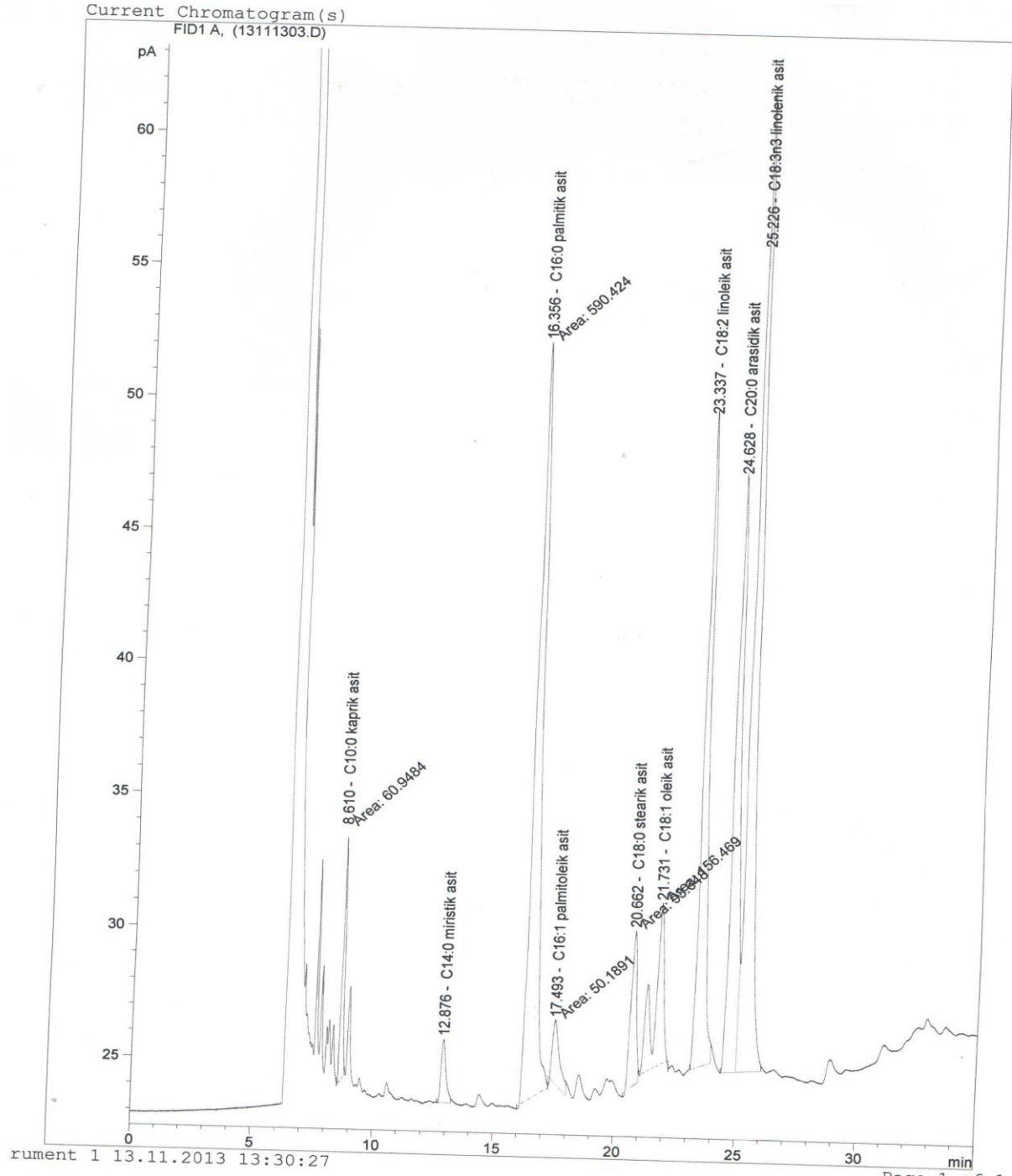
Çizelge 4.6. *S.dulcamara* yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit, BHA ve BHT)) ilişkin IC₅₀ değerleri.

Numuneler	IC ₅₀ DEĞERLERİ (mg/ml)
Askorbik Asit	0,205
BHT	0,2546
BHA	0,1268
Metanol	0,3565
Diklorometan	0,399

Aynı zamanda Çizelge 4.5. ve Çizelge 4.6.'de verilen IC₅₀ parametre değerleri birbiriyle kıyaslandığında *S. dulcamara* meyve ve yaprak ekstrelerinin sentetik antioksidanlara kıyasla daha düşük DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi sergiledikleri görülmektedir.

4.2. *S. nigrum* Bitkisinin Yağ Asidi Kompozisyonunun Tayin sonuçları

Bu çalışmada *S. nigrum* bitkisinin bütünüyle (kök, sap, meyve, yapra) çalışılmıştır. *S. nigrum* bitkisinin n-hegzan ekstresi, Kapiler Gaz Kromatografisi cihazına verildikten sonra elde edilen kromatogram Şekil 4.13.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. *S. nigrum* n- hegzan ekstresine ait GC-kromatogramı

Çizelge 4.7. *S. nigrum* n-hegzan estresinin yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ Asitleri	% miktar	Alıkonma Zamanı
C 6:0	-	-
C 8:0	-	-
C 10:0 Kaproik Asit	2,46	8,61
C 12:0	-	-
C 14:0 Mistrik Asit	1,36	12,88
C 16:0 Palmitik Asit	23,85	16,36
C 17:0	-	-
C 18:0 Stearik Asit	3,78	20,66
C 20:0 Araşidik Asit	16,43	24,63
C 22:0	-	-
C 24:0	-	-
Σ SFA*	47,88	
C 14:1	-	-
C 16:1 Palmitoleik Asit	2,03	17,49
C 18:1 Oleik Asit	6,32	21,73
C 20:1	-	-
Σ MUFA**	8,35	
C 18:2 Linoleik Asit	16,21	23,34
C 18:3 Linolenik Asit	27,55	25,23
Σ PUFA***	43,76	
<p>*SFA: Doymuş yağ asitleri **MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri ***PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri</p>		

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Antioksidan aktivite tayin sonuçlarına göre; β -Karoten renk açılım yöntemi kullanılarak yapılan uygulamada, meyvenin her iki ekstresinin, yaprak ekstrelerinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. CUPRAC metoduyla yapılan aktivite sonuçlarına bakıldığında, meyvenin metanol ekstresinin, yaprağın diklormetan ekstresinin antioksidan kapasitesi bakımından daha zengin olduğu gözlenmiştir. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla yapılan antioksidan aktivite sonuçlarında ise, bitkinin hem meyve, hemde yaprak diklormetan / metanol ekstrelerinin eşdeğer minimum inhibisyon konsantrasyonu gösterdiği, yani antioksidan kapasitesi bakımından eşdeğer olduğu bulunmuştur. Uygulanan üç farklı yöntemdeki referans maddelerin antioksidan kapasiteleri, *S. dulcamara* bitkisinin, meyve ve yaprağının, diklormetan / metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesinden, daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğuda araştırma bulguları arasındadır.

Solanaceae familyasında yapılan biyolojik aktivite çalışmalarına göre; Mimica-Dukic ve arkadaşları (2005), *S. dulcamara* ve *S. nigrum* bitkilerinin kurutulmuş yaprak ekstrelerinde, toplam flavonoid ve toplam alkolid içeriğini araştırmışlardır. Bunun yanında, bu bitkilerin yapraklarında yapılan antioksidan aktivite sonuçlarına göre, her iki bitkininde doğal bir antioksidan bitki türü olarak gösterilebileceğini açıklamışlardır. Abas ve ark. (2006) Malaysian Malays' daki *Pithecellobium confertum*, *Solanum torvum*, *S. nigrum*, *Pandanus amaryllifolius* gibi 12 tane bitkide antioksidan aktiviteyi araştırmışlardır. Sonuç olarak, *P. confertum*, *S. torvum* ve *P. amaryllifolius* bitkisinin antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. *Solanum torvum* swartz bitkisinin meyvesindeki, fenolik bileşikler, antidiyabetik ve antioksidan aktiviteler incelendiğinde, meyvenin doğal bir antidiyabetik ve antioksidan ilaç olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir (Gandhi ve ark. 2011).

Antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için birçok yöntem kullanılmaktadır (Albayrak S ve ark. 2010). Sonuç olarak, farklı analiz yöntemleri antioksidan aktivite hakkında özgün fakat sınırlı bilgi vermektedirler. Bu nedenle analiz tekniklerinin gücü ve sınırlamaları onların en fazla uygulanabilir oldukları durumları belirler. Bu nedenle antioksidan aktivite tayinlerinde uygun referans maddesinin seçimi, oksitlenebilen maddenin ve oksidasyon koşullarının seçimi, ölçülen parametrenin ne olduğu, analizin hızı, duyarlılığı, uygulanabilirliği ve gereken aygıtların temin edilebilirliği dikkate alınması gereken parametrelerdir. Bir örneğin değişik antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri arasında bir korelasyon olma zorunluluğu

yoktur (Ardağ A 2008). Bu nedenle farklı yöntemlerin kullanılması ve sonuçların birlikte değerlendirilmesi daha uygun olacaktır (Albayrak S ve ark. 2010).

S. nigrum bitkisinin n-hegzan ekstresindeki majör yağ asidi bileşimi C 18:3 linolenik asit (% 27.55), C 16:0 palmitik asit (%23.85), C 20:0 araşidik asit (%16.43) ve C 18:2 linoleik asit (%16.21) olarak, minör yağ asidi bileşimi ise C 14:0 mistrik asit (%1.36), C 16:1 palmitoleik asit (%2.03), C 10:0 kaprik asit (%2.46), C 18:0 stearik asit (%3.78) ve C 18:1 oleik asit (%6.32) olarak tespit edildi.

Yapılan çalışmalar ile Solanaceae familyasındaki, beş cins üzerinde yapılan çalışmada, bitkilerin çekirdek yağları araştırılmış ve palmitik asit, oleik asit ve linoleik asidin çalışılan tüm türlerde temel bileşenler olduğu gözlenmiştir (Maestri ve ark. 1995). Arjantin'de yetiştirilen 19 *Solanum* türünün yapraklarındaki, yağ asidi kompozisyonunu gaz-sıvı kromatografisi ile incelenmiş ve incelenen türlerin yüksek oranda linolenik, palmitik ve oleik asit içerdiği bulunmuştur (Maestri ve ark. 1994). *Brunfelsia uniflora* (Solanaceae) tohumlarının % 30.5 oranında yağ içerdiği, yağın IR spektrofotometresi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile yapılan analiz sonucunda bileşenlerinin; %75.5 linoleik asit, %11.8 oleik asit, %7.25 palmitik asit ve az miktarda da risinoleik asit (% 0.52) içerdiği saptanmıştır (Maestri ve ark. 1995). Dhellot ve ark. (2006), *S. nigrum* tohumlarını, üç farklı yöntemle ekstrakte etmişlerdir (Soxhlet, Bligh and Dyer, and Folch). *S. nigrum* tohum yağının yağ asidi kompozisyonunda, linoleik asit içeriğinin % 67.9 ve diğer önemli yağ asitlerinin de % 4,6 stearik, %10,19 palmitik ve %16 oleik asit olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre, *S. nigrum* bitkisinin n-hegzan ekstresindeki toplam yağ asitlerinin %47.88 ini doymuş yağ asitleri ve %52,11 ini doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, *S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprak ekstrelerindeki antioksidan aktivite tayini ilk defa bu çalışmayla literatüre sunulmuştur. Bu bağlamda bu çalışma, antioksidan konsantrasyonu yüksek olan, yeni doğal antioksidan kaynağı olabilecek bitkilerin tayinine ışık tutmaktadır. Gıda sektöründe ve koruyucu tıpta antioksidan ürünler üretilmesi konusunda yol gösterici bir çalışma olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Türkiye'de yetişen *Solanum* türlerinin, kemotaksonomik bakımdan değerlendirilmesine katkı sağlanacağı gibi içerdiği yağ asitlerinin cinsi ve miktarının tayini ile de Organik Kimya bilimine katkı sağlanacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abas F, Lajis NH, Israf DA, Khozirah S, Kalsom YU (2006). Antioxidant and Nitric Oxide Inhibition Activities of Selected Malay Traditional Vegetables, *Food Chemistry*,95,566–573.
- Ak T (2006). Curcuminin Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Albanes D, Heinone OP, Taylor PR ve ark. (1996). Alpha-tocopherol and Beta-carotene Supplements and Lung Cancer Incidence In The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study: Effects of -Bowen P, Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C, Sharifi R, Ghosh L, Kim HS, Christov-Tzelkov K, van Breemen R (2002).
- Albayrak S, Sağdıç O, Aksoy A (2010). Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(4):401-409 .
- Al-Fatimi M, Wurster M, Schröder G, Lindequist U (2007). Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Selected Medicinal Plants From Yemen, *Journal of Ethnopharmacology*,111, 657–666.
- Altuğ T (2001). Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, Bornova İzmir.
- Ames BM, Shigena MK, Hagen TM (1993). Oxidants, Antioxidantlar and The Degenerative Diseases of Ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, 7915-7922.
- Amin I, SH (2002). Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds, *Mal J nutr*, 8:2 167-177.
- Anonymous (2004). Fatty acids. www.pjonline.com (Ulaşım: 6 Mart 2006)
- Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir SE (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index For Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *J Agric Food Chem*, 52, 7970-7981.
- Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Bektaşoğlu, Ber KI, Özyurt D (2007). Comparative Evaluation of Varius Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds With the Cuprac Assay. *Molecules*, 12,1496-1547.
- Ardağ A (2008). Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Anabilim Dalı, Aydın.

- Arulmozhi V, Krishnaveni M, Karthishwaran K (2010). Antioxidant and Antihyperlipidemic Effect of *Solanum nigrum* Fruit Extract on the Experimental Model Against Chronic Ethanol Toxicity, *Pharmacognosy Magazine*, 6(21), 42-50.
- Atalay İ (2006). Gıda Paketleme Malzemelerinde Uçucu Organik Bileşiklerin Gaz Kromatografi ile Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Bursa.
- Baydar H (2000). Bitkilerde Yağ Sentezi, Kalitesi ve Kaliteyi Artırmada Islahın Önemi, *Ekin Dergisi*, 11: 50-57.
- Baytop A (1971). Trakya ve İstanbul Çevresi Bitkileri Üzerinde Sistemik Araştırmalar II. Solanaceae.
- Baytop T (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:1039.
- Bingöl G (1976). Yağ Asitleri, Lipidler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, Sayfa 6-11.
- Bitkisel Ürünler ve Sağlık: Bilimsel Çerçeve ve Etik Açısından Yaklaşım (2012). Türk Tabipleri Birliği Merkez Konseyi, Ankara.
- Blois MS (1958). Antioxidant Determinations by The Use of a Stable Free Radical, *Nature*, 26, 1199-1200.
- Burak M, Çimen Y (1999). Flavonoidler ve Antioksidan Özellikler. *Journal of Medical Sciences* 19-5.
- Büyüktuncel E (2013). Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler, *Cilt 17, Sayı 2, Sayfa (093-103)*.
- Cansever E (2006). Tissue Culture and Evaluation of Biological Activity of *Solanum dulcamara* L., a Medicinal Plant, Master Thesis, The Graduated School of Natural and Applied Sciences of the Abant İzzet Baysal University, Bolu.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T (1998). Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence. *Office Journal of the Turkish Nephrology, Association*, 2-4: 92-95.
- Çevre Kimyası Laboratuvarı Dersi- I.Dönem 2012, Kromatografik Yöntemler, Çevre Mühendisliği Bölümü Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry* 81, 249-255.
- Dhellot JR, Matouba E, Maloumbi MG (2006). Extraction and Nutritional Properties of *Solanum nigrum* L. Seed Oil, *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 987-991.

- Dragsted LO, Strube M and Larsen JC (1993). Cancer-Protective Factors in Fruits and Vegetables: Biochemical Background. *Pharmacol. Toxicol.*, 72, 116-135.
- Elitok E (1996). Et Teknolojisinde Antioksidantların Kullanımı. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Semineri, Ankara.
- Ertaş H (2008). Kimyagerler Derneği, GC-MS Eğitim Kursu Notları.
- Eryiğit F (2006). *Mentha pulegium* L. ve *Salvia tomentosa* Miller Bitkilerinin Metanol Özütlelerinin in Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Floyd R (1990). Role of Oxygen Free Radicals in Carcinogenesis and Brain Ischemia *Faseb J.* 4, 2587-2597.
- Frankel EN (1980). Lipid Oxidation *Prog. Lipid Res.*, 19, 1-22.
- Fridovich M (1976). In *Free Radical In Biology*: Pryor, W.A. Ed; Academic; Newyork Vol 1, 239-271.
- Fukumoto LR, Mazza G (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48: 3597-3604.
- Gandhi GR, Ignacimuthu S, Paulraj MG (2011). *Solanum Torvum* Swartz Fruit Containing Phenolic Compounds Shows Antidiabetic and Antioxidant Effects in Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2725-2733.
- Gökçalp HY, Çakmakçı S (1992). Gıdalarda Kısa Oksidasyon: Antioksidantlar ve Gıda Sanayinde Kullanımları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergi*, 23(2), 174-192.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989). *Free Radicals In Biology and Medicine* Clarendon Press Oxford Antioxidants: A Personal View. *Nutr. Rev.*, 52, 253-265
- Halliwell B (1994). *Free Radicals and Antioxidants: A Personal View*. *Nutr. Rev.*, 52., 253-265
- Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB (1992). Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed In the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 2379-2383
- <http://obs.iszu.edu.tr/dosyalar/DersMateryal/nmr.docx>
- <http://wikipedia.org/wiki/likopen>
- http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini
- Hudson BJB (1990). *Food Antioxidants* Elsevier Applied Science, London and Newyork, 1-316

- Jimoh FO, Adedapo AA, Afolayan AJ (2010). Comparison of the Nutritional Value and Biological Activities of the Acetone, Methanol and Water Extracts of the Leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*, Food and Chemical Toxicology, 48(3), 964-971.
- Kabouche A, Kabouche Z, Ozturk M, Kolak U, Topcu G (2007). Antioxidant Abietane from *Salvia Barrelieri*, Food Chem, 102,1281-1287.
- Karaca E, Aytaç S (2007). Yağ Bitkilerinde Yağ Asitleri Kompozisyonu Üzerine Etki Eden Faktörler, OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 22(1):123-131.
- Kaya Y, Duyar HA, Erdem ME (2004). Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi.
- Kayahan M (1998). Lipitler, Gıda Kimyası, İ. Saklamlı (Ed), Hacettepe Üniversitesi Basımevi, 5275, Ankara.
- Kayahan M (2003). Yağ Kimyası, ODTÜ Yayıncılık.
- Kayalı R, Çakatay U (2004). Basic Mechanisms of Protein Oxidation. Cerrahpaşa Tıp Dergisi,35 (2) : 83-89.
- Kogure K, Fukuzawa K, Kawano H, Tereda H (1993). Spermine Accelerates Iron- Induced Lipit Peroxidation In Mitochondria by Modification of Membrane.
- Koleva II, Van Beek RA, Linssen JPH, De Groot A, Evstatieva LN (2002). Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparison Study On Three Testing Methods. Phytochemical Analysis 13: 8-17.
- Konukoğlu D (2008). Omega-3 ve Omega-6 Yağ Asitlerinin Özellikleri, Etkileri ve Kardiyovasküler Hastalıklar ile İlişkileri, Türk Aile Hek. Derg. ,12(3):121-129.
- Kulisic (2004). Antioxidant Properties of Thyme (*Thyme vulgaris L.*) And Wild Thyme (*Thyme serpyllum L.*) Essential Oils, Italian Journal of Food Science 17(3):315-324.
- Kumar P, Sharma B, Baksı N (2009). Biological Activity of Alkaloids From *Solanum dulcamara L.*, Natural Product Research, 23(8), 719-723.
- Kümeli (2006). Yağlar. www. taylankumeli.com (Ulaşım:06.03.2006)
- Larson RA (1988). The Antioxidants of Higer plants. Pytochemistry, 27 (4), 969-978.
- Lu Y, Food LY (2001). Antioxidant Activities of Polyphenols From Sage. Food Chem., 75, 197-202.
- Lucini EI, Grosso NR, Lamarque AL (1994). Seed Lipid Components of *Solanum-Argentinum*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42(12), 2743-2745.

- Maestri DM, Guzman CA (1992). Alkane and Fatty-Acid Composition of Leave Waxes From Species of the Tribes *Nicotianeae* and *Salpiglossideae* (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 80(6), 445-451.
- Maestri DM, Lamarque AL, Zygadlo JA (1994). Leaf Fatty-Acids in *Solanum* (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 82(5), 347-353.
- Maestri DM, Guzman CA (1995). A Comparative-Study of Seed Lipid Components of *Nicotianeae* (Solanaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(2), 201-207.
- Maestri DM, Guzman CA (1995). Fatty-Acid Composition of *Brunfelsia-Uniflora* (Solanaceae) Seed Oil, *Grasas Y Aceites*, 46(2), 96-97.
- Mavi A (2005). İnsan Eritrosit ve Lokositlerinden Süperoksit Dismutaz Enzim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 52-53.
- Mccord (1969), Michelson (1977), Aruoma (1993). Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidant In Human Health And Disease. Aruoma- Journal of the American Oil Chemists Society, 198 – Springer 199-212.
- M.E.B. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi 2008, Yağlar ve Yağ Analizleri, Kimya Teknolojisi, Ankara, 28-36.
- Miller AL (1996). Antioxidant Flavonoids Structure, Function and Clinical Usage, *Alternative Medicine Review*, 1, 103-111.
- Mimica-Dukic N, Krstic L, Boza P (2005). Effect of *Solanum* Species (*Solanum nigrum* L. and *Solanum dulcamara* L.) on Lipid Peroxidation in Lecithin Liposome, *Oxidation Communications* 28(3),536-546.
- Molynex P (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarın Journal of Science Technology*. 26 (2):211-219.
- Mukhopadhyay M (2000). *Naturel Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*, CRC Press.
- Namiki, Pokorny (1991). Antioxidants Antimutagens in Food *Critical Reviews in Food Science, Nutrition*, 29, 273-300.
- Nas S, Gökalp YH, Ünsal M (2001). Bitkisel Yağ Teknolojisi, Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası, 322.
- Nguelefack TB, Feumebo CB, Ateufack G, Watcho P, Tatsimo S, Atsamo AD, Tane P, Kamanyi A (2008). Anti-Ulcerogenic Properties of the Aqueous and Methanol Extracts From the Leaves of *Solanum torvum Swartz*(Solanaceae) In Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1).

- Nisihina A, Kuboto K, Kameoka H, Osawa T (1991). Antioxidizing Component Musizini In Rumex Japanese Houtt J, Am. Oil. Chem. Soc., 68, 7535-739.
- Othman A, Ismail A, Ghani NA, Adenan I (2007). Antioxidant Capacity and Phenolic Content Of Cocoa Beans. Food Chemistry 100: 1523-1530.
- Özçelik ve ark. (2003). Oxidant And Antioxidant Status Of Cadmium Administered Rats, Journal De Physique 107: 1309-1312.
- Özdemir N, Denkbaş EB (2003). Hayat veren yağlar:Omega yağları. Bilim ve Teknik Dergisi, 78-80
- Papas AM (1993). Oil-soluble antioxidantsin foods. Toxicol. Ind. Health,9, 123-149.
- Papas AM (1996). Determinants Of Antioxidant Status In Humans. Lipits, 31, 77-82.
- Pratt DE, Hudson BJB (1990). Natural antioxidants Not Exploited Commercially In Food Antioxidants, Amsterdam, 17-192.
- Ramarathman N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S (1988). Chemical Studies On Novel Rice Hull Antioxidants. Isolation, Fractionation And Partial Characterization. J. agric. Food Chem., 36, 732-737.
- Sabir SM, Rocha JBT (2008). Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Aqueous Extract of *Solanum fastigiatum* (false "Jurubeba") Against Paracetamol-Induced Liver Damage in Mice, Journal of Ethnopharmacology, 120(2), 226-232.
- Sancaktaroglu S, Bayram E, (2011). Farklı Kökenli İstanbul Kekiği (*Origanum vulgare subsp. hirtum L.*) Populasyonlarında Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar1, Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 48 (3): 265-276.
- Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F (1998). A Procedure To Measure The Antiradical Efficiency Of Polyphenols, Journal of Science Food Agriculture, 76, 270-276.
- Senkoylu N (2001). Yemlik Yağlar, Trakya Ün. Ziraat Fak. Yay.
- Surai PF, Ionov IA, Kuchmistova EF, Noble RC, Speake BK (1998). The Relationship Between The Levels Of α -tocopherol And Carotenoids In The Maternal Feed, Yolk And Neonatal Tissues: Comparison The Chicken, Turkey, Duck and goose. J. Sci. Food Agric., 76, 593-598.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M (1998). Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları No:78, Ankara.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M (2007). Solanaceae, Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 296-301.

Traditional Medicine. http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/. 21.7.2012.

Tunón H, Olavsdotter C, Bohlin L (1995). Evaluation Of Anti-Inflammatory Activity of Some Swedish Medicinal Plants. Inhibition of Prostaglandin Biosynthesis and PAF-Induced Exocytosis, *Journal of Ethnopharmacolog*,48,61-76.

Turker AU, Usta C (2008). Biological Screening of Some Turkish Medicinal Plant Extracts for Antimicrobial and Toxicity Activities, *Natural Product Research*, 22(2), 136-146.

Uygur FN, Koch W, Walter H (1986). Çukurova Bölgesi Buğday-Pamuk Ekim Sistemindeki Önemli Yabancı Otların Tanımı. *PLTS* 4(1). Josef Margraf, Aichtal.

Yanishlieva N, Gordon M (2001). *Antioxidants In Food*, CRC Press, USA.

Zygadlo JA, Guzman CA (1994). Seed Oils in Some Species of *Cyphomandra* (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 82(1), 65-69.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Tekirdağ'da doğdu. 2001 yılında Hisar İlköğretim Okulu'ndan, 2005 yılında Hayrabolu Anadolu Lisesi'den mezun oldu. 2005 yılında Ege Üniversitesi Kimya Bölümü'nü kazandı. Trakya Birlik Entegre Tesisleri'nde bitkisel yağlar üzerine 2008 yılında stajını yaparak 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde formasyon dersleri almaya başladı ve 2010 yılında tezsiz yüksek lisansını tamamladı. Okuldan mezun olduktan sonra ayakkabı boyası üreten bir firmanın kalite kontrol departmanında Kalite Kontrol Sorumlusu olarak işe başladı. 2011 yılında firmadan ayrılarak matbaa mürekkepleri üreten başka bir firmanın ar-ge ve kalite kontrol departmanına Ar-Ge ve Kalite Kontrol Analisti olarak geçti. İş hayatının yanında 2012 yılının Şubat ayında Namık Kemal Üniversitesi Organik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına kabul edildi. Halen aynı firmada Ar-Ge Sorumlusu olarak görev almaktadır.