

**TRAKYA BÖLGESİNDE YETİŞEN *Solanum dulcamara* L.  
(SOLANACEAE) BİTKİSİNİN YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ VE  
HEGZAN / ETİLASETAT EKSTRELERİNİN ANTiOKSİDAN  
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**Tarık ORTAKÖY  
Yüksek Lisans Tezi  
Kimya Anabilim Dalı  
Danışman : Doç. Dr. Temine ŞABUDAK  
2013**

**T.C**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TRAKYA BÖLGESİNDE YETİŞEN *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE)  
BİTKİSİNİN YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ VE HEGZAN / ETİLASETAT  
EKSTRELERİNİN ANTiOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**Tarık ORTAKÖY**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**Danışman : Doç. Dr. Temine ŞABUDAK**

**TEKİRDAĞ-2013**

**Her hakkı saklıdır**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TRAKYA BÖLGESİNDE YETİŞEN *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE) BİTKİSİNİN YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ VE HEGZAN / ETİLASETAT EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ.

Tarik ORTAKÖY

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Temine ŞABUDAK

Bu çalışma ile, Trakya bölgesinde yetişen, *Solanum dulcamara* (Solanaceae) bitkisinin yağ asitleri tayini ile bitkinin yaprak ve meyvelerinin n-hegzan ve etilasetat ekstralarının üç farklı yöntemle ( $\beta$ -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. *Solanum dulcamara* bitkisi meyve ve yapraklarına ayrılarak, her iki bitki kısmı, ayrı ayrı, n-hegzan ve etilasetat ile maserasyon yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir.

*S. dulcamara* meyve n-hegzan ekstresinde temel yağ asitleri, C 18:1 oleik asit (% 27.46), C 18:2 linoleik asit (%21.50), C 16:0 palmitik asit (%20.37) olarak tespit edildi. *S.dulcamara* yaprak n-hegzan estresinde temel yağ asitleri ise ; C 18:3 linoleik asit (%37.71), C 20:0 Araşidik asit (15.20), C 16:0 palmitik asit (10.88), C 18:2 linoleik asit (10.56), olarak tespit edildi.

Ayrıca, yaprak ve meyvelerden hazırlanan n-hegzan ve etilasetat ekstralarının üç farklı yöntemle ( $\beta$ -karoten-Linoleik asit, DPPH serbest radikali giderimi ve CUPRAC) antioksidan aktivitesinin tayini yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, meyve ekstralarının yaprak ekstralarından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bunun yanında, yapılan üç yöntemde de, bitkinin meyve-etilasetat ekstresinin, meyve-n-hegzan ekstresinden daha yüksek antioksidan aktivite değeri gösterdiği de bulunan sonuçlar arasındadır. Uygulanan üç farklı yöntemdeki referans maddelerin antioksidan kapasiteleri, *Solanum dulcamara* bitkisinin, meyve ve yaprağının, etilasetat ve n-hegzan ekstresinin antioksidan aktivitesinden, daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma ile, *S. dulcamara* meyvelerinin, n-hegzan ve etilasetat ekstralarının, antioksidan aktivite tayini ve *S.dulcamara* bitkisinin yağ asidi bileşiminin tayini ilk defa bu çalışma ile literatüre sunulmuş olacaktır. Ayrıca, *Solanum dulcamara* bitkisinin yağ asidi bileşiminin tayini, bu familyadaki bitkilerin kemotaksonomik bakımdan değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Solanaceae, *Solanum dulcamara*, antioksidan aktivite, yağ asidi, lipid.

2013, 94 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION OF FATTY ACIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HEXAN / ETHYL ACETATE EXTRACTS OF *Solanum dulcamara* L. (SOLANACEAE) WHICH IS GROWN IN THRACE REGION

Tarık ORTAKOY

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

Supervisor : Assoc. Prof. Dr.Temine SABUDAK

The contents of fatty acids of *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in this study. However, The antioxidant activity of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) was investigated by  $\beta$ -carotene bleaching method, (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DPPH free radical scavenging activity and CUPRAC methods.

Plants were collected from Edirne-Söğütlük in July and August 2012, later it were separated to the fruit and leaves. The air dried plant parts (fruit and leaves) were macerated with n-hexane in room temperature. The solvent will be evaporated under vacuum. The residue were be extracted by dichloromethane, ethyl acetate and metanol, respectively.

The major fatty acids were C 18:1 oleic acid (% 27.46), C 18:2 linoleic acid (%21.50) ve C 16:0 palmitic acid (%20.37) in the n-hexane extracts of fruits of *Solanum dulcamara*. The major fatty acids were C 18:3 linoleic acid (%37.71) and C 20:0 arasidic acid (%15.20) in the n-hexane extracts of leaves of *Solanum dulcamara*.

Three methods ( $\beta$ - carotene bleaching method, DPPH free radical scavenging activity and CUPRAC methods) were used to determine antioxidant potential of the n-hexane and etylacetat extracts of fruits and leaves of *Solanum dulcamara* (Solanaceae). The according to obtained results, fruit extracts of *Solanum dulcamara* were found to be higher antioxidant activity than the leave extracts of *Solanum dulcamara*. Addition, fruit-etylacetat extract of the plant showed higher antioxidant activity than fruit-n-hexane extract of the plant in applied to the three methods.

The antioxidant activity and contents of fatty acids of *Solanum dulcamara* are presented for the first time in this study. As a result of this work, it is contributed to the assessment of the ways chemotaxonomically of plants in this family.

**Key Words** : Solanaceae, *Solanum dulcamara*, antioxidant activity, fatty acid, lipid.

2013, 94 pages

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmamın planlanması ve yürütülmesi süresince bana destek verip bilgi, tecrübe ve hoşgörülerini esirgemeyen çok değerli hocam sayın Doç. Dr. Temine ŞABUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Muratlı Meslek Yüksek Okulu'nda görev yapan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ayşe AFACAN'a çalışmalarımda yardımcı olduğu için, Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalında görev yapan Yrd. Doç. Dr. Necmettin GÜLER'e bitkimizin teşhisinde yardımcı olduğu için, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na NKUBAP.00.10.AR.12.13 numaralı proje çalışmamıza destek oldukları için, 'Trakya Birlik Entegre Tesisler' Laboratuvar Şefi değerli arkadaşım Onur AY'a bitkimizin hegzan ekstralarının GC analizinde yaptığı yardımları için, çalışmam süresince yardımını esirgemeyen arkadaşım Gizem KIYAK'a ve çalışmamda katkısı olan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak, tüm eğitim yaşamım boyunca maddi ve manevi her zaman yanımda olup desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
TBHQ	Tersiyer bütül hidrokinon
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
G	Gram
GC	Gaz Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektroskopisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
M	Molar
Mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	milimolar
mV	milivolt
MS	Kütle Spektroskopisi
MTHK	Monoterpen hidrokarbon
Mg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
pKa	asit ayrışma sabiti (-) logaritması
nm	nanometre
RI	Retention index
TEAC	troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
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 .....	5
2.1.3. <i>Solanum dulcamara</i> türünün genel özellikleri .....	5
2.1.4. Trakya bölgesindeki <i>S.dulcamara</i> türü .....	7
2.2. Solanaceae Familyasındaki Bitkilerde, Yağ asitleri ve Antioksidan Aktivite Tayiniyle İlgili Yapılan Literatür Çalışmaları .....	7
2.3. Genel Bilgiler .....	8
2.3.1. Lipidlerin yapısal özellikleri .....	9
2.3.2. Lipidlerin-yağ asitlerinin biyosentezi .....	9
2.3.3. Lipidlerin sınıflandırılması .....	15
2.3.3.1. Yağ asitleri .....	15
2.3.3.1.1. Yağ asitlerinin sınıflandırılması.....	16
2.3.3.1.3. Yağ asitlerinin kimyasal özellikleri .....	20
2.3.3.2. Gliserin taşıyan yağ asitleri .....	23
2.3.3.3. Gliserin taşımayan yağ asitleri .....	30
2.3.3.4. Kompleks lipidler .....	34
2.3.4. Yağ asitlerinin Tayininde Kullanılan Yöntemler .....	35
2.3.4.1. <sup>1</sup> H-NMR spektroskopisi yöntemi .....	35
2.3.4.2.Kromatografik yöntemler .....	37
2.3.4.2.1. Adsorpsiyon kromatografisi .....	38
2.3.4.2.2. Dağılım (partisyon) kromatografisi .....	38
2.4. Antioksidan Aktivite .....	46
2.4.1. Serbest radikaller .....	51
2.4.2. Reaktif oksijen türleri .....	53
2.4.3. Serbest radikallerin etkileri .....	54
2.4.3.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri .....	54
2.4.3.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri .....	55
2.4.3.3. Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri .....	56
2.4.3.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri .....	56
2.4.3.5. Serbest radikallere karşı savunma sistemleri .....	56
2.4.3.6. Serbest radikallere karşı nonenzimatik korunma .....	57
2.4.3.6.1 Tokoferoller .....	57
2.4.3.6.2. Flavonoidler ve fenolik asitler .....	58
2.4.3.6.3. Karotenoidler .....	60
2.4.3.6.4. Likopen .....	62
2.4.3.6.5. Askorbik asit (c vitamini) .....	63
2.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri .....	66

2.5.1. Hidrojen transferine dayanan yöntemler .....	66
2.5.1.1. $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi .....	66
2.5.2. Elektron transferine dayanan reaksiyonlar (ET) .....	67
2.5.2.1.DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim .....	
aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini .....	67
2.5.2.2. CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini .....	69
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>70</b>
3.1.Materyaller .....	70
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler .....	70
3.1.2. Yaralanılan alet ve cihazlar .....	70
3.2. Yöntem .....	70
3.2.1 Bitkinin toplanması .....	70
3.2.2. Bitkinin ekstraksiyonu .....	71
3.2.3. <i>Solanum dulcamara</i> bitkisinin meyve ve yapraklarında antioksidan .....	
aktivite tayini .....	71
3.2.3.1. $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi .....	71
3.2.3.2. DPPH (1,1-Diphenly-2-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim .....	
Aktivites metoduyla antioksidan aktivite tayini .....	72
3.2.3.3. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini .....	72
3.2.4. <i>Solanum dulcamara</i> bitkisinin yağ asidi bileşimi tayini .....	73
3.2.4.1. <i>Solanum dulcamara</i> bitkisinin n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin.....	
Metil esterlerine dönüştürülmesi .....	73
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>74</b>
4.1. <i>S. dulcamara</i> Bitkisinin Meyve ve Yaprığında Antioksidan Aktivite Tayini .....	74
4.1.1. $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları .....	74
4.1.1.1. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin meyve ekstrelerinin n-hegzan ve etilasetat .....	
ekstrelerinde, $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları.....	74
4.1.1.2. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin yaprak ekstrelerinin n-hegzan ve etilasetat .....	
ekstrelerinde, $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları .....	75
4.1.2. CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları .....	77
4.1.2.1. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin meyve ekstrelerinin CUPRAC metoduyla .....	
antioksidan aktivite tayini sonuçları .....	77
4.1.2.2. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin yaprak ekstrelerinin CUPRAC metoduyla .....	
antioksidan aktivite tayini sonuçları .....	78
4.1.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite .....	
tayini sonuçları .....	79
4.1.3.1. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin meyve ekstrelerinde DPPH serbest radikali .....	
giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları .....	79
4.1.3.2. <i>S. dulcamara</i> bitkisinin yaprak ekstrelerinde DPPH serbest radikali giderim... ..	
aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları .....	80
4.2. <i>Solanum dulcamara</i> Yaprak ve Meyvesinin n-hegzan Ekstresinde Yağ .....	
Asidi Kompozisyonunun Tayin Sonuçları .....	82
4.2.1. <i>Solanum dulcamara</i> meyve n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin tayini .....	82
4.2.2. <i>Solanum dulcamara</i> yaprak n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin tayini .....	85
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b> .....	<b>87</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>90</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>94</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Solanum dulcamara</i> yaprak.....	6
Şekil 2.2 <i>Solanum dulcamara</i> çiçek.....	6
Şekil 2.3 <i>Solanum dulcamara</i> olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyve.....	7
Şekil 2.4. Lipidlerin biyosentez reaksiyonu.....	10
Şekil 2.5. Asetil CoA'nın, malonil CoA'ya karboksilasyon reaksiyonu.....	10
Şekil 2.6. Biotin ve malonil CoA reaksiyonu.....	11
Şekil 2.7. Asetoasetil ACP oluşum reaksiyonu.....	11
Şekil 2.8. Butiril ACP oluşum reaksiyonu.....	11
Şekil 2.9. 16 karbonlu doymuş palmitoil grubu oluşum reaksiyonu.....	12
Şekil 2.10. BALL döngüsü.....	13
Şekil 2.11. NADPH oluşum reaksiyonu.....	13
Şekil 2.12. Yağ asit sentez reaksiyonları.....	14
Şekil 2.13. Yağ asitlerinin desatürasyonu.....	14
Şekil 2.14. Yağ asitlerinin molekül yapısı.....	15
Şekil 2.15. Oleik asit ve Elaidik asit izomer şekilleri.....	17
Şekil 2.16. Omega-3 molekül yapısı.....	18
Şekil 2.17. Omega-6 molekül yapısı.....	18
Şekil 2.18. Trigliserid oluşum reaksiyonu.....	21
Şekil 2.19. Trigliserid ve gliserol molekül yapısı.....	21
Şekil 2.20. Oleik asit hidrojenlenme reaksiyonu.....	22
Şekil 2.21. Oleik asit halojenlenme reaksiyonu.....	22
Şekil 2.22. Gliserol (gliserin) molekül yapısı.....	23
Şekil 2.23. Monogliserid, digliserid ve trigliserid molekül yapıları.....	23
Şekil 2.24. Basit gliserid molekül yapıları.....	24
Şekil 2.25. Karışık gliserid molekül yapıları.....	24
Şekil 2.26. Sabunlaşma reaksiyonu.....	25
Şekil 2.27. Hidrojenlenme reaksiyonu.....	26
Şekil 2.28. Yağ asitleri'nin $\beta$ oksidasyonu.....	27
Şekil 2.29. Sfingomiyelin genel yapısı.....	28
Şekil 2.30. Fosfogliserid genel yapısı.....	28
Şekil 2.31. Fosfatidiletanolamin genel yapısı.....	29
Şekil 2.32. Fosfatidilkolin genel yapısı.....	29
Şekil 2.33. $\alpha$ -lesitin ve $\beta$ -lesitin molekül yapısı.....	29
Şekil 2.34. Fosfatidilserin genel yapısı.....	29
Şekil 2.35. Fosfatidilinozitol genel yapısı.....	30
Şekil 2.36. Fosfatidilgliserol genel yapısı.....	30
Şekil 2.37. Mum genel yapısı.....	30
Şekil 2.38. Steran halka yapısı.....	31
Şekil 2.39. Kolesterol molekül yapısı.....	32
Şekil 2.40. Safra asit genel yapısı.....	33
Şekil 2.41. Primer safra asitleri genel yapısı.....	33
Şekil 2.42. Sekonder safra asitleri genel yapısı.....	33
Şekil 2.43. Seramid molekül yapısı.....	34
Şekil 2.44. Glikolipid genel yapısı.....	35
Şekil 2.45. Lipoprotein genel yapısı.....	35
Şekil 2.46. Kromatografik sistemleri şeması.....	38
Şekil 2.47. Bir gaz kromatografi cihazının şeması.....	40
Şekil 2.48. Enjeksiyon bölmesi buharlaştırıcısının kesiti.....	41

Şekil 2.49. Termal iletkenlik dedektörünün (a) dedektör hücresi ve (b) çift numune..... ve referans kanallı hücre düzeneği .....	43
Şekil 2.50. MTBE ve birçok allifatik alkoller içeren benzin örneğinin kromatogramları. (a) karbon kanalının izlenmesi (b) oksijen kanalının izlenmesi .....	45
Şekil 2.51. Propil Gallatın molekül yapısı .....	49
Şekil 2.52. BHA (Bütillendirilmiş hidroksi anisol) molekülünün yapısı .....	49
Şekil 2.53. BHT (Bütillendirilmiş hidroksi toluen) molekülünün yapısı .....	49
Şekil 2.54. TBHQ (tersiyerbütillhidrokinon) molekülünün yapısı .....	50
Şekil 2.55. Lineoleik asidin otoksidasyon reaksiyon şeması.....	55
Şekil 2.56. $\alpha$ -> $\beta$ - > $\gamma$ -> $\delta$ - Tokoferolün molekül yapısı.....	58
Şekil 2.57. Sesamol ve Sesamol molekül yapıları.....	59
Şekil 2.58. Karnosik asit ve Rosmarinik asitin molekül yapısı .....	60
Şekil 2.59. Flavonoidin genel molekül yapısı.....	60
Şekil 2.60. $\beta$ -karotenin molekül yapısı.....	62
Şekil 2.61. Likopenin molekül yapısı.....	63
Şekil 2.62. Askorbikasidin molekül yapısı.....	63
Şekil 4.1. $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> ..... Meyve ekstralarının ve standartlarının zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği .....	74
Şekil 4.2. $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> ..... Meyve ekstralarının ve standartlarının yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği .....	75
Şekil 4.3. $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> ..... yaprak ekstralarının ve standartlarının zaman karşı absorpsiyon değişim grafiği .....	76
Şekil 4.4. $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL <i>S.dulcamara</i> ..... yaprak ekstralarının ve standartlarının yüzde antioksidan aktivite değişim grafiği .....	76
Şekil 4.5. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorpsiyon .....	77
(450 nm) grafiği.....	77
Şekil 4.6. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstralarının,konsantrasyona karşı absorpsiyon .....	78
(450 nm) grafiği.....	78
Şekil 4.7. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorpsiyon.....	79
(517 nm) grafiği.....	79
Şekil 4.8. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon..... grafiği.....	80
Şekil 4.9. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstralarının, konsantrasyona karşı absorpsiyon .....	81
(517 nm) grafiği.....	81
Şekil 4.10. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstralarının konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon..... grafiği.....	81
Şekil 4.11. <i>S. dulcamara</i> meyve n- hegzan ekstesine ait GC-kromatogramı.....	83
Şekil 4.12. <i>S.dulcamara</i> yaprak n-hegzan ekstesine ait GC-kromatogramı.....	85

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Doymuş yağ asitleri ve yapı formülü.....	16
Çizelge 2.2. Doymamış yağ asitleri ve yapı formülü.....	18
Çizelge 2.3. Ek gruplu yağ asitleri ve yapı formülü.....	19
Çizelge 2.4. Halkalı yapılu yağ asitleri ve yapı formülü.....	20
Çizelge 2.5. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar.....	51
Çizelge 2.6. $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$ Tokoferolün sübstientleri.....	58
Çizelge 4.1. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT). ilişkin % antioksidan aktivite ve absorbans değişim oranları .....	75
Çizelge 4.2. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT). ilişkin % antioksidan aktivite ve absorbans değişim oranları .....	77
Çizelge 4.3. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstrelerinin, troloksa eşdeğer konsantrasyonların ..... (CUPRAC <sub>TEAK</sub> değerleri) karşılaştırılması.....	78
Çizelge 4.4. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstrelerinin, troloksa eşdeğer konsantrasyonların ..... (CUPRAC <sub>TEAK</sub> değerleri) karşılaştırılması.....	78
Çizelge 4.5. <i>S. dulcamara</i> meyve ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit,.. BHA ve BHT) ilişkin IC <sub>50</sub> değerleri.....	80
Çizelge 4.6. <i>S. dulcamara</i> yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara ..... (Askorbik asit,BHA ve BHT) ilişkin IC <sub>50</sub> değerleri.....	82
Çizelge 4.7. <i>S. dulcamara</i> meyve n-hegzan estresinin yağ asidi kompozisyonu (%)......	84
Çizelge 4.8. <i>S. dulcamara</i> yaprak n-hegzan estresinin yağ asidi kompozisyonu (%)......	86

## 1.GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

Canlıların temel besin gereksinimlerini karşılayan bitkisel kökenli karbonhidratlar, protein ve yağlar birincil kaynaklardır. Bunun yanı sıra bitkisel kaynaklardan selüloz, zambak ve lastik gibi diğer yararlı maddeler de elde edilebilir. Temel ihtiyaçları karşılamamanın dışında başta ilaç sanayi olmak üzere; kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele sektörlerinde yine bitkisel kaynaklardan yararlanılır. Bu tür kimyasallar ‘sekonder (ikincil) metabolitler’ olarak adlandırılır ve bitkisel ürünler bu başlık altında değerlendirilir.

İlaç sanayinde kullanılan bazı önemli bitkisel kökenli maddeler şunlardır; digoksin (kardiyonik), digitoksin (kardiyovasküler), efedrin (bronş açıcı), kinin, kinidin (sıtma tedavisi), vinkristin, vinblastin, aymalisin (kanser tedavisi). Thaumatin, safran, gingeroller, geranial ve neral gibi bileşikler tatlandırıcı, koku verici ve koruyucu olarak besin ve gıda sanayinde kullanılan bitkisel kökenli maddelerdir. Gül yağı, lavanta yağı, yasemin yağı, parfümeride kullanılırken; nikotin, anakardik asit, piretrin, sinerin, ve yasmolin zirai mücadelede kullanılan maddelerdir.

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.

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. Ülkemizde yaklaşık 11000 doğal bitki türü bulunmakta ve bunlardan yaklaşık 500 civarı tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkiler arasında bulunmaktadır (Baytop 1999).

Bu sebeple son yıllarda bitkilerden biyolojik aktif bileşiklerin izolasyonu ve moleküler yapılarının açıklanmasıyla ilgili araştırmalar artmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Trakya bölgesinde yetişen *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) bitkisinin meyve ve yaprak kısımlarındaki yağ asitleri bileşimini Gaz Kromatografisi yöntemiyle belirlemek; meyve ve yaprağın n-hegzan / etilasetat ekstrelerinde antioksidan aktiviteyi, üç farklı yöntemle tayin etmektir. *S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprağının, n-hegzan ve etilasetat ekstrelerinde antioksidan aktivite tayini ve *S.dulcamara* bitkisinin yağ asidi bileşiminin tayini ilk defa bu çalışma ile literatüre sunulmuş olacaktır. Bu çalışma ile, Türkiye’de yetişen *Solanum* türlerinin, kemotaksonomik bakımdan değerlendirilmesine katkı

sağlandığı gibi içerdiği yağ asitlerinin cinsi ve miktarının tayini ile de Organik Kimya bilimine katkı sağlayacaktır.

## 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 alkaloitleri 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 cinse ait 31 tür doğal olarak yetişir. Bunların yanında kültürü yapılmakta olan bitkiler de bulunmaktadır (Tanker 2007). Solanaceae familyasındaki, bazı cins ve türlerin özelliklerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

*Hyoscyamus* (banotu, gavurhaşhaşı) 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 atıştırıcı 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. Yapraklan 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 lekelidir. 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 çiçekliken toplanıp kurutulmuş yapraklarıdır; başlıca **nikotin** alkaloidini taşır. **Nikotin** sıvı, uçucu ve çok zehirli bir alkaloiddir. 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 araştırmalara 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).

*Solanum dulcamara* L., *S. nigrum* L., 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. *Solanum dulcamara* türünün genel özellikleri**

*Solanum dulcamara* (yabanyasemini, sofur), 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 1999, 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 loplu veya yalnız tek tarafta bulunan bir loplu 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. *Solanum dulcamara* yaprak



Şekil 2.2. *Solanum dulcamara* çiçek



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

#### **2.1.4. Trakya bölgesindeki *S.dulcamara* türü**

*S.dulcamara*, nemli yerlerde, çalıklılarda, dere kenarlarında ve çitlerde görülen bir bitkidir. Trakya'da ve İstanbul'un her iki yakasında bulunur. Bugüne kadar, Trakya'nın Kuzey, Güneybatı ve Doğu bölgelerinde doğal olarak yayılış gösterir. Çiçeklenme zamanı Haziran ve Eylül ayları arasındadır (Baytop 1971).

#### **2.2. Solanaceae Familyasındaki Bitkilerde, Yağ asitleri ve Antioksidan Aktivite Tayiniyle İlgili Yapılan Literatür Çalışmaları**

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. 1994).

Maestri ve ark. (1995), *Brunfelsia uniflora* (Solanaceae) tohumlarının % 30.5 oranında yağ içerdiğini, yağın Infrared spektrofotometresi (IR) 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 ve sterol, sitosterol'ün ana bileşen olduğu tespit edilmiştir (Zygadlo ve ark. 1994).

Maestri ve Guzman (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.

Dhellot ve arkadaşları (2006), *Solanum nigrum* L. 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.

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

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

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

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

### **2.3. Genel Bilgiler**

Yapılarında yağ asitleri bulunan bir kısım organik maddeler ile bunlarla ilişkili diğer bir grup maddelere Lipid adı verilmektedir.

Lipidler, ya gerçekten ya da potansiyel olarak yağ asitleri ile ilişkileri olan heterojen bir grup bileşiktir. Lipidlerin, insan organizmasında, depo ve yapısal fonksiyonu önemlidir. Trigliseridler, enerji yedeğini oluşturmak üzere depolanırlar ve depo lipidler olarak bilinirler.

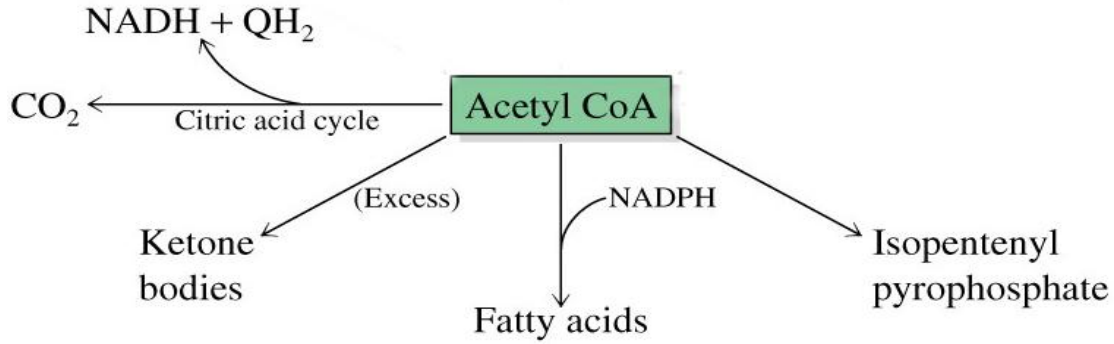
Membranların ve steroid hormonların, vitamin D gibi bazı önemli maddelerin yapısını oluşturan fosfolipidler, glikolipidler ve kolesterol yapısal lipidler olarak bilinirler.

### 2.3.1. Lipitlerin yapısal özellikleri

- Lipidler, biyolojik kaynaklı organik bileşiklerdir.
- Lipidlerin yapılarında *C*, *H*, *O* bulunur; ayrıca *N*, *P*, *S* gibi elementler de bazı lipidlerin yapısına girerler; *O* miktarı, *C* ve *H* atomlarına oranla daha azdır.
- Lipidler, yağ asitlerinin *esterleridirler* ya da *esterleşebilen* bileşiklerdir; temel yapı taşları yağ asitleridir. ( $R-COOH$ )
- Lipidler, suda çözünmeyen, apolar veya hidrofob bileşiklerdir. Ancak yapılarında hidroksil ( $-OH$ ) ve karboksil ( $-COOH$ ) grupları gibi polaritesi fazla olan hidrofilik grupları fazla miktarda içeren lipidler suda kısmen çözünebilirler.
- Lipidler, kloroform, eter, benzen, sıcak alkol, aseton gibi organik çözücülerde çözünebilirler; buldukları bitkisel ya da hayvansal dokulardan bu çözücülerle ekstrakte edilebilirler.
- Lipidlerin enerji değerleri yüksektir; ancak yanma için karbonhidrat ve proteinlerden daha fazla oksijene gereksinim gösterirler.
- Endojen olarak organizmada sentezlenebilir.
- Aktif asetik asitten sentezlenir.
- Bitkisel ve hayvansal kaynaklı besinlerle eksojen olarak sağlanır.
- Polar olmayan triaçilgliseroller yağ (adipoz) dokusunda depolanır (temel enerji kaynağı).
- 1 gr nötral yağ ; 9.3 kcal'dir.
- Biyolojik membranların önemli yapıtaşlarıdır.
- Deri altında ve bazı organların çevresinde ısı yalıtıcısı olarak görev yaparlar.
- Elektriksel yalıtıcı olarak, miyelinli sinir boyunca depolarizasyon dalgalarının hızla ilerlemesini sağlarlar.
- Proteinlerle birleşerek lipoproteinleri oluştururlar, kanda bu şekilde taşınırlar.
- Hücre yüzey reseptörleri ve kan grubu antijenleri olarak önemli rol oynarlar.

### 2.3.2. Lipidlerin -yağ asitlerinin biyosentezi

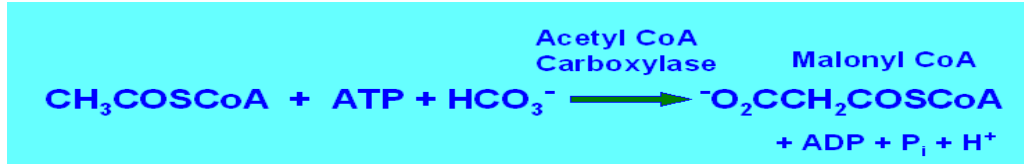
Yağ asitleri, çeşitli lipidlerin yapısında esterleşmiş halde vücuda alınmaktadır; ayrıca asetil CoA haline dönüşebilen karbohidrat, amino asit, etil alkol gibi maddelerden gerektiğinde kullanılmak üzere *de novo* yağ asidi biyosentezi olur.



**Şekil 2.4.** Lipidlerin biyosentez reaksiyonu

Sitoplazmada yağ asitlerinin *de novo* biyosentezi olur; mikrozomlarda malonil CoA eklenmesi suretiyle, mitokondrilerde ise asetil CoA eklenmesi suretiyle yağ asidi zinciri uzar. Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, meme bezi ve yağ dokusu gibi birçok organ ve dokuda yağ asidi sentezi gerçekleşir. Bunun için, asetil CoA ile birlikte NADPH, ATP, Mn<sup>2+</sup>, CO<sub>2</sub> kaynağı olarak HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ve biotin gereklidir.

Sitoplazmada *de novo* yağ asidi biyosentezinin ilk basamağı asetil CoA'nın irreversibl bir reaksiyonda malonil CoA'ya karboksilasyonudur (Şekil 2.5).

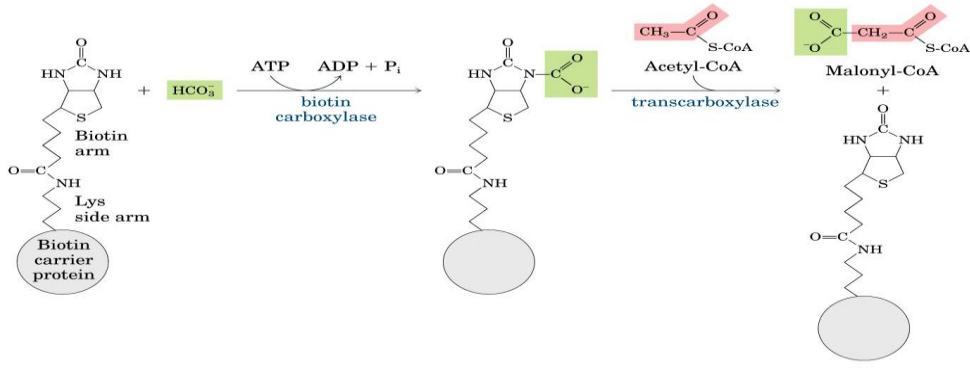


**Şekil 2.5.** Asetil CoA'nın, malonil CoA'ya karboksilasyon reaksiyonu

Asetil CoA karboksilaz, prostetik grup olarak biotin içerir. Aktivitesi, palmitoil CoA tarafından azaltılır; sitrat tarafından arttırılır.

Malonil CoA, karnitin açıltransferaz I'i inhibe eder; beta oksidasyon bloke olur.

Prostetik gruba(biyotin) 1 ATP harcanarak CO<sub>2</sub> bağlanır, karboksi biyotin kompleksi oluşur, daha sonra CO<sub>2</sub> malonil CoA oluşturmak üzere asetil CoA'ya aktarılır. Karboksibiyotin ara bileşiğinin karboksil grubu biyotinin 1 nolu azot atomuna bağlıdır. Enzim yapısındaki lizin rezidüsünün ε -amino grubuna amid bağıyla bağlanan karboksibiyotinin karboksil ucu CO<sub>2</sub> transferinden sonra biyotin ve malonil CoA oluşturur (Şekil 2.6).



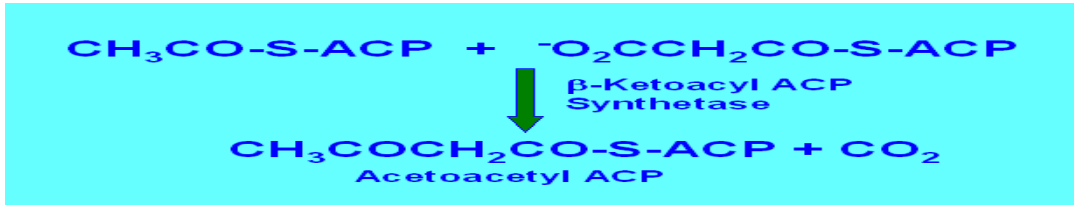
Şekil 2.6. Biotin ve malonil CoA oluşum reaksiyonu

Sitoplazmada asetil CoA'nın irreversibl bir reaksiyonda malonil CoA'ya karboksilasyonu gerçekleştikten sonra yağ asitlerinin biyosentezi özel bir yolda ilerler. Yağ asidi sentezindeki reaksiyonların tümü *yağ asidi sentaz* diye bilinen bir multienzim kompleksi tarafından katalizlenir.

Önce asetil CoA'nın asetil grubu ve malonil CoA'nın malonil grubu, açıl taşıyıcı proteine (ACP) transfer edilir.

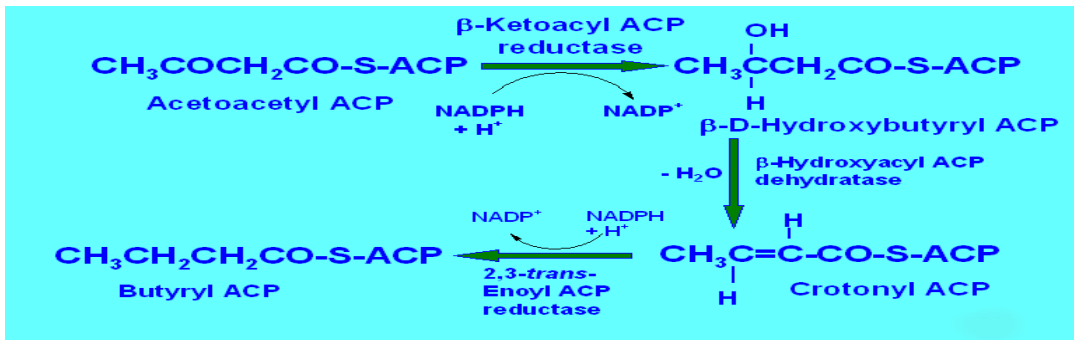
Yüklenmiş yağ asidi sentaz multienzim kompleksinde malonil ve asetil grupları birbirine çok yakındırlar ve zincir uzaması süreci için aktiflenmişlerdir.

Bir yağ asidi zincirinin oluşmasında ilk basamak, aktif asetil ve malonil gruplarının ACP'e bağlı asetoasetil grubu oluşturmak üzere kondensasyonudur (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Asetoasetil ACP oluşum reaksiyonu

ACP'e bağlı asetoasetil grubu oluşuktan sonra karbonil grubunun indirgenmesi, dehidrasyon ve son olarak çift bağın indirgenmesi basamaklarından sonra ACP'e bağlı butiril grubu oluşur (Şekil 2.8).



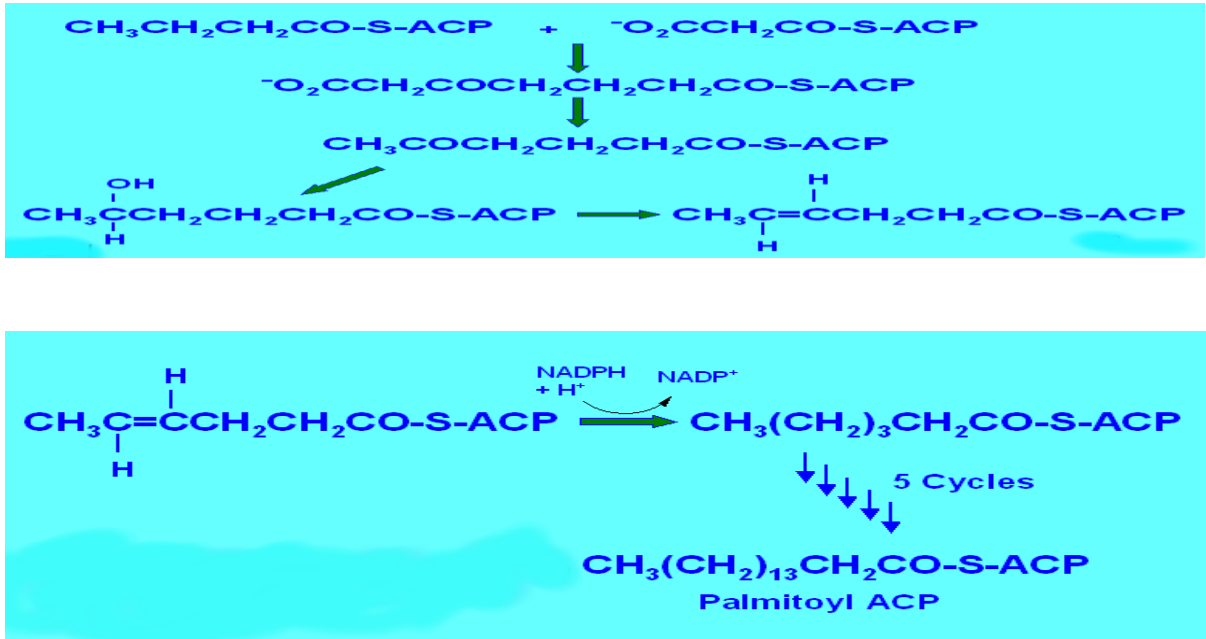
Şekil 2.8. Butiril ACP oluşum reaksiyonu



Yağ asidi zincirini 2 karbon daha uzatacak sonraki dört reaksiyon döngüsünü başlatmak için, bir başka malonil CoA'daki malonil grubu, ACP'in boşalmış olan 4'-fosfopantotein-SH grubuna bağlanır; reaksiyonu, *malonil transferaz (MT)* katalizler.

Malonil CoA'nın yağ asidi sentaz multienzim kompleksinde dört reaksiyonluk döngüye girişiyle yağ asidi zinciri 2 karbon uzamaktadır.

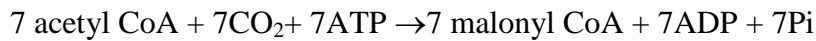
Yedi malonil CoA'nın bu döngüye girişi sonunda, halen ACP'ye bağlı, 16 karbonlu doymuş palmitoil grubu oluşur (Şekil 2.9).



**Şekil 2.9.** 16 karbonlu doymuş palmitoil grubu oluşum reaksiyonu

İyice anlaşılmayan nedenlerle zincir uzaması bu noktada durur ve yağ asidi sentaz kompleksindeki bir hidrolitik aktivitenin etkisiyle ACP'den serbest palmitat ayrılır.

Palmitatın C-16 ve C-15 atomları asetil grubundan gelir; diğer karbon atomları ise malonil CoA'dan gelir.

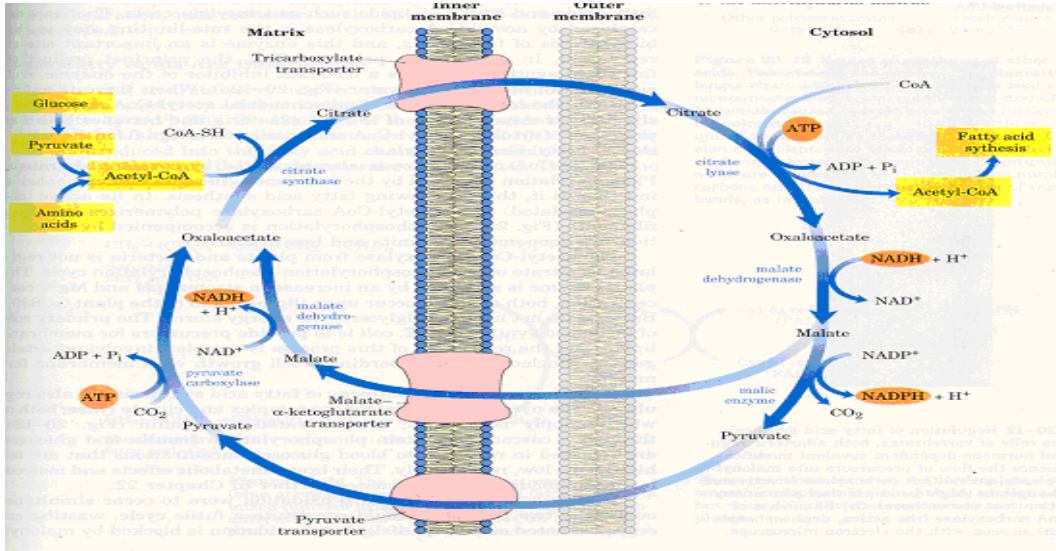


$\text{Acetyl CoA} + 7 \text{ malonyl CoA} + 14\text{NADPH} \rightarrow \text{palmitate} + 14 \text{NADP}^+ + 8\text{CoASH} + 7\text{CO}_2$   
 Malonil-CoA'nın da *asetil CoA karboksilaz* tarafından katalizlenen irreversibl bir reaksiyonda biotin varlığında bikarbonattan sağlanan  $\text{CO}_2$  ile asetil CoA'nın karboksilasyonu sonucu oluştuğunu ve kondensasyon basamağında bikarbonattan sağlanan  $\text{CO}_2$ 'in elimine edildiği düşünüldüğünde, "palmitat, asetil CoA'dan sentezlenir" denilebilmektedir.

Yağ asidi sentezi için gerekli asetil CoA, glukoz, bazı amino asitler ve yağ asitleri oksidasyonu mitokondride oluşmaktadır. Oysa yağ asidi sentezi ile ilgili enzimler sitozolde bulunur. Mitokondride oluşan asetil CoA'nın yağ asidi sentezine katılabilmesi için sitozole

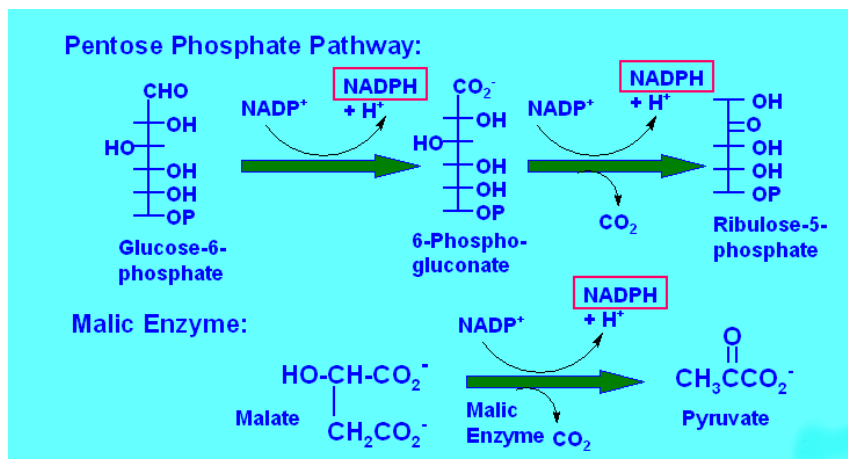
geçmesi gerekir. Asetil CoA, mitokondriden sitozole doğrudan geçemez; mekik mekanizmasıyla geçer.

Sitratın mitokondriden sitoplazmaya geçmesi ve oksaloasetatın sitoplazmadan mitokondriye çekilmesiyle mitokondride tekrar oluşması **BALL döngüsü** olarak tanımlanır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. BALL döngüsü

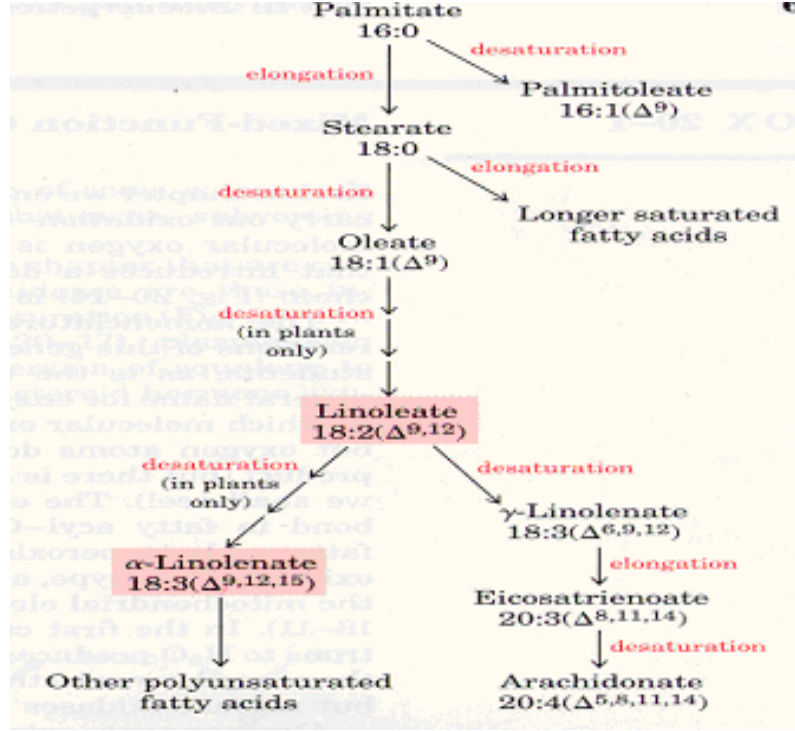
Yağ asidi sentezi için gerekli olan NADPH'nin başlıca iki kaynağı vardır: (Şekil 2.11) Birinci ve en önemli NADPH kaynağı, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımdır. İkinci NADPH kaynağı, sitoplazmada oksaloasetatın indirgenmesiyle oluşan malatın *malik enzim* etkisiyle pirüvata oksidatif dekarboksilasyonudur.



Şekil 2.11. NADPH oluşum reaksiyonu

Palmitat, yağ asidi sentaz tarafından sentez edilen en uzun zincirli yağ asididir. Daha uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin ve doymamış yağ asitlerinin sentezi başka reaksiyonlarda gerçekleşir (Şekil 2.12).



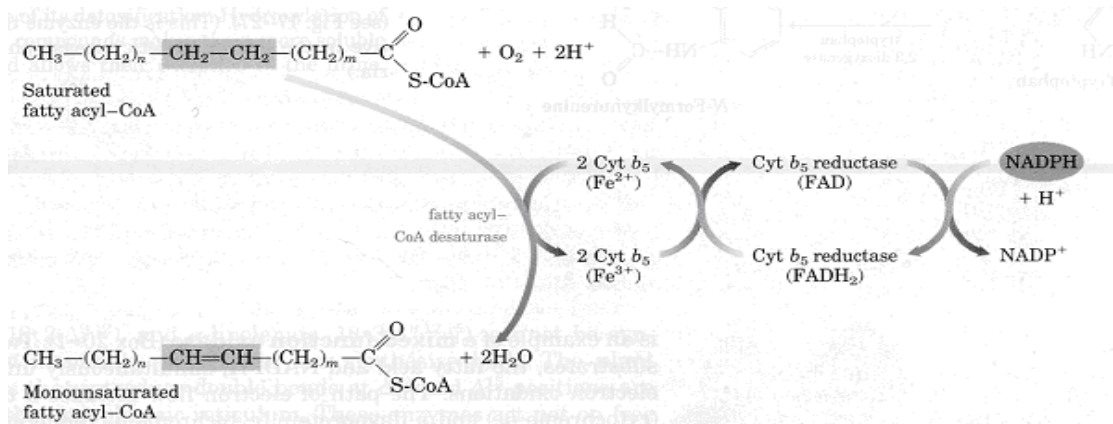


Şekil 2.12. Yağ asit sentez reaksiyonları

Mikrozomlarda yağ asidi zincirlerinin uzaması için, malonil CoA asetil vericisi olarak ve NADPH indirgeyici olarak kullanılır; *de novo* sentezdeki gibi sırasıyla sentaz, redüktaz, dehidrataz, redüktaz enzimleri rol alır.

Mitokondrilerde yağ asidi zincirlerinin uzaması, bir uzun zincirli açıl CoA ile asetil CoA'nın tiyolaz tarafından katalize edilen bir reaksiyon sonucu kondensasyonunu kapsar. Burada bir ACP gerekmez ve malonil CoA kullanılmaz; asetil CoA kullanılır.

Memelilerde yağ asitlerinin desatürasyonu, karaciğerdeki mikrozomal enzimler sayesinde gerçekleşir. Palmitatın desatürasyonu ile palmitoleat 16:1(Δ<sup>9</sup>) oluşur; stearatın desatürasyonu ile oleat 18:1(Δ<sup>9</sup>) oluşur (Şekil 2.13).



## Şekil 2.13. Yağ asitlerinin desatürasyonu

### 2.3.3. Lipidlerin sınıflandırılması

#### 1) Yağ Asitleri

Doymuş Yağ Asitleri

Doymamış Yağ Asitleri

#### 2) Gliserin Taşıyan Yağ Asitleri

Nötral Yağlar

Fosfolipidler

#### 3) Gliserin Taşımayan Yağ Asitleri

Sfingolipidler

Mumlar

Terpenler

Steroidler

#### 4) Kompleks Lipidler

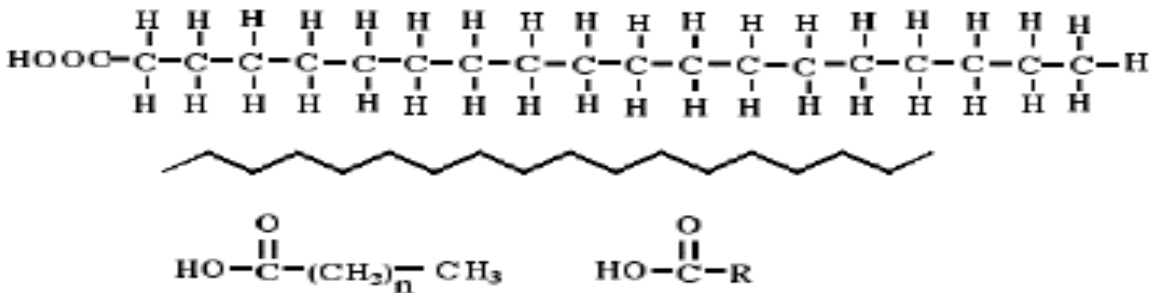
Lipoproteinler

Glikolipidler

### 2.3.3.1. Yağ asitleri

Uzun bir hidrofobik kuyruk ve bir karboksilik baş kısmından oluşan yapılardır. Doğada nadiren serbest olarak bulunurlar, bunun yerine gliserolle veya diğer bir yapıyla esterleşmiş olarak bulunurlar. Doğal yağ asitlerinin hemen hemen hepsi çift sayıda karbon içerir. Sadece bazı deniz canlılarında tek sayıda karbon içeren yağ asitleri bulunur. Yağ asitlerinin çoğu düz zincirli olup çift sayıda karbon içerir. Zincir uzunluğu 2 ila 80 arasında değişir, ancak doğada en çok 12 ila 24 C içerenleri yaygındır. 2-6 C'lu olanları kısa zincirli, 8-10 arasında olanları orta uzunlukta zincire sahip, 12-24 C'lular ise uzun zincirli yağ asitleri olarak adlandırılır.

Yağ asitleri, hidrokarbon zincirli monokarboksilik organik asitlerdir. Yapılarında, 4-36 karbonlu hidrokarbon zincirinin ucunda karboksil grubu bulunur.



## Şekil 2.14 Yağ asitlerinin molekül yapısı

### 2.3.3.1.1. Yağ asitlerinin sınıflandırılması

- Doymuş (satüre) yağ asitleri
- Doymamış (ansatüre) yağ asitleri
- Esansiyel yağ asitleri
- Ek gruplu yağ asitleri
- Halka yapılı yağ asitleri

#### a) Doymuş (satüre) yağ asitleri

Hidrokarbon zincirleri çift bağ içermeyen ve dallanmamış olan yağ asitleridirler. En basit doymuş yağ asidi, 2 karbona sahip asetik asittir. Doymuş yağ asitleri, iki karbonlu monokarboksilik asit olan asetik asit üzerine kurulmuş olarak tasarlanabilirler. Asetik asit, propiyonik asit ve butirik aside **uçucu yağ asitleri** denir; bunlar, özellikle ruminantların metabolizmalarında önemli yer tutarlar. Asetik asit ve butirik asit, su ile her oranda karışabilirler. Karbon sayısı 10'dan fazla olan yağ asitleri suda çözünmezler. Doymuş yağ asitlerinin 2-6 karbonluları kısa zincirli, 8-12 karbonluları orta zincirli, daha fazla karbonluları uzun zincirli olarak tanımlanırlar. Doymuş yağ asitlerinin karbon sayısı 10 ve daha az olanları oda sıcaklığında sıvı ve uçucudurlar; diğerleri katı yağlar olarak tanımlanırlar. Hayvansal yağlarda en çok bulunan yağ asitleri, 16 karbonlu palmitik asit ile 18 karbonlu stearik asittir. Tohum yağları palmitik asit yönünden zengindir.

#### Çizelge 2.1. Doymuş yağ asitleri ve yapı formülü (Altınışik 2009)

Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti	Yapı formülü
Asetik asit	2: 0	CH <sub>3</sub> COOH
Propiyonik asit	3: 0	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH
Butirik asit	4: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
Kaproik asit	6: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
Kaprilik asit	8: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
Kaprik asit	10: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
Laurik asit	12: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
Miristik asit	14: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
Palmitik asit	16: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
Stearik asit	18: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
Araşidik asit	20: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH
Behinik asit	22: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH
Lignoserik asit	24: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH
Serotik asit	26: 0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>24</sub> COOH

## b) Doymamış (ansatüre) yağ asitleri

Hidrokarbon zincirinde bir veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitleridirler. Doğada en çok bulunan yağ asidi, oleik asittir; çoğu yağlarda bulunan yağ asitlerinin yarısından fazlası oleik asittir. Oleik asitten sonra yağlarda en çok bulunan yağ asidi, bir doymuş yağ asidi olan palmitik asittir. Hayvanlarda depo yağlarını çoğunlukla palmitik (  $C_{16}H_{32}O_2$  ) ve oleik asitler (  $C_{18}H_{34}O_2$  ) oluşturur; daha az olarak da stearik asit (  $C_{18}H_{36}O_2$  ) bulunur.

Suda yaşayan hayvanların yağ asitlerinin çoğunu doymamış yağ asitleri oluşturur; özellikle palmitoleik asit (  $CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$  ) en fazla bulunanıdır.

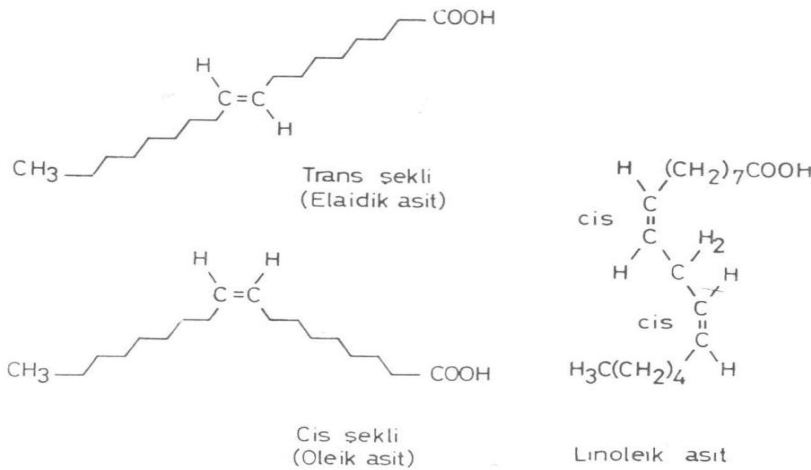
Meyvalardan elde edilen yağlarda en çok palmitik (  $C_{16}H_{32}O_2$  ) ve oleik asitler (  $C_{18}H_{34}O_2$  ) daha az olarak da linolenik asit (  $C_{18}H_{30}O_2$  ) saptanmıştır.

Tohum yağları, palmitik asit (  $C_{16}H_{32}O_2$  ) yönünden zengindirler.

Linoleik asit, (  $C_{18}H_{32}O_2$  ), linolenik asit (  $C_{18}H_{30}O_2$  ) ve araşidonik asit, (  $C_{20}H_{32}O_2$  ) insanlar için esansiyeldirler yani vücutta sentez edilmezler; besinlerle dışarıdan alınmaları gerekir. Linoleik asit, mısır yağı, yer fıstığı, pamuk yağı ve soya fasülyesi yağı gibi tohum yağlarında bulunur; linolenik asit, ayrıca keten tohumu yağında bulunur; araşidonik asit, yer fıstığı yağında daha fazla miktarda vardır.

Doymamış yağ asidi karbon zincirleri içindeki çift bağların bulunduğu yerdeki değişiklikler, izomerleri oluşturur. En sık görülen izomer şekilleri, çift bağın etrafındaki diziliş ile ilgili olan **cis-** ve **trans-** izomer şekilleridir. Çift bağın çevresindeki atom veya atom grupları aynı tarafta ise **cis-izomer**, zıt taraflarda ise **trans-izomer**den sözedilir.

Oleik asidin trans şekli, erime noktası  $45^\circ C$  olan elaidik asittir.



### Şekil 2.15. Oleik asit ve Elaidik asit izomer şekilleri

Doymamış yağ asitleri oda sıcaklığında genellikle sıvıdırlar, suda çözünmezler, uçucu değildirler.

### Çizelge 2.2. Doymamış yağ asitleri ve yapı formülü (Altınışık 2009)

Organizma için önemli doymamış yağ asitleri şunlardır:

Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti	Yapı formülü
Miristoleik asit	14: 1 $\Delta^9$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Palmitoleik asit	16: 1 $\Delta^9$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Oleik asit	18: 1 $\Delta^9$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Vaksenik asit	18: 1 $\Delta^{11}$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> COOH
Nervonik asit	24: 1 $\Delta^{15}$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH
Linoleik asit	18: 2 $\Delta^{9,12}$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Linolenik asit	18: 3 $\Delta^{9,12,15}$	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Araşidonik asit	20: 4 $\Delta^{5,8,11,14}$	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH

### c) Esansiyel yağ asitleri

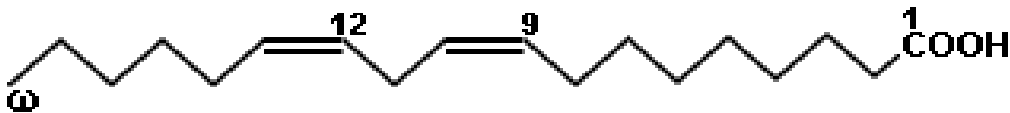
Esansiyel yağ asitleri vücut tarafından üretilemezler ve dışarıdan besinlerle alınmaları gereklidir, yani vitaminler ve amino asitler gibi, vücut fonksiyonları için esansiyel maddelerdir. Hücre membranının fleksibilitesi, akışkanlığı esansiyel yağ asitlerinin membrandaki miktarına bağlıdır. Esansiyel yağ asitleri; enerji sağlar, vücut ısısının korunmasına yardımcı olur. Linoleik asit, linolenik asit ve araşidonik asit, insanlar için esansiyeldirler yani vücutta sentez edilmezler; besinlerle dışarıdan alınmaları gerekir. Yeminde esansiyel yağ asitlerinden her hangi biri bulunmayan hayvanlarda tipik noksanlık belirtileri görülür; büyüme durur, dermatit oluşur, böbrek harabiyeti ve hematüri görülür; eksik esansiyel yağ asidinin yeme katılmasıyla bu belirtiler kaybolur.

Omega ise zincirdeki son karbonu temsil eder



**Alpha-Linolenic Acid (omega-3)**

Şekil 2.16. Omega-3 Molekül Yapısı



**Linoleic Acid (omega-6)**

### Şekil 2.17. Omega-6 Molekül Yapısı

Esansiyel yağ asidi eksikliğinde görülen semptomları şu şekilde sıralayabiliriz:

Hafıza ve mental fonksiyonlarda zayıflama

Görme fonksiyonunda azalma

Pıhtılaşma eğiliminde artma

İmmun fonksiyonlarda azalma

Trigliserid ve kolesterol seviyesinde artma

Membran fonksiyonlarında bozukluk

Çocuklarda büyüme geriliği

Ekzema

Seboreik dermatit

Saç dökülmesi

Erkeklerde infertilite(kısırlık)

Kan dolaşımında olumsuz etki

Kan basıncında artma

Yara iyileşmesinde yavaşlama

#### d) Ek gruplu yağ asitleri (hidroksi yağ asitleri)

Hidrokarbon zincirlerinde hidroksil grubu veya metil grubu gibi ek gruplar içeren yağ asitleridirler.Örneğin; beyin gikolipidlerinde serebronik asid, nervonik asid.

Çizelge 2.3. Ek gruplu yağ asitleri ve yapı formülü (Altınışik 2009)

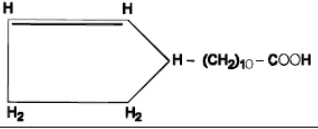
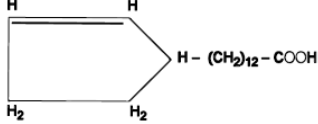
Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti	Yapı formülü
Dioksistearik asit	18:0(9,10-dioksi)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$     $\text{O}^- \text{O}^-$
Risinoleik asit	18:1 $\Delta^9$ (12-monooksi)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$   $\text{O}^-$
Serebronik asit	24:0(2-monooksi)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CHCOOH}$   $\text{O}^-$
Oksinervonik asit	24:1 $\Delta^{15}$ (12-monooksi)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$   $\text{O}^-$
Tüberkülostearik asit	18:0(10-monometil)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ 

		CH <sub>3</sub>
--	--	-----------------

### e) Halkalı yapılı yağ asitleri

Hidrokarbon zincirleri halkalı yapı oluşturmuş olan yağ asitleridirler. Şolmogra yağı ile hidnokarpik asit ve şolmogrik asidin etil esterleri ve sodyum tuzları, cüzzam (lepra) tedavisinde kullanılırlar.

### Çizelge 2.4. Halkalı yapılı yağ asitleri ve yapı formülleri (Altınışık 2009)

Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti	Yapı formülü
Hidnokarpik asit	16:1 $\Delta$ <sup>13</sup>	 H - (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> - COOH
Şolmogrik asit	18:1 $\Delta$ <sup>15</sup>	 H - (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> - COOH
Prostanoik asit	20:0	

### 2.3.3.1.2. Yağ asitlerinin fiziksel özellikleri

Yağ asitlerinin fiziksel özellikleri, karbon sayıları ile ilgilidir; karbon sayısı 10 ve daha az olan doymuş yağ asitleri, oda sıcaklığında sıvı ve uçucudurlar; daha fazla karbon içerenler ise katıdırlar; zincir uzunluğu arttıkça uçuculuk azalır, erime noktası yükselir.

Asetik asit ve butirik asit, su ile her oranda karışırlar. Karbon sayısı 4'ten fazla olan yağ asitlerinin zincir uzunluğu arttıkça suda çözünürlükleri azalır; karbon sayısı 10'dan fazla olan yağ asitleri suda çözünmezler.

Yağ asitlerindeki -COOH grubunun pKa değeri 4,8'dir ki fizyolojik pH'da anyon (-COO<sup>-</sup>) halindedir.

Bu anyonik grup yağ asidine hidrofilik özellik vermekte, hidrokarbon zinciri ise hidrofobik özellik vermektedir.

Uzun zincirli yağ asitlerinde hidrokarbon zincirinin hidrofobik özelliği daha baskın olacağı için, uzun zincirli yağ asitleri suda çözünmez; plazmada albümine bağlanarak taşınmaları gerekir ki plazmadaki yağ asitlerinin %90'ı lipoproteinler içinde taşınmaktadır.

Bilinen bütün doymamış yağ asitleri oda sıcaklığında genellikle sıvıdırlar, suda çözünmezler, uçucu değildirler. Yağ asitlerinin çoğu sıcak alkol, eter, benzen ve kloroformda çözünürler.

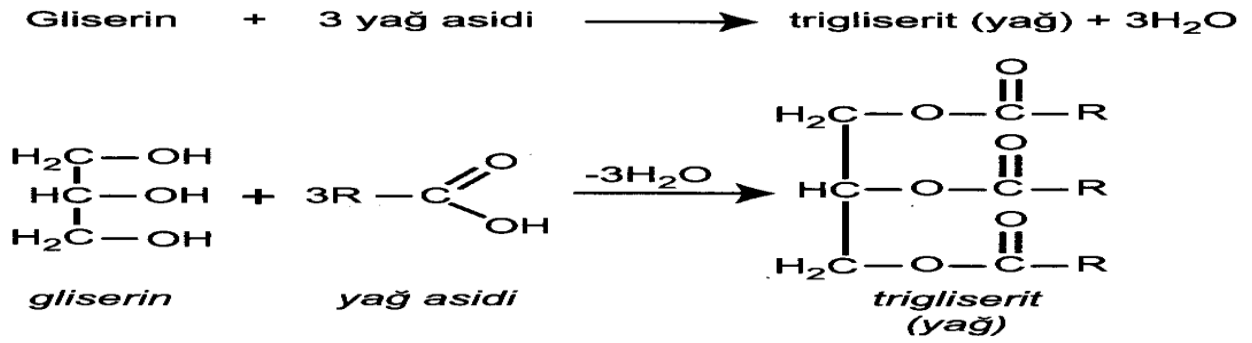
### 2.3.3.1.3. Yağ asitlerinin kimyasal özellikleri

a) Esterleşme

b) Çift Bağların Hidrojenlenmesi (Hidrojenasyon)

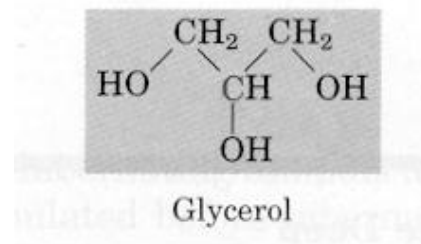
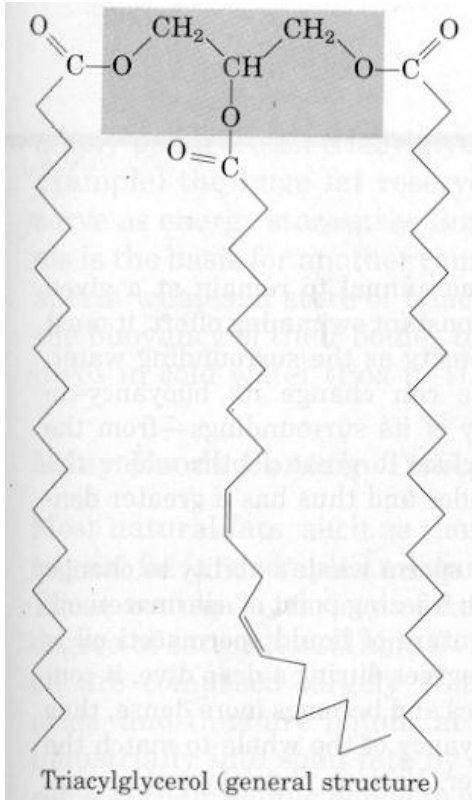
- c) Halojenlenme
- d) Tuz Oluşturma
- e) Oksitlenme
- a) Esterleşme

Yağ asitlerinin karboksil grupları ile alkollerin hidroksil grupları arasından su çıkışı suretiyle yağ asidi ve alkolün birbirine ester bağıyla bağlanması sonucu esterler oluşur. Örneğin Şekil 2. 18.' de gösterilen trigliseridler, gliserolün yağ asidi esterleridirler.



Şekil 2.18. Trigliserid oluşum reaksiyonu

Vücutta yağ asitleri, serbest veya daha kompleks moleküller içinde yağ asidi esterleri şeklinde bulunurlar. Vücuttaki toplam yağ asidinin %45'i trigliserit, %35'i fosfolipid, %15'i kolesterol esteri ve %5'i serbest yağ asidi şeklindedir.

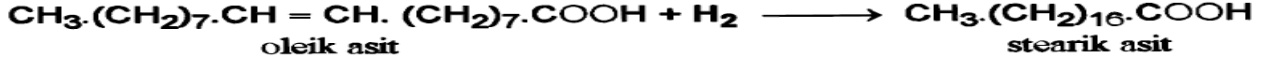




### Şekil 2.19. Trigliserid ve gliserol molekül yapısı

#### b) Çift bağların hidrojenlenmesi (hidrojenizasyon)

Doymamış yağ asitlerinin yapısında yer alan etilen bağı (-CH=CH), platin, nikel veya bakır varlığında kolaylıkla hidrojenle doyurulabilir; iki hidrojen çift bağa girer ve doymamış yağ asidi doymuş hale geçer.

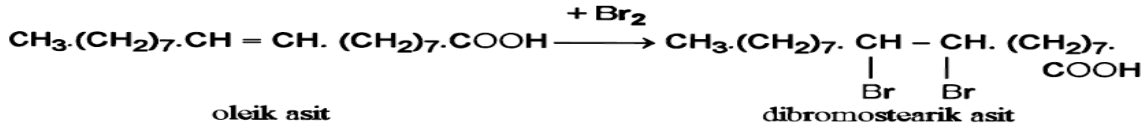


#### Şekil 2.20. Oleik asit hidrojenlenme reaksiyonu

Bu özellikten ticarete margarin yağlarının elde edilmesinde yararlanılmaktadır.

#### c) Halojenlenme

Doymamış yağ asitlerinin yapısında yer alan etilen bağının fluor, klor, brom, iyot gibi halojenlerden biri ile doyurulması olayıdır.



#### Şekil 2.21. Oleik asit halojenlenme reaksiyonu

3 ile 5 arasında çift bağı bulunan yağ asitlerinin brom ile doyurulması sonucu meydana gelen türevleri, çözücülerin çoğunda çözünmez. Bu özellik, doymuş yağ asitlerinin ayrılmasında ve tanınmasında kullanılır. Doymamış yağ asitlerinin iyotla doyurulması olayında yağ asidinin absorbe ettiği iyot miktarı ölçülebilir. Böylece çift bağ sayısının veya doymamışlık derecesinin saptanması mümkün olabilir. 100 g doymamış yağın gram cinsinden tuttuğu iyot miktarı, iyot indeksi olarak tanımlanır; iyot indeksi, cilt altı dokularda 65, karaciğerde 135'dir.

#### Yağ Asitlerinin Ayırım ve Tanınmaları

Yağ asitlerinin ayırım ve tanınmalarında yağ asitlerinin kimyasal özelliklerinden yararlanır.

#### Yağ asitlerini brom ile doyurma deneyi:

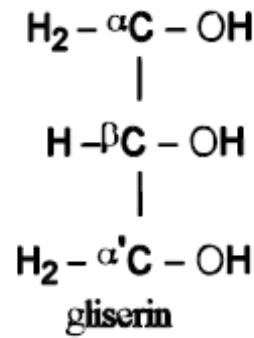
Doymamış yağ asitlerindeki çift bağa *F*, *Cl*, *Br*, *I* gibi halojenler katılarak bağın doymuş hale gelmesi özelliğine dayanır.

Bir deney tüpüne 1 damla zeytin yağı konur ve tüpteki zeytin yağının üzerine 2 mL kloroform eklenerek karıştırma suretiyle zeytin yağı kloroformda çözülür. Tüpteki karışım üzerine bromun kloroformdaki %2'lik çözeltisinden birer birer damlatılır ve her damlatmada tüp çalkalanır. İlk damlalarda çalkalama ile bromun renginin hemen kaybolduğu, fakat birçok damladan sonra bromun renginin çözeltide kaldığı gözlenir.

### 2.3.3.2. Gliserin taşıyan yağ asitleri

#### Gliserol ( gliserin)

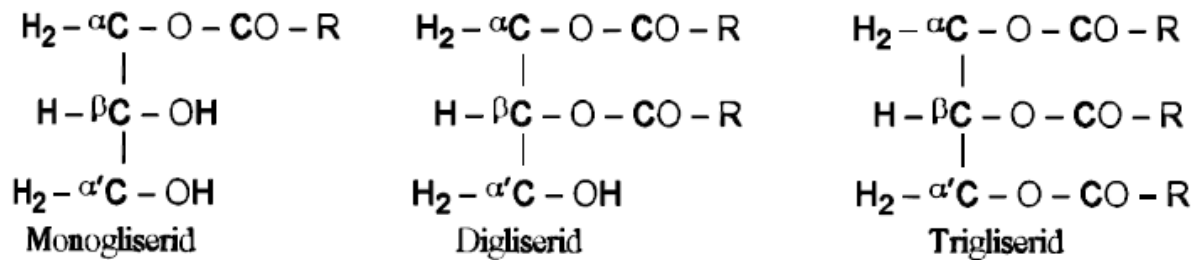
Gliserol , tatlı, kıvamlı, sıvı karakterde, üç hidroksil grubu olan bir alkoldür. Gliserol, su ve etil alkolle her oranda karışabilir; eter, kloroform ve benzolde çözünmez. Gliserol, bir çok madde için çok iyi bir çözücüdür; su çekici ve nemlendirici özelliğe sahip olduğundan kozmetik ve ilaç yapımında kullanılır (Şekil 2.22).



Şekil 2.22. Gliserol (gliserin) molekül yapısı

#### a) Trigliseridler ( triaçilgliseroller, nötral yağlar)

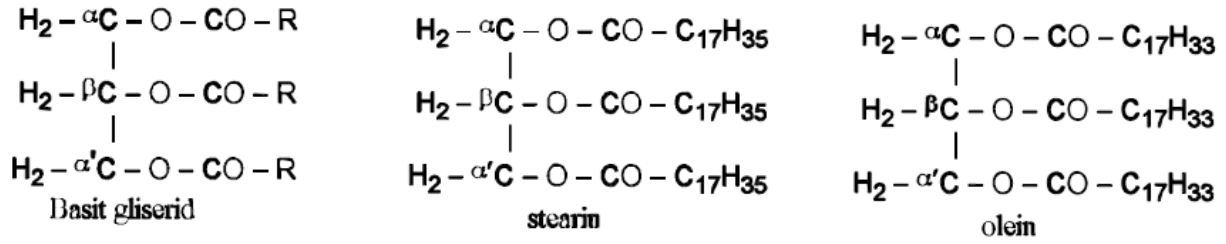
Gerek hayvansal yağlar gerekse bitkisel yağlar, yağ asitlerinin gliserin (gliserol) ile oluşturdukları oldukça kompleks esterlerdir; bu esterlere **gliserid** adı verilir. Gliserinin bir alkol grubu bir molekül yağ asidi ile esterleşirse **monogliserid** meydana gelir; gliserinin iki alkol grubu iki molekül yağ asidi ile esterleşirse **digliserid** meydana gelir; gliserinin üç alkol grubu da üç yağ asidi ile esterleşirse **trigliserid** meydana gelir (Şekil 2.23).



Şekil 2.23. Monogliserid, digliserid ve trigliserid molekül yapıları

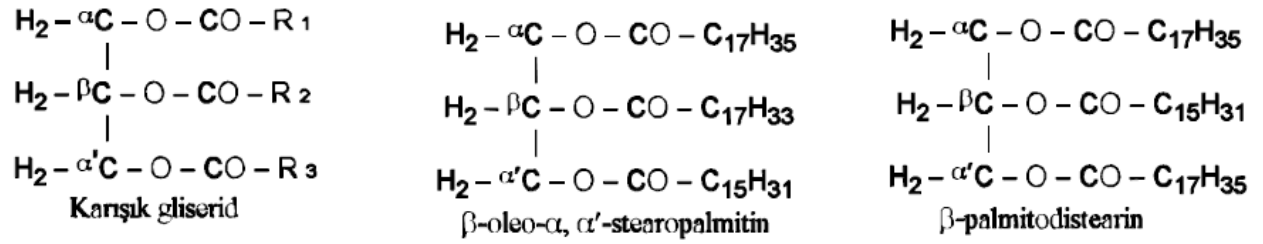
Genelde yağların yapısı trigliserid biçimindedir. Trigliseridlerde gliserin ile esterleşen yağ asitlerinin üçü de aynı ise yani  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$  pozisyonlarının hepsinde aynı tür yağ asidi bulunuyorsa trigliseridler, **basit yağlar** olarak tanımlanırlar.

Basit yağlar, içerdikleri yağ asidine göre tristearin (gliserin tristearat/stearin), triolein (gliserin trioleat/ olein) gibi isimlendirilirler (Şekil 2.24).



Şekil 2.24. Basit gliserid molekül yapıları

Trigliseridlerde gliserin ile esterleşen yağ asitleri aynı değilse yani  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$  pozisyonlarında farklı tür yağ asidi bulunuyorsa trigliseridler, **karışık yağlar** (miks yağlar) olarak tanımlanırlar. Karışık yağlar doğada basit yağlardan daha fazla bulunurlar; bunların isimlendirilmesinde moleküldeki yağ asitleri, buldukları pozisyonlarla birlikte belirtilir (Şekil 2.25).



Şekil 2.25. Karışık gliserid molekül yapıları

Bitkisel yağlar, süt ürünleri ve hayvansal yağ gibi doğal yağların çoğu, basit ve karışık yağların kompleks karışımlarıdır. Bunlar, zincir uzunluğu ve doymunluk dereceleri farklı çeşitli yağ asitleri içerirler.

Zeytin yağı ve mısır yağı gibi bitkisel yağlar, büyük miktarlarda doymamış yağ asitli trigliseridlerden oluştuklarından oda sıcaklığında sıvıdırlar; sadece iç yağının esas komponenti olan tristearin gibi, doymamış yağ asitlerini içeren trigliseridler oda sıcaklığında katıdırlar.

Trigliseridler (nötral yağlar), önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Trigliseridler, ökaryotik hücrelerin çoğunda sulu sitozolde mikroskopik yağlı damlacıklar halinde ayrı bir faz oluştururlar; metabolik yakıt deposu olarak görev görürler.

Omurgalı hayvanlarda adipositler (yağ hücreleri) denen özelleşmiş hücreler, hücreyi neredeyse dolduran yağ damlacıkları halinde büyük miktarlarda trigliserid depolarlar.

Şişman kişiler, yağ depolama hücrelerinde 15-20 kg trigliserid depolayabilirler ki bu, aylarca yetecek enerji demektir. Buna karşılık glikojen formunda depolanan enerji, bir günden

daha az yeter; glukoz ve glikojen gibi karbonhidratlar, suda kolay çözünme avantajı ile metabolik enerjinin hızlı kaynaklarıdır.

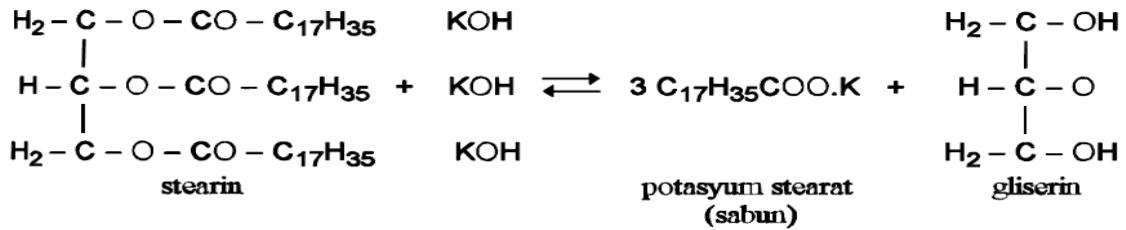
Bazı hayvanlarda deri altında depolanan trigliseridler, yalnız enerji deposu olarak değil, aynı zamanda çok düşük sıcaklığa karşı yalıtıcı olarak görev görürler. Fok, penguen ve diğer sıcak kanlı kutup hayvanları bol trigliserid depolarlar. Kış uykusuna yatan hayvanlar, kış uykusuna yatmadan önce aynı zamanda enerji deposu olarak çok büyük miktarda yağ yedeği biriktirirler.

### Trigliseridlerin kimyasal özellikleri:

- Hidroliz Olma
- Sabunlaşma
- Hidrojenlenme
- Halojenlenme
- Asetillenme
- Oksidasyon
- Acılaşma

### Sabunlaşma

Yağlar, kuvvetli bazlarla kaynatılırlarsa, sabunlar ve gliserine ayrılırlar (Şekil 2.26).

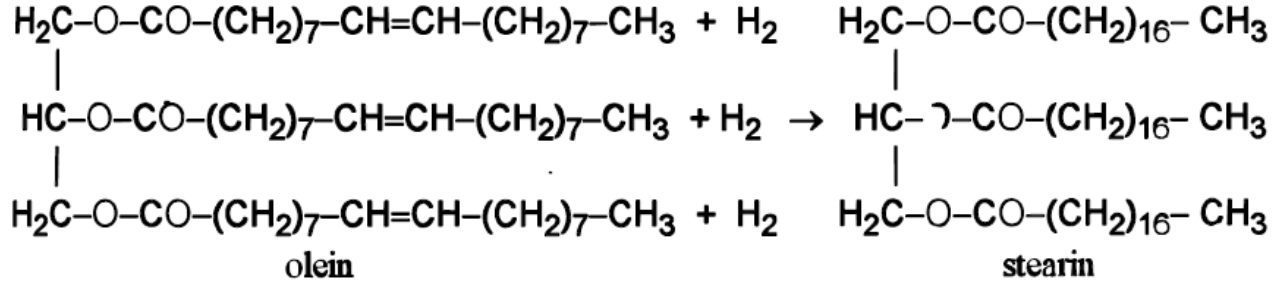


Şekil 2.26. Sabunlaşma reaksiyonu

Sabunlaşma (saponifikasyon) adı verilen bu reaksiyon, alkol ilavesiyle hızlandırılabilir. Sabunlaşma olayı sonucu oluşan sabunlar ve gliserin suda çözünür; ortama tuz katılırsa sabunlar çökerek ayrılırlar. Bilinen ağırlıkta bir yağın sabunlaşması için gerekli alkali miktarı hassas olarak ölçülebilir. 1 gram yağın sabunlaşması için gerekli olan mg cinsinden KOH miktarına, *sabunlaşma sayısı* denir. Sabunların işe yararlılığı, suda çözünmeyen maddeleri miseller denen mikroskopik agregatlar oluşturarak çözme ve dağıtma yetenekleridir. Sabunlar, sert sularda kullanıldıklarında suda çözünmeyen kalsiyum ve magnezyum tuzları haline dönüştürülürler ve tortu oluştururlar. Bu nedenle artık günümüzde, sert sularda çözünmeye daha elverişli olan deterjanlar kullanılmaktadır.

### Hidrojenlenme

Yağlardaki yağ asitlerinin doymamış bağları hidrojen ile doyurulabilir ve böylece doymuş yağlar meydana gelir (Şekil 2.27).



Şekil 2.27. Hidrojenlenme reaksiyonu

Bu reaksiyon, çeşitli sıvı bitkisel yağlardan margarinlerin elde edilmesinde kullanılır.

Ticarette, pamuk tohumu yağı gibi bazı sıvı yağlardaki doymamış bağlar hidrojen ile doyurularak mutfak yağları ve margarinler elde edilir.

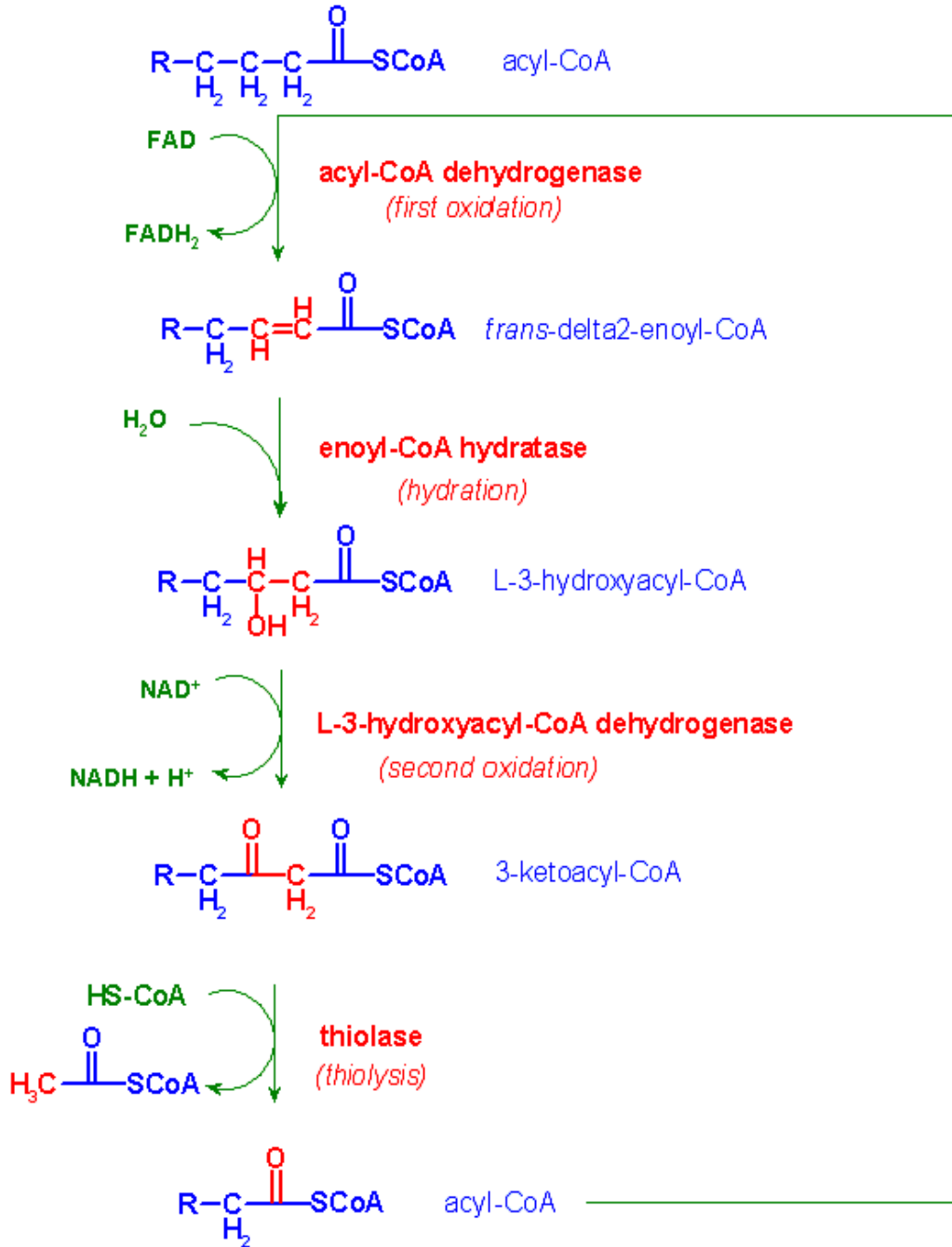
### Acılaşma

Yağlar, hava, ışık, rutubet, ısı ve bakteri etkisiyle kendilerine özgü koku ve tatlarını kaybederek acılaşırlar. Yağların acılaşması çeşitli nedenlere bağlı olabilir:

Yağların acılaşması, çeşitli oksidasyon olaylarından ileri gelebilir. Örneğin, doymamış bir trigliseridin çift bağının oksitlenmesi ile peroksitler meydana gelir; bunlar da daha sonra fena koku ve lezzetteki aldehitlerin oluşmasına neden olur ki bu olay, yağların ışık etkisinde kaldığı durumlarda hızlanır. Oksijenin ortadan kaldırılması veya kinon, fenol, bilirubin, vitamin E gibi antioksidanların eklenmesi yağlarda oksidasyondan ileri gelen acılaşmayı geciktirir.

Yağlardaki serbest doymuş yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu bir başka acılaşma nedenidir. Asit sayısı ve uçucu yağ asidi sayısı, acılaşmanın endeksleri olarak kabul edilirler.

Yağ asitlerinin  $\beta$  oksidasyonunun açıklanan bu dört reaksiyonunun tekrarlanmasıyla yağ asidi tamamen asetil-CoA'lara yıkılmış olur (Şekil 2.28).



Şekil 2.28. Yağ asitleri'nin  $\beta$  oksidasyonu

-Yağ asitlerinin  $\beta$  oksidasyonu ile oluşan asetil-CoA'lar;

- 1) Başka yağ asitlerinin sentezinde kullanılır.
- 2) Keton cisimlerinin yapımında kullanılır.
- 3) Kolesterol sentezinde kullanılır.
- 4) Steroidlerin ön maddesi olarak kullanılır.

5) N-asetilglukozamin gibi maddelerin oluşumu için bazı maddelerin asetillendirilmesinde kullanılır.

6) Sitrik asit döngüsünde yıkılarak organizmaya gerekli olan enerjinin sağlanmasında kullanılır.

**Asit sayısı**, 1 gram yağda bulunan serbest yağ asitlerinin nötralize edilmesi için gereken KOH'in mg cinsinden miktarıdır.

**Uçucu yağ asidi sayısı (Reichert-Meissl sayısı)**, 5 gram yağdan sabunlaştırma, asitleştirme ve bunlarla damıtma suretiyle elde edilen uçucu yağ asidinin nötralize edilmesi için gerekli olan 0,1N alkalinin mL cinsinden miktarıdır.

### b) Fosfolipidler

Fosfolipidler, fosfat içeren lipidlerdir; fosfatidler olarak da bilinirler. Fosfolipidler, asetonda çözünmezler. Molekül yapılarındaki alkol türüne göre fosfogliseridler (gliserofosfolipidler) ve fosfosfingozidler (sfingomyelinler) olmak üzere iki grupta incelenirler.

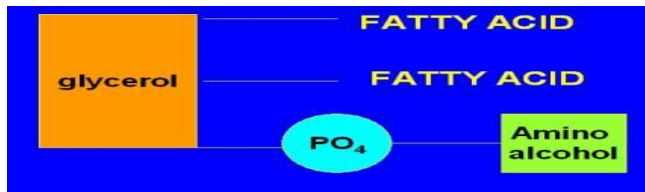
**Sfingomiyelinler**, alkol olarak gliserol yerine kompleks bir amino alkol olan sfingosin içeren fosfolipidlerdir (Şekil 2.29).



Şekil 2.29. Sfingomiyelin genel yapısı

### Fosfogliseridler (gliserofosfolipidler)

Fosfogliseridler, fosfatidik asit türevleridirler. Fosfogliseridlerin molekül yapısında gliserolün  $\alpha$ -karbonunda doymuş yağ asidi,  $\beta$ -karbonunda doymamış yağ asidi,  $\alpha'$ -karbonunda fosfat ve fosfogliseridin türüne göre değişen bir grup içerirler (Şekil 2.30).

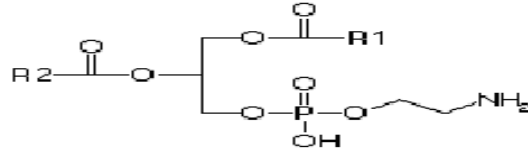


Şekil 2.30. Fosfogliserid genel yapısı

Fosfogliseridler (gliserofosfatidler), yapılarına göre dört grupta incelenirler:

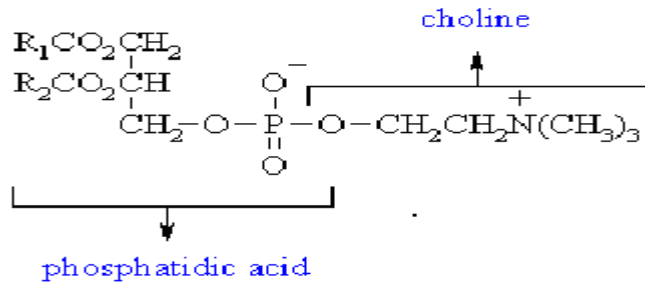
#### 1. Ester fosfatidler

a) Fosfatidiletanolamin (Kefalin, sefalin) : fosfatidik asidin etanolamin (kolamin) ile oluşturduğu gliserofosfolipiddir (Şekil 2.31).

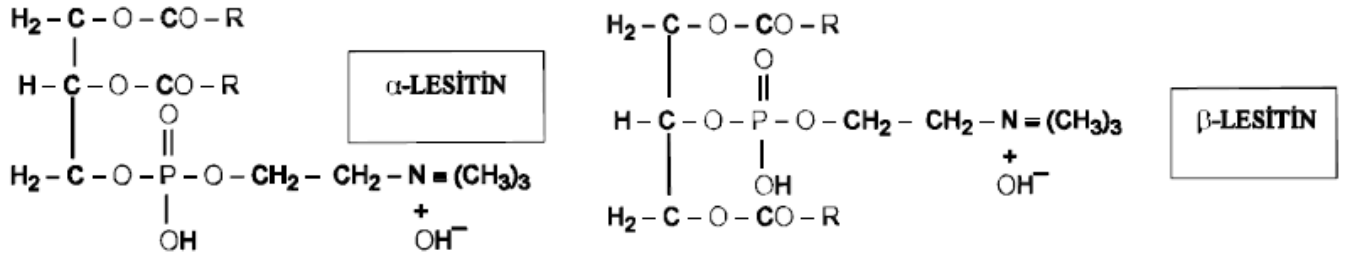


Şekil 2.31. Fosfatidiletanolamin genel yapısı

b) Fosfatidilkolin (Lesitin) : fosfatidik asidin kolin ile oluşturduğu gliserofosfolipiddir (Şekil 2.32).

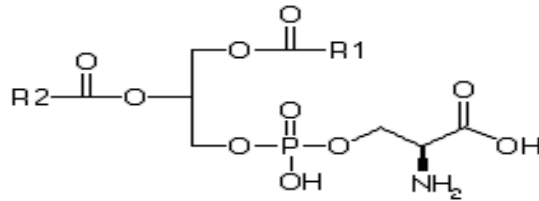


Şekil 2.32. Fosfatidilkolin genel yapısı



Şekil 2.33.  $\alpha$ -lesitin ve  $\beta$ -lesitin molekül yapısı

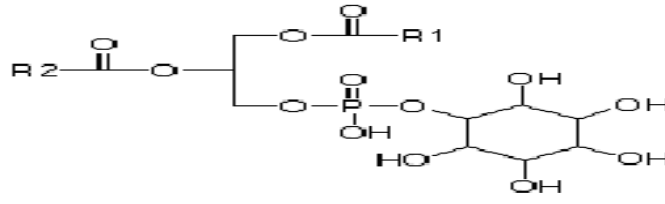
c) Fosfatidilserin : fosfatidik asidin serin ile oluşturduğu gliserofosfolipiddir (Şekil 2.34).



Şekil 2.34. Fosfatidilserin genel yapısı

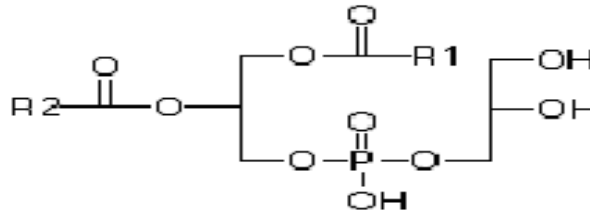
d) Fosfatidilinozitol : fosfatidik asidin inozitol ile oluşturduğu gliserofosfolipiddir (Şekil 2.35).





Şekil 2.35. Fosfatidilinozitol genel yapısı

e) Fosfatidilgliserol : fosfatidik asidin gliserol ile oluşturduğu gliserofosfolipiddir (Şekil 2.36).



Şekil 2.36. Fosfatidilgliserol genel yapısı

2.Asetol fosfatidler (Plazmalojenler)

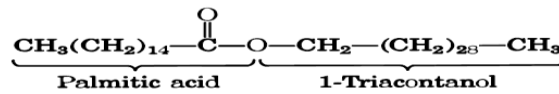
3.Kardiyolipin (difosfatidil gliserol)

4.Malignolipin

### 2.3.3.3. Gliserin taşımayan yağ asitleri

#### a) Mumlar

Mumlar, genellikle uzun zincirli yağ asitlerinin yine uzun zincirli ve bir hidroksilli yani bir değerli alkollerle meydana getirdikleri esterlerdir (Şekil 2.37).



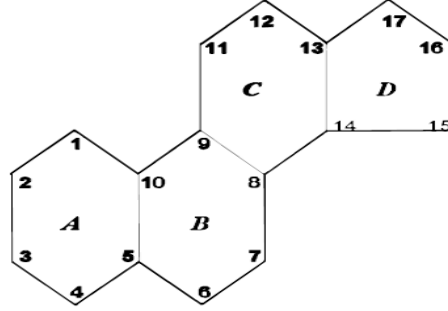
Şekil 2.37. Mum molekül yapısı

Mumların yapısında çok nadir de olsa iki değerli alkollere rastlanabilir. Ayrıca doğal mumların yapılarında yüksek miktarlarda ve serbest olarak uzun zincirli yağ asitleri, uzun zincirli alkoller ve yüksek molekül ağırlığına sahip doymuş hidrokarbonlar da bulunur. Mumlar, yağda çözünmezler, apolar çözücülerde çözünürler; yağlar kadar kolay hidrolize olmazlar, enzimlerle kolay parçalanmazlar.

Mumlar, doğada yaygın olarak bazı böceklerin salgılarında; hayvanların deri, kıl ve tüylerinde koruyucu tabaka halinde; bitkilerin yapraklarında, meyve ve kabuklarında bulunurlar.

## b) Steroidler

Steroidler, izoprenoid lipidler sınıfından, hayvansal ve bitkisel dokularda çok yaygın olarak bulunan maddelerdir. Tüm steroidler, 17 karbonlu **steran halkası** (gonan halkası, siklopentano-perhidrofenantren halkası) içerirler.



**Şekil 2.38.** Steran halka yapısı

Steran halkasının 17 nolu karbon atomuna çeşitli yan zincirler bağlanarak çeşitli steroidler oluşur. Steran halkası içeren, biyolojik yönden önemi olan maddeler 5 grup altında toplanırlar: 1) Steroller (sterinler). 2) Safra asitleri. 3) Cinsiyet hormonları. 4) Adrenal korteks hormonları. 5) Vitamin D grubu maddeler. Bunlardan ilk ikisi, lipidler bölümü içinde incelenirler.

### 1) Steroller (sterinler)

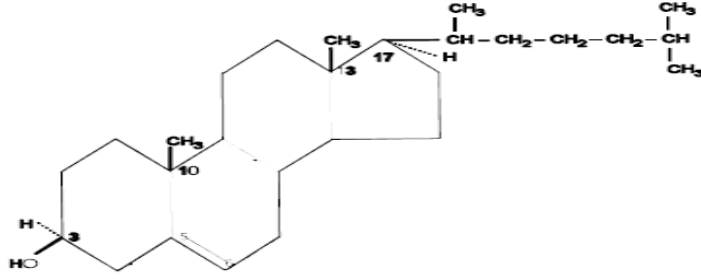
Steroller, 3 numaralı karbondaki alkolik bir hidroksil grubu bulunan steroidlerdir; kendi aralarında 3 grup oluştururlar:

- zoosteroller (zoosterinler)
- mukosteroller (mukosterinler)
- fitosteroller (fitosterinler)

#### a) Zoosteroller

Kolesterol zoosteroller grubundaki bir steroldür. İnsanlarda kardiyovasküler sistem hastalıklarının insidansı ile yüksek kan kolesterol düzeyi arasındaki kuvvetli ilişki nedeniyle en çok sözü edilen lipiddir.

Kolesterol, lipid sınıfının büyük bir alt grubunu oluşturan steroidlerin bir üyesidir; molekül yapısı, steroid yapıda ortak özellik olan bir steran halkası içerir (Şekil 2.39).



**Şekil 2.39.** Kolesterol molekül yapısı

Kolesterol beyaz kristalli, tatsız ve kokusuz bir maddedir; erime noktası 150 °C'dir. Kolesterol, su, asit ve alkalilerde çözünmez; organik çözücülerde, sıcak alkolde, sıvı ve katı yağlarda çözünür; ayrıca sabun çözeltilinde az, safra tuzu çözeltilinde çok çözünür. Kolesterol yağlarda çözündüğünde onların su çekmesine yardım eder; koyun tüyü yağı olan lanolinin su çekme özelliği, çok kolesterol içermesindedir.

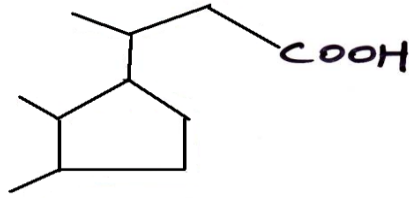
### **Kolesterolün biyofonksiyonları**

Kolesterol, impulsların oluştuğu ve taşındığı beyin ve sinir sisteminde yalıtıcılık görevi görür. Kolesterol, esterler oluşturarak organizmada özellikle doymamış yağ asitlerinin transportuna yardım eder. Kolesterol, antihemolitik etkiye sahiptir; bakteri toksinlerinin, yılan zehirlerinin, safra tuzlarının ve diğer hemolize neden olan maddelerin hemolitik etkilerine karşı tesir gösterir. Serbest kolesterol, mikrozomlardaki bazı enzimlerin regülasyonuna katkıda bulunur. Kolesterol, insan ve hayvanlarda hücre membranları yapısal elemanlarından biridir. Kolesterol, hayvansal dokularda en çok beyin, sinir dokusu, adrenal bezler, ve yumurta sarısında hem serbest halde hem de esterleşmiş halde bulunur. Kuru ağırlık olarak beyin beyaz maddesinin %14'ü, beyin gri maddesinin %6'sı, sürenallerin %10'u, böbreklerin %1,6'sı, dalağın %1,5'i, derinin %1,3'ü, karaciğerin %0,93'ü, iskelet kasının %0,25'i kolesteroldür.

Kolesterol oksitlenir ve konjuge çift bağ içerirse deride bulunan 7-dehidroksikolesterol meydana gelir; 7-dehidroksikolesterol de UV ışığa maruz kalırsa **kolekalsiferol** (vitamin D3) oluşur. Kolesterol, vitamin D3'ten başka steroid hormonların ve safra asitlerinin de ön maddesidir.

### **2) Safra asitleri**

Safra asitleri, 24 karbonlu steroidlerdir; kolanik asidin oksit türevleridirler. Safra asitleri, yapılarındaki steran halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu ve 5 karbonlu yan zincirlerinde bir karboksil grubu içerirler (Şekil 2.40).



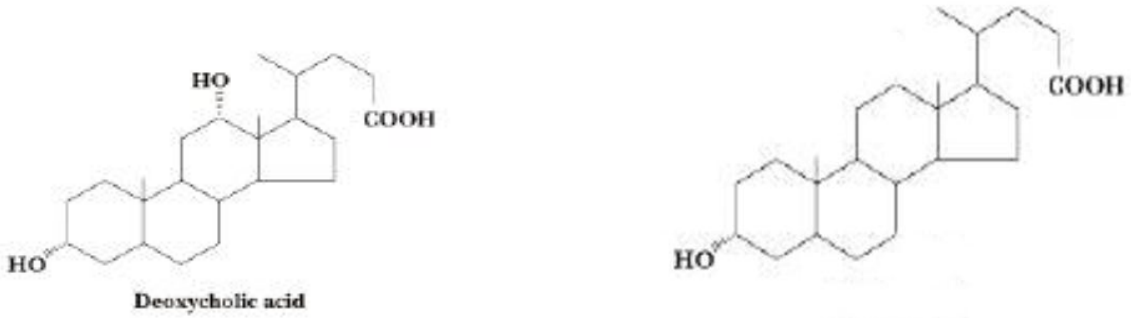
Şekil 2.40. Safra asit genel yapısı

Kolik asit (3,7,12-Trihidroksikolanik asit) ile kenodeoksikolik asit (3,7-Dihidroksikolanik asit), **primer safra asitleri** olarak bilinirler (Şekil 2.41).



Şekil 2.41. Primer safra asitleri genel yapısı

Deoksikolik asit (3,12-Dihidroksikolanik asit) ile litokolik asit (3-Hidroksikolanik asit) **sekonder safra asitleri** olarak bilinirler (Şekil 2.42).



Şekil 2.42. Sekonder safra asitleri genel yapısı

Safra asitlerinin özelliklerini şu şekilde sıralayabiliriz.

- 1) Safra asitleri, moleküllerinin büyük kısmı apolar ve küçük bir kısmı polar olduğundan, apolar yapılara apolar moleküller arası kuvvetlerle bağlanırlar ve yüzey gerilimini azaltırlar. Bu nedenle suda çözünmeyen lipidlerin emülsiyonlaşmasını, böylece enzimlerin bağırsak lümenindeki lipidlere daha iyi etki yapmalarını sağlarlar; bağırsaktaki lipidlerin emiliminde önemli rol oynarlar.
- 2) Serbest dezoksikolik asit (3,12-Dihidroksikolanik asit), diğer safra asitlerinden farklı olarak, yağ asitleriyle kompleks bileşikler yapabilir.
- 3) Safra asitleri, mukozaları tahriş ederler; litokolik asit intramuskuler uygulandığında lokal

iltihap oluşturur; hemoliz yapıcı etkiye sahiptirler; kalp üzerine dijital gibi etkileri vardır. Ancak safra asitleri, ağızdan alındıklarında toksik değildir.

### Safra asitlerinin biyofonksiyonları

1) Safra asitleri, yüzey gerilimini azaltıcı etkileriyle emülsiyonlaşmayı kolaylaştırırlar; hem yağların hem yağda çözünen vitaminlerin 0,3-1 $\mu$  çapında emülsiyon veya 16-20Å<sup>0</sup> çapında miseller halinde emilmelerini sağlarlar. Bağırsak lümeninde safra asitlerinin bulunmaması, misel oluşumunda bozulmaya ve yağların malabsorpsiyonu ile steatoreye (yağlı diyare) yol açar.

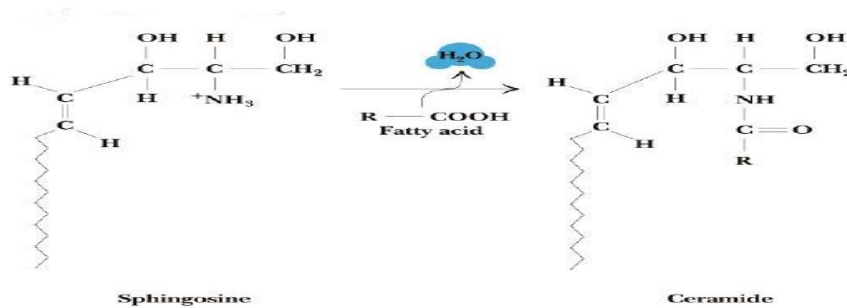
2) Safra asitleri, safra içindeki kolesterolün çökmesini önlerler. Safrada kolesterolün maksimal çözünebildiği noktada kolesterol/safra asidi oranı 5/80 kadardır. Karaciğer kolesterol ile aşırı doymuş safra salgırsa veya karaciğer normal bileşimde safra salgıladığı halde sonradan safranin bileşimi bozulur ve kolesterol/safra asidi oranı 5/80'den daha büyük olursa safradaki kolesterol çökerek safra taşlarını oluşturur. Böyle durumlarda ağızdan kenodezoksikolik asit verilmesiyle kolesterol/safra asidi oranının küçültülerek 5/80'in altına inmesi ve böylece safradaki kolesterolün çökmesi, dolayısıyla safra taşlarının oluşması önlenir.

3) Safra asitleri, kolesterol esterazı ve ince bağırsağın üst kısımlarında lipazı aktive ederler.

### 2.3.3.4. Kompleks lipidler

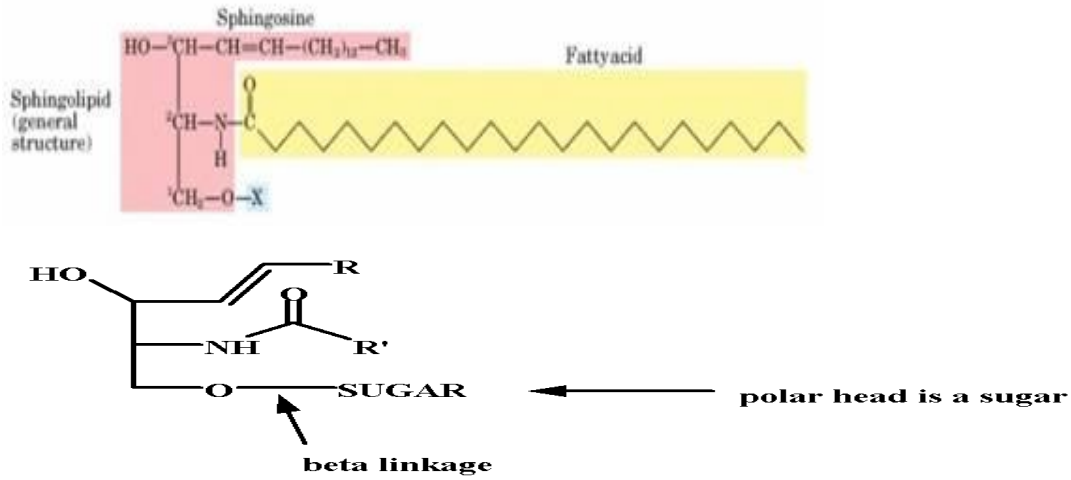
#### a) Glikolipidler ( glikosfingozidler)

Sfingozinin amino azotuna bir yağ asidinin amid bağı ile bağlanması suretiyle oluşmuş en basit sfingolipid seramiddir (Şekil 2.43).



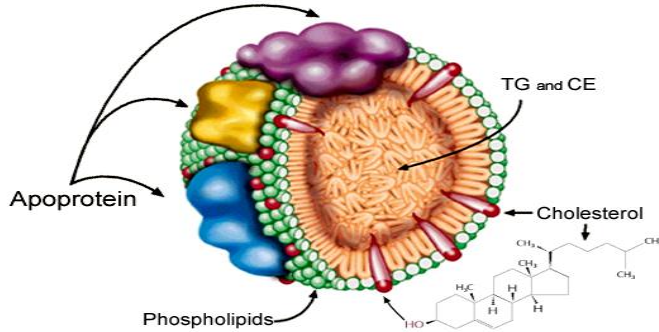
Şekil 2.43. Seramid molekül yapısı

Glikolipidler (glikosfingozidler), Yapılarında gliserol ve fosfat bulunmayan, seramide bağlı olarak karbonhidrat içeren sfingolipidlerdir (Şekil 2.44).



## b) Lipoproteinler

Lipoproteinler, fosfolipidler, kolesterol, kolesterol esterleri ve trigliseridlerin çeşitli kombinasyonları ile apolipoproteinler denen spesifik taşıyıcı proteinlerin moleküler agregatlarıdır. Lipoprotein partikülleri küre şeklindedirler; merkezde trigliseridlerin ve kolesterol esterlerinin hidrofobik lifleri, dış yüzde ise proteinlerin, fosfolipidlerin ve kolesterolün hidrofilik kısımları yer alır. (Şekil 2.45)



### 2.3.4. Yağ asitlerinin tayininde kullanılan yöntemler

#### 2.3.4.1. <sup>1</sup>H-NMR spektroskopisi yöntemi

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 özgülükte 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 tainlerinde.
- Süt tozlarındaki yağ, su tainlerinde
- Çikolata içerisindeki toplam yağ miktarı tainlerinde.
- Yağlı tohumlardaki yüzde yağ ve rutubet tainini.

- 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 tayininin yağ asitleri ve gliserin üzerinden yapılması gerekir. Besinlerde yağ tayini için çok basit ve doğru sonuç veren <sup>1</sup>H-NMR spektroskopisi yöntemidir. <sup>1</sup>H-NMR yönteminin esası, sıvılardaki H çekirdeklerinin katılardakine göre daha magnetik rezonans etkisi göstermesine dayanır. Özellikle sıvı yağlardaki hidrojen; karbonhidrat ve proteinlerdekinden daha etkindir. Böylece yağlı tohumlardaki yağ miktarı tayin edilebileceği gibi bir karışımdaki katı ve sıvı yağ oranı da tesbit edilebilir.

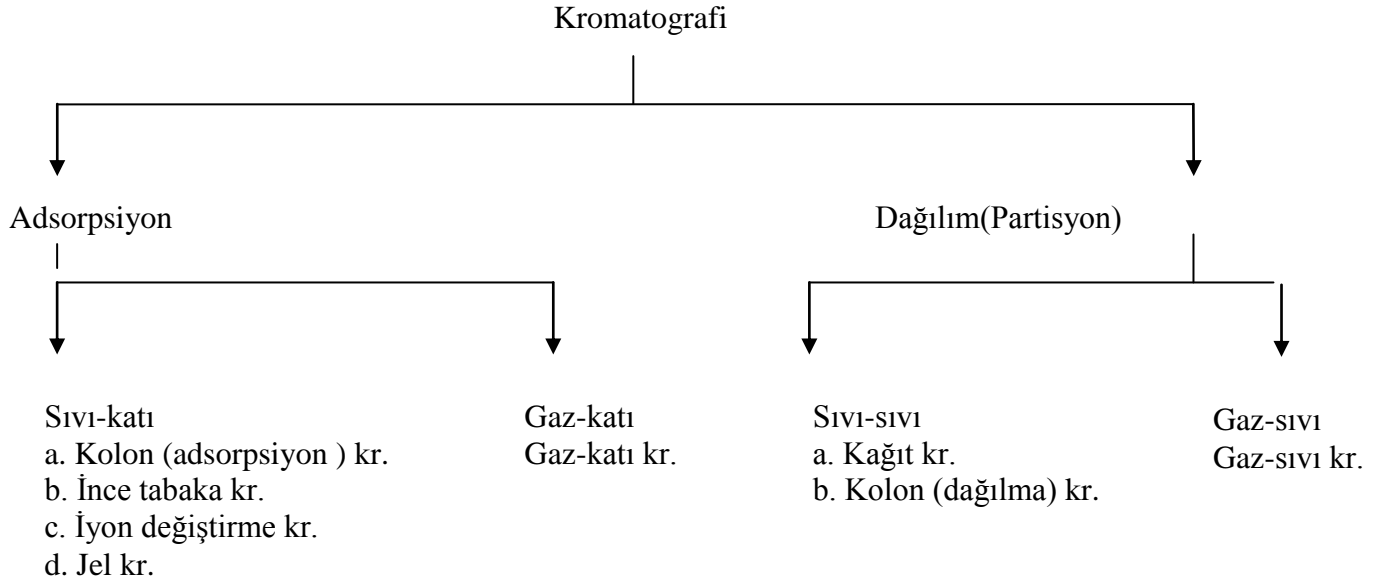
#### **2.3.4.2. Kromatografik yöntemler**

**Kromatografi**, birbirine yakın özellikteki madde karışımlarını ayırmak için kullanılan güçlü bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir. Genel olarak tanımı ise, Kromatografi, bir karışımın sabit bir faz üzerinde (gözenekli) , hareketli bir çözücü yardımıyla , karışımı oluşturan bileşiklerin farklı hareketleri sonucu bileşenlerine ayrılması olarak tanımlanır. Kromatografide sabit ve hareketli olmak üzere iki faz vardır. Sabit faz katı ve sıvı hareketli faz sıvı ve gaz olabilir. Ayrımı istenen karışım hareketli faz yardımıyla sabit faz üzerinden geçirilir. Karışımı oluşturan bileşikler sabit faz tarafından farklı ölçüde tutulması nedeniyle her bir bileşik sistemi farklı zamanlarda terk eder. Böylece bileşikleri birbirinden ayırmak, tanımak ve ayrı ayrı toplamak olasıdır.

Kromatografi farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Esas olarak adsorbsiyon (yüzeyde tutma) ve partiyon (dağılma) mekanizmaları üzerinden yürür .

Kromatografik sistemleri aşağıdaki şema ile de gösterebiliriz (Şekil 2.46).





**Şekil 2.46.** Kromatografik sistemleri şeması

#### 2.3.4.2.1. Adsorpsiyon kromatografisi

Katı veya sıvı moleküllerin , sıvı veya gaz moleküllerini çekim kuvvetleri yardımıyla yüzeyde tutmasına **adsorbsiyon** denir. Burada sözü edilen adsorbsiyon fiziksel adsorbsiyondur. Zayıf van der waals ,elektro statik çekimler ve dipol –dipol etkileşimleri’ne dayanır ,tersinirdir.

Adsorbsiyon kromatografisinde ayırım, karışımı oluşturan farklı bileşiklerin sabit faz yüzeyinde değişik derecede adsorbe olmaları ilkesine dayanır. Sabit faz katı, hareketli faz sıvı veya gazdır.. Sabit faz olarak alümina ( $Al_2O_3$ ), silikajel ( $SiO_2$ ), talk ve bunun gibi gözenekli maddeler, hareketli faz olarak alkol, aseton,kloroform gibi bütün organik çözücüler kullanılabilir. Sabit ve hareketli fazın seçimi ,ayırımı yapılacak bileşiklerin polaritesine kimyasal özelliklerine bağlı olarak yapılır.Genelde polar maddeler için polar çözücüler apolar maddeler için apolar çözücüler kullanılır.

Çeşitli maddelerin adsorblayıcı veya sabit faz üzerinde adsorblanma dereceleri farklı olduğundan ,farklı yerlerde toplanırlar. En fazla adsorblanan maddelerin sürüklenmesi ve hareketleri daha zayıf daha yavaş, tersine az adsorblananların hareketleri ve sürüklenmeleri hızlı olur.

#### 2.3.4.2.2. Dağılım (partisyon) kromatografisi

Dağılım, bir karışımdaki maddelerin birden fazla çözücü içerisindeki çözünürlükleri oranında dağılmasıdır. Bu, çözücünün ve maddenin özelliklerine bağlı bir fonksiyondur.

Bu kromatografide ayırım çözünürlük esasına göre karışımın sabit ve hareketli faz arasındaki dağılımına dayanır. Bu yöntemde, sabit sıvı faz, yüksek yüzey alanlı gözenekli bir

katı destek maddesine emdirilmiştir. Hareketli faz ise sıvı veya gazdır. Ayırımı gerçekleştirilecek bileşikler hareketli ve sabit faz sıvılarında farklı çözünürlük farkından dolayı bileşikler sistemi önce veya sonra terkederler. Çözünürlüğü sabit fazda olan bileşikler sistemde daha uzun süre tutulduğu için sistemi daha geç terk ederler.

### **Gaz kromatografisi**

Gaz kromatografisi, diğer kromatografiler gibi bir karışımda bulunan maddeleri ayırmaya yarar. Metil esterlerine dönüştürülerek, kapiler kolonlar kullanılarak gaz kromatografisi ile ayırma en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bu metodla zincir uzunluğu, doymamışlık derecesi ve cis-trans izomeri tespit edilir. Diğer kromatografilere göre avantajı sonuçların çabuk elde edilmesi ve ucuz olmasıdır. Gaz kromatografide (GC), numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analiti kolon boyunca taşımaktır. İki tür gaz kromatografisi vardır: Gaz-katı kromatografisi (GSC), gaz-sıvı kromatografisi (GLC). Gaz-sıvı kromatografisi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı için adı genelde kısaltılır ve gaz kromatografisi (GC) terimi kullanılır. Bu yapılırken, gaz-katı kromatografisinin, az da kullanılsa var olduğu gerçeği ihmal edilmiş olmaktadır.

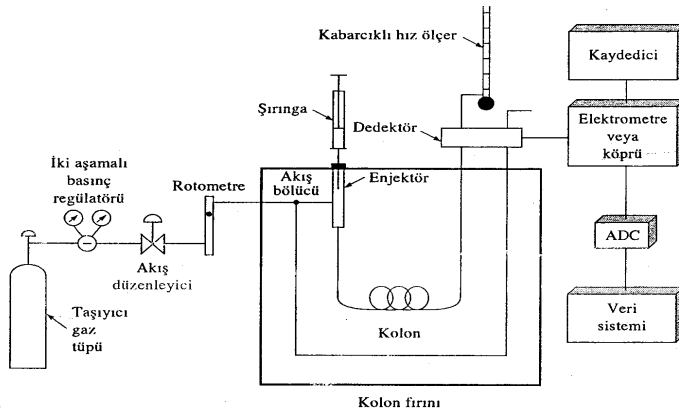
Gaz-katı kromatografisi katı bir durgun faz üzerinde fiziksel adsorpsiyon sonucu analitlerin alıkonmasını temel alır. Gaz-katı kromatografisi iki nedenle sınırlı uygulama alanı bulur; polar moleküllerin kalıcı denebilecek ölçüde alıkonma problemi ve adsorpsiyon olayının doğrusal olmayışı nedeni ile kuyruklanmanın aşırı oranda meydana gelmesi. Bu nedenlerle yöntem küçük mol kütleli moleküllerin ayrılmasının dışında fazla bir uygulama alanı bulamamıştır. Gaz-sıvı kromatografisi analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Gaz-sıvı kromatografisinin temeli ilk kez 1941 yılında Martin ve Synge tarafından geliştirilmiştir. Bu araştırmacılar aynı zamanda sıvı-sıvı dağılım kromatografisinin de bulucularıdır.

Burada sabit faz, gaz –katı Kromatografisindeki geniş yüzeyli dolgu maddelerine emdirilmiş bir sıvı (yüksek mol kütleli polimerler) ve hareketli faz gazdır.

Ayırımı istenen karışım, bir enjektör yardımıyla enjeksiyon kısmına enjekte edilir. Enjektör bölümü ısıtılmış durumdadır, karışım hemen buharlaşır ve buhar halinde inert taşıyıcı gaz ile birlikte kolona girer. Kolonda her bileşik kaynama noktasına, molekül büyüklüğüne ve kolondaki sabit faz ile etkileşimine bağlı olarak kolonda farklı hızlarda göç ederek devamlı taşınırlar ve böylece birbirlerinden ayrılarak farklı zamanlarda kolondan

çıkırlar. Kolondan çıkan herbir bileşen dedektöre girer, dedektörde bileşenlerin miktarı ile orantılı olarak belirlenir ve kaydedicide grafik olarak çizilir. Her bileşik alıkonma zamanı ile belirlenir. Alıkonma zamanı bir bileşiğin enjekte edilmesinden dedektörden çıkışına kadar geçen süredir. Bu süre her bileşik için farklıdır.

Son yirmi yıl içinde, piyasadaki kromatografi cihazlarında birçok değişim ve gelişmeler gözlenmektedir. 1970'lerde elektronik integratörler ve mikroişlemcili cihazlar yaygınlaşmıştır. 1980'lerde, kolon sıcaklığı, akış hızı, numune enjeksiyonu gibi parametreleri otomatik kontrol eden bilgisayarlar kullanılmaktaydı. Ayrıca, çok yüksek performanslı cihazlar makul fiyatlarla piyasaya çıkması sonucu, çok sayıda analiti kısa sürede ayırabilen açık kılcal kolonların kullanımları da bu yıllarda geliştirilmiştir



**Şekil 2.47.** Bir gaz kromatografi cihazının şeması

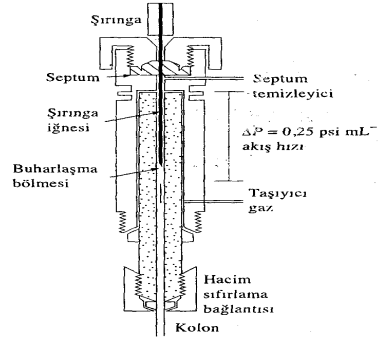
### Taşıyıcı Gaz

İnert olması gereken taşıyıcı gaz, genelde helyum, hidrojen, azottur. Gaz seçimi, kullanılan detektör tipine göre yapılır. Giriş basınçları, genelde 10-50 psi (oda basıncının üstünde) arasında değişir ve dolgu kolonlarda 25-150 ml/dakika, açık boru tipi kılcal kolonlarda ise 1-25 ml/dakika akış hızlarına ulaşılabilir.

### Numune Enjeksiyon Sistemi

Kolon verimi, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde "bir defada" verilmesini gerektirir. Yavaş enjeksiyon veya fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olmaktadır. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın yöntem sızdırmaz enjektörler kullanımıdır. Şekil 2.48 ' de bir enjeksiyon bölmesini şematik olarak göstermektedir. Normal analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 µl arasında olabilmektedir. Kılcal kolonlarda daha küçük miktarlar ( $1^{-3}$  µl) enjekte edilebilir. Bunun için kolon girişine bir bölücü yerleştirilmelidir. Bölücü enjekte edilen numunenin bir kısmının

kolona gitmesini sağlarken, diğer kısım dışarı atılmaktadır.



Şekil 2.48. Enjeksiyon bölgesi buharlaştırıcısının kesiti

### Kolon Yerleşim Biçimi ve Kolon Fırın

Gaz kromatografide dolgulu ve kılcal (açık boru) olmak üzere iki tür kolon kullanılmaktadır. Bugüne kadar çalışmaların büyük bir çoğunluğu dolgulu kolonlar ile gerçekleştirilmiştir. Ancak son zamanlarda durum hızla değişmekte ve dolgulu kolonlar, bazı özel uygulamalar hariç, yerlerini daha verimli ve hızlı kılcal kolonlara bırakmaktadır.

Kromatografik kolonların boyları 2-50 m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılmaktadır. Bu kolonları ısı kontrolü yapılan bir fırına yerleştirebilmek için 10-30 cm çapında spiraller haline getirmek gerekmektedir. En az hata ile çalışabilmek için, 0,1°C duyarlılıkla kontrol edilmesi gereken bir başka önemli parametre kolon sıcaklığıdır.

### Dedeksiyon Sistemleri

Gaz kromatografide kullanılan ideal dedektörler aşağıdaki özelliklerde olmalıdırlar:

Yeterli duyarlık. (Genel olarak, bugünün dedektörlerinin duyarlılıkları  $10^{-8}$  ile  $10^{-15}$ g madde/s arasında değişmektedir.)

- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik.
- Geniş bir doğrusal çalışma aralığı.
- 400 °C kadar varan sıcaklık aralığı.
- Akış hızından bağımsız küçük cevap zamanı.
- Yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı.
- Numuneyi parçalamamalı.

#### a) Alev İyonlaşma dedektörü (FID) :

Alev iyonlaşma dedektörü, gaz kromatografide en yaygın biçimde kullanılan dedektördür. Şekil 2.47 'de gösterildiği gibi kolondan gelen gaz, hidrojen ve hava ile

karıştırılıp elektrik çakmağı ile tutuşturularak alev meydana getirilir. Hidrojen/hava alevinde yakılan organik bileşiklerin birçoğu iyon ve elektronlar meydana getirir. Bunlar alevden elektrik akımının geçmesine yardımcı olurlar. Bekin ucu ile üzerinde bulunan toplayıcı elektrodada birkaç yüz voltluk potansiyel uygulanırsa  $10^{-12}$  amper kadar akım oluşur. Bu akım bir işlemsel yükselticiye ölçüm için gönderilir.

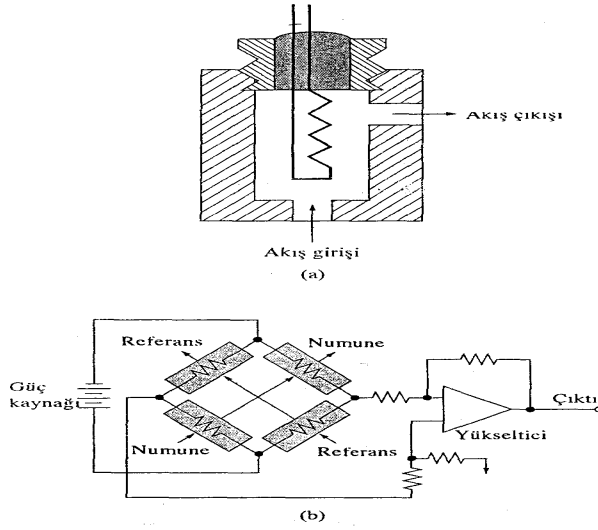
Dedektörün duyarlılığı çok yüksektir ( $10^{-13}$  g/s), doğrusal çalışma aralığı geniştir ( $\sim 10^7$ ) ve gürültüsü azdır. Genellikle dayanıklıdır ve kolay kullanılabilirler. Alev iyonlaşma dedektörünün sakıncası ise numuneyi parçalıyor olmasıdır.

### **Termal İletkenlik Dedektörü (TCD):**

Gaz kromatografide ilk kullanılan ve halen kullanılmaya devam eden bu dedektör, kolondan geçmekte olan gazın, içinde analit molekülleri bulunması halinde ısı iletkenliğinde meydana gelen değişime dayanmaktadır. Dedektörün diğer bir adı katarometredir. Katarometrede elektriksel olarak ısıtılan bir termal elemanın sıcaklığı, etrafından geçmekte olan gazın ısı iletkenliğine bağlı olarak değişmektedir. Bu eleman platin, altın veya tungsten tel olabilir. Bir yan iletken termistör de ısı elemanı olarak kullanılmaktadır. Telin veya termistörün direnci, gazın termal iletkenliğinin ölçüsünü göstermektedir.

İki çift eleman kullanılmaktadır. Bir çift eleman, gazın kolondan çıkış yoluna yerleştirilmiştir; diğer çift, madde enjeksiyon bölgesinde kolon öncesi gaz yoluna yerleştirilmiştir. Bu elemanlar "numune" ve "referans" olarak sınıflandırılmaktadır. Bir başka tip dedektör de gaz akışı ikiye ayrılabilir. Her iki halde de taşıyıcı gazın ısı iletkenliğe katkısı, iki akışın dengelenmesi ile yok edilip, akış hızında, basınçta ve elektriksel güçte meydana gelen değişimler en aza indirilmektedir. İkiz dedektör çiftlerinin direnci, çoğu zaman, Şekil 2.49 'daki gibi bir Wheatstone köprüsüne bağlanarak karşılaştırılır.

1979'da tek-telli termal iletkenlik dedektörü geliştirilmiştir. Bu cihaz yüksek duyarlılık, düşük zemin hattı kayması ve kısa dengeleme süresi sağlamaktadır. Bu dedektörde analitik ve referans gazlar, seramik dedektör hücresi içinde bulunan çok küçük bir tel üzerinden geçirilmektedir.



**Şekil 2.49.** Termal iletkenlik dedektörünün (a) dedektör hücresi ve (b) çift numune ve referans kanallı hücre düzeni (J. W, Himham, LC-GC, 1990, 8, 298.)

Helyum ve hidrojenin ısı iletkenlikleri birçok organik bileşiğin ısı iletkenliğinden altı-on katı kadar büyüktür. Bu nedenle çok küçük miktardaki organik maddenin varlığında dahi, kolonu terk eden gazın iletkenliğinde büyük bir değişiklik meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak da dedektör sıcaklığı değişme göstermektedir. Organik gazların termal iletkenlikleri birbirlerine yakın olduğundan termal iletkenlik dedektöründe iyi duyarlık için helyum veya hidrojen kullanmak gerekmektedir.

Termal iletkenlik dedektörünün üstünlükleri; basitliği, geniş bir doğrusal bölge ( $10^5$ ), organik ve inorganik maddelerin hepsine cevap vermesi, maddeyi parçalamaması'dır. Termal iletkenlik dedektörünün gözlenebilme sınırı ( $\sim 10^{-8}$  g madde/mL taşıyıcı gaz) düşüktür. Diğer dedektörlerin duyarlılıkları  $10^4 - 10^7$  kez daha fazladır. Çok az madde enjekte edildiğinden kılcal kolonlar bu dedektörler ile kullanılmamaktadır.

### c) Elektron-Yakalama Dedektörü (ECD):

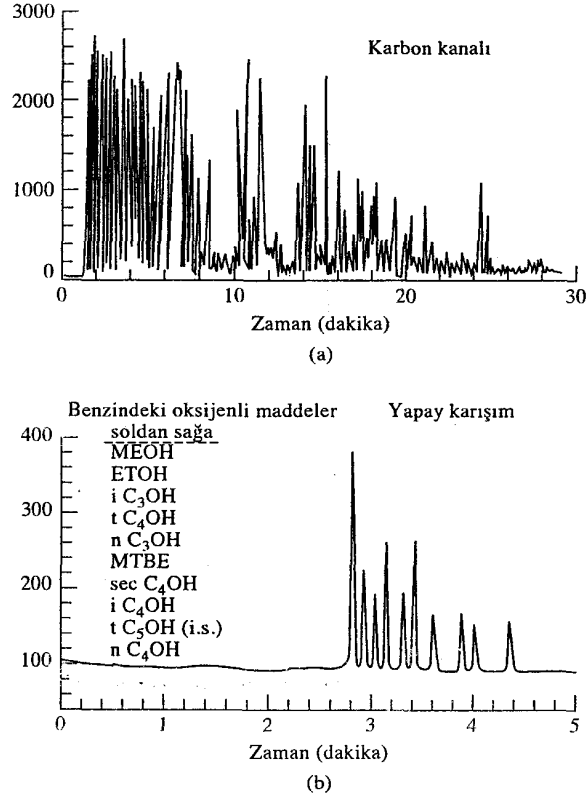
Halojen içeren maddelerin seçimli dedeksiyonuna imkan verdiği için elektron yakalama dedektörü çevre numunelerinin tayininde çok yaygın kullanılmaktadır. Özellikle pestisitlerin, poliklorobifenillerin tayininde kullanılmaktadır. Bu tür dedektörlerde kolondan çıkan gazlar bir B- yayıcısının (genelde Ni-63) üzerinden geçirilmektedir.  $\beta$  tanecikleri genellikle azot olan taşıyıcı gazı iyonlaştırarak çok sayıda elektron oluşmasına neden olmaktadır. Organik maddelerin yokluğunda dedektörde bulunan bir çift elektrot arasında belli bir akım meydana gelmektedir. Kolondan elektron yakalama özelliği olan organik madde gelmesi halinde elektronların bir kısmı tutulur ve elektrotlarda akım düşmesi gözlenmektedir.

Elektron yakalama dedektörü seçicidir ve elektronegatif fonksiyonel grup içeren moleküllere karşı (halojenler, peroksitler, kinonlar ve nitro grupları) çok duyarlıdır. Aminlere, alkollere ve hidrokarbonlar gibi fonksiyonlu gruplara karşı duyarlı değildir. Bu dedektör klorlu pestisitlerin belirlenmesi ve tayininde uygulama alanı bulmaktadır.

Elektron-yakalama dedektörü çok duyarlıdır ve seçici olması büyük avantajıdır. Ancak doğrusal çalışma bölgesi  $10^2$  kadardır.

**d) Atomik Emisyon Dedektörleri (AED):**

Atomik emisyon dedektörleri piyasada mevcut sistemlerdir. Bu cihazda kolon gazları mikrodalga ile enerjilendirilmiş helyum plazmasına gönderilir. Helyum plazması, bir diyod-serili optik emisyon spektrometreye bağlıdır. Plazmada numunedeki tüm elementler atomlaştırılır ve karakteristik atomik emisyon spektrumu oluşturulur. Bu spektrum, 170-780 nm arasında ışınlanabilir, hareketli düz diyotlu sistemden oluşan spektrometre ile gözlenir. Ayarlanabilir diyod, iki veya dört elementi aynı anda ölçebilir durumdadır. Şu sıralarda mevcut bilgisayar programları, 15 elementin derişiminin ölçülmesinin bu dedektörlerle yapılabilmesine imkan sağlamaktadır. Gelecekte daha çok elementin tayininin yapılacağı beklenmektedir.



**Şekil 2.50.** MTBE ve birçok allifatik alkoller içeren benzin örneğinin kromatogramları: (a) karbon kanalının izlenmesi (b) oksijen kanalının izlenmesi

#### e) Termiyonik Dedektörler (TID):

Termiyonik dedektörler fosfor ve azot içeren organik bileşiklere karşı seçicidirler. Fosfora karşı duyarlılığı azotun on katı, karbonun ise  $10^4$ - $10^6$  katıdır. Alev iyonlaşma dedektörü ile karşılaştırıldığı zaman termiyonik dedektör, fosfor bileşiklerine karşı 500, azot bileşiklerine karşı 50 kez daha duyarlıdır. Bu özelliğinden dolayı termiyonik dedektör fosforlu pestisitlerin tayininde özellikle kullanılmaktadır.

Termiyonik dedektörün yapısı iyonlaşma dedektörüne benzemektedir. Kolon gazları hidrojen ile karıştırılıp, alev ucunda yakılmaktadır. Sıcak gazlar sonra, bir toplayıcıya karşı 180 voltta tutulan ve elektriksel olarak ısıtılan rubidyum silikat parçanın üzerinden geçirilmektedir. Silikat taneciği, 600-800°C kadar sıcaklık veren bir plazma oluşturmaktadır. Olay tümüyle açıklanmamış olmakla beraber, fosfor veya azot içeren maddelerden çok sayıda iyon oluşup bu iyonlardan, P ve N içeren bileşiklerin tayininde yararlanılmaktadır.



## 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 radikaller ile ilgili çalışmalar Gomberg'in 1900'larda trifenilmetil radikalının ( $\text{Ph}_3\text{C}\cdot$ ) varlığı ispatlanmasıyla başlamıştır. 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 kararlıdır. 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. Birçok biyolojik molekül, sadece ortaklanmış elektronlar içeren radikal olmayan türlerin kimyasal yapısı üzerine yoğun araştırmalar ve tartışmalar bulunmaktadır. 1960'ların başlarında süperoksidin, ksantin oksidaz dahil birçok enzim ile ilgisi olduğu belirlendi. Ayrıca 1968'de selüler toksisiteye sebep olan süperoksidin, çözeltilerde mevcut olduğu da bulundu.

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, lipit içeren gıdaların oksidasyonunu yavaşlatmayı hedeflerler. Bunun yanısıra biyomedikalçiler ve klinisyenler de organizmayı, reaktif oksijen türleri tarafından oluşan hasara karşı korudukları için antioksidanlara ilgi duymuşlardır (Frankel 1980, 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 hücre metabolizma sırasında oluşabileceği 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 neredeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidan maddelerin en önemlileri: tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asitdir (Yanishlieva 2001 ve Hudson 1990). Bitkilere renklerini veren de büyük ölçüde bu polifenolik yapıli 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 herhengi 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).

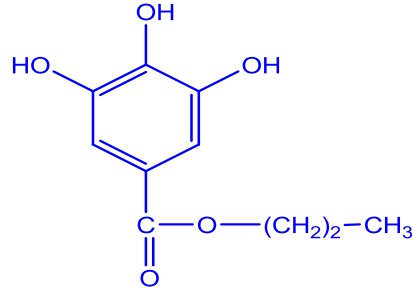
Son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin ya da bulundukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen olduğu veya negatif sağlık etkilerine neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Bunun doğal sonucu olarak da doğal kaynaklı antioksidanlara olan eğilim gittikçe 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 şeklindedir.

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).



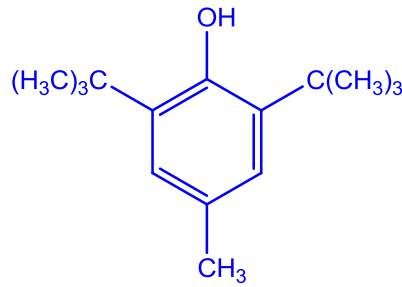
**Şekil 2.51.** Propil Gallat molekülünün yapısı

**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 2.52.** BHA (Bütillendirilmiş hidroksi anisol) molekülünün yapısı

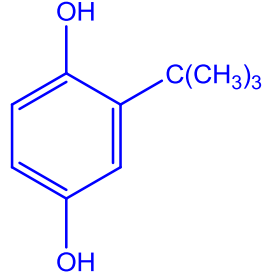
**BHA:** Bu antioksidan, ticari olarak 3-tertiyerbutil-4-hidroksianisol (%85) ile 2-tertiyerbutil-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı halindedir. Beyaz mumsu katı bir yapıya sahip olup, bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılmaktadır. Bitkisel yağlardaki antioksidatif etkisi, hayvansal yağlardaki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



**BHT**

**Şekil 2.53.** 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 2.54.** TBHQ (tersiyerbütülhidrokinon) 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 atılmayıp 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  $\alpha$ -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 acılaşmasına 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 ( $O_2^{\bullet-}$ ) 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 ( $O_2^{\bullet-}$ ) ve  $H_2O_2$  giderilebilir. Süperoksit dismutaz hızlı bir şekilde  $O_2^{\bullet-}$  ve  $H_2O_2$  'e çevirebilir. Peroksidazlarda 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 (Ak 2006)

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 selerosis	Hücrelerdeki yapısal bozunmalar
Kronik granümatöz 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 artirit	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\bullet-}$ , $H_2O_2$ üretimi
Demir yüklenmesi	
İdoyopatik hemokromatosis	Geçiş metallere oksijene elektron transferi sonucu
Talesemi	Geçiş metallere oksijene elektron transferi sonucu
Akciğer düzensizlikleri	
Asbestosis	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
Radyasyon hasarları	
Zedelenme (reperfüzyon)	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
Deri bozuklukları	
Solar radyasyon zehirlenmesi	Yüksek veya düşük radyasyon 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. Reaktif oksijen türleri

Antioksidan bileşiklerin etkinliği, lipid substratlarına, uygulanan test sistemine, antioksidan bileşiklerin konsantrasyonuna, oksidasyon süresine ve kullanılan metoda göre değişiklik arz eder. Örneğin bu etkinlik için çözücü sistemini ele alalım. Antioksidanlar farklı çözücü sistemlerde farklı aktiviteler sergilemektedir. Örneğin troloks,  $\alpha$ -tokoferolun suda çözünen analogudur ve trigiliseritlerde tokoferolden daha aktif iken, suda-yağ emülsiyonlarında tokoferolden daha az aktivite göstermektedir (Frankel ve ark. 1994).

Antioksidanlar sisteminin özelliğine bağlı olarak farklı aktivite gösterirler. Polar antioksidanlar yağlı sistemlerde, apolar antioksidanlar ise yağ-su emülsiyon sistemlerinde daha iyi antioksidan etki gösterirler (Porter ve ark. 1989, Frankel ve ark. 1994). Ayrıca aynı antioksidanların kullanıldığı emülsiyon sisteminde, emülsiferin anyonik veya katyonik özelliğine bağlı olarak da antioksidan aktivitelerde farklılık gözlenebilir. Negatif yüklü emülsiferin kullanıldığı sistemlerdeki göre daha hızlı meydana gelebilmektedir. Anyonik emülsiferler, ortamda bulunabilecek eser miktarda geçiş metallere ki bunlar pozitif yüklüdür ve elektrostatik olarak çekerek onların yağ fazında konsantre olmasına ve sonuçta Fenton reaksiyonunun katkısı ile oksidasyon hızında belirgin bir artmaya neden olur. Ancak katyonik emülsiferler geçiş metallere iterek yağ fazında konsantre olmalarını engeller ve bu nedenle de bu tür sistemlerde oksidasyon hızı daha düşüktür.

Reaktif oksijen ve azot türleri insan vücudunda farklı şekillerde meydana gelir. Bazıları biyokimyasal döngü içerisinde olmaması gereken kimyasal reaksiyonlar neticesinde oluşur. Örneğin; süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat, mitokondrial ve strom P450 elektron transport zincirlerinin bileşikleri gibi bazı biyomoleküllerin oksijen tarafından doğrudan oksidasyonuyla artabilir (Halliwell 1994). Ayrıca insanlar çoğu zaman farklı kaynaklardan radyasyona maruz kalmaktadır. Böyle



durumlarda düşük dalga boyundaki elektromagnetik ışınlar suyu parçalayarak reaktif hidroksi radikallerini oluşturabilir. Reaktif oksijen türleri canlı organizmada sigara içilmesi durumlarında olduğu gibi dışarıdan da alınabilir. Sigara dumanının ana bileşiği  $\text{NO}_2\bullet$  dir.  $\text{NO}_2\bullet$  'in sigara olefinleri ile reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli radikallerin olduğu öne sürülmektedir. Ayrıca sigara içimi nötrofilleri aktive ederek dolaylı olarak da serbest radikal üretimini artırabilir (Papap 1996). Gıda maddeleri özellikle de yağ ihtiva eden ürünler, işleme ambalajlanma esnasında oksijenden uzak tutmakta ya da antioksidanlar aracılığı ile oksidasyondan korunmaya çalışılmaktadır (Ak 2006).

### **2.4.3. Serbest radikallerin etkileri**

#### **2.4.3.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri**

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

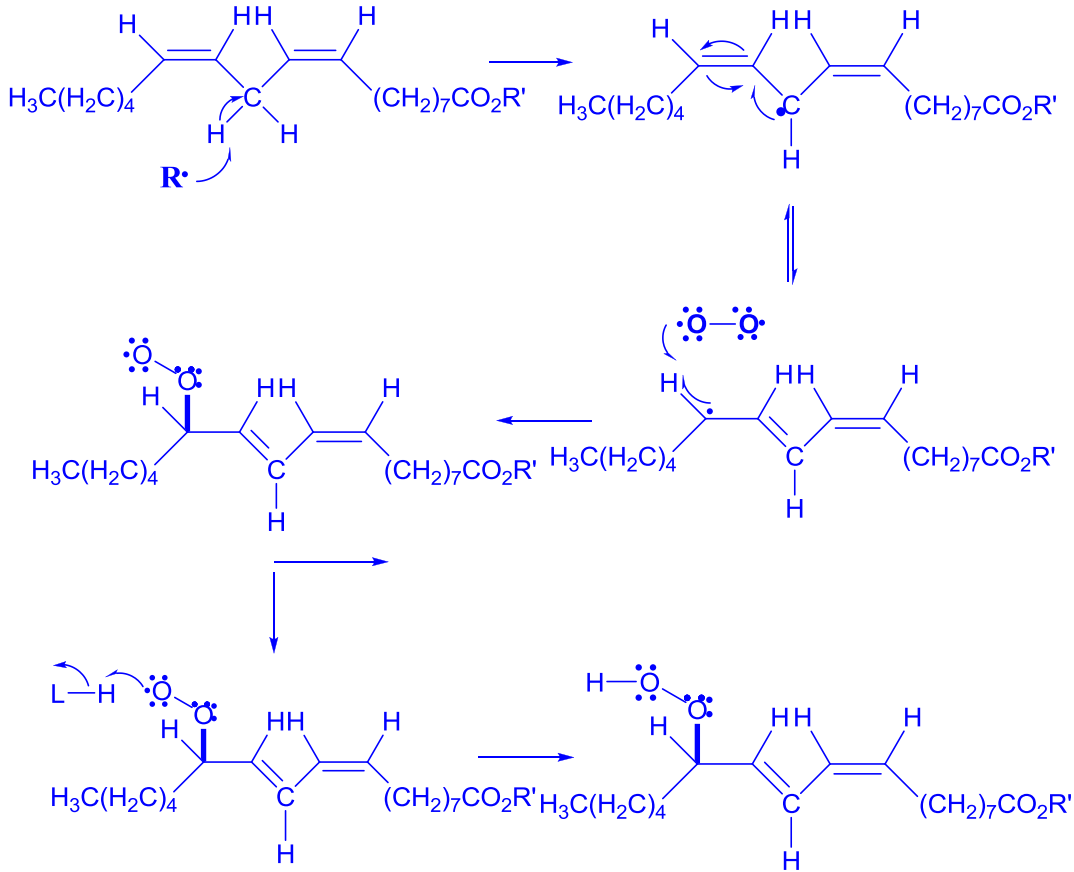
Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

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 ( $\text{L}\bullet$ ) ve lipid peroksit radikallerinin ( $\text{LOO}\bullet$ ) 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 ( $\text{L}\bullet$ ) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin ( $\text{L}\bullet$ ) moleküler oksijenle ( $\text{O}_2$ ) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri ( $\text{LOO}\bullet$ ) oluşur. Lipid peroksit radikalleri ( $\text{LOO}\bullet$ ), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine ( $\text{LOOH}$ ) 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 2.55. Lineoleik asidin otoksidasyon reaksiyon şeması

#### 2.4.3.2. 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 immünoglobülin 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. Hemoglobin 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.

#### **2.4.3.3. 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.

#### **2.4.3.4. 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.

#### **2.4.3.5. 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:

#### **2.4.3.6. Serbest radikallere karşı nonenzimatik korunma**

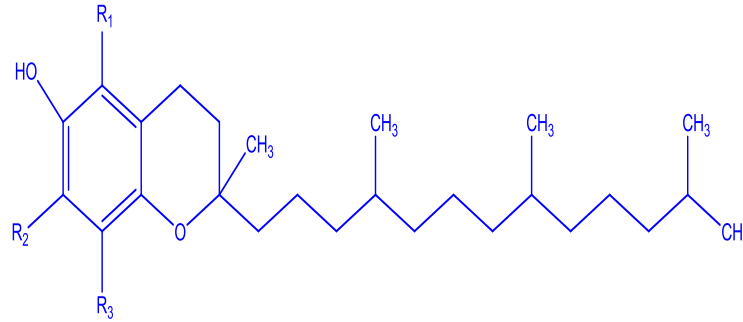
##### **2.4.3.6.1 Tokoferoller:**

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 ve Hudson 1990).

Tokoferoller doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturmaktadır. Genellikle E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol) olarak bilinen monofenolik yapısındaki antioksidanlar olup güçlü biyolojik antioksidatif aktiviteleri sayesinde gıda, ilaç ve kozmetik alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. E vitamini 1922'de beslenme ile doğurganlık arasındaki ilişkiyi araştıran Evans ve Bishop tarafından bulundu ve ilk kez 1930'ların sonlarında tanımlandılar; tokotrienoller yaklaşık 25 yıl sonra tanımlandılar.

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 araştırmalar, 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 aktif  $\alpha$ -tokoferoldür. Geçmişte asıl olarak  $\alpha$ -tokoferol üzerinde yoğunlaşmışken, bugün öteki tokoferoller ve tokotrienoller daha fazla ilgi çekmektedir. İlk sonuçlara göre bunlar,  $\alpha$ -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,  $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -, $\delta$ -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;  $\alpha$ ->  $\beta$  - >  $\gamma$  ->  $\delta$ -tokoferol'dür. Birçok ülkede yapılan klinik çalışmalar 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.



$\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \gamma \rightarrow \delta$  -Tokoferol

Şekil 2.56.  $\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \gamma \rightarrow \delta$ - Tokoferolün molekül yapısı

Çizelge 2.6.  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$  Tokoferolün sübstientleri

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
$\alpha$	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
$\beta$	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
$\gamma$	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
$\delta$	H	H	H

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

#### 2.4.3.6.2. Flavonoidler ve fenolik asitler

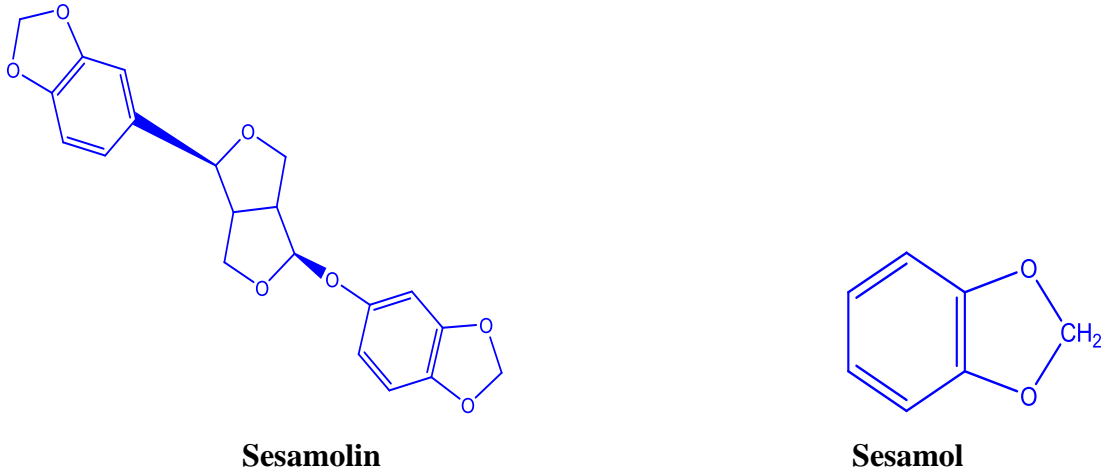
Flavonoidler polifenolik yapıda olup birçok bitki, meyve ve sebzede bol miktarda bulunmaktadır. Son zamanlarda hakkında en çok araştırma yapılan doğal antioksidan gruplarından biridir. Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde, ve tohumları başta olmak

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).

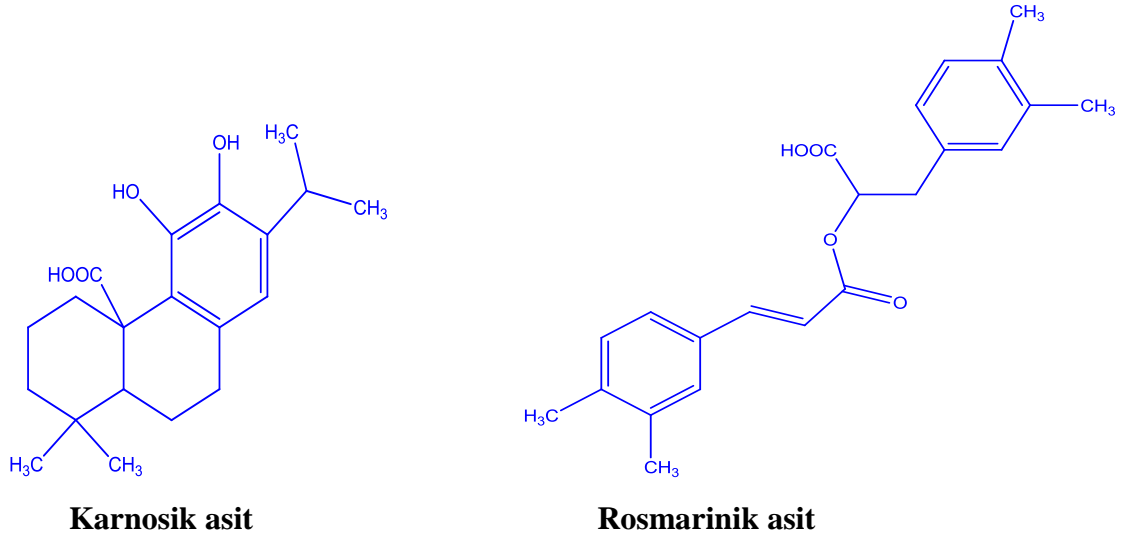
Yapılan araştırmalarda bol miktarda sebze meyve tüketimi sonucu, hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayde değer azalmalar olduğu (Ames ve ark. 1993) bildirilmiştir.

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 Food 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).

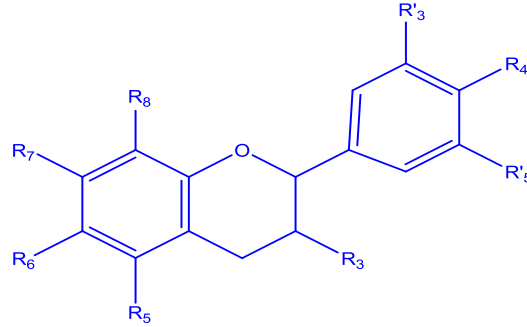


Şekil 2.57. Sesamolignin ve Sesamol moleköl yapıları



**Şekil 2.58.** Karnosik asit ve Rosmarinik asitin molekül yapısı

Flavonoidlerin; antosiyaninler, kateşinler, izoflavonlar ve flavonoller gibi türleri vardır. 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 2.59.** 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).

#### **2.4.3.6.3. Karotenoidler:**

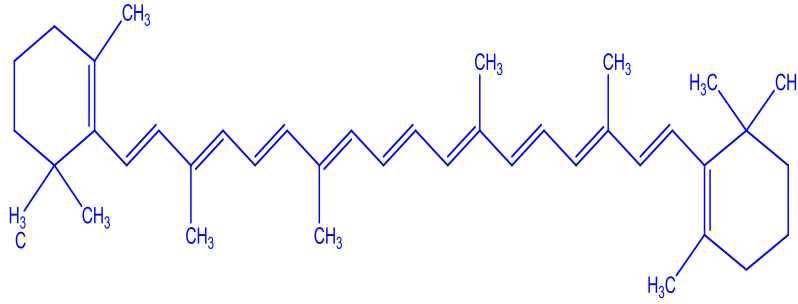
Karotenoid bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda (yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde) bulunan pigmenttir. Karotenler tetraterpenlerdir yani kuyruk kuyruğa bağlanmış diterpenlerden oluşurlar. (Terpenler hidrokarbonların geniş ve çeşitli bir sınıfıdır, başlıca bitkiler, özellikle iğne yapraklılar, tarafından üretilmekle beraber bazı böceklerde de (örneğin; *Papilionidae* cinsindeki kelebekler) osmeteriyumlarında terpenler

salgılarları. Reçinenin ve ondan elde edilen terebentinin ana bileşkesidir. Terpen sözcüğü ‘‘terebehtin’’ sözcüğünden türetilmiştir. Terpenler kimyasal olarak değişime uğradıklarında örneğın; 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,  $C_{40}$  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,  $\alpha$ - ve  $\beta$ -karotenlerin toplam karotenoid muhtevasının yaklaşık %90'ını oluşturduğunu gösterir; geri kalanı ile  $\gamma$ -karoten  $\alpha$  ve  $\beta$ -karoten, fitofluen, fitoen, zeakaroten, likopen, neurosporen ve  $\alpha$ -ve  $\beta$ -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  $\beta$ -karoten, genellikle eşit renklendirme oluşturmak için gıda maddelerine katılır (Mukhopadhyay 2000). Aynı zamanda  $\beta$ -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 2.60.**  $\beta$ -karotenin molekül yapısı

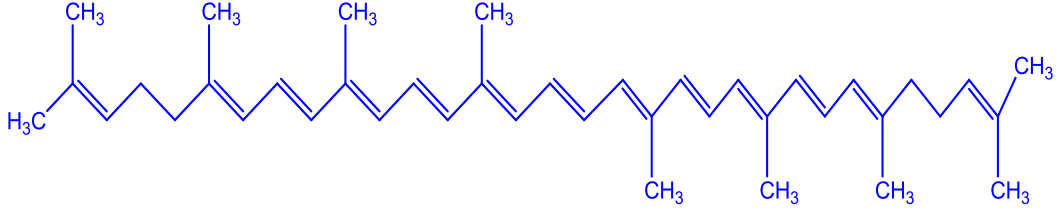
Karotenler, karaciğerde enzimler yardımı ile A vitaminine dönüşürler (Karotenler A vitaminin ön maddesidir). A vitamini; görme, büyüme, cilt sağlığı için gereklidir. Hemen hemen tüm yeşil bitkilerde bulunmaktadır.

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  $\beta$ -karotendir. Bitkilerde ksantofil lutein en bol karotenoiddir. Bitkilerin yapraklarında bulunan lutein ve diğer karotenoidler bariz değildir çünkü klorofil gibi diğer pigmentler tarafından maskelenir.

#### **2.4.3.6.4. 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 (oksidlenirse) 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.



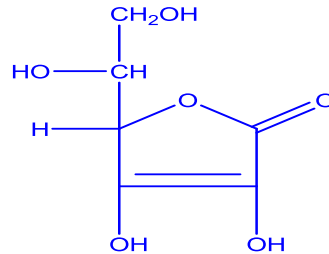
**Şekil 2.61.** Likopenin molekül yapısı

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.

#### 2.4.3.6.5. 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 meyva 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 2.62.** Askorbikasidin molekül yapısı

Askorbik asit kimyasal olarak tanınmadan önce hastalıklarda olan ilişkisi bilinmekteydi. Askorbik asidin yetersizliğine bağlı skorbüt hastalığını Hipokrates 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. 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'ye 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 hidrojeninde 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 farmokinetik 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 farmokinetiğidir. 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)).

## 2.5. Antioksidan Aktivite 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.

### 2.5.1. 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, yükseltgenbilir moleküler probdan ve bir antioksidan bileşikten 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 (Büyüktuncel 2013).

#### 2.5.1.1. $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi

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

$\beta$ -Karoten-lineolik asit emülsiyon sistemi yöntemi, emülsiyondaki lineolik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin,  $\beta$ -karoten'le reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic ve ark. 2004).  $\beta$ -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  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Dolayısıyla daha yüksek absorbans, daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir (Eryiğit 2006). Bu yöntemin üstünlüğü; hızlı, basit ve duyarlı bir yöntem olmasıdır (Koleva ve ark. 2002).

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

ilişki vardır.

#### **Avantajları:**

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

### **2.5.2. 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.

Oksidan + e-(antioksidan) → indirgenmiş oksidan + yükseltgenmiş antioksidan

#### **2.5.2.1. 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 indirgenmediğinde 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 indirgenmediği zaman 517 nm'den kayma gösterirken antioksidan miktarına bağlı olarak absorpsiyonda düzenli bir azalma meydana gelir. Bir bitki özütünün IC<sub>50</sub> 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 violemdir. 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 karotenoitler, 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 (Büyüktüncel 2013).

#### **2.5.2.2. 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 absorbands 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 çözünmelidirler ve seyreltilmelidirler. Polifenoller için FRAP değerleri oldukça daha düşük iken, CUPRAC değerleri TEAC değerleriyle benzerdir (Büyüktüncel 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 (Büyüktüncel 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 (Büyüktüncel 2013).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyaller

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Bütilhidroksianisol (BHA) (ALDRICH, 1001362298), Bütilhidroksitoluen (BHT) (SAFC, 101075504), L-Askorbik asit (Sigma-Aldrich, 101089006), Ethanol (Merck), 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), linoleik asit (Aldrich, technical %60-74),  $\beta$ -Karoten (Sigma-Aldrich, 22040-5G-F), polioksietilensorbitan monolaurat (Tween-20) (merck-8.22184.0500).

##### 3.1.2. Yaralanılan alet ve cihazlar

Gaz Kromatografi : Agilent 7890 A

UV-VIS Spektrofotometre : TETRA, T80+UV/VIS Spektrofotometre

Hassas terazi : Sartorius cp224s

Su Banyosu : Elektro-Mag

İnkübatör : Elektro-Mag (0-300oC)

Vorteks : Fisons, Whirlimixer

Evaporatör : BÜCHI Rotavapor R-200

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1 Bitkinin toplanması

Bu çalışmada, proje kapsamında araştırılacak olan *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) 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) Ağustos 2012 tarihinde *Solanum dulcamara* bitkisi toplanmıştır. Bitkiler toplandıktan sonra, Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümünde, Botanik Ana Bilim Dalında çalışan Yrd. Doç. Dr. Necmettin GÜLER tarafından tanımlanarak, bitkilere bir Herbaryum numarası verilmiştir (*Solanum dulcamara*: EDTU 13162). Toplanan bitkiler bir hafta açık havada kurutulmuştur. Kurutulan yaprak miktarı 500 g, kurutulan meyve miktarı 400 g olarak belirlenmiştir.

### 3.2.2. Bitkinin ekstraksiyonu

Kurutulan yaprak ve meyveler küçük parçalara ayrıldıktan sonra, 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 ekstreler elde edilmiştir. Ham ekstre miktarları;

*Solanum dulcamara* yaprak n-hegzan ekstresi: 25,369 g

*Solanum dulcamara* yaprak diklormetan(DKM) ekstresi: 28.75 g

*Solanum dulcamara* yaprak etilasetat (EA) ekstresi: 56.47 g

*Solanum dulcamara* yaprak metanol ekstresi: 96.44 g

*Solanum dulcamara* meyve n-hegzan ekstresi: 1.37 g

*Solanum dulcamara* meyve diklormetan (DKM) ekstresi: 8.48 g

*Solanum dulcamara* meyve etilasetat (EA) ekstresi: 12.67 g

*Solanum dulcamara* meyve metanol ekstresi: 65.93 gramdır.

### 3.2.3. *Solanum dulcamara* bitkisinin meyve ve yapraklarında antioksidan aktivite tayini

Bitkinin meyve ve yapraklarının etilasetat ve hegzan ekstrelerinde antioksidan aktivitesi üç farklı yöntemle ( $\beta$ -Karoten, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, CUPRAC metodu) tayin edilmiştir.

#### 3.2.3.1. $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi

Bu yöntem,  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 180dk) inkübasyona devam edildi.  $\beta$ -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

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

ln: 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:

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

$A_{Kontrol}$  kontrolün absorbansı,  $A_{Örnek}$  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,  $1.0 \times 10^{-2}$  M olacak şekilde bakır(II) klorür dihidrat'tan ( $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ) 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,  $7.5 \times 10^{-3}$  M olacak şekilde 0.039 g tartım alınıp mutlak etil alkolle çözülüp 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Bir deney tüpü içerisine sırasıyla 1 mL  $1.0 \times 10^{-2}$  M Cu(II) klorür çözeltisi, 1 mL 1 M amonyum asetat tampon (pH 7.0) çözeltisi, 1 mL  $7.5 \times 10^{-3}$  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. *Solanum dulcamara* 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 250/320 °C sıcaklık limiti.

Sıcaklıklar ;

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. *Solanum dulcamara* 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" metoduna 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 Yaprağında Antioksidan Aktivite Tayini

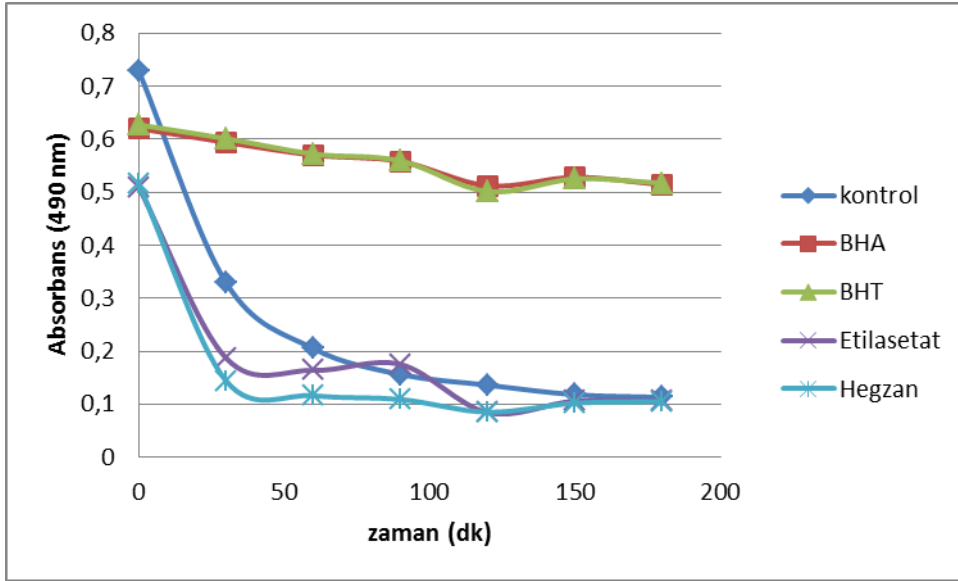
Bu tez çalışmasında, *S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprağının n-hegzan ve etilasetat ekstralarının antioksidan aktivite tayinleri,  $\beta$ -karoten renk açılım metodu, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve Cuprac metodu yöntemleriyle yapıldı.

*S. dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprağının, n-hegzan ve etilasetat ekstralarında antioksidan aktivite tayini ve *S.dulcamara* bitkisinin yağ asidi bileşiminin tayini ilk defa bu çalışma ile literatüre sunulmuş olacaktır.

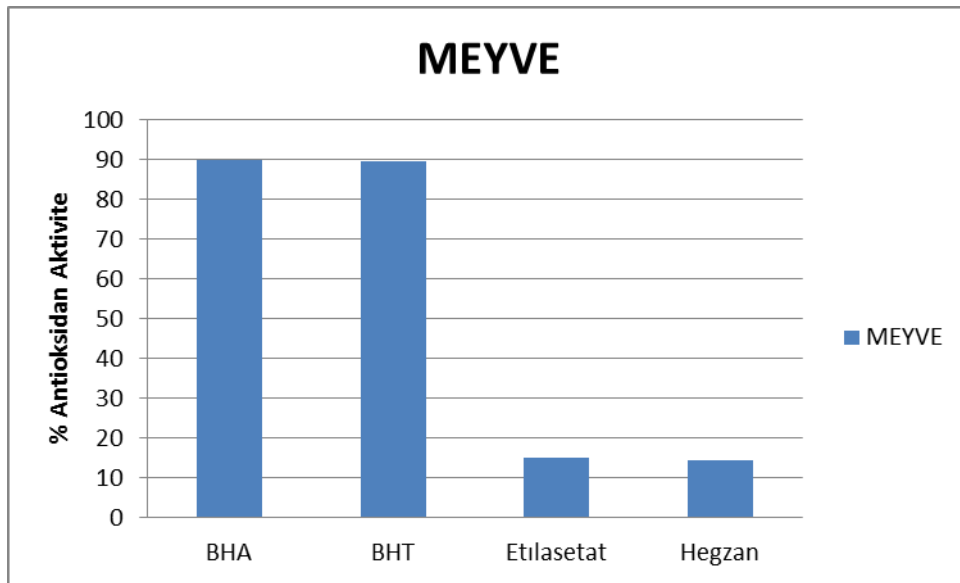
#### 4.1.1. $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları

##### 4.1.1.1. *S. dulcamara* bitkisinin meyve ekstralarının $\beta$ -karoten renk açılım yöntemi sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin meyve ekstralarında,  $\beta$ -karoten- lineoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Çizelge 4.1.' de gösterilmiştir.



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



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

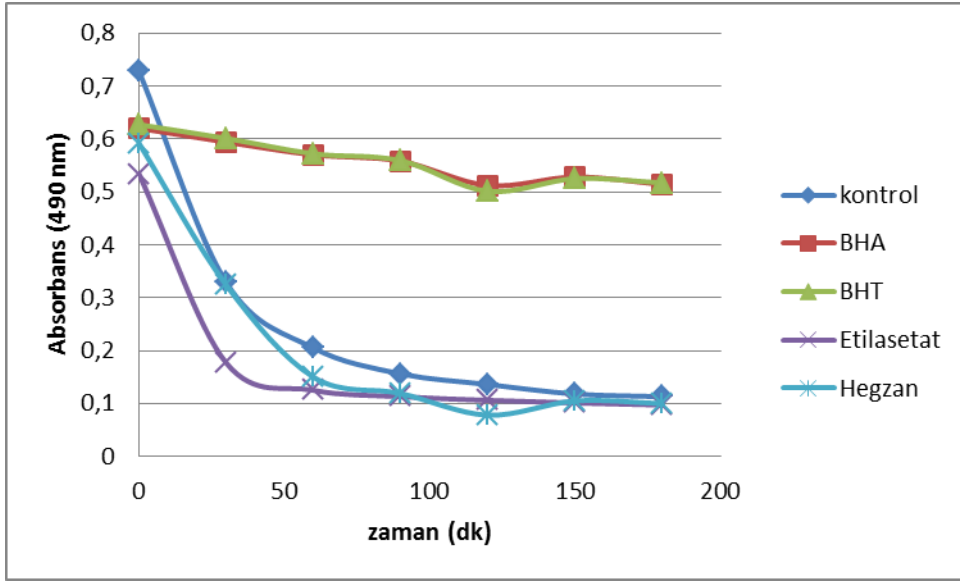
Yapılan  $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde *Solanum dulcamara* L., bitkisinin meyve n-hegzan ve etilasetat ekstralarının birbirine eşdeğer olduğu görülmektedir.

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

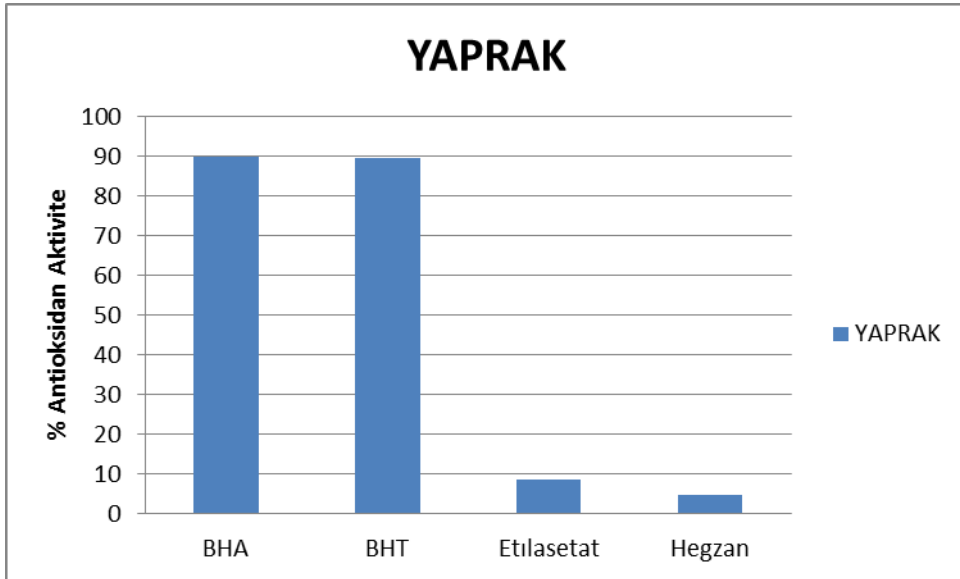
	Absorbans Değişim Oranı	% Antioksidan Aktivite
<b>Kontrol</b>	0,01035	
<b>BHA</b>	0,00104	89,94
<b>BHT</b>	0,001071	89,65
<b>Etilasetat</b>	0,008798	14,99
<b>n-hegzan</b>	0,008838	14,6

#### 4.1.1.2. *S. dulcamara* bitkisinin yaprak ekstralarının $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin yaprak n-hegzan ve etilasetat ekstralarında,  $\beta$ -karoten-lineoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Çizelge 4.2' de gösterilmiştir.



**Şekil 4.3.**  $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL *S.dulcamara* yaprak ekstralarının ve standartlarının zaman karşı absorpsiyon değışim grafiği



**Şekil 4.4.**  $\beta$ -karoten lineoleik asit emülsiyon sistemindeki, 2 mg/mL *S.dulcamara* yaprak ekstralarının ve standartların yüzde antioksidan aktivite değışim grafiği

Yapılan  $\beta$ -karoten-lineoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde, *S.dulcamara* yaprak-etilasetat ekstresi, n-hegzan ekstresine göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuç bize, etilasetat ekstresinin, n-hegzan ekstresine göre, antioksidan kapasitesi daha fazla olan molekülleri içerdiği yönde fikir vermektedir.

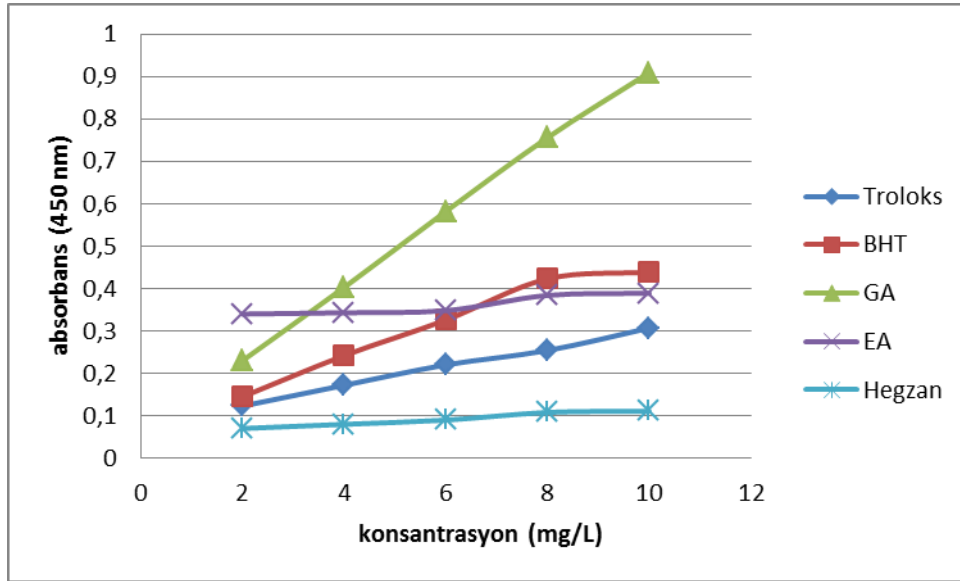
**Çizelge 4.2.** *S.dulcamara* yaprak ekstraları ile sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) ilişkin % antioksidan aktivite ve absorbanans değışim oranları

	Absorbans Değişim Oranı	% Antioksidan Aktivite
<b>Kontrol</b>	0,01035	
<b>BHA</b>	0,00104	89,94
<b>BHT</b>	0,001071	89,65
<b>Etilasetat</b>	0,009445	8,74
<b>n-hegzan</b>	0,009864	4,68

#### 4.1.2. CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları

##### 4.1.2.1. *S. dulcamara* bitkisinin meyve ekstralarının CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayin sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin meyve n-hegzan ve etilasetat ekstralarında, CUPRAC metoduna göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.5. ve Çizelge 4.3.' de gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.** *S. dulcamara* meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbanans (450 nm) grafiğı

Çizelge 4.3.' te verilen sonuçlara göre *S. dulcamara*, bitkisinin meyve-EtOAc ekstrasının daha fazla kuprik iyonunu, kuprüze indirgeyerek troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) miktarının n-hegzan ekstrasına göre yüksek olduğu gözlenmiştir. TEAC değeri ne kadar büyük ise antioksidan aktivitesi o kadar büyüktür.

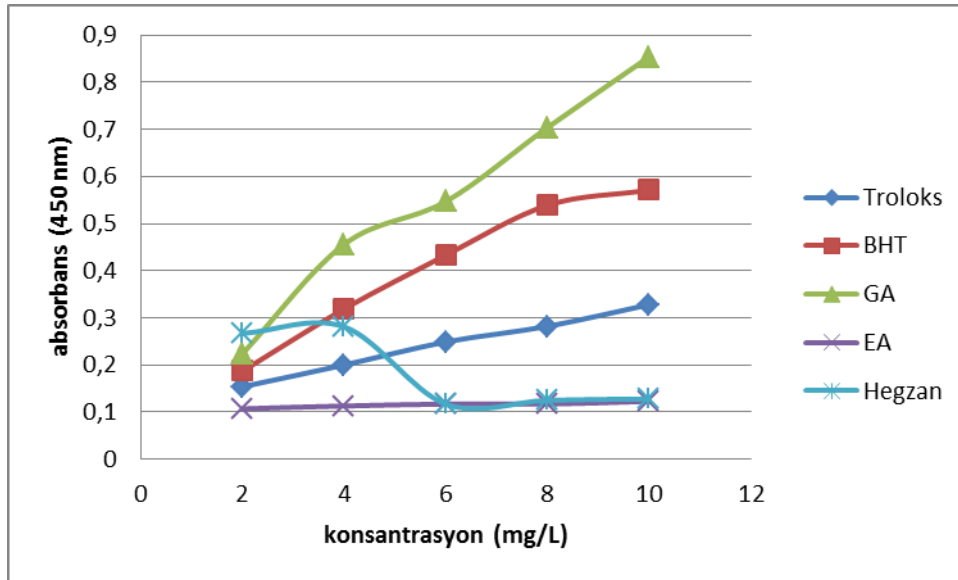


**Çizelge 4.3.** *S.dulcamara* meyve ekstralarının, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC<sub>TEAK</sub> değerleri) karşılaştırılması

	Troloks	Gallik Asit	BHT	n-hegzan	EtOAc
<b>Eğim</b>	0,0225	0,0856	0,0385	0,0025	0,007
<b>TEAC</b>	1	3,804	1,711	0,111	0,311

#### 4.1.2.2. *S. dulcamara* bitkisinin yaprak ekstralarının CUPRAC metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin yaprak n-hegzan ve etilasetat ekstralarında, CUPRAC metoduna göre antioksidan aktivite tayini sonuçları; Şekil 4.6. ve Çizelge 4.4.' de gösterilmiştir.



**Şekil 4.6.** *S. dulcamara* yaprak ekstralarının, konsantrasyona karşı absorban (450 nm) grafiği

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

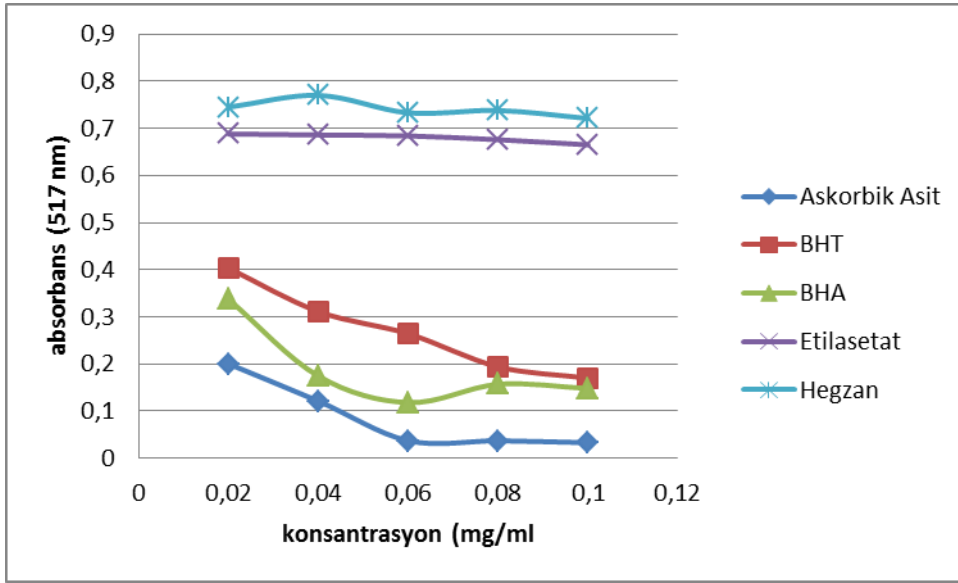
**Çizelge 4.4.** *S. dulcamara* yaprak ekstralarının, troloksa eşdeğer konsantrasyonların (CUPRAC<sub>TEAK</sub> değerleri) karşılaştırılması

	Troloks	BHT	Gallik Asit	EtOAc	n-hegzan
<b>Eğim</b>	2,15	4,94	7,54	0,18	0,2
<b>TEAC</b>	1	2,2976	3,5069	0,0837	0,093

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

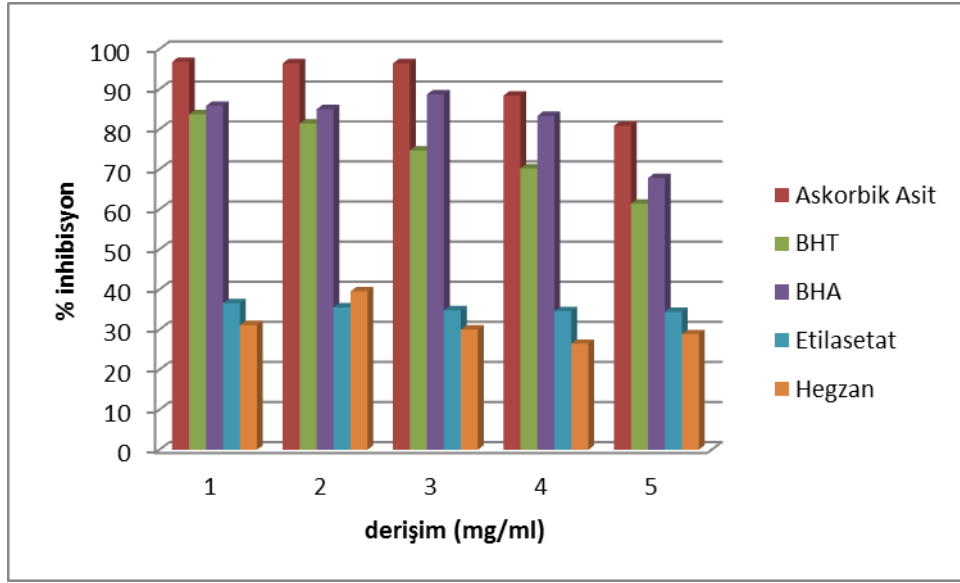
##### 4.1.3.1. *S. dulcamara* bitkisinin meyve ekstralarında DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayin sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin meyve n-hegzan ve etilasetat ekstralarında, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi metoduna göre antioksidan aktivite sonuçları; Şekil 4.7., Şekil 4.8. ve Çizelge 4.5.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. *S. dulcamara* meyve ekstralarının, konsantrasyona karşı absorbans (517 nm) grafiği

*Solanum dulcamara* meyve n-hegzan, ve EtOAc ekstralarının, DPPH radikal giderme aktivitesi Şekil 4.7.' de görüldüğü gibi birbirine yakın değerler olmakla birlikte konsantrasyon artışına rağmen fazla değişiklik göstermemiştir.



**Şekil 4.8.** *S. dulcamara* meyve ekstralarının konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği

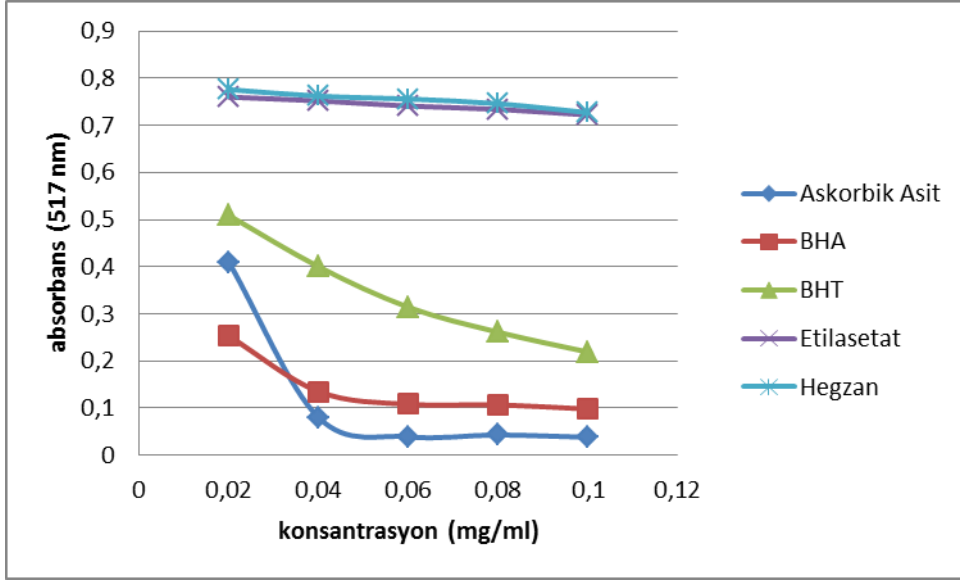
Çizelge 4.5.' deki, bitkinin meyve ekstralarında, DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite sonuçlarına göre, etilasetat ekstresinin  $IC_{50}$  değeri, n-hegzan ekstresinden daha küçüktür. Bu sonuç etilasetat ekstresinin, n-hegzan ekstresine göre daha fazla antioksidan madde içeriğini göstermektedir.

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

Numuneler	$IC_{50}$ (mg/ml)
Askorbik Asit	0,1
BHA	0,1685
BHT	0,2015
Etilasetat	0,3440
n-hegzan	0,3850

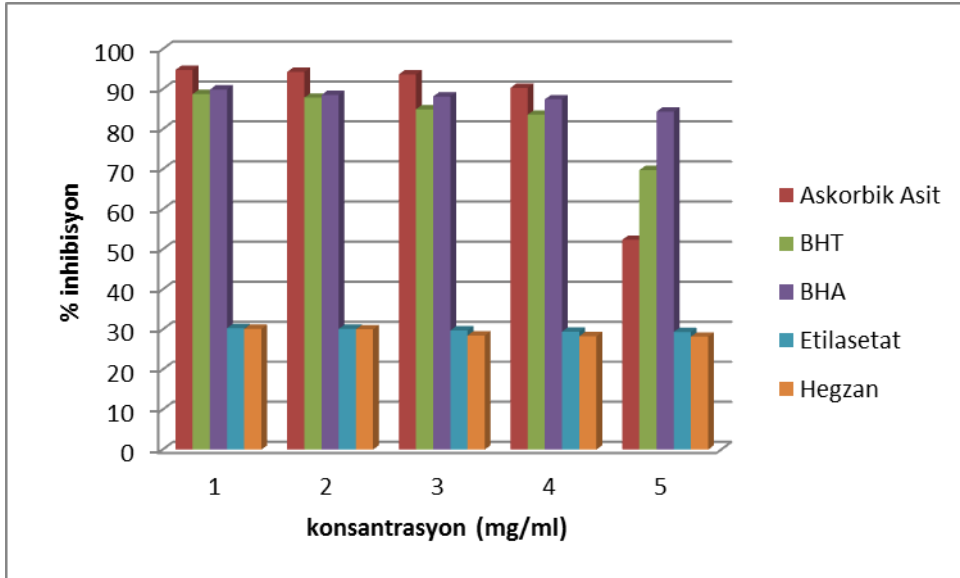
#### 4.1.3.2. *S. dulcamara* bitkisinin yaprak ekstralarında DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite tayini sonuçları

*S. dulcamara* bitkisinin yaprak n-hegzan ve etilasetat ekstralarında, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi metoduna göre antioksidan aktivite sonuçları; Şekil 4.9., Şekil 4.10. ve Çizelge 4.6.' da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. *S. dulcamara* yaprak ekstrlerinin, konsantrasyona karşı absorbans (517 nm) grafiği

*S. dulcamara* yaprak-n-hegzan ve etilasetat ekstrlerinin DPPH radikal giderme aktivitesi Şekil 4.9.'da görüldüğü gibi az da olsa, konsantrasyon ile ters orantılı olarak azaldığı görülmektedir.



Şekil 4.10. *S. dulcamara* yaprak ekstrlerinin konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon grafiği

Çizelge 4.6.'daki, bitkinin yaprak ekstrlerinde, DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi metoduyla antioksidan aktivite sonuçlarına göre, n-hegzan ve etilasetat ekstresinin, IC<sub>50</sub> değerleri arasında çok küçük bir fark olduğu görülmüştür. Bu sonuç etilasetat ekstresinin, n-hegzan ekstresi ile antioksidan madde içeriği bakımından eşdeğer olduğunu göstermektedir.

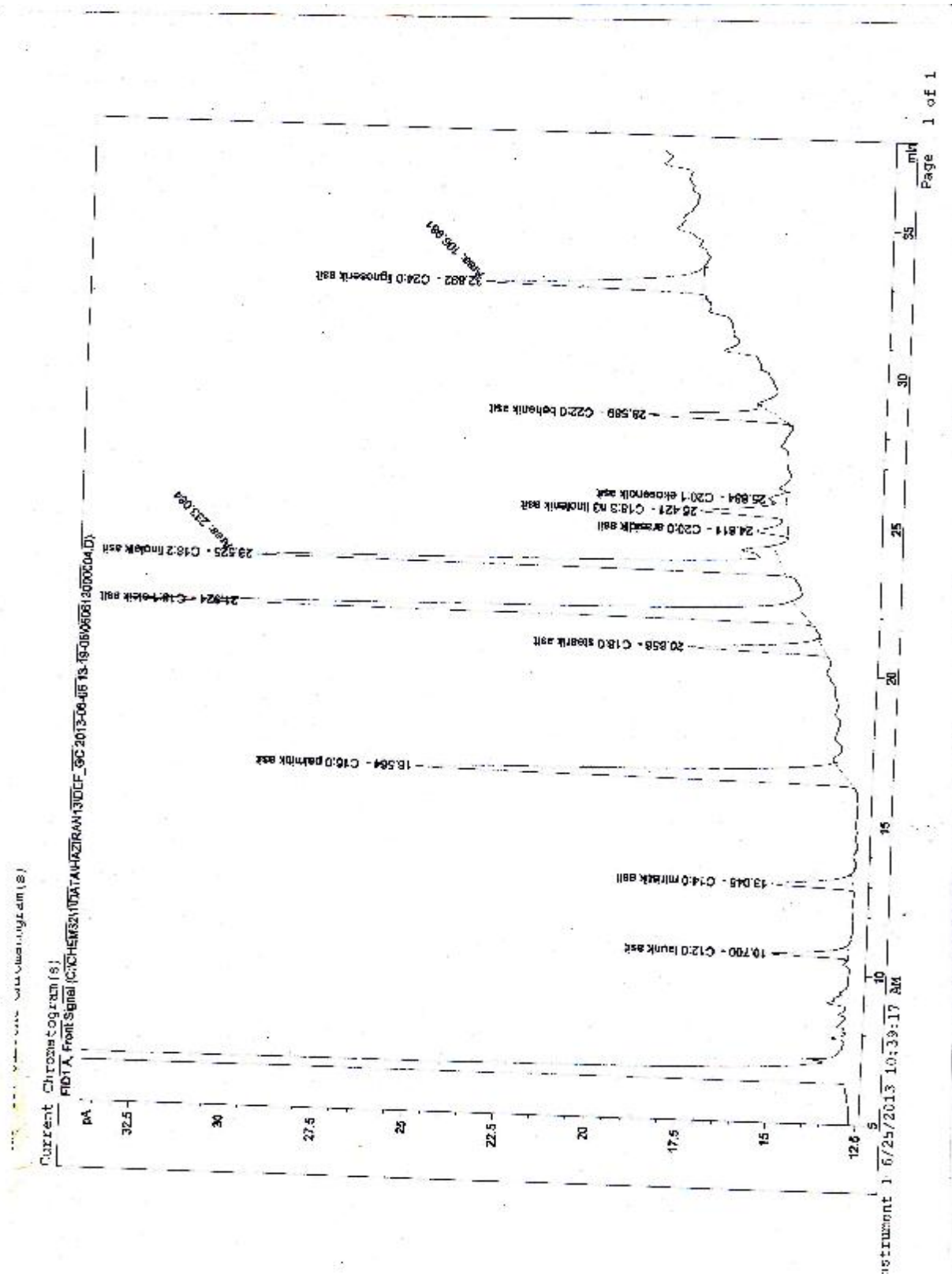
**Çizelge 4.6.** *S.dulcamara* yaprak ekstreleri ile sentetik antioksidanlara (Askorbik asit, BHA ve BHT) ilişkin IC<sub>50</sub> değerleri

Numuneler	IC <sub>50</sub> DEĞERLERİ (mg/ml)
Askorbik Asit	0,205
BHT	0,2546
BHA	0,1268
Etilasetat	0,38
n-hegzan	0,388

#### **4.2. *Solanum dulcamara* Yaprak ve Meyvesinin, n-hegzan Ekstresinde Yağ Asidi Kompozisyonunun Tayin Sonuçları**

##### **4.2.1. *Solanum dulcamara* meyve n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin tayini**

*S. dulcamara* meyve n-hegzan ekstresi, Kapiler Gaz Kromatografisi cihazına verildikten sonra elde edilen kromatogram Şekil 4.11.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. *S. dulcamara* meyve n- hegzan ekstesine ait GC-kromatogramı

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

Yağ Asitleri	% bileşen	Alıkonma Zamanı
C 6:0	-	-
C 8:0	-	-
C 10:0	-	-
C 12:0	2,19	10,70
C 14:0	2,88	13,04
C 16:0	20,37	16,56
C 17:0	-	-
C 18:0	5,30	20,85
C 20:0	1,37	24,81
C 22:0	4,89	28,58
C 24:0	9,87	32,89
<b>Σ SFA*</b>	<b>46,87</b>	
C 14:1	-	-
C 16:1	-	-
C 18:1	27,46	21,92
C 20:1	0,64	25,88
<b>Σ MUFA**</b>	<b>28,10</b>	
C 18:2	21,50	23,52
C 18:3	3,53	25,42
<b>Σ PUFA***</b>	<b>25,03</b>	

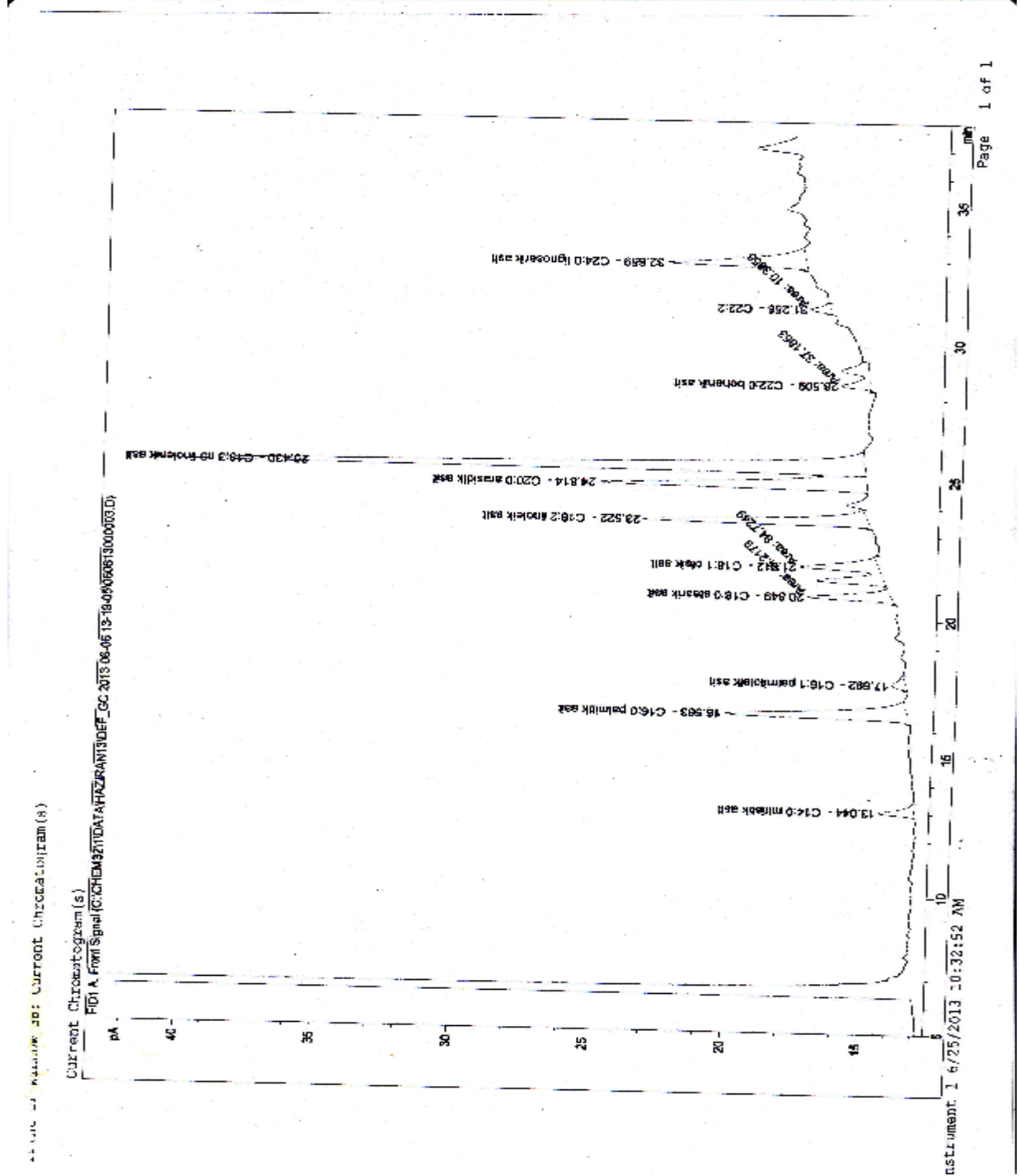
\*SFA: Doymuş yağ asitleri

\*\*MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri

\*\*\*PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri

#### 4.2.2. *Solanum dulcamara* yaprak n-hegzan ekstresindeki yağ asitlerinin tayini

*S. dulcamara* yaprak n-hegzan ekstresi, Kapiler Gaz Kromatografisi cihazına verildikten sonra elde edilen kromatogram Şekil 4.12.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. *S.dulcamara* yaprak n-hegzan ekstresine ait GC-kromatogramı



**Çizelge 4.8.** *S. dulcamara* yaprak n-hegzan estresinin yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ Asitleri	% bileşen	Alıkonma Zamanı
C 6:0	-	-
C 8:0	-	-
C 10:0	-	-
C 12:0	-	-
C 14:0	1,49	13,04
C 16:0	10,88	16,56
C 17:0	-	-
C 18:0	3,81	20,84
C 20:0	15,20	24,81
C 22:0	3,20	28,51
C 24:0	8,17	32,85
<b>Σ SFA*</b>	<b>42,75</b>	
C 14:1	-	-
C 16:1	0,78	17,69
C 18:1	7,30	21,91
<b>Σ MUFA**</b>	<b>8,08</b>	
C 18:2	10,56	23,52
C 18:3	37,71	25,43
C 22:2	0,90	31,25
<b>Σ PUFA***</b>	<b>49,17</b>	
*SFA: Doymuş yağ asitleri		
**MUFA: Tekli doymamamış yağ asitleri		
***PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri		

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

*Solanum dulcamara*, meyve n-hegzan estresinde Gaz Kromatografisi (GC) yöntemi kullanılarak yapılan yağ asidi bileşimi tayininde, C 18:1 oleik asit (% 27.46), C 18:2 linoleik asit (%21.50) ve C 16:0 palmitik asit (%20.37) meyvede bulunan temel yağ asitleridir. Bunların yanında, meyve ekstresinde bulunan diğer yağ sitleri ise, C 24:0 Lignoserik asit (%9.87), C 18:0 Sterarik asit (%5.30), C 22:0 Behenik asit (%4.89), C 18:3 linolenik asit (%3.53), 14:0 miristik asit (%2.88), C 12:0 laurik asit (%2.19), C 20:0 Araşidik asit (%1.37) ve C 20:1 Ekosenoik asit (%0.64) olarak tespit edilmiştir.

Dhellot ve arkadaşları (2006), *Solanum nigrum* L. Tohumlarını, üç farklı yöntemle ekstrakte etmişlerdir. *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. *Solanum dulcamara*, meyve n-hegzan ekstresinin yağ asidi bileşimi ile kıyaslandığımızda; linoleik asit bakımından düşük kaldığı, stearik asit konsantrasyonlarının eşdeğer olarak bulunduğu görülmüştür. Her iki *solanum* türündeki, palmitik asit ve oleik asit konsantrasyonuna bakıldığında ise, *S. dulcamara*'nın palmitik asit ve oleik asit konsantrasyonu *S. nigrum*'un yaklaşık iki katı kadar daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, bitkilerdeki kimyasal bileşiklerin ve bu bileşiklerin konsantrasyonlarının, bitkinin yetiştiği ortamdaki coğrafi bölgesel farklılıklardan etkilenebileceğini göstermektedir.

Linoleik asit vücut tarafından üretilmeyen, dışardan besinlerle alınan esansiyel yağ asididir. *S. dulcamara* meyveleri, oleik asit ve linoleik asit açısından potansiyel bir kaynak olarak düşünülmektedir. Meyvedeki doymuş yağ asitleri, toplam yağ asitlerinin %46.87 ni oluştururken, doymamış yağ asitleri ise, %53.13 nü oluşturmaktadır.

*S.dulcamara* yaprak n-hegzan estresinde yağ asidi bileşimine bakıldığında ise temel yağ asitleri; C 18:3 linolenik asit (%37.71), C 20:0 araşidik asit (%15.20) ve C 16:0 palmitik asit (%10.88) olarak gözlenmiştir. Yaprak ekstresindeki diğer yağ asitleri, C 18:2 linoleik asit (%10.56), C 24:0 Lignoserik asit (%8.17), C 18:1 oleik asit (%7.30), C 18:0 Stearik asit (%3.81), C 22:0 Behenik asit (%3.20), C 14:0 miristik asit (%1.49) ve C 16:1 palmitoleik asit (%0.78) olarak tespit edilmiştir.

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). *Solanum dulcamara*, yağ asidi bileşimi ile kıyaslandığımızda; meyve n-hegzan ekstresinde yüksek

oranda oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit içerdiği, yaprak n-hegzan estresinin ise yüksek oranda linolenik asit, araşidik asit ve palmitik asit içerdiği görülmüştür.

*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). *Solanum dulcamara*, meyve n-hegzan ekstresinin yağ asidi bileşimi ile kıyaslandığımızda; linoleik asit bakımından düşük kaldığı, palmitik asit ve oleik asit konsantrasyonuna bakıldığında ise, *S. dulcamara*'nın palmitik asit ve oleik asit konsantrasyonları *Brunfelsia uniflora*'dan daha yüksek bulunmuştur.

Yapraktaki doymuş yağ asitleri, toplam yağ asitlerinin %42.75 ni oluştururken, doymamış yağ asitleri ise, %57.25 ni oluşturmaktadır. Bitkinin, meyve ve yaprak n-hegzan ekstrelerindeki doymuş yağ asitleri bileşimini kıyaslarsak, meyve ekstresinin doymuş yağ asitlerinin (%46.87), yaprak ekstresindeki doymuş yağ asitlerinden (%42.75) daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir. Doymamış yağ asitleri oranında bu bulgunun tam tersi olarak tespit edilmiştir. Yaprak n-hegzan ekstresinin, doymamış yağ asitleri (%57.25) açısından, meyve n-hegzan ekstresinden (%53.13) daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir.

Antioksidan aktivite tayin sonuçlarına göre,  $\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi, CUPRAC metodu ve DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metoduyla yapılan antioksidan aktivite sonuçlarına göre, meyve ekstreleri yaprak ekstrelerinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bunun yanında, yapılan üç yöntemde de, bitkinin meyve-etilasetat ekstresinin, meyve-n-hegzan ekstresinden daha yüksek antioksidan aktivite değeri gösterdiği de bulunan sonuçlar arasındadır. Uygulanan üç farklı yöntemdeki referans maddelerin antioksidan kapasiteleri, *Solanum dulcamara* bitkisinin, meyve ve yaprağının, etilasetat ve n-hegzan ekstresinin antioksidan aktivitesinden, daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için birçok yöntem kullanılmaktadır (Albayrak 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. Bu nedenle farklı yöntemlerin kullanılması ve sonuçların birlikte değerlendirilmesi daha uygun olacaktır (Albayrak ve ark. 2010).

*Solanum dulcamara* bitkisinin meyve ve yaprak ekstrelerindeki antioksidan aktivite tayini ve yağ asidi kompozisyonu 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 üretilebilmesi konusunda yol gösterici bir çalışma olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Türkiye’de yetişen *Solanum* türlerinin, kemotaksonomik bakımdan değerlendirilmesine katkı sağlandığı gibi içerdığı yağ asitlerinin cinsi ve miktarının tayini ile de Organik Kimya bilimine katkı sağlanmıştır.

## 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 incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Albanes D, Heinone OP, Taylor PR, et al. (1996). Alpha-tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer.
- 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 .
- Altınışik M (2009). Lipidler: Sınıflandırılmaları, özellikleri ve tanıtıcı reaksiyonları. ADÜTF Biyokimya Anabilim Dalı.
- Altuğ T (2001). Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, Bornova, İzmir.
- Ames BM, Shigena MK and Hogen TM (1993). Oxidants, Antioxidants and the Degenerative Disease of Ageing. Proceedings of National Academy of Sciences Usa, 90, 7915-7922.
- 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.
- Baytop T (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:1039
- Baytop A (1971). Trakya ve İstanbul Çevresi Bitkileri Üzerinde Sistemik Araştırmalar II. Solanaceae.
- Baytop T (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), Nobel Tıp Kitapevleri, 2. Baskı, 1, 278.
- Burak M, Çimen Y (1999). Flavonoidler ve Antioksidan özellikler. Journal of medical sciences 19-5.
- Büyüktünel E (2013). Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler, Cilt 17, Sayı 2, Sayfa (093-103).
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry 81, 249-255.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T (1998). Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence. Office of the Turkish Nephrology, Association, 2-4, 92-95.

- 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.
- Elitok E (1996). Et Teknolojisinde Antioksidanların kullanımı. Ankara Üniversitesi fen bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Semineri, Ankara.
- Eryiğit F (2006). *Mentha pulegium* L. ve *Salvia tomentosa* Miller bitkilerinin metanol özütlerinin 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 Fased J. 4, 2587-2597.
- Frankel EN (1980). Lipid Oxidation Prog. Lipid Res., 19, 1-22.
- Frankel EN, Huang SW, Konner J and German JB (1994). Interfacial Phenomena in the Evolution of Antioxidants bulk oils versus emulsions. J, agric. Food Chem: 44, 1054-1059.
- 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.
- Fukumoto LR, Mazza G (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural Food Chemistry 48, 3597-3604.
- Gökalp HY., Çakmakçı S (1992). Gıdalarda kısaca Oksidasyon: Antioksidantlar ve Gıda Sanayinde Kullanımları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergi, 23(2), 174-192.
- Halliwell B and 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.
- Hudson BJB(1990). Food Antioxidants Elsevier Applied Science, London and Newyork, 1-316.
- <http://obs.iszu.edu.tr/dosyalar/DersMateryal/nmr.docx>
- <http://wikipedia.org/wiki/likopen>.
- [http://wikipedia.org/wiki/C\\_vitamini](http://wikipedia.org/wiki/C_vitamini).
- Kayahan M (1998). Lipitler, Gıda Kimyası, İ. Saklamlı (Ed), Hacettepe üniversitesi Basımevi, 5275, Ankara.
- Kayalı R, Çakatay U (2004). Basic Mechanisms of Protein Oxidation. Cerrahpaşa Tıp Dergisi Dergisi 35 (2) : 83-89.

- 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.
- 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.
- Larson RA (1988). The Antioxidants of Higher plants. *Pytochemistry*, 27 (4), 969-978.
- Lu Y and Food LY (2001). Antioxidant Activities of Polyphenols from sage. *Food Chem.*,75, 197-202.
- Maestri DM, Guzman CA (1992). Alkane and Fatty-Acid Composition of Leaf Waxes From Species of the Tribes Nicotianeae and Salpiglossideae (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 80(6), 445-451.
- 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.
- Maestri DM, Lamarque AL, Zygadlo JA (1994). Leaf Fatty-Acids in *Solanum* (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 82(5), 347-353.
- Molynex P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology*. 26(2), 211-219
- Mukhopadhyay M (2000). *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*, CRC Press
- Nisihina A, Kuboto K, Kameoka H and Osawa T (1991). Antioxidizing component Musizimi in Rumex Japanese Houtt J, *Am. Oil. Chem. Soc.*, 68, 7535-739.
- Othman A, Ghani NA, Adenan I (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100: 1523-1530.
- Papas AM (1993). Oil-soluble antioxidants in foods. *Toxicol. Ind. Health*,9, 123-149.
- Papas AM (1996). Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, 31, 77-82 Fridovich, Mead, 1976. In *Free Radical In Biology: Pryor, W.A. Ed, Academic; Newyork Vol 1, 239-271.*
- Porter WL, Block ED and Drolet AM (1989). Use of Polyamide Oxidative Fluorescence Test on Lipid Emulsions: Contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 615-624.
- Pratt DE, Hudson B.J.F. (1990). *Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants: Hudson B.J.F., ED, Elsevier, Amsterdam, 17-192.*

- Ramarathman N, Osawa T, Namiki M and 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.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M (2007). *Solanacea*, *Farmasötik Botanik*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 296-301.
- Yanishlieva N, Gordon M (2001). Antioxidants in Food, CRC Press, USA Hudson, B.J.F., 1990. *Food Antioxidants Elsevier Applied Science*, London and Newyork, 1-316.
- Zygadlo JA, Guzman CA (1994). Seed Oils in Some Species of *Cyphomandra* (Solanaceae), *Anales De La Asociacion Quimica Argentina*, 82(1), 65-69.



## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Çorlu-Tekirdağ'da doğdu. İlk ve orta öğrenimi ardından lise öğrenimini 1998 yılında Lüleburgaz Lisesi'nden mezun olarak bitirdi. 2001 yılında Pamukkale Üniversitesi Kimya Bölümü'nü kazanıp, 2005 yılında mezun olup, askerlik görevini 2006 yılında tamamladı.

2007 yılında Trakya Yağlı Tohumlar Tarım Satış Kooperatifleri Birliği Karacabey Yağ Fabrikası Laboratuvar ve Kalite Güvence Şefliğinde Teknik Eleman olarak işe başladı. 2009-2013 yılları arasında aynı firmanın Tekirdağ Entegre Tesisleri Rafine Bölümünde Teknik Eleman olarak görev aldı. 2012 yılı Şubat ayında Namık Kemal Üniversitesi Organik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına kabul edildi. Ekim 2013' de Trakya Yağlı Tohumlar Tarım Satış Kooperatifleri Birliği Karacabey Yağ Fabrikasına Laboratuvar ve Kalite Güvence Şefi olarak atanmış olup, halen aynı firmada görev yapmaktadır.

