

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
2012-YL-004**

**BUĞDAY RUŞEYMI VE BUĞDAY  
RUŞEYM YAĞININ ANTIOKSİDAN  
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

**Fatma ÇETİNYÜREK**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

**AYDIN**



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Fatma ÇETİNYÜREK tarafından hazırlanan “Buğday Ruşeymi ve Buğday Ruşeym Yağının Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi” başlıklı tez 20/01/2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı,	Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	.....
Üye	: Doç. Dr. Bengi ERDAĞ	ADÜ	.....
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN	ADÜ	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN  
Enstitü Müdürü



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

21/12/2011

Fatma ÇETİNYÜREK



## ÖZET

### BUĞDAY RUŞEYMI VE BUĞDAY RUŞEYM YAĞININ ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

Fatma ÇETİNYÜREK

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Arife Alev KARAGÖZLER  
2012, 88 sayfa

Bu çalışmada buğday ruşeymi ve superkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile üretilmiş buğday ruşeym yağının antioksidan parametreleri incelenmiştir. Bunun için örnekler uygun ekstraksiyon çözgeni kullanılarak antioksidan içerik ekstrakte edilmiş ve bu ekstraktlarda farklı antioksidan özellikleri ölçen antioksidan kapasite tayin yöntemleri ile kapsamlı bir şekilde analizlenmiştir. Toplam antioksidan aktivite tayini sonuçlarına göre buğday ruşeym un-etanol ekstraktı standart antioksidanlar kadar yüksek aktivite göstermektedir.  $IC_{50}$  değerlerine göre buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının DPPH' radikali süpürücü aktiviteleri düşük çıkmıştır. Toplam fenolik bileşik içeriklerinin, buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarında yüksek olduğu saptanmıştır. Toplam flavonoid içeriği buğday ruşeym un ekstraktlarında yüksek bulunmuştur. Toplam flavonol sonuçlarına göre buğday ruşeym un ekstraktlarının flavonol içeriği düşük iken yağ ekstraktındaki yüksektir.  $TEAC_{CUPRAC}$  değerleri dikkate alındığında, BHT en yüksek aktiviteyi gösterirken buğday ruşeym un-su ekstraktı en düşük aktiviteye sahiptir.  $TEAC_{ORAC}$  yönteminde BHT en yüksek aktiviteyi gösterirken buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları düşük aktivite göstermiştir. Buğday ruşeym un metanol ve etanol ekstraktları ile buğday ruşeym yağ ekstraktının OH radikali süpürücü aktivitesi hemen hemen standartlar kadar yüksek bulunmuştur. Süperoksit anyon süpürücü aktivite açısından buğday ruşeym un-su ekstraktı en yüksek aktiviteye sahiptir. Yüzde askorbik asit cinsinden indirgeme güçleri karşılaştırıldığında buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı diğer ekstraktlara göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre buğday ruşeym un ekstraktları ve yağ ekstraktı bazı yöntemlerde yüksek aktivite gösterirken bazı yöntemlerde ise düşük aktivite göstermesine rağmen buğday ruşeym un ve buğday ruşeym yağ ekstraktlarının antioksidan aktivite içerdikleri ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Buğday ruşeymi, buğday ruşeym yağı, antioksidan kapasite.





**ABSTRACT****INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PARAMETERS OF WHEAT GERM AND WHEAT GERM OIL**

Fatma ÇETİNYÜREK

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry  
Supervisor: Prof. Dr. Arife Alev KARAGÖZLER  
2012, 88 pages

In this work, antioxidant parameters of wheat germ flour and supercritical carbon dioxide extracted wheat germ oil were investigated. For this, samples were extracted using appropriate extraction solvents and were investigated thoroughly using various antioxidant capacity measurement methods testing different antioxidant properties. According to total antioxidant activity results, wheat germ flour-ethanol extracts exhibited high activity like standard antioxidants. According to IC<sub>50</sub> values wheat germ flour and oil extracts did not exhibit significant DPPH radical scavenging activity. Total phenolic content of wheat germ and wheat germ oil extracts were found to be high. Total flavonoid content of wheat germ flour extracts were found to be high. Total flavonol contents of wheat germ flour extracts exhibited lowest activity whereas wheat germ oil extracts highest. As for the, TEAC<sub>CUPRAC</sub> results, BHT exhibited the highest activity whereas wheat germ flour-water extract were the lowest. According to TEAC<sub>ORAC</sub> results BHT exhibited the highest activity whereas wheat germ flour and wheat germ oil extracts were the lowest. According to hydroxyl radical scavenging activity wheat germ flour-methanol, wheat germ flour-ethanol extracts and wheat germ oil extracts have highest activity like standard antioxidants. According to superoxide anion scavenging activity results wheat germ flour-water extracts has the highest activity. The reducing power of wheat germ oil extracts exhibited highest reducing power expressed as % ascorbic acid. According to the results obtained, antioxidant activity of wheat germ flour and wheat germ oil extracts were found to differentiate according to the method used. However, the overall results demonstrate that wheat germ and wheat germ oil have good antioxidant activity.

**Key Words:** Wheat germ, Wheat germ oil, Antioxidant capacity.



## ÖNSÖZ

‘Buğday Ruşeymi ve Buğday Ruşeym Yağının Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi’ konulu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Başta çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER’e teşekkürü borç bilirim.

Laboratuar çalışmalarında yardımcı olan değerli hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN’a, Arş. Gör. Murat UYGUN’a,

Ruşeym ve Ruşeym yağının temininde yardımcı olan Prof. Dr. Mustafa Birincioğlu’na ve Fahri Sivrioğlu’na teşekkür ederim.

Deney ve yazım aşamalarında bilgi ve tavsiyeleriyle bana yol gösteren değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER ve Çağdaş SUNNA’ya gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmaya “Buğday ruşeymi ve buğday ruşeym yağının antioksidan parametrelerinin incelenmesi” başlıklı FEF-11029 No’lu araştırma projesi olarak maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü’ne ve olanaklarından yararlandığım Kimya Bölümü’ne teşekkür ederim.

Son olarak her zaman karşılıksız sevgi ve desteklerini hiç eksik etmeyen aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Fatma ÇETİNYÜREK



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
BİLİMSELETİK BİLDİRİM SAYFASI .....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1.GİRİŞ .....	1
1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	2
1.2. Antioksidanlar .....	6
1.2.1. Doğal Antioksidanlara Örnekler .....	8
1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	8
1.2.1.2. Glutasyon peroksidaz (GPx).....	8
1.2.1.3. Katalaz (CAT).....	9
1.2.1.4. Vitamin E (Tokoferol).....	10
1.2.1.5. Askorbik Asit (Vitamin C).....	10
1.2.1.6. Fenolik bileşikler.....	11
1.2.2. Sentetik Antioksidanlara Örnekler .....	15
1.2.2.1. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) .....	15
1.2.2.2. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) .....	16
1.2.2.3. Troloks .....	16
1.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	17
1.3.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC) .....	19
1.3.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH) .....	20
1.3.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC) .....	21
1.3.4. Toplam Flavonoid Tayini.....	21
1.3.5. Toplam Flavonol Tayini.....	22
1.3.6. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC).....	22
1.3.7. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Yöntemi (ORAC) .....	23
1.3.8. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini .....	24
1.3.9. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini .....	25
1.3.10. İndirgeme Gücü Tayini .....	25
1.3.11. Demir(III) İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP).....	25

1.3.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC) .....	26
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	35
3.1. Buğday Ruşeymi ve Buğday Ruşeym Yağı .....	35
3.2. Kimyasal ve Cihazlar .....	36
3.3. Yöntem .....	37
3.3.1. Buğday Ruşeym ve Buğday Ruşeym Yağı Özütlerinin (Ekstraktlarının) Hazırlanması .....	37
3.3.2. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC).....	38
3.3.3. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH).....	38
3.3.4. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC).....	39
3.3.5. Toplam Flavonoid Tayini .....	39
3.3.6. Toplam Flavonol Tayini .....	40
3.3.7. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC).....	40
3.3.8. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC).....	41
3.3.9. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....	41
3.3.10. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini .....	42
3.3.11. İndirgeme Gücü Tayini.....	42
4. BULGULAR .....	43
4.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları .....	43
4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH) Sonuçları.....	45
4.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC) Sonuçları.....	49
4.4. Toplam Flavonoid Tayini Sonuçları.....	52
4.5. Toplam Flavonol Tayini Sonuçları.....	54
4.6. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları	56
4.7. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Sonuçları.....	58
4.8. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları .....	65
4.9. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları .....	67
4.10. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları .....	68
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	70
KAYNAKLAR.....	77
ÖZGEÇMİŞ.....	87

## SİMGELER DİZİNİ

AAPH	[2,2'-Azo-bis(2-amidinopropan)dihidroklörür]
ABTS	[2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu]
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
CUPRAC	Kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite tayini
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	DPPH Radikal süpürücü aktivite tayini
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
ESR	Elektron spin rezonans
ET	Elektron transferi
FRAP	Demir (III) indirgeyici antioksidan güç
FTC	Ferrik tiyosiyanat metodu
GPx	Glutasyon peroksidaz
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HAT	Hidrojen atomu transferi
MDA	Malandialdehit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT	Nitroblue tetrazolyum
OOR	Oksidasyon oranı
ORAC	Oksijen radikali absorbans kapasitesi yöntemi
PBS	Fosfat tamponu
PGR	Pirogallol red
PMS	Fenazin metasülfat
RE	Rutin eşdeğeri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TEAC	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi
TPC	Toplam fenolik madde tayini
TPTZ	2,4,6-tripiridil-S-triazin
TBA	Tiyobarbütirik asit





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması .....	7
Şekil 1.2. Fenolik asitlerin genel yapısı: a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevleri.....	12
Şekil 1.3. Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı .....	13
Şekil 1.4. Flavonoller ve flavonların kimyasal yapıları.....	14
Şekil 1.5. Yaygın olarak bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları .....	14
Şekil 1.6. 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) Fe (III) tuzunun İndirgenmesi .....	26
Şekil 4.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların neden olduğu linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonunun zamana bağlı değişimi .....	43
Şekil 4.2. Buğday ruşeymi un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların FTC yöntemi ile hesaplanan % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması. .	45
Şekil 4.3. Buğday ruşeym un ekstraktlarının DPPH radikali süpürücü aktiviteleri	46
Şekil 4.4. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktının DPPH radikali süpürücü aktivitesi.....	46
Şekil 4.5. Standart antioksidanların DPPH radikali süpürücü aktiviteleri. ....	47
Şekil 4.6. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC <sub>50</sub> değerleri .....	48
Şekil 4.7. Standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC <sub>50</sub> değerleri.....	48
Şekil 4.8. Toplam Fenolik Bileşik Tayini için hazırlanan gallik asit standart çalışma grafiği.....	49
Şekil 4.9. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının 300 µL'lik örneklerinde toplam fenolik bileşik miktarları. ....	51
Şekil 4.10. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının 500 µL'lik örneklerinde toplam fenolik bileşik miktarları .....	51
Şekil 4.11. Toplam Flavonoid Tayini için hazırlanan rutin standart çalışma grafiği. ....	52
Şekil 4.12. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının mg flavonoid (RE) içeriği. 53	
Şekil 4.13. Toplam Flavonol Tayini için hazırlanan rutin standart çalışma grafiği .....	54
Şekil 4. 14. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının mg flavonol (RE) içeriği. .55	

Şekil 4. 15. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı Troloks .... derişimlerine karşı elde edilen absorbans doğruları. ....	56
Şekil 4. 16. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için örneklerin farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbans doğruları. ....	56
Şekil 4.17. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı buğday ruşeym yağ-metanol ekstrakt miktarına karşı elde edilen absorbans grafiği. .....	57
Şekil 4.18. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Troloks derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri .....	59
Şekil 4.19. ORAC Yöntemi ile Troloks için elde edilen derişime karşı R0/R grafiği .....	60
Şekil 4.20. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı BHT derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri .....	60
Şekil 4.21. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Vitamin C derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.....	61
Şekil 4.22. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Vitamin E derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.....	61
Şekil 4.23. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un-su ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri. ...	62
Şekil 4.24. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un- metanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri .....	62
Şekil 4.25. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un- etanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri. ....	63
Şekil 4.26. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym yağ- metanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri. ....	63
Şekil 4.27. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri. ....	66
Şekil 4.28. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ve standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC50 değerleri.....	66
Şekil 4.29. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının ve standart antioksidanların süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayininin 560 nm'deki absorbans değerleri. ....	67
Şekil 4.30. Farklı derişimlerdeki askorbik asitin 700 nm'deki absorbans grafiği.	69

Şekil 4.31. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması.....	70
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri.....	4
Çizelge 4.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standartların FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri.....	44
Çizelge 4.2. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların IC <sub>50</sub> değerleri.....	47
Çizelge 4.3. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları.....	50
Çizelge 4.4. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam flavonoid (RE) miktarları.....	52
Çizelge 4.5. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam flavonol (RE) miktarları.....	54
Çizelge 4.6. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standartların TEAC <sub>CUPRAC</sub> değerleri.....	57
Çizelge 4.7. Örneklerin ve standart antioksidanların TEAC <sub>ORAC</sub> değerleri.....	64
Çizelge 4.8. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların IC <sub>50</sub> değerleri.....	66
Çizelge 4.9. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların 560 nm'deki absorbans değerleri.....	68
Çizelge 4.10. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerleri.....	69
Çizelge 5.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri.....	71



## 1. GİRİŞ

Epidemiyolojik çalışmalar kalp hastalıkları, kanser, diyabet ve Alzheimer gibi kronik rahatsızlıklarda beslenmenin önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Adom ve Liu, 2002). Meyve ve sebze yanında tahılların da beslenmeye katılması kronik hastalık riskini azaltmaktadır. Bu besinlerin hastalık önleme etkileri organizmadaki oksidan ve antioksidan dengesinin sağlanmasına içerdikleri fitokimyasallarla katkıda bulunmalarına bağlanmaktadır. Bu nedenle yüksek düzeyde antioksidan içeren besinlerin belirlenmesi ve bu besinlerin daha çok tüketilmesi önerilmektedir. Tahıllar, meyve ve sebzelerle birlikte tüketildiğinde beslenmeyi tamamlayıcı özel fitokimyasallar içermektedirler. Tahıllardaki fenolik bileşik sınıfları benzoik asit ve sinnamik asit türevlerini, antosiyanidinleri, kinonları, flavonoller, kalkonları, flavonları, flavononları ve amino fenolik bileşikler kapsamaktadır. Bu bileşik sınıfları içindeki bazı özel bileşikler sadece tahıllarda bulunmakta olup bunların meyve ve sebzelerle alınması mümkün değildir. Bu nedenle lif ve fitokimyasallar açısından zengin olan tahıllar sağlık açısından insanların tüketebileceği en uygun besinler olarak görülmektedir (Pathirana-Liyana ve Shahidi, 2005).

Bitki fenolik bileşikleri, bir dizi biyolojik ve patolojik süreçler üzerinde toksik etki gösteren reaktif oksijen türlerini indirgeyebilirler. Bitki fenolikleri tarafından reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi, bitkilerin insan sağlığı üzerindeki yararının temelini oluşturur (Sawa vd., 1999). Besinsel bir değere sahip olmayan bitkisel karışımlar ve çaylar gibi içecekler aynı zamanda antioksidanların önemli bir kaynağını oluşturur (Warren, 1999). Böylece bitkisel karışımlar ve çaylar antioksidanların diyetle alınmasında iyi bir aracı olmuştur.

Antioksidanlar serbest radikalleri giderme/uzaklaştırma yetenekleri nedeniyle son yıllarda insan beslenmesinde incelenen önemli araştırma konularından birini oluşturmaktadır. Ayrıca besin teknolojisinde besinlerin uzun süre bozunmadan saklanabilmesi için sentetik ve doğal antioksidanlarla muamele standart bir işlem olarak uygulanmaktadır.

Son yıllarda biyolojik örneklerde, bitki ve besin örneklerinde antioksidan aktivite/kapasiteyi ölçmek için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Tüm çalışmalar göstermektedir ki bir örneğin antioksidan kapasitesi, tayini için kullanılan yöntemlere göre farklılıklar göstermektedir. Bunun nedeni, kullanılan yöntemin kimyasına

antioksidan örneğın verdiği cevabın farklı olmasıdır. Karşılaştırma yapabilmek için bir seri örnek farklı yöntemlerle analiz edildiğinde bir antioksidan bileşimin bir yöntemle ölçülen antioksidan kapasitesinin diğer bir yöntemle ölçülene kıyasla farklı olabileceğini göstermektedir (Huang vd., 2005); örneğın TEAC yöntemi ile en yüksek aktiviteyi gösteren örnek FRAP yöntemi ile seri içinde ikinci üçüncü sıraya düşebilmektedir. Bu nedenle de bir örnekte antioksidan kapasitesi tayini en az iki; tercihan üç, dört yöntem kullanılarak yapılmalıdır ve diğer bileşiklerle karşılaştırılması gerekmektedir.

Buğday ruşeym  $\alpha$ -tokoferol, B vitaminleri, proteinler, lif ve mineraller açısında son derece zengindir (Amado ve Arrigoni, 1992). Buna ilave olarak ruşeym proteinlerinin esansiyel amino asit içeriğı yumurta proteinlerinkinden daha yüksektir. Beslenmede, protein ihtiyacını karşılamada alternatif ve ucuz bir kaynak olarak değerlendirilebilir. Ruşeym oleik, linoleik ve linolenik asit gibi doymamış yağ asitleri açısından da zengindir (Rizzello vd., 2010). Buğday tanesinin, ruşeyminin ve ruşeym yağının bazı antioksidan parametreleri incelenmiştir. Ancak, ruşeym ve ruşeym yağının değışik antioksidan tayin yöntemleri ile tam bir antioksidan parametre çalışması mevcut değıldir.

### **1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres**

Serbest radikaller iyonların veya uyarılmış moleküllerin ayrılmaları sonucunda oluşan, dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip ve genellikle elektriksel açıdan yüksüz atom ya da moleküllerdir.

Serbest radikaller son derece reaktiftirler, yani diğer atom ya da moleküllerle kolayca reaksiyona girerler. Çünkü eşleşmemiş elektronların bir başka radikalın aynı durumdaki elektronu ile eşleşmek ya da bir elektron transferi ile reaksiyonuyla eşleşerek kararlı hale gelme eğilimleri vardır. Bu sebeple serbest radikaller, elektron alıcı (yükseltgen) ya da elektron verici (indirgen) özelliklere sahiptir (Storz ve Imlay, 1999).

Radikaller, metabolizmanın normal işleyişi sırasında sürekli olarak üretilmektedir. Radikaller oldukça etkin reaktifler olduklarından tüm organlarda kontrol edilemeyen hasarlara yol açabilirler (Dündar ve Aslan, 2000).

Serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de toksik maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir (Cross vd., 1987). Serbest radikal yaratan

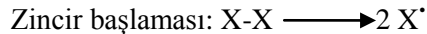


kaynaklar radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir.

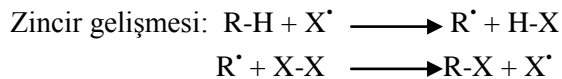
İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Radikal tepkimeleri üç basamakta meydana gelir.

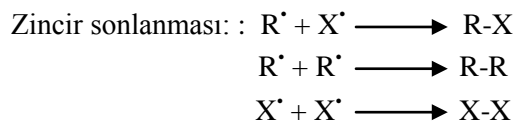
İlk basamak, zincir başlama basamağıdır. Burada sadece bağ kırılmasıyla radikaller oluşur.



İkinci basamak, zincir gelişme basamağıdır. Bu basamağın her birinde bir bağ kırılırken bir bağ oluşmaktadır.



Son basamak olan zincir sonlanma basamağında ise yeni bağlar oluşurken bağ kırılması gerçekleşmez.



Radikaller, oksijen içerip içermediğine göre serbest oksijen radikalleri (SOR) ve oksijen içermeyen radikaller olarak ikiye ayrılır.

Biyolojik sistemlerde sıklıkla oluşabilen serbest oksijen radikalleri Tablo 1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri.

Adı	Simgesi	Kimliği
Hidrojen radikali	H <sup>•</sup>	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	OH <sup>•</sup>	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksil radikali	HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır.
Peroksil radikali	ROO <sup>•-</sup>	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneği vardır.
Triklorometil radikali	CCl <sub>3</sub> <sup>•</sup>	CCl <sub>4</sub> metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	RS <sup>•</sup>	Kükürtlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	RO <sup>•</sup>	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	NO <sup>•</sup>	L - argininden <i>in vivo</i> üretilen radikal.
Azot dioksit	NO <sub>2</sub>	NO'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan dengesi olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (Dündar ve Aslan, 1999).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir ve bu dengesizlik hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilir.

Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler prooksidan olarak tanımlanır. Antioksidanlar ise düşük konsantrasyonlarda, organik bileşiklerin serbest radikal mekanizmalı oksidasyonunu engelleyen veya önleyen bileşiklerdir.

Oksidatif stres, oksijen kullanan metabolik yollardan kaynaklanmaktadır ve prooksidan/antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Prooksidan sistem antioksidan sisteme baskın geldiğinde yani fazla miktarda oksidan bileşik üretildiğinde oksidatif stres meydana gelmektedir. Organizma, doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri ‘prooksidan-antioksidan dengesi’ olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin prooksidanlar lehine bozulması membran lipidleri, proteinler ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yol açar ve bunun sonucunda birçok biyomolekül hasar görür.

Biyolojik sistemlerde sistemin antioksidan kapasitesinde düşüş meydana geldiğinde ya da oksidantlara maruz kalma arttığında ya da her iki durumdan sonra oksidatif stres yükselir. Bu genellikle serbest radikaller içeren reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması ile ilişkilidir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Ara ürünlerin süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen radikallerine maruz kalması sonucu oksidatif stres oluşur ve hücre membranı, nükleik asitler ve proteinler zarar görebilir (Aruoma, 1998).

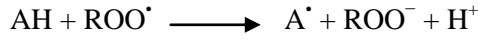
Prooksidanlar, vücutta metabolik yollarla oluşabileceği gibi UV ışınlar, virüsler, radyasyon, çevre kirliliği, sigara dumanına maruz kalınması, enfeksiyon, stres, alkol ve bazı ilaçların alımı ile de oluşabilmektedir. Bu bileşikler nükleik asitler, karbohidratlar, proteinler ve lipidler gibi makromoleküllere saldırarak, hücre yaşlanmasına, kardiyovasküler hastalıklara, mutajenik değişikliklere ve kanserli tümörlerin büyümesine yol açabilirler. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta aşağıdaki ciddi hasarlara neden olabilirler:

- ▶ Hücre membranı proteinlerini parçalayarak hücreleri öldürebilir.
- ▶ Membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engelleyebilir.
- ▶ Nükleer membranı yarararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılmaya ve mutasyonlara açık hale getirebilir.
- ▶ Bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini bozabilir.

## 1.2. Antioksidanlar

Son yıllarda bütün dikkatler prooksidan-antioksidan dengesi ve bunun etkileri konusu üzerinde toplanmıştır. Bu çalışmalar geniş ölçüde antioksidan alımı ya da bir takım hastalıkları engelleyebilen antioksidan savunma sistemleri üzerinde yoğunlaşmıştır (Storz ve İmlay, 1999). Modern toplumlarda ‘antioksidan’ kelimesinin popülerliği sağlığa faydalarının basın kitlesi tarafından reklam edilmesiyle de giderek artmaktadır.

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar ‘antioksidan savunma sistemleri’ veya kısaca ‘antioksidanlar’ olarak bilinirler (Altınışık, 2000). Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek, serbest radikalleri nötralize ederler. Elektronunu kaybeden antioksidan, yeni bir radikal olarak davranmaz, bileşik her iki formda da stabildir. Genellikle fenolik ve konjuge yapıda bulunan antioksidan molekülü üzerine aldığı radikalik yükü, delokalize ederek radikal etkinliğini azaltır.



Antioksidanlar ayrıca, şelat yapıcı olarak da davranarak demir ve bakır iyonlarının Fenton reaksiyonu ile oluşturdukları serbest radikalleri giderme özelliğine sahiptirler.

Antioksidanlar, prooksidanları başlıca dört yolla etkisiz hale getirirler:

Süpürme (Scavenging) etkisi: Prooksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir.

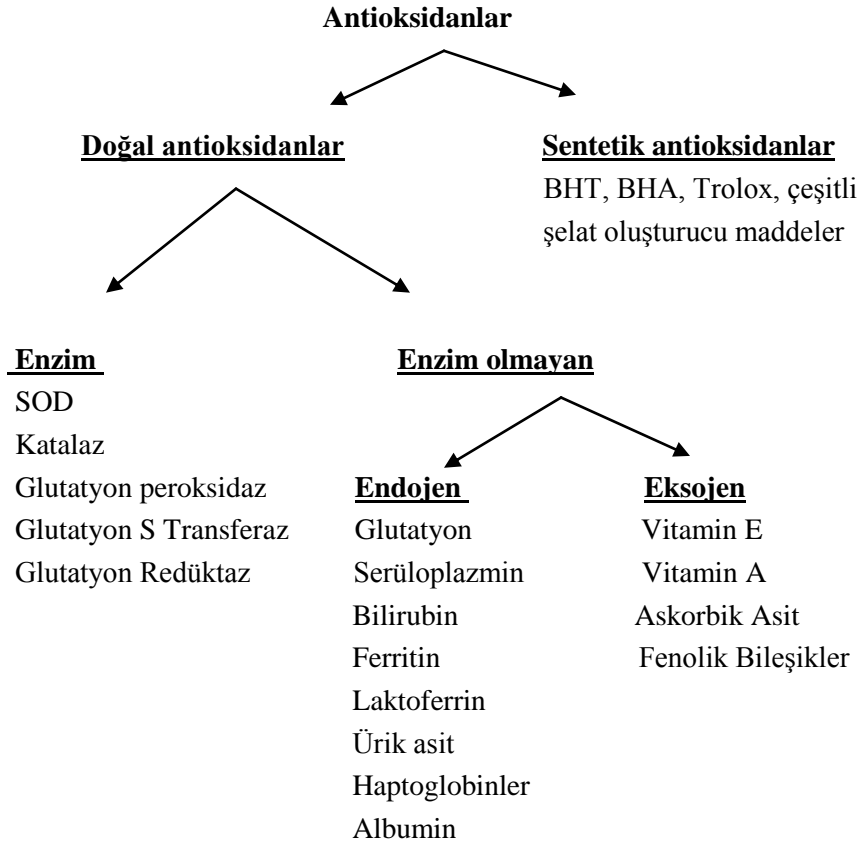
Söndürme (Quenching) etkisi: Bir hidrojen transferi ile oksidan maddeler inaktive edilir.

Zincir reaksiyonlarını kırma (Chain Breaking) etkisi: Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller prooksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.

Onarma (Repairing) etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.

Antioksidanlar doğal ve yapay antioksidanlar olarak ikiye ayrılırken doğal antioksidanlar enzimatik etki gösteren ve enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar ise endojen ve eksojen antioksidanlar olarak ikiye ayrılabilir. Endojen antioksidanlar

buldukları ve etkinliklerini yerine getirdikleri yerlere göre de hücre içi (intraselüler), membranal ve hücre dışı (ekstraselüler) antioksidanlar olarak üç sınıf altında toplanabilir. Bu sınıflandırma Şekil 1.1.'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması.

Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir. Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

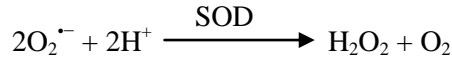
Sebze meyve alımı ile iltihaplanma, kalp damar hastalıkları, kanser ve yaşlanma gibi hastalıklar arasındaki ilişki klinik ve epidemiyolojik çalışmalar ile belirlenmiştir (Willett, 2001). Diyet ile alınan antioksidanların oksidatif stresin

neden olduğu hastalıkların önlenmesinde etkili besinler olduğuna inanılmıştır (Ames vd., 1995). Böylece antioksidanlar son yıllarda ilginin arttığı bir konu haline gelmiştir. Literatür araştırmaları incelendiğinde, antioksidanlar ve oksidatif stres üzerine olan yayın sayısında geçmiş yıllara göre bir hayli artış olduğu görülmektedir.

## 1.2.1. Doğal Antioksidanlara Örnekler

### 1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

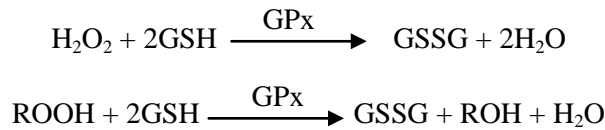
Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren SOD ile mangan iyonu içeren mitokondrial SOD olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur (Çavdar vd., 1997). SOD'un katalizlediği kimyasal reaksiyon:



Bu reaksiyon 'oksidatif strese karşı ilk savunma' olarak da isimlendirilir. Çünkü, süperoksit radikali zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki  $\text{O}_2^{\cdot-}$  düzeyleri kontrol altında tutulur.

### 1.2.1.2. Glutatyon peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) glutatyon molekülünü (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüştürürken hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Yapısında selenyum iyonu bulunduğundan dolayı metaloenzim olarak adlandırılır.

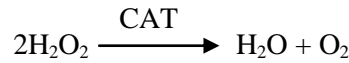


### 1.2.1.3. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi tabiatı çok yaygın olarak bulunmaktadır. CAT, sitokrom sistem içeren memeli ve memeli olmayan organizmalarda bulunurken, genellikle anaeroblarda bu enzime rastlanmamaktadır. Hemen hemen tüm aerobik mikroorganizmalarda, bitki ve hayvan hücrelerinde katalitik aktivitesi yüksek konsantrasyonda mevcuttur.

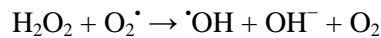
Oksidasyon (yükseltgenme) ve redüksiyon (indirgenme) reaksiyonlarında rol oynayan enzimlere oksidoredüktazlar denir ve katalaz oksidoredüktazların bir grubu olan hidroperoksidazlar sınıfında yer alır. Hidroperoksidazlar, substrat olarak hidrojen peroksit veya diğer organik peroksitleri kullanırlar, aynı zamanda canlıyı zararlı peroksitlere karşı korurlar. Peroksitlerin hücrede birikmesi serbest radikallerin ortaya çıkmasına ve membran yapısının bozulmasına neden olur (Higashi vd., 1974; Nicholls vd., 2000).

Katalaz, hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüştürülmesini katalizleyen ve böylece hidrojen peroksitin hücrel bileşiklere zarar vermesini engelleyen koruyucu bir enzimdir. Hidrojen peroksit, katalaz tarafından parçalanmazsa vücut için çok tehlikeli bir serbest radikal olan hidroksil radikalının öncülü olarak davranır ve bu radikal hücrede kalıcı hasarlara neden olur. CAT'ın katalizlediği kimyasal reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.

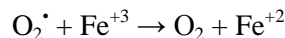


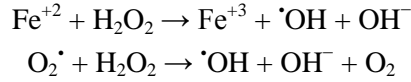
Ferritin, laktoferrin, seruloplazmin, hemoglobin,  $\alpha$ -globulin gibi plazma ve eritrosit proteinleri,  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Cu}^{2+}$  gibi serbest metal iyonlarını bağlayabilme kabiliyetinden dolayı Fenton reaksiyonunu ve diğer radikal oluşturan reaksiyonların oluşumunu engellediği için birer antioksidan olarak rol oynarlar.

Hidrojen peroksit süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

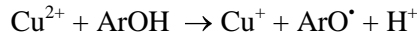


Bu tepkimeye Haber-Weiss tepkimesi denir ve tepkime katalizörsüz ortamda oldukça yavaşken, demirin katalizörlüğünde çok hızlıdır.





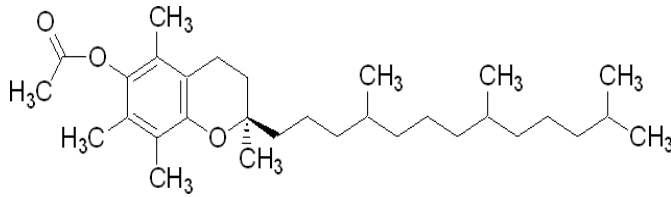
Katalizörlü tepkimede demir önce ferrik formdan ( $\text{Fe}^{+3}$ ) süperoksit ile ferröz forma ( $\text{Fe}^{+2}$ ) indirgenir. Ferröz form Fenton tepkimesi ile ferrik forma tekrar yükseltgenirken  $\cdot\text{OH}$  ve  $\text{OH}^-$  üretilir (Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995). Fenton reaksiyonuna fenolik antioksidanlar ( $\text{ArOH}$ ) ile  $\text{Cu}^{2+}$  ile  $\text{ArO}$  oluşumu da örnek olarak verilebilir.



#### 1.2.1.4. Vitamin E (Tokoferol)

Vitamin E hücrelerde bulunan ve yağda çözünebilen bir antioksidandır. Doğada yan zincirlerinin doymunluğu ve metilasyonu bakımından birbirinden farklı  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ -tokoferol ile  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ -tokotrienol isminde sekiz tip vitamin E bulunur. Plazmada baskın olarak bulunan ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olanı ise  $\alpha$ -tokoferoldür.

Vitamin E, insan vücudu için esansiyel olan bir antioksidan bileşiktir ve bu nedenle dışarıdan alınması gerekir. Hücre membranının yapısı ve fonksiyonu açısından önemli olan doymamış yağ asitlerinin korunmasında rol oynar (Çaylak, 2011). Vitamin E'nin kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir.

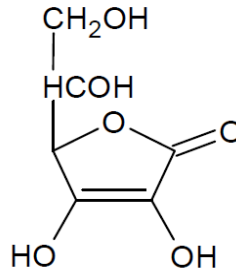


Vitamin E

#### 1.2.1.5. Askorbik Asit (Vitamin C)

Suda çözünen vitaminlerden olan askorbik asit (vitamin C) özellikle taze yeşil sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Yapısal formülü aşağıdaki gibidir.





Askorbik asit

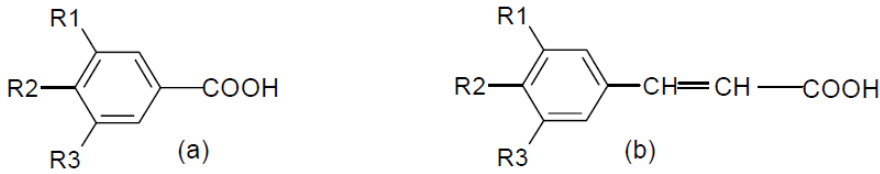
İndirgeyici bir hücresel ajan olan askorbik asit, zincir kırıcı antioksidan etki gösteren Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), radikal süpürücü etkisi bulunan Vitamin A ( $\beta$ -karoten) gibi moleküller insanlarda sentezlenemeyen; bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir ve antioksidan aktivite gösterirler.

#### 1.2.1.6. Fenolik bileşikler

Bitki metabolizmalarında, sekonder metabolit olarak bulunan, çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır. Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler.

Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar.

*Fenolik asitler*, hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar. Bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Bunlar salisilik asit, hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir.



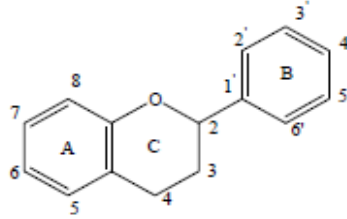
Şekil 1.2. Fenolik asitlerin genel yapısı: a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevleri.

Şekil 1.2.a	R1	R2	R3	Şekil 1.2.b	R1	R2	R3
<i>p</i> -Hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -Kumamrik	H	OH	H
Pirokate şaik	H	OH	OH	Kafeik	H	OH	OH
Vanilik	CH <sub>3</sub> O	OH	H	Ferulik	CH <sub>3</sub> O	OH	H
Siringik	CH <sub>3</sub> O	OH	CH <sub>3</sub> O	Sinapik	CH <sub>3</sub> O	OH	CH <sub>3</sub> O
Gallik	OH	OH	OH				

*Flavonoidlerin* karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yapısındadır. Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir. Flavonoidler gıdalarda önemli miktarlarda (% 0.5-1.4) bulunan polifenollerdir. Yaklaşık 6500 farklı flavonoid bilinmektedir. Flavonoidler bitkilerde fenil alanin ve tirozin gibi aromatik amino asit formlarındadırlar (Slobodan vd., 1994). Bitkilerde genellikle glikozilat türevleri olarak meydana gelirler ve yapraklarda, çiçeklerde ve meyvelerde mavinin parlak tonları, koyu kırmızı ve turuncu renklerinin oluşumunda katkı sağlarlar. Çeşitli sebze ve meyvelerin dışında flavonoidler tohumlarda, fındıklarda, tahıllarda, baharatlarda, bazı şaraplarda (özellikle kırmızı şarap), farklı tıbbi bitkilerde, çaylarda ve birada bulunur (Pietta, 2000). Favonoidler kimyasal yapılarına göre beş gruba ayrılırlar:

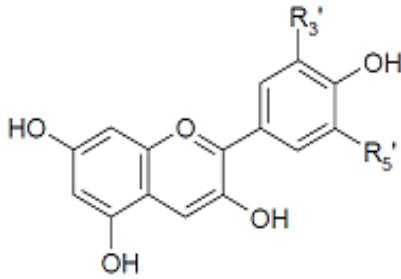
- Antosiyanidinler
- Flavonlar ve flavonoller
- Flavanonlar
- Kateşinler
- Proantosiyanidinler

Fenol türevleri olan flavonoidlerin genel yapısı aşağıda görülmektedir.



Flavonoidlerin genel yapısı

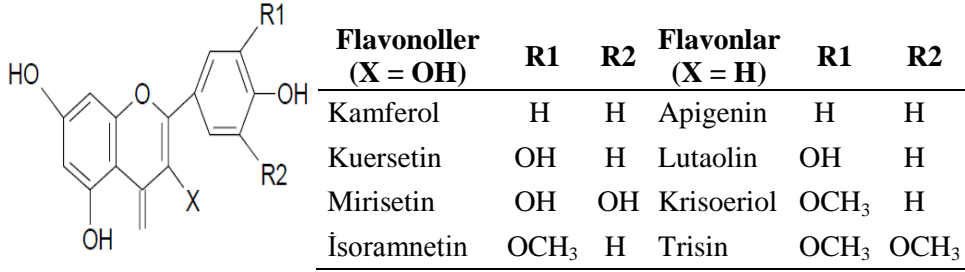
Antosiyanidinler, doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir. Bilinen pek çok antosiyanidinden meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan altı antosiyanidinin yapısı Şekil 1.3.'de görülmektedir.



<b>Antosiyanidinler</b>	<b>R<sub>3</sub>'</b>	<b>R<sub>5</sub>'</b>
Pelargonidin (Pg)	H	H
Siyanidin (Cy)	OH	H
Peonidin (Pn)	OCH <sub>3</sub>	H
Delfinidin (Dp)	OH	OH
Petunidin (Pt)	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvinidin (Mv)	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

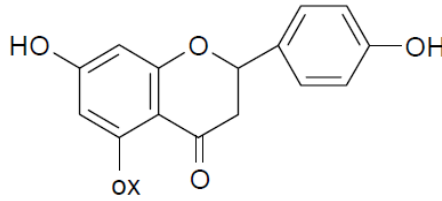
Şekil 1.3. Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı.

Flavonlar ve Flavonoller, Şekil 1.4.'te görüldüğü gibi orta halkanın 3. karbon atomuna flavonlarda (H), flavonollerde (OH) grubu bağlanmıştır. Antosiyanidinler gibi bunlar da şekerlerle glikozit halinde bağlanmış olarak bulunurlar.



Şekil 1.4. Flavonoller ve flavonların kimyasal yapıları.

*Flavanonlar*, flavonlardan farklı olarak aşağıdaki yapısal formülde görüldüğü gibi ortadaki halkada çift bağ bulunmaz. Bu glikozitler özellikle turunçgillerde yaygın olarak bulunurlar. En önemlileri naringin, hesperidin ve naringenindir.

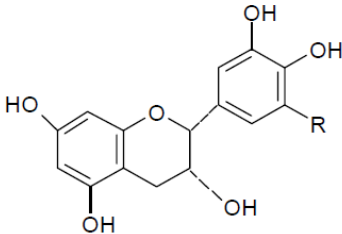


Flavanon

*Kateşinler*, üçüncü karbon atomunda bir OH grubu içerirler. Kimyasal yapıları, flavon-3-ol dür. Şekil 1.5.'te en yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları görülmektedir. Kateşinler gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu oluştururlar. Hem kimyasal hem de enzimatik olarak hava oksijeni ile kolaylıkla kondanse olarak proantosiyandinleri oluştururlar.

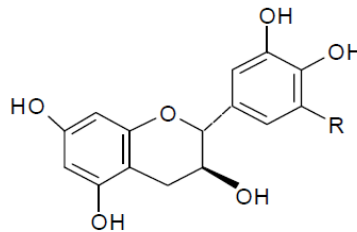
(-)-Epikateşin: (R= H)

(-)-Epigallokateşin: (R= OH)



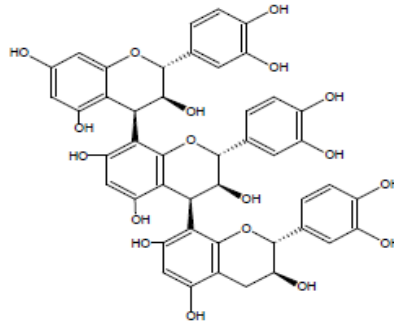
(+)-Kateşin: (R= H)

(+)-Gallokateşin: (R= OH)



Şekil 1.5. Yaygın olarak bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları.

Proantosiyanidinler, kateşinlerden veya löykoantosiyanidinlerden oluşan polimerik yapılara proantosiyanidinler denir. Sadece epikateşin/kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prodelfinidin denir. Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan dimerlerdir.

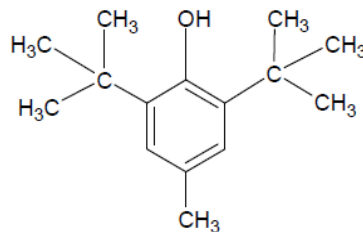


Proantosiyanidinler

## 1.2.2. Sentetik Antioksidanlara Örnekler

### 1.2.2.1. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

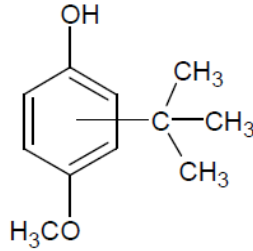
Bütillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılan antioksidanlardandır. Yağda çözünen fakat suda çözünmeyen bütillenmiş hidroksitoluen beyaz kristal görünümündedir. Peroksi radikaliyle iki aşamada etkileşerek çok daha az reaktif ürünlere dönüştüren 2,6 di-tert-butil-4 metil fenol yani bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) önemli sentetik antioksidandır. Genellikle gıdanın yağ içeriğinin ağırlığı üzerinden, tek başına veya antioksidan karışımı olarak % 0.02 (200 ppm) oranında kullanılır. Bu antioksidanın fazla tüketimi, vücutta aşırı hassasiyete ve alerjiye yol açabilmektedir.



Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

### 1.2.2.2. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

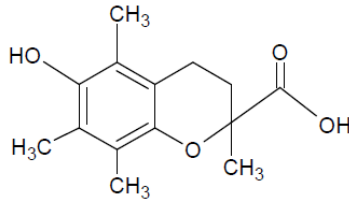
Bütillenmiş hidroksianisol, 3-terciyer bütül-4-hidroksianisol ve 2-terciyer bütül-4-hidroksianisol iki izomerin karışımı olup beyaz mumsu parçacıklar halindedir. BHT gibi yağda çözünür fakat suda çözünmez. BHA özellikle uçucu yağların renk, tat ve kokularının korunmasında, bilhassa kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu kontrol etmede etkilidir. Genellikle tahıl ve şekerli ürünlerde kullanılır.



Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

### 1.2.2.3. Troloks

Troloks [6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], E vitamininin suda çözünür eşdeğeridir. Troloks canlı sistemlerde doğal olarak bulunan bir bileşik olmamakla birlikte pek çok antioksidan aktivite tayin yönteminde standart olarak kullanılır.



Troloks

### 1.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Oksidatif stres koşullarında serbest radikaller biyolojik makro moleküllerle etkileşerek çeşitli hastalıklara yol açtığından bu serbest radikalleri gideren antioksidanların biyolojik örneklerdeki total tayini önemlidir. Öte yandan, günümüzde, özellikle antioksidan kapasitesi yüksek bitki ve besinlerin tüketimi önerildiğinden, bitki örneklerinde de antioksidan tayini yapılır.

Önceleri biyolojik örneklerin ve gıdaların antioksidan kapasitesinin güvenilir bir şekilde ölçülmesi kabul edilmiş ancak analiz eksikliği problem oluşturmuştur. Epeyce farklı düşünceler içeren eleştiri yazıları yayınlanmıştır. Frenkel ve Meyer tarafından yazılan bir eleştiride, biyolojik antioksidanlar ve çok fonksiyonlu gıdaları analiz etmek için tek boyutlu metotların kullanımının sorunlu olduğu üzerinde durulmuştur. Yazarlar genel bir test protokolünün uygulanmasını

- a) Biyolojik olarak konuyla ilgili substrat seçmek
- b) Çeşitli oksidasyon şartlarının test edilmesi
- c) İlk ve ikinci oksidasyon ürünlerinin her ikisinin test edilmesi
- d) Antioksidanların aktif bileşenler ile aynı molar konsantrasyonlarının karşılaştırılması
- e) Temel indüksiyon aşamasının miktarını belirlemek, % inhibisyon ya da hidroperoksit oluşum veya ayrışım oranı ya da  $IC_{50}$  ( % 50 inhibisyona neden olan antioksidan konsantrasyonu)'yi belirlemeyi

önermişlerdir (Huang vd., 2005).

Bitkilerin gelişiminin takibinde de sekonder metabolit olan antioksidan bileşiklerin düzeyleri önemlidir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerin temeli, çeşitli antioksidan fenolikler ve vitaminler varlığında belirli kromojen radikallerin oluşumunun gecikmesi veya ortamda var olan radikalın sönmeye uğramasına dayanır. Antioksidan kapasiteyi ölçmek için geliştirilmiş birçok analitik yöntem mevcuttur. Yapılan araştırmalar bir antioksidan bileşiğin bir yöntemle ölçülen antioksidan kapasitesinin diğer bir yöntemle ölçülene kıyasla farklı olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bir bileşiğe 'antioksidan kapasitesi yüksek' özelliğini yakıştırabilmek için birden fazla yöntemle tayininin yapılması ve diğer bileşiklerle karşılaştırılması gerekir. Bu yüzden birçok antioksidan tayin yöntemi geliştirilmiştir. Bunlardan en yaygın kullanılanları:

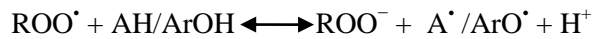
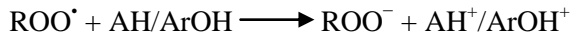
Total Antioksidan Aktivite Tayini (Ferric Thiocyanate Content/FTC)  
 DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH Free Radical Scavenger Activity/DPPH)  
 Toplam Fenolik Bileşik Tayini (Total Phenolic Content/TPC)  
 Toplam Flavonoid Tayini  
 Toplam Flavonol Tayini  
 Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (Cupric Reducing Antioxidant Capacity/CUPRAC)  
 Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Yöntemi (Oxygen Radical Absorbans Capacity/ORAC)  
 Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini  
 Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini  
 İndirgeme Gücü Tayini  
 Demir(III) İndirgeyici Antioksidan Güç (Ferric Reducing Antioxidant Power/FRAP)  
 Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity/TEAC)

Literatürde verilen antioksidan tayin yöntemlerinde temel sınıflandırma reaksiyon tipine göre yapılır. Antioksidan tayinleri, hidrojen atomu transferine (HAT) veya elektron transferine (ET) dayanır.

HAT'ne göre antioksidan etki mekanizması:



ET'ne göre antioksidan etki mekanizması ise:



Elektron transferine dayanan yöntemler; farklı standart potansiyellere sahip çeşitli kromojenik redoks reaktifleri kullanan TEAC, DPPH, TPC, FTC, CUPRAC, indirgeme gücü ve FRAP yöntemleridir. Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler ise ORAC yöntemidir. Elektron transferine dayanan yöntemler oksidan ile bir redoks reaksiyonu içerirler. HAT'ne dayanan yöntemler genellikle sentetik serbest radikal üretimi, oksitlenebilen radikal prob ve antioksidanlardan



oluşmuştur. HAT ve ET'ne dayalı yöntemler örneğin antioksidan kapasitesinin engellenmesi yerine radikal (ya da oksidan) süpürücü kapasiteyi ölçmeye dayalı yöntemlerdir.

ET'ne dayalı yöntemler, reaksiyon karışımında antioksidan ve oksidan olmak üzere iki bileşen içermektedir.

Prob (oksidan) + e (antioksidan)  $\longrightarrow$  indirgenmiş prob + oksitlenmiş antioksidan

Kendi başına bir oksidan olan prob, antioksidandan elektronu ayırır ve probun renginde değişim meydana gelir. Renk değişimi antioksidan derişimi ile doğru orantılıdır. Renk dönüşümünün durduğu nokta reaksiyonun sonlandığı noktadır. Antioksidan konsantrasyonuna karşı absorbands değişimi lineer bir eğri verir.

ET'ne dayalı yöntemler antioksidanın indirgeme gücünü ölçerken HAT'ne dayalı yöntemler hidrojen atomu bağlama gücünün miktarını ölçer. Hidrojen atomu transfer reaksiyonlarının radikal zincir reaksiyonlarında önemli bir adım olduğu görülmektedir. Bu yüzden HAT'ne dayalı yöntemler radikal zincir-kırma antioksidan gücü ile daha çok ilişkilidir (Huang vd., 2005).

Diğer ROS süpürücü kapasitenin ölçüldüğü yöntemler:

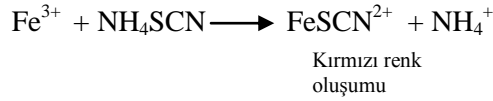
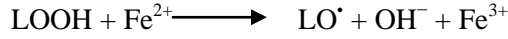
- Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süpürücü aktivite tayini
- Hidroksil radikal süpürücü aktivite tayini
- Singlet oksijen süpürücü aktivite tayini
- Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) süpürücü aktivite tayini

olarak sayılabilir. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinden bu çalışmada kullanılanlar hakkında bilgi aşağıda verilmiştir:

### **1.3.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)**

Bu analiz Saha vd. (2004) metoduna göre uygulanmaktadır. Bu yöntemde linoleik asit, etanol ve fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyon ortamında, doymamış bir yağ asidi olan linoleik asidin 40°C'de 140 saat oksijen ile inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidin miktarının ölçümüne dayanmaktadır. Lipid peroksidin neden olduğu peroksidasyonun antioksidan madde tarafından ne kadar

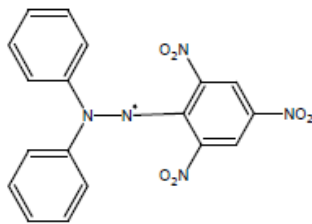
engellendiğine, oluşan kırmızı rengin bir kontrole karşı 500 nm'deki absorbansının ölçülmesi ile karar verilir. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Reaksiyonun genel denklemi aşağıdaki gibidir:



Yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen BHT standart olarak kullanılır. Sonuç, antioksidanın linoleik asidin peroksidasyonunu inhibe etme yüzdesi (% inhibisyon) olarak verilir.

### 1.3.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

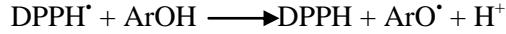
Bu yöntem Brand-Williams vd. (1995) metoduna göre uygulanmaktadır. DPPH radikali (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir serbest radikal olup bu radikal 517 nm'de maksimum absorbansa sahiptir. DPPH sentetik bir radikal olup doğal sistemlerde bulunmamaktadır. Bu nedenle DPPH'ni süpürme etkisinin ölçülmesi yoluyla antioksidan kapasite tayini ile ilgili eleştiriler vardır. Ancak yöntem uygulama kolaylığı nedeniyle çok kullanıldığı için artık antioksidan kapasite tayin yöntemleri arasında en fazla kullanılanlardan birisidir.



DPPH radikali (1,1-difenil-2-pikril hidrazil)

Yöntemin esası DPPH içeren çözelti ile hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekülün (antioksidan) çözeltisinin karıştırılması sonucu DPPH radikalının indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolmasına dayanır. Mor renkli çözeltinin 517 nm'deki absorbansının azalması ölçülerek reaksiyon

takip edilir. Örnek derişimine karşı inhibisyon değerleri kullanılarak çizilen grafikten % 50 inhibisyon sağlayan örnek derişimi ( $IC_{50}$ ), hesaplanarak harcanan antioksidan miktarı  $IC_{50}$  (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams vd., 1995). Reaksiyonun genel denklemi aşağıdaki gibi yazılabilir:



DPPH yöntemi teknik olarak basit olmasına karşı bazı dezavantajları bulunmaktadır. Birçok antioksidan bileşik lipid peroksidasyonunda rol oynayan peroksil radikalleri ile çok hızlı tepkime vermektedir. Sonuç olarak antioksidan kapasitesinin doğru bir şekilde ifade edilemediği düşünülebilir. Ayrıca DPPH ile antioksidan bileşik arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile her zaman doğrusallık göstermediği de bilinmektedir (Huang vd., 2005; Molyneux, 2004).

### 1.3.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC)

Bu yöntem, Singleton ve Rossi tarafından (1965) ortaya konmuştur. Örnek içindeki toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenir. Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis Reaktifi); fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayin yöntemlerinde kullanılan fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımıdır (Singleton vd., 1965). Yöntem test edilen materyalin reaktifin oksidasyonunu inhibe etmesi için gerekli miktarını ölçer (Vinson vd., 2005). Ancak bu reaktifin sadece total fenolik bileşik miktarını ölçmediği ve örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin total indirgeme kapasitesini de ölçtüğü konusunda tartışma vardır (Ikawa vd., 2003). Buna rağmen Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir.

Toplam fenolik madde miktarı, gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanır.

### 1.3.4. Toplam Flavonoid Tayini

Toplam flavonoid tayini Quettier-Deleu (2000)'e göre yapıldı. Fenolik ekstraktların toplam flavonoid tayini alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre belirlendi. Standart olarak iyi bir flavonoid olduğu bilinen rutin kullanıldı.

Flavonoid miktarı rutin in alkoldeki çözeltisinin standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak gram örnek başına  $\mu\text{g}$  rutin eşdeğeri (RE) olacak şekilde hesaplandı.

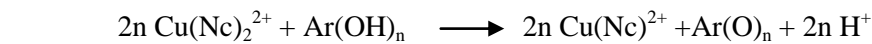
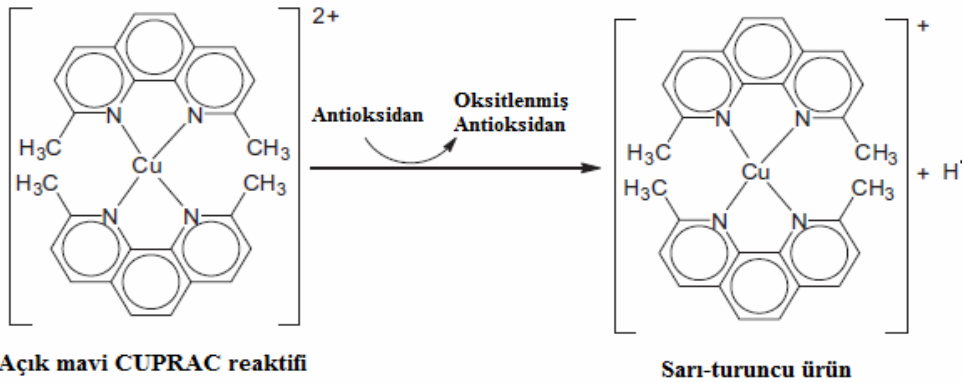
### 1.3.5. Toplam Flavonol Tayini

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'a göre yapıldı. Standart olarak rutin kullanıldı. Flavonol miktarı rutin in alkoldeki çözeltisinin standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak gram örnek başına mg rutin eşdeğeri (RE) olacak şekilde verildi.

### 1.3.6. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

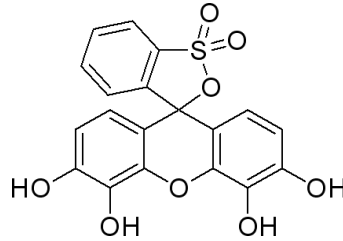
CUPRAC yönteminde kromojenik indirgeyici ajan bis(neokuproin) bakır(II) şelatıdır. Bu reaktif pH 7.0'de kullanışlıdır. Polifenollerin redoks reaksiyonu sonucu indirgemesi ile oluşan bakır(I) şelatının absorbanı 450 nm'de ölçülür. Bu yöntem daha sonra kuprik iyonu indirgeme potansiyeli ölçülmek suretiyle bitki ekstraktlarında ve insan serumunda (Apak vd., 2004; 2005) total antioksidan kapasite tayini için geliştirilmiş ve bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini olarak isimlendirilir.

Yeni geliştirilen CUPRAC yönteminde kullanılan kromojenik oksidasyon reaktifi olan bis(neokuproin)-Cu(II) klorür ile antioksidan arasındaki reaksiyon:



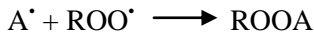
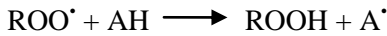
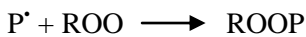
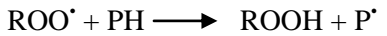
### 1.3.7. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Yöntemi (ORAC)

ORAC yöntemi ilk kez Cao, Alessio ve Cutler tarafından önerilmiştir (Cao vd.,1993). Bu yöntemde peroksil radikalleri ile oksitlenen bir hedef molekülün bir antioksidan tarafından ne kadar korunduğu, hedef molekülün bozunması floresans veya absorbans takibi ile izlenerek, bozunma kinetiği eğrisinin altında kalan alanın değişimi ile ölçülür. Orijinal yöntemde hedef molekül olarak fikoeritrin kullanılmış iken daha sonra bu molekülün yerini fluoresscin almıştır (Ou vd., 2002; Alarcon vd., 2008). Hem fikoeritrin hem de fluoresscin ile yapılan ORAC ölçümleri floresans spektrofotometre gerektirmektedir. Ayrıca test edilen bileşiğin antioksidan aktivitesinin yüksek olması durumunda kesin kinetik veri elde etmek zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu reaktiflerin yerine renkli bir reaktif olan pirogallol red (PGR)'in kullanılması önerilmiştir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006). Pirogallol red kullanılarak elde edilen ORAC değerlerinin antioksidanların peroksil radikallerine karşı reaktivitesini daha doğru gösterdiği de rapor edilmiştir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2005). Pirogallol red kullanılarak ORAC yöntemi ile antioksidan tayini saf antioksidan maddeler ve kompleks antioksidan karışımları için denenmiş ve sonuçların test edilen bileşiklerin reaktivitesi ile daha iyi korelasyon gösterdiği ve görünür spektroskopi uygulanmasının daha kolay olduğu sonucuna varılmıştır (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).



Pirogallol red molekülünün kimyasal yapısı

ORAC yönteminde reaksiyon sırası aşağıdaki gibidir:



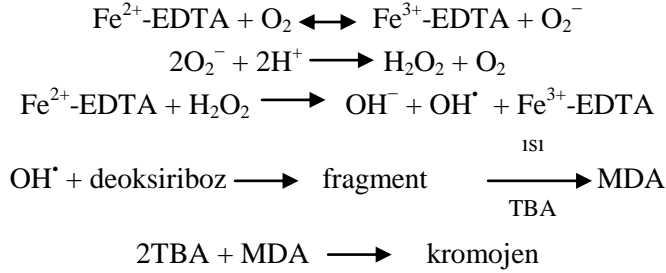
PH: Prob

AH: Antioksidan

ORAC değerleri genellikle Troloks eşdeğeri olarak ifade edilir. Farklı Troloks derişimleri için floresans yıkım eğrileri kullanılarak standart bir eğri çizilir. Örneğin Troloks eşdeğeri, Troloks derişimi ile floresans yıkım eğrisi altında kalan net alandan yola çıkılarak hesaplanır.

### 1.3.8. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Deoksiriboz yöntemi olarak ta bilinen bu yöntem, antioksidan molekül ve OH radikali arasındaki reaksiyon hız sabitini saptamaya olanak sağlar. Bu yöntem Halliwell vd. (1987) tarafından ortaya konmuştur. Deoksiriboz şekeri (2-deoksi-D-riboz), Fenton sistemi ya da irradyasyon ile geliştirilmiş hidroksil radikallerini indirger (Bucnall vd., 1978; Gutteridge, 1981). Deoksiriboz, biyokimyasal sistemlerde hidroksil radikalının oluşumunu ölçmede genellikle kullanılan bir yöntemdir (Gutteridge, 1981; 1987; Halliwell vd., 1987). Fe<sup>2+</sup>-EDTA şelatı hidrojen peroksit ile pH 7,4 fosfat tamponunda inkübe edilirse OH radikalleri oluşur. Bazı radikaller EDTA tarafından süpürülmekten kurtularak deoksiriboz ile reaksiyona girebilir. Muhtemel reaksiyonlar aşağıdaki gibidir:



Deoksiribozun degradasyon oranı aşağıdaki reaksiyon gereğince askorbik asit gibi indirgeyici ajan içeriğine bağlı olarak artar (Aruoma vd., 1987):



Ekstra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesi ile de hız artırılabilir (Aruoma vd., 1987; Halliwell vd. 1987). Reaksiyon karışımı deoksiriboz, FeCl<sub>3</sub>, EDTA, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-KOH pH 7,4 tamponu, ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve analiz edilecek maddeyi içerir. OH radikal ürününün deoksiriboza saldırısı ölçülür (Brigette vd., 1993). Reaksiyon hız sabiti yöntem

karışımındaki antioksidanın çeşitli derişimleri ile elde edilen yarışmalı noktalardan hesaplanır.

### 1.3.9. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin biraz modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre yapıldı. Süperoksit radikalleri, fenazin metasülfat (PMS)-nikotinamid adenin dinükleid (NADH) sisteminde NADH'in oksidasyonu ile oluşturuldu ve nitroblue tetrazolyum (NBT)'un indirgenmesi ile analiz edildi. Reaksiyon karışımının absorbansındaki düşüş süperoksit anyon süpürücü aktivitenin arttığını gösterir.

### 1.3.10. İndirgeme Gücü Tayini

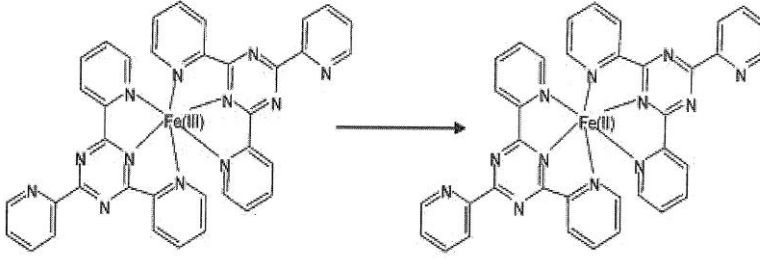
Oyaizu (1986) tarafından ortaya konan metoda göre indirgeme kuvveti incelenen bileşimin dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermektedir. Bu yöntem Fe<sup>3+</sup>'ün Fe<sup>2+</sup>'ye indirgenmesi ile meydana gelen renk değişiminin 700 nm'deki absorbansının takibine dayanır. Reaksiyon kısaca aşağıdaki gibidir:



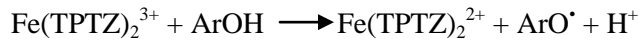
Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılarak % askorbik asit cinsinden verilir.

### 1.3.11. Demir(III) İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP)

Oyaizu (1986) tarafından ortaya konan bu yöntemde antioksidan kapasitesi ölçülecek örneğin dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyeli ölçülmekte olup, Fe<sup>3+</sup>'ün Fe<sup>2+</sup>'ye indirgenmesi ile meydana gelen renk değişimi 595 nm'de takip edilerek belirlenir. Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılmak suretiyle yorumlanır. Güncel olarak kullanılan FRAP metodunda 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) Fe (III) tuzu kullanılmaktadır. Bu yöntemle redoks potansiyeli 0.7 V'tan daha düşük olan bileşiklerin antioksidan kapasitesi test edilebilmektedir. Reaksiyonun genel denklemi aşağıdaki gibidir:



Şekil 1.6. 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) Fe (III) tuzunun İndirgenmesi.



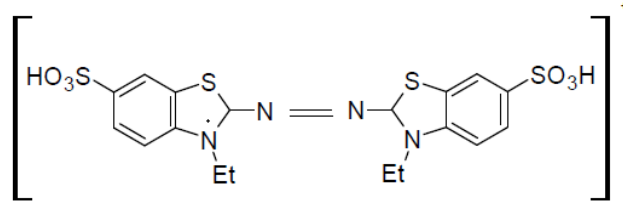
Bu metotta artan absorbans yüksek Fe(III) indirgeme kuvvetini göstermektedir. FRAP yönteminde sonuç, standart antioksidan olarak askorbik asit kullanılması halinde % askorbik asit olarak verilir.

### 1.3.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC)

TEAC yöntemi orijinal olarak 1993'de Miller vd. tarafından kullanılmış olup, uzun ömürlü radikal anyonların süpürülmesine dayanmaktadır. Bu yöntemde antioksidanlar hidrojen peroksit varlığında metmiyoglobinin peroksidaz aktivitesi ile ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu] radikalleri oluşturulur ve antioksidan etkisiyle radikal oluşumundaki azalma 734 nm'de ölçülür (Bondet vd., 1997). Orijinal yöntemde ABTS radikal katyonu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve metmiyoglobinin reaksiyona girmesi ile oluşan ferrilmiyoglobin ile ABTS arasındaki etkileşim sonucu oluşmaktadır. ABTS<sup>•+</sup>'nin karakteristik absorpsiyon spektrumu 660, 734, 820 nm'de maksimum vermektedir (Rice-Evans ve Miller, 1984; Pellegrini vd., 1999).

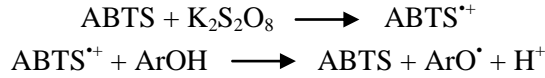
TEAC yöntemi daha sonra Re vd. (1999) tarafından modifiye edilmiştir. Bu geliştirilmiş metot, ABTS ve potasyum persülfat arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu mavi-yeşil ABTS<sup>•+</sup> kromoforu oluşur. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşturulmaktadır. Aşağıda molekül yapısı verilen ABTS radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda iki gün dayanıklıdır.





ABTS radikal katyonu

Geliştirilen metodun orijinal metottan farkı hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolorizasyon (renk giderimi) yöntemi olmasıdır. ABTS radikal katyonunun oluşumu ve ortama antioksidan ilave edilmesi ile gerçekleşen reaksiyon:



şeklindedir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

King (1962) iki bağlı glikoflavonu (flavonoid A ve B), ticari buğday ruşeym örneklerinden izole etmiştir. Her biri, yüksek hidroksilli glikozil tipi bir yan bağa bağlı apigenin çekirdek ihtiva etmektedir. Ultraviyole spektrofotometrik çalışmalardan edinilen ve bilinen glikoflavonlarla benzerlikleri karşılaştırılmıştır. Glikoflavonlara ek olarak, buğday ruşeyminde serbest biçimde ferulik asit ve vanilik asit bulunmuştur. Metoksi hidrokinon glikozit varlığı da ayrıca ifade edilmiştir.

Bondet vd. (1997) üç antioksidanın reaksiyon mekanizmalarını kullanarak kinetik çalışmada elde edilen deney sonuçlarını açıklamak için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) serbest radikal yöntemini daha önce laboratuvarlarında uyarlamışlardır. Bu radikal formda, DPPH<sup>•</sup> antiradikal bileşik tarafından indirgenmesi ile 515 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. Bir sentetik antioksidan olan BHT, DPPH<sup>•</sup> ile yavaşça reaksiyona girer ve 5 saat içinde onu kararlı bir hale getirir.

Velioğlu vd. (1998) ayçiçeği tohumları, keten tohumları, buğday ruşeymi, kara buğday (buckwheat) ve çeşitli meyveler, sebzeler ve tıbbi bitkileri içeren 28

bitkinin toplam fenolik ve antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Toplam fenolik bileşimi Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlenmiştir. Metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi AOX ( $\Delta \log A_{470}/\text{dakika}$ ), AA (kontrolle karşı bağıl % inhibisyon), OOR (oksidasyon oranı) ve AAC (antioksidan aktivite katsayısı)  $\beta$ -karotenin renginin giderilmesi yöntemine göre değerlendirilmiştir. Toplam fenolik ve antioksidan aktivite katsayıları arasındaki ilişki istatistiksel olarak dikkate değerdir.

Pinzino vd. (1999) bozulan ve parçalanmış kart tohumlarında gözlenen, değişimlerin önemli bir nedeni olarak serbest radikal oksidatif saldırısını incelemişlerdir. Antoksidan savunma mekanizması, radikal süpürücü gibi davranan karotenoidlerin ve moleküler türlerin varlığında hasarı giderebilir. Buğday tohumundaki en önemli karotenoid olan luteolinin miktarı un halindeyken belirlenmiştir. Tohumun olgunlaşması sırasında ani bir azalma göstermektedir. Ek olarak, buğday tohumundan yapılan undan elde edilen gluten uzun süre saklandıktan sonra içerisindeki serbest radikallerin miktarı azalmıştır. Radikal konsantrasyonunun yaşa bağlı olduğu görülmüştür. Gluten proteinlerinin sülfhidril grupları spesifik olarak etiketlenerek protein zincirinin sertliğinin karşılaştırmalı EPR çalışmalarına olanak sağlanmıştır. Polimerik glutenin progresif (sürekli, aşamalı) olarak sertleştiği uzun süre saklanan buğday tanelerinde bulunmuştur.

Molero vd. (2000) Buğday ruşeym yağının sıvı ve süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile ham maddenin ön işlemlerini ve etkili metotlara bakış açılarını tanımlamışlardır. Buğday ruşeym yağının ekstraksiyonu için en iyi şartlar: basınç, 150 bar; sıcaklık, 40 °C ve standart sıcaklık ve basınçta çözücü akış hızı 1,5 L/dakikadır. Çözücü olarak hekzanın kullanıldığı klasik ekstraksiyon yöntemi sonucu ürün ve yağ asidi bileşimleri elde edilmiştir. Buna karşın daha yüksek kaliteli yağ, çözücü olarak CO<sub>2</sub> kullanılarak elde edilmiştir. Bu faktörler, CO<sub>2</sub> kullanılarak ekstraksiyon yöntemi ile klasik yöntem arasında ekonomik olarak da rekabeti tartışılır duruma getirmektedir.

Krings vd. (2000) yavaşlatılmış mısır yağı oksidasyonu ile buğday işleme akışından elde edilen kurutulmuş buğday ruşeym ekstraktlarını 60°C'de saklamışlardır. Saf mısır yağı ile en iyi stabilizasyon 160°C'de 20 dakika kurutulmuş olan buğday ruşeyminden etanol ekstraktı (antioksidatif ekstrakt, AOE) elde edilmiştir. AOE'nin % 20 ve % 40'lık yüksek dozajlarına rağmen prooksidatif etki görülmemiştir. Ticari bitki yağlarının yaşlanmaya karşı kullanımı

arttırmada her bir yağ için peroksit değeri, konjugat dien hidroperoksit konsantrasyonu, ve analitik indikatör olarak  $\alpha$ -tokoferol konsantrasyonu ve depolama koşulları için önemli gelişmeler ispat edilmiştir.

Krings ve Berger (2001) kavrulmuş buğday ruşeym unundan elde edilen etanolik ekstraktların antioksidatif gücü ile diğer kavrulmuş gıdalardan elde edilen ekstraktları karşılaştırmışlardır. Tahıl ürünleri arasında, ruşeym unu üretim prosesinden elde edilen kavrulmuş pres küspesi ve kavrulmuş ruşeym ununun sade mısır yağına eklenmesi oksidasyon koşulunu hızlandırmada çok etkilidir. Aynı model sistemde, ticari kahvenin etanol ekstraktının lipid peroksidasyonunu bütünüyle bastırdığı görülmüştür. Bazı ekstraktların radikal süpürücü etkileri dayanıklı 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikalinin renginin giderilmesi özelliğinden yararlanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar sade mısır yağı kullanılarak hızlandırılmış oksidasyon deneylerinden elde edilen sonuçlar ile tam olarak uyumlu değildir.

Yu vd. (2002b) üç farklı yerde (Akron, Trego ve Platte) sert kış koşullarında yetiştirilen buğdayları incelemişler ve bunların serbest radikal süpürücü özellikleri ve toplam fenol kapasitelerini (TPC) karşılaştırmışlardır. Buğday tanesinin ekstraktlarının serbest radikal süpürücü özellikleri spektrofotometrik ve elektron spin rezonans (ESR) spektrometri yöntemleri ile stabil 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH') ve ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azino-di[3-etilbenziazonil-sülfat]) radikal katyonuna karşı değerlendirilmiştir. Sonuçlar gösterir ki, üç buğday ekstraktının DPPH' ve ABTS<sup>•+</sup>'nu inhibe etme ya da söndürme kapasiteleri farklıdır. Akron, DPPH radikallerini söndürmede en iyi aktiviteyi gösterirken, Platte ABTS<sup>•+</sup>'ne karşı en yüksek kapasiteye sahiptir. Buğday ekstraktlarının deney koşulları altında DPPH radikallerine karşı IC<sub>50</sub> değerleri Akron için 0,60 mg/mL; Trego için 7,1 mg/mL ve Platte için 0,95 mg/mL'dir. Trolox eşdeğeri ABTS<sup>•+</sup> değerleri Akron, Trego ve Platte buğday ekstraktları için sırasıyla 1,31±0,44; 1,08±0,05 ve 1,91±0,06  $\mu$ mol/g'dır. ESR sonuçları ile buğday ekstraktlarının direkt olarak reaksiyona girdiği ve serbest radikalleri söndürdüğü doğrulanmıştır. TPC sonuçları g tane başına 487,9 - 927,8 mg gallik asit eşdeğeri olarak bulunmuştur. TPC ve DPPH' ve ABTS<sup>•+</sup> radikal süpürücü kapasiteleri arasında bir ilişki gözlenmemiştir.

Malecka (2002) yenilebilir yağların oksidasyona karşı direnci, onların yağ asidi türüne ve sabunlaşmayan maddelerinin yapısına bağlılığını ve domates tohumlarının, yulaf tanelerinin ve buğday ruşeym yağının sabunlaşmayan

maddelerinin rafine kolza yağına eklenmesinin stabiliteye etkisini araştırmış ve bunların antioksidan etkileri bütillenmiş hidroksianisol ile karşılaştırmışlardır. Yapılan deneyler sonucu kullanılan tüm katkıların kolza yağının oksidasyonu sınırladığını kanıtlamış ve en yüksek koruyucu etkinin domates tohumu yağından izole edilmiş sabunlaşmayan madde içeren örneklerde olduğu gözlemlenmiştir.

Dunford ve Zhang (2003) çalışmasında buğday ruşeym yağının basınçlı solvent ile ekstraksiyonunu incelenmiştir. Sıcaklığın, ekstraksiyon süresinin, örnek boyutunun, çözücü tipinin ve yağın kalitesinin ekstraksiyon verimine etkileri üzerine çalışmışlardır. Normal hekzanın ekstraksiyon verimi izo- ve saf-hekzan, izo-propanol, etanol ve aseton ile karşılaştırmışlardır. Ekstraktların n-3 ve n-6 çoklu doymamış yağ asitleri kapasitesi analiz edilmiştir. Sokshelet ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında basınçlı solvent ekstraksiyonu, ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltmıştır. Yağın geri kazanımı için gerekli olan süre ekstraksiyon için kullanılan buğday ruşeyminin miktarına bağlıdır. En yüksek ekstrakt miktarı basınçlı solvent ekstraksiyonu için çözücü olarak metanol kullanıldığında elde edilmiştir. Hekzanın çözücü olarak kullanıldığı aynı yağ ürünlerinin sokshelet ve basınçlı solvent ekstraksiyon sonuçları verilmiştir. Ekstraktın yağ asidi bileşimi ne sıcaklıktan ne de ekstraksiyon yönteminden etkilenmemiştir. Deneysel sonuçlar, basınçlı solvent ekstraksiyon tekniği ile çözücü tüketiminin düşürüldüğünü ve ekstraksiyon süresi ile yağın yağ asidi bileşimi ve ekstraksiyon ürünü üzerinde ters etkisinin olmadığını göstermiştir.

Papadopoulos vd. (2003) N,N'-dimetil-9,9'-biakridinyum dinitrat ile kemülimünesans kullanılarak zeytin yağı ve sulu ekstraktının antioksidan aktivitesini (AA) ölçmek için daha hassas ve kolay bir prosedür belirlemiştir. Zeytinyağı sulu ekstraktının tohum yağından 2-10 defa daha yüksek AA gösterdiği bulunmuştur. Bu etkileyici fark, zeytinyağının yüksek oranda fenolik bileşik içerdiğini ortaya koyar. Spektrofotometrik ve florimetrik ölçümler bu hipotezi doğrulamıştır. Bu çalışmada görüldüğü üzere sulu yağ ekstraktının kantitatif toplam fenol miktarını ölçmek için rapor edilen yöntem kullanılabilir. Ticari ve ticari olmayan Yunan sulu zeytinyağı ekstraktlarının kg başına 55,3 - 125,9 mg kafeik asit içerirken tohum yağı sadece 0,6 - 3,2 mgkg<sup>-1</sup> içermektedir.

Pathirana ve Shahidi (2005) fenolik bileşiklerin yumuşak ve sert buğday kepeğinden ekstraksiyon işlemi en iyi koşulları yüzey tepki metodunu (RSM) kullanarak belirlemişlerdir. Çözelti karışımı (%), ekstraksiyon sıcaklığı (°C) ve

zaman (dakika) gibi üç bağımsız değişken değerinin toplam antioksidan aktiviteye (TAA) etkilerini araştırmak için yüzey-merkezli kübik bir dizayn (FCD) kullanılmışlardır. Veriler, dizayn uzmanlık ve istatistiksel analiz sistemi yazılımları kullanılarak analiz edilmiştir. TAA için en iyi değerler yumuşak buğdayın tam tahıl ve kepeği için sırasıyla % 54, 61°C’de, 64 dakika ve % 49, 64°C’de, 60 dakika olarak bulunmuş. En iyi koşullar altında kıyaslanan TAA tahmini değerleri 56.5 ve 63 TE’dir. Modelin geçerliliğini kontrol etmek için ham fenolikler en iyi koşullar altında ekstrakte edilmiştir. Yumuşak buğdayın tam tahıl ve kepeği için değerler, sırasıyla,  $54.7 \pm 3.2$  ve  $61.3 \pm 1.9$  TE olarak bulunmuştur. Sert buğdayın TAA’sı için benzer bir eğilim gözlenmiştir. Deneysel değerler, öngörülen değerlerle uyumludur, bu da ekstraksiyon koşullarını iyileştirmede RSM’nin başarısını ve kullanılan modelin uygunluğunu göstermiştir.

Gülçin (2006) ABTS ve DPPH radikal süpürücü aktivite tayin yöntemi, ferrik tiyosiyanat yöntemi ile total antioksidan kapasite tayini, total indirgeme kapasitesi ve metal şelatlama aktivitesi yöntemlerini kullanarak kafeik asidin antioksidan etkilerini değerlendirmiştir. Referans antioksidan bileşikler olarak  $\alpha$ -tokoferol, Troloks, BHA ve BHT’yi kullanmıştır. 10  $\mu\text{g/mL}$  ve 30  $\mu\text{g/mL}$  derişimlerinde kafeik asit linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonunu sırasıyla % 68,2 ve % 75,8 inhibe etmiştir. 20  $\mu\text{g/mL}$  derişimdeki BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol, ve troloks ise % 74,4; % 71,2; % 54,7; % 20,1 inhibisyon göstermiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde BHT > kafeik asit > BHA >  $\alpha$ -tokoferol > Troloks (20  $\mu\text{g/mL}$ ) ; aynı derişim aralığında ABTS radikalini süpürme aktiviteleri içinse kafeik asit > troloks >  $\alpha$ -tokoferol şeklinde bir sıralama yapılmıştır.

Pathirana ve Shahidi (2006) iki ticari buğday örneğini; yumuşak ve sert farklı öğütme fraksiyonları elde etmek için kullanmışlardır. Ekstrakte edilen fenolikler serbest çözülebilir esterlere ve çözülemez-bağlı fraksiyonlara aittir. Fenolik madde içeriği Folin ayırıcı kullanılarak saptanmıştır ve ferulik asit eşdeğerleri (FAE) olarak ifade edilmiştir. Fenolik fraksiyonların antioksidan aktivitesi, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi, DPPH radikal süpürücü aktivite, indirgeme gücü, oksijen radikali ansorbans kapasitesi, düşük dozda insan lipoprotein, kolesterol ve DNA’sının oksidasyonunun inhibisyonu, fotokemülimünesans inhibisyonu ve demir (II) şelatlama aktivitesi kullanılarak değerlendirilmiştir. Kepek fraksiyonuna bağlı fenolik içerik sert ve yumuşak buğdaylar için sırasıyla  $11.3 \pm 0.13$  ve  $12.2 \pm 0.15$  mg FAE/g yağı çıkarılmış madde şeklindedir. Un için karşı gelen değerler  $0.33 \pm 0.01$  ve  $0.46 \pm 0.02$  mg FAE/g yağı çıkarılmış madde şeklindedir. Bağlı

fenoliklerin toplam fenolik miktarına katkısı serbest ve esterleştirilmiş fraksiyonlarınkinden önemli ölçüde daha yüksektir. Yapılan birçok *in vitro* antioksidan analizlerde bağlı fenolik fraksiyon serbest ve esterleştirilmiş fenoliklerden önemli ölçüde daha yüksek bir antioksidan kapasite sergilemiştir. Bundan dolayı, tahıl ve taneli gıdaların antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi ve ölçümüne ilişkin çalışmalarda bağlı fenoliklerin de yer alması bir gerekliliktir.

Zhu vd. (2006) WGGP (suda çözülebilir buğday ruşeym glikoproteini) olarak adlandırılan yeni bir glikoproteinini, suda çözünebilen buğday ruşeym ekstraktından izole etmişler ve iyon değişim- jel filtrasyonu kolon kromatografisi ile saflaştırmışlardır. WGGP'nin homojenliği, Sefaroz CL-6B jel filtrasyonu ile gösterilmiştir. Glutamik asit, asparik asit, alanin, glisin, valin ve lösin bakımından zengin olan glikoprotein, % 54 protein içerir. WGGP'de, doğal şeker miktarının % 94'ünü oluşturan mannoz, ve arabinoz, ksiloz, glukoz ve galaktozun eser miktarlarda olduğu bulunmuştur. Moleküler ağırlığın SDS-PAGE ile yaklaşık 40.000 olduğu belirlenmiştir. WGGP'de O-glikozidik bağ varlığı bir  $\beta$ -eliminasyon reaksiyonu ile ispat edilmiştir.

Zhu vd. (2006) buğday ruşeym protein hidrolizatları (WGPH), alkalaz 2.4L FG kullanılarak, yağsız buğday ruşeym protein izolelerinin enzimatik hidrolizi yoluyla elde edilmiştir. WGPH'nin hidroliz derecesi (DH), pH-stat metodu kullanarak yaklaşık % 25 olarak belirlenmiştir. WGPH'nin moleküler kütle dağılımı 1500 Da'dan daha düşüktür. WGPH'nin antioksidan ve serbest radikal-süpürme aktiviteleri, linoleik asit emülsiyon model sistemi, 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH)/süperoksit/hidroksil radikal-süpürücü aktivite, indirgeme gücü ve demir iyon-şelatlama aktivitesi de dahil olmak üzere, bazı *in vitro* analiz yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. WGPH'nin antioksidan aktivitesinin linoleik asit emülsiyon sisteminde tokoferolünkine yakın olduğu saptanmıştır. WGPH, DPPH, süperoksit, hidroksil radikalleri gibi serbest radikallere karşı süpürme aktivitesi göstermiştir. Radikal süpürme etkisinin doza bağlı olduğu bulunmuş ve DPPH, süperoksit ve hidroksil radikalleri için EC<sub>50</sub> değerleri, sırasıyla 1.30, 0.40 ve 0.12 mg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca, WGPH, Fe<sup>2+</sup> üzerinde önemli ölçüde indirgeme gücü ve güçlü şelatlama etkisi göstermiştir. *In vitro* sistemleri ile elde edilen veriler WGPH'nin antioksidan potansiyelini açıkça ortaya koymuştur.

Gelmez vd. (2009) süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu (SC-CO<sub>2</sub>) ile elde edilen kavrulmuş buğday ruşeyminin antioksidan miktarı ve antioksidan aktivitesi

üzerine basıncın (148-602 bar), sıcaklığın (40-60°C) ve zamanın (10-60 dakika) etkilerini belirlemişlerdir. Ekstraktın değişkenlere bağlı toplam fenolik madde miktarı (TPC, mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt), toplam tokoferol miktarı (TTC, mg tokoferol/g ekstrakt) ve antioksidan aktivite (AA, mg 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH<sup>\*</sup>)/g ekstrakt) % verim olarak verilmiştir. Ekstraktın antioksidan içeriği (TPC, TTC, AA), ekstraksiyon veriminin düşük olduğu (148-165 bar, 40-60°C ve 10 dakika) şartlarında yüksek olarak bulunmuştur. Optimum ekstraksiyon şartları değişkenlerin maksimuma çıkarılmasına bağlı olarak 336 bar, 58C ve 10. dakika da % 53 verimle, 6 mg GAE fenolik/g ekstrakt, 6,7 mg tokoferol/g ekstrakt ve 57,3 mg DPPH<sup>\*</sup> radikal süpürücü/g ekstrakt bulunmuştur.

Hung vd. (2009) kepek ve tohumu ayrıldıktan sonra öğütülmüş olan buğday tanelerinin sınıflandırılmış un fraksiyonlarının insanlar için beslenme kaynağı olan besinsel lifler ve mineraller bakımından zenginliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada buğday, kademeli öğütme metodu kullanılarak beş fraksiyon içerisinde öğütülmüş ve bu unların fenolik madde miktarları ile antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Serbest ve bağlı fenolik ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid miktarlarında iç bölümlerden dış bölüm fraksiyonlarına doğru gidildikçe artış görülmüştür. Tanelerin dış kısımlarından öğütülen unun, daha yüksek oranda fenolik madde miktarı içerdiği ve daha yüksek oranda antioksidan kapasiteye sahip olduğu sergilenmiştir. Aynı zamanda endosperm kısımlarından öğütülen un iç fraksiyonlarının aynı öğütme metodu ile öğütülen beyaz una oranla daha yüksek oranda fenolik madde miktarına sahip olduğu ve antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Zulueta vd. (2009) portakal suyu, süt ve portakal suyu-süt içeriğinin oksijen radikal antioksidan kapasitesi (ORAC) ve trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) yöntemleri öngörülen total antioksidan kapasite tayini (TAC) ile karşılaştırmışlardır. Bu içecek ile TEAC yöntemi kullanıldığında, portakal suyunun konsantrasyonunun artırılmasıyla TAC değerlerindeki artış ile uyum sağlamaktadır fakat süt yüzdesindeki artış TAC değerlerini arttırmamaktadır. ORAC yöntemi uygulandığı zaman meyve suyu ya da süt konsantrasyonundaki artışın antioksidan kapasitesini arttırdığı gözlenmiştir. Askorbik asit, gallik asit,  $\beta$ -karoten, lutein, zeaksantin, albumin gibi bileşiklerin mevcut olan antioksidan kapasiteleri çalışılıp karşılaştırma yapılmıştır. TEAC yöntemi ORAC yöntemine göre daha ucuz ve kolay olmasına rağmen kompleks karışımların, içeceklerin ya da yiyeceklerin antioksidan kapasitesini değerinden düşük olarak vermektedir.

Zhokhov vd. (2010) yaptıkları çalışmada, buğday özlü yiyecek ürünlerinde,  $\beta$ -1,6 ile değiştirilen ve oligosakkaritlerle bağlantılı yedi antioksidanın hidrokinoonları HPLC ile ölçmeyi amaçlamışlardır. Bu yedi bileşikleri bir önceki çalışmalarında keşfetmişler ve karakterize etmişlerdir. Yedi bileşiğin tamamı buğday ve kepekte ölçülmüştür. En bol olan bileşik, 4-hidroksi-3-metoksifenil  $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranozit, buğdayda 6.3 g/kg ve kepekte 0.7 g/kg olarak bulunmuştur. Birkaç buğday unu türü ve buğday ekmeğinin yanı sıra tüm buğday tahıllarında, bu antioksidanlar çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunmuştur: bunların sadece iki tanesi ölçülebilmıştır. Bu bileşiklerin hiçbiri düşük proteinli un karışımında saptanmamıştır. Bunların analiz edilen buğday ürünlerindeki toplan miktarı şu sırayı takiben azalmıştır: ruşeym > kepek > bütün tahıllar\_bütün tahıl unları > rafine unlar > rafine ekmeğ\_ düşük proteinli un karışımı. Bu, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) ( $r^2 = 0.984$ ) ile saptanmıştır. Analiz edilmiş bileşiklerin buğday ruşeymi ekstraktlarının antioksidan kapasitesi % 52 olarak bulunmuştur.

Kim vd. (2011) *Stevia Rebaudiana* (SR), (krizantem bitkisi) bitkisel bazlı tatlandırıcı katkı maddesi olarak içecekler ve diğer gıdalarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada SR yapraklarından elde edilen su ekstraktlarında biyoaktif bileşikler bulunmuş ve antioksidan aktivite araştırılmıştır. Yapraklarda vitamin analizi sonucu Vitamin C'den sonra folik asidin (52,18 mg/100 g) önemli bir bileşim olduğu görülmüştür. Toplam fenolik madde ve flavonoid miktarı yapraklar için sırasıyla 103.76 mg katekin ve 15.64 mg quersetin olarak, kalus su ekstraktları için 43.99 mg katekin ve 1.57 mg quersetin olarak bulunmuştur. Prigallol hem yaprak hem de kalus ekstraktları arasında fenolik bileşikler açısından önemli materyaldir. Ayrıca sonuçlar yaprak ekstraktlarının kalus ekstraktlarından daha yüksek oranda serbest radikal, hidroksil radikali ve süperoksit anyon süpürücü aktivite içerdiğini göstermiştir.

Rizzello vd. (2011) bu çalışmada, ekşi hamur (*Lactobacillus plantarum* LB1 ve *Lactobacillus rossiae* LB5) ile mayalanmış buğday ruşeyminin (SFWG) antifungal davranışını araştırmayı amaçlamışlardır. Antifungal aktivite, fermantasyon sırasında sentezlenen peptidler ve organik asitlerin bir karışımına dayanmaktadır. Formik (24.7 mM) asit en yüksek antifungal aktiviteyi göstermiştir. Antifungal sekansları iyi bilinen ve benzerliklere sahip dört peptid saptanmış ve kimyasal olarak sentezlenmiştir. En düşük inhibitör konsantrasyonu 2.5–15.2 mg/mL'dir. % 4 dondurulmuş SFWG (ekşi hamur ile mayalanmış buğday ruşeymi) ilavesiyle



yapılmış ekmek dilimleri polietilen torbalarla paketlenmiş ve oda sıcaklığında depolanmıştır. Dilimler depolamanın en az 28. gününe kadar mantar tarafından bozulma göstermemiştir.

Zhu vd. (2011) bu çalışmada, % 30, % 50, ve % 100'lük sulu yağsız buğday ruşeym (DWG) etanol ekstraktlarının antioksidan etkilerini, *in vitro* testlerle değişkenler kullanarak ölçülmüşlerdir. Yağsız buğday ruşeymi (DWG), buğday ruşeym yağ ekstraksiyon sürecinin yan ürünüdür. Besin değeri çok iyi bilinmektedir. Test edilen DWGE'ler arasında (DWG ekstraktları), % 100 etanol ekstraktı en yüksek ABTS radikal süpürücü aktiviteyi ve indirgeme gücünü gösterirken % 70 etanol ekstraktı en iyi DPPH radikal süpürücü aktiviteyi göstermiştir. Ayrıca, hem % 70 hem %50 etanol ekstraktları linoleik asit sistemine göre daha yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Araştırılan ekstraktlar 13.98-16.75 mg GAE/g arasında toplam fenolik madde aktivitesi göstermişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Buğday Ruşeymi ve Buğday Ruşeym Yağı

Buğday ruşeymi (wheat germ) buğdayın canlı embriyosundan elde edilen tamamen doğal ekstraktıdır. Buğday ruşeymi, vitamin E, folik asit, fosfor, tiamin, çinko ve magnezyum aynı zamanda esansiyel yağ asitleri ve yağ alkollerini içeren birçok temel besin öğelerinin konsantre kaynağıdır. Çok iyi bir lif kaynağıdır.

Ruşeym özünün biyolojik aktivasyonu yüksektir. İnsan vücudunda birçok dokuya yararlı özel molekül yapısındadır. Molekül yapısı insan hücresinin molekül yapısıyla aynıdır. Hücre zarından geçebilecek ve hücre tarafından tam emilim yapılacak kadar küçük moleküldür. Bilinen en yüksek vitamin E kaynağıdır. Bu özellikleriyle bitkisel ilaç, kozmetik, gıda gibi alanlarda kullanılmaktadır. Buğday ruşeymi, ekmek, yoğurt, kek, krep, kurabiyelere ve diğer gıdalara eklenerek kullanılabilir. Buğdayın işlenerek una dönüştürülmesi sürecinde özel ayrıştırma işlemleri sonucunda 1 tonundan sadece 20 kilogram buğday ruşeymi, 20 kilogram buğday ruşeyminden de 1 kilogram buğday ruşeym yağı elde edilmektedir. Bu da buğday ruşeym ve ruşeym yağının değerini ortaya koymaktadır.

Ruşeym, buğday unu endüstrisinin bir yan ürünüdür. Buğday tanesinin yaklaşık % 2-3 kadarını ruşeym oluşturur ve öğütme sırasında oldukça saf bir şekilde

ayrılabilir. Buğday ruşeymi % 11 kadar yağ içerir ve buğday ruşeym yağı besin endüstrisinde, biyolojik böcek kontrol ajanlarının hazırlanmasında, farmosotik ve kozmetik formülasyonlarda kullanılır.

Buğday ruşeym yağının elde edilmesi klasik organik çözen (heksan, etanol, izopropanol, aseton ve izoheksan) ekstraksiyonu ile yapılabileceği gibi basınçlı solvent ekstraksiyonu ile de yapılabilir (Dunford ve Zhang, 2003). Son yıllarda süper kritik ekstraksiyon ve özellikle de süper kritik karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ekstraksiyonu buğday ruşeym yağının elde edilmesinde daha fazla tercih edilmektedir. Bunun nedeni, organik çözenlere kıyasla CO<sub>2</sub>'in toksik olmayan, kolay yanmayan, korozyona neden olmayan, ucuz ve kolay ulaşılabilir özelliklerinin olmasıdır. CO<sub>2</sub>'in düşük kritik sıcaklık ve basınca sahip olması da doğal ürünler için termal bozunmayı engellemesi nedeniyle iyi bir çözen olmasını sağlamaktadır (Gomez ve Ossa, 2000). Buğday ruşeymi buğday tanesinin besin değeri en yüksek olan kısmıdır (Zhu vd., 2006). Buna karşılık uzun yıllar buğday unu eldesinde bir yan ürün olarak değerlendirilmiş ve çoğunlukla hayvan yemine katılarak tüketilmiştir.

### 3.2. Kimyasal ve Cihazlar

Etil alkol, metil alkol, gallik asit, BHT (butillenmiş hidroksi toluen), Vitamin E, NADH (nikotinamid adenin dinükleotid), NBT (nitroblue tetrazolyum), PMS (fenazin metasülfat), sodyum hidroksit (NaOH), PGR (pirogallol red), alüminyum klorür hekza hidrat (AlCl<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O), DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil), *n*-heksan ve demir(II) klorür (FeCl<sub>2</sub>), TBA (tiyobarbütirik asit) Sigma (Steinheim, Almanya)'dan; potasyum heksosiyano ferrat [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>], Vitamin C, AAPH [2,2'-Azo-bis(2-amidinopropan)dihidroklörür], Troloks® [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], sodyum dihidrojen fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) Fluka (Buchs/Switzerland); bakır(II) klorür dihidrat (CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), neokuproin (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin), demir(II) klorür Aldrich (Milwaukee, WI, ABD)'den; amonyum asetat (NH<sub>4</sub>Ac), amonyum tiyosiyanat (NH<sub>4</sub>SCN), linoleik asit, EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit), demir(III) klorür tetra hidrat (FeCl<sub>3</sub>.4H<sub>2</sub>O), demir(III) klorür heksahidrat (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), hidroklorik asit (HCl) Merc (Dramstadt/Almanya)'dan; glasiyel asetik asit, potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ve trikloroasetik asit (TCA) Carlo Erba (Ronado/İtalya)'dan; sodyum hidroksit (NaOH) ve rutin Riedel-de Han (Seelze/Almanya)'dan temin edildi.

Deneyleerde Memmert (WBU 45) su banyosu, Ohaus-Pioneer (PA214C) 0,0001g duyarlılıkta terazi, Hanna (pH 211) pH metre, Memmert (WB14) çalkalamalı su banyosu, Shimadzu (UV-1601) Spektrofotometre, Heidolph (Reax Top) vorteks, Brand (Transferpette) otomatik pipetler, Hanna (HI190M) manyetik karıştırıcı, Vestel (White FR 540) buzdolabı, GLF (2001/4) saf su cihazı, Milipore (Simplicity UV) ultra saf su cihazı, Labconco (Freezone 6) Liyofilizatör, İka (RV 05 Basic 1B) Rotari Evaporatör, Heraeus (Fuktion Line) etüv, Hettich (Universal 32R) santrifüj cihazı kullanıldı.

### 3.3. Yöntem

#### 3.3.1. Buğday Ruşeym ve Buğday Ruşeym Yağı Özütlerinin (Ekstraktlarının) Hazırlanması

Buğday ruşeymi farklı polariteye sahip üç farklı çözüen (etanol, su ve metanol) ile ekstraksiyona tabi tutuldu. Bunun için 10 g öğütülmüş bitki örneği 50 mL etil alkol ile iki saat çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra süzöldü. Elde edilen kalıntıya 50 mL etil alkol ilave edilerek işlem tekrarlandı ve süzöntüler birleştirildi. Örnekteki etanol 40°C’de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalıntı buğday ruşeym unu etil alkol özütü olarak etiketlendi. Aynı işlemler 10 g bitki örneğine bu kez etil alkol yerine metil alkol ile tekrar edildi. Örnekteki metanol 40°C’de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra kalıntı buğday ruşeym unu metil alkol özütü olarak etiketlendi. Toz halindeki bitki örneğinin 10 g’ı son olarak su (50 mL) içerisinde, iki saat karıştırıldıktan sonra süzöldü. Elde edilen kalıntıya 50 mL su ilave edilerek işlem tekrarlandı ve süzöntüler birleştirildi. Süzme işleminden sonra süzöntü donduruldu. Dondurulan örnek liyofilizatörde 96 saat 0,04 mbar; -50°C’de tutularak suyu uzaklaştırıldı (su özütü). Elde edilen her üç özüt -18°C’de cam kaplarda analiz için saklandı.

Buğday ruşeym yağı metanol ile ekstraksiyona tabi tutuldu. İki mL metanol-su (% 70-% 30) karışımına 2 mL hekzan ve 5 mL buğday ruşeym yağı ilave edilerek 10 dakika vortekse tabi tutuldu. Daha sonra bu karışım 4°C’de 6000 rpm’de 10 dakika santrifüjlendi. Hidroalkolik fazlar bir araya toplanıp tekrar 25°C’de 13000 rpm’de 4 dakika santrifüjlendi (Montedoro vd., 1992). Elde edilen özüt buğday ruşeym yağı metil alkol özütü olarak etiketlenip analize tabi tutuldu.

### 3.3.2. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)

Bu yöntem Saha vd. (2004)'e göre uygulandı. Antioksidan aktivitesi incelenecek olan 4 mg etil alkol özütü 4 mL etil alkolde, 4 mg metil alkol özütü 4 mL metil alkolde ve 4 mL su özütü 4 mL suda çözüldü. Üzerlerine 2,51 mL linoleik asitin 100 mL etil alkoldeki emülsiyonundan (0,081 M) 1,025 mL ilave edildi. Daha sonra 2 mL 0,04 M fosfat tamponu (PBS) (pH 7,4) ve 3,9 mL distile su ilave edildi. Kontrol için örnek ve çözen kullanılmayıp bunların yerine 4,0 mL tampon çözelti kullanıldı. Standart antioksidan olarak BHT, Troloks, askorbik asit ve vitamin E kullanıldı. Hazırlanan çözeltiler 40°C'de su banyosunda inkübasyona tabi tutuldu. Hazırlanan bu stok çözeltilerden ilk hazırlandığı andan itibaren 24 saat ara ile 100 µL alınıp üzerlerine 9,7 mL etil alkol (kör için 9,8 mL), 100 µL demir(II) klorür (20 mM % 3,5'luk HCL içinde) ve 100 µL amonyum tiyosiyanat (% 30'luk) ilavesi ile oluşan karışımın vortekslenmesinden sonra 500 nm'de absorbansı okundu. Bu işleme kontrolün absorbansının maksimum değere ulaştığı ana kadar devam edildi. Yağ ekstraktı için katı ekstraktların mg'ına eşdeğer olarak µL yağ olacak şekilde işlem uygulandı. İşlemler 3'er tekrarlı (n=3) yapıldı. Zaman-absorbans grafikleri çizildi ve aşağıdaki formülden antioksidan aktivite hesaplandı.

$$A.A. = 100 - (\Delta A_{\text{örnek}} - \Delta A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A.A.: Antioksidan aktivite

$\Delta A_{\text{örnek}}$ : Örnek için (t saatteki absorbans - sıfırıncı saatteki absorbans)

$\Delta A_{\text{kontrol}}$ : Kontrol için (t saatteki absorbans - sıfırıncı saatteki absorbans)

### 3.3.3. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

DPPH radikal süpürücü aktivite tayini Brand-Williams vd. (1995)'a göre yapıldı. DPPH'in metil alkolde hazırlanan  $10^{-3}$  M çözeltisinden 1 mL alınarak üzerine 100-1000 µg/mL derişim aralığında ekstrakt çözeltisinden 3 mL ilave edildi ve vorteks ile şiddetle çalkalandıktan sonra 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Standart antioksidanlar olarak BHT, Troloks, askorbik asit ve vitamin E kullanıldı. Standart antioksidanların aktiviteleri yüksek olduğu için daha düşük derişim aralığı kullanıldı. Yağ ekstraktı için mg'a eşdeğer olarak µL ekstrakt kullanıldı. Otuz dakika sonunda 517 nm'deki absorbansları okundu. Yüzde inhibisyon (DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi) aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_K - A_Ö) / A_K \times 100$$

$A_K$ : Kontrolün absorbansı

$A_Ö$ : Örneğin absorbansı

Her bir örnek için absorbansa karşılık gelen derişim grafikleri çizildi.  $y = ax+b$  denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren örnek miktarı ( $IC_{50}$ )  $\mu\text{g/mL}$  olarak bulundu.

### 3.3.4. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC)

Toplam fenolik bileşik miktarı tayini, Singleton vd. (1999)'a göre yapıldı. On mg etil alkol ekstraktı 10 mL etil alkolde; 10 mg metil alkol ekstraktı 10 mL metil alkolde; 10 mg su ekstraktı 10 mL distile suda çözülerek ekstraktların stok çözeltileri hazırlanmış oldu. 45,9 mL distile su için stok çözeltilerden 300'er  $\mu\text{L}$  ilave edildi. 45,5 mL distile su içine ise hazırlanan stok çözeltilerden 500'er  $\mu\text{L}$  ilave edildi. İki farklı derişimdeki stok çözeltilerine (300  $\mu\text{L}$  ve 500  $\mu\text{L}$ ), 1'er mL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) satın alındığı şekilde ilave edildi ve 3 dakika oda sıcaklığında bekledikten sonra 3'er mL sodyum karbonat (% 2'lik) ilavesinden sonra karışımın 2 saat karıştırılması sonucu oluşan rengin 760 nm'de absorbansı okundu. Yağ ekstraktından direkt olarak 300 ve 500  $\mu\text{L}$  alınarak aynı yöntem uygulandı. Bu tayin için iyi bilinen bir fenolik bileşik olan gallik asit standart olarak kullanıldı. Örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı.

### 3.3.5. Toplam Flavonoid Tayini

Toplam flavonoid tayini Quettier-Deleu (2000)'e göre yapıldı. 0,3; 0,025; 0, 5; 0,8; 2; 3; 4 ve 5 mg/mL rutin in etanoldeki çözeltilisinden 1 mL ve 1 mL % 2'lik alüminyum triklorür metanoldeki çözeltilisinden ilave edildi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Onbeş dakikanın sonunda 430 nm'de absorbansı okunarak rutin kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Aynı yöntem buğday ruşeym un ekstraktları için uygulandı. On mg etanol ekstraktı 10 mL etanolde; 10 mg metanol ekstraktı 10 mL metanolde; 10 mg su ekstraktı 10 mL distile suda çözülerek ekstraktların stok çözeltileri hazırlanmış oldu. Hazırlanan bu stok çözeltilerden 1'er mL 15 mL'lik cam tüplere alındı. Üzerlerine % 2'lik  $\text{AlCl}_3$  çözeltilisinden 1 mL ilave edildi ve vorteks ile çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Onbeş dakika sonunda 430 nm'de absorbans değerleri

okundu. Yağ ekstraktından direkt 1 mL alınarak aynı yöntem uygulandı. Rutin standardı ile çizilen standart grafik yardımı ile örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri (RE) olarak hesaplandı.

### 3.3.6. Toplam Flavonol Tayini

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'a göre yapıldı. 0,0166; 0,025; 0,05; 0,1; 0,166 ve 0,2 mg/mL rutin in etanoldeki çözeltisinden 2 mL, 2 mL (20g/L) alüminyum triklorür ve 6 mL (50g/L) sodyum asetat ilavesinden sonra 20 °C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İki saat sonunda 440 nm'de absorbansı okunarak rutin kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Aynı yöntem buğday ruşeym un ekstraktları için uygulandı. On mg etanol ekstraktı 10 mL etanolde; 10 mg metanol ekstraktı 10 mL metanolde; 10 mg su ekstraktı 10 mL distile suda çözülerek ekstraktların stok çözeltileri hazırlanmış oldu. Hazırlanan bu stok çözeltilerden 2'şer mL 15 mL'lik cam tüplere alındı. Üzerlerine 20 g/L'lik alüminyum triklorür çözeltisinden 2 mL ve 50 g/L sodyum asetat çözeltisinden 6 mL ilave edilerek vorteks ile şiddetle çalkalandıktan sonra 20 °C'de 2.5 saat inkübasyona bırakıldı. İki buçuk saat sonunda 440 nm'de absorbans değerleri okundu. Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı hazırlandıktan sonra direkt 2 mL alınarak aynı yöntem uygulandı. Rutin standardı ile çizilen standart grafik yardımı ile örneklerdeki toplam flavonol miktarı rutin eşdeğeri (RE) olarak hesaplandı.

### 3.3.7. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini Güçlü vd. (2006)'a göre yapıldı.  $10^{-2}$  M  $\text{CuCl}_2$ ,  $7,5 \times 10^{-3}$  M neokuproin çözeltileri ve amonyum asetat tamponundan (pH 7,0) 1'er ml alındı. Üzerine son hacim 4.1 mL olacak şekilde, x mL ekstrakt çözeltisi ve (1-x) mL ekstrakt çözgeninden ilave edilip iyice çalkalandı. Tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Otuz dakika sonunda 450 nm'de absorbansları okundu. Standart antioksidanlar olarak BHT, Trolox, askorbik asit ve vitamin E kullanıldı.

Trolox eşdeğeri toplam antioksidan kapasitesi aşağıdaki gibi hesaplandı:

$$\text{Kapasite } (\mu\text{molTR/g}) = (A_f / \varepsilon_{\text{TR}}) (V_f / V_s) r (V_i / m) \times 10^3$$

$A_f$ : Okunan absorbans

$\epsilon_{TR}$ :  $1,67 \times 10^4 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (CUPRAC metodu için)

$V_f$ : Son hacim

$V_s$ : Örnek hacmi

r: Seyrelme faktörü

$V_i$ : Başlangıç hacmi

m: Başlangıç örnek kütlesi

### 3.3.8. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikal absorbans kapasite tayini Lopez-Alarcon ve Lissi (2005)'e göre yapıldı. 10 mM AAPH [2,2'-Azo-bis(2-amidinopropan)dihidroklorid]' in 75mM (pH: 7,4) fosfat tamponundaki çözeltisinden 500  $\mu\text{L}$ , 2 mg/mL ekstrakt çözeltisinden x  $\mu\text{L}$ , 75 mM (pH 7.4) fosfat tamponundan (450-x)  $\mu\text{L}$  ve 5  $\mu\text{M}$  PGR'in 75mM (pH 7,4) fosfat tamponundaki çözeltisinden 5  $\mu\text{L}$  ilave edilip çalkalandı ve 540 nm'de 0., 5., 10., 15. dakikalardaki absorbans düşüşü okundu. Standart antioksidanlar olarak BHT, askorbik asit, vitamin E ve Troloks kullanıldı. Okunan absorbans değerleri,  $(A/A_0) / \text{Zaman'a karşı grafiğe geçirilerek bozunma kinetiği eğrisi elde edildi ve eğrinin altında kalan alanın değişimi ile oksijen radikal absorbans kapasitesi hesaplandı.}$

### 3.3.9. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini Halliwell vd. (1987)'e göre yapıldı.  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$  (pH 7.5) tamponundan 0.4 mL, farklı derişimlerdeki örnek çözeltisinden 0.2 mL ve 1 mM EDTA, 10 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 60 mM Deoksi-D-riboz, 2 mM sodyum-L-askorbat, 1 mM  $\text{FeCl}_3$ 'ün  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$  tamponundaki (pH 7.5) çözeltisinden 0.1 mL reaksiyon tüpüne ilave edildi. Reaksiyon karışımı 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyon tüpüne % 20'lik TCA çözeltisinden 1 mL ve % 1'lik TBA'in 1 M'lık NaOH'teki çözeltisinden 1 mL ilave edildi. Reaksiyon karışımı 100 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. On beş dakika sonunda reaksiyon tüpleri buz banyosunda soğutuldu ve 532 nm'de köre karşı absorbansı okundu. Standart antioksidanlar olarak BHT, Troloks ve vitamin E kullanıldı. % inhibisyon aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_K - A_0) / A_K \times 100$$

$A_K$ : Kontrolün absorbansı

A<sub>0</sub>: Örneğin absorbanası

Her bir örnek için absorbanasa karşılık gelen derişim grafikleri çizildi.  $y = ax+b$  denkleminde OH radikali derişimini yarıya düşüren örnek miktarı (IC<sub>50</sub>) µg/mL olarak hesaplandı.

### 3.3.10. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin biraz modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre yapıldı. Bu yöntemde, süperoksit radikalleri 1 mL (50 µM) NBT çözeltisi, 1 mL (78 µM) NADH çözeltisi ve 1mL (100µg/mL) örnek çözeltisi içeren 3 mL (16mM, pH 8.0) Tris-HCl tamponunda üretildi. Karışıma 1 mL (10 µM) PMS çözeltisi ilavesi ile reaksiyon başlatıldı. Reaksiyon karışımı 25 °C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı ve daha sonra 560 nm'de absorbanası okundu.

### 3.3.11. İndirgeme Gücü Tayini

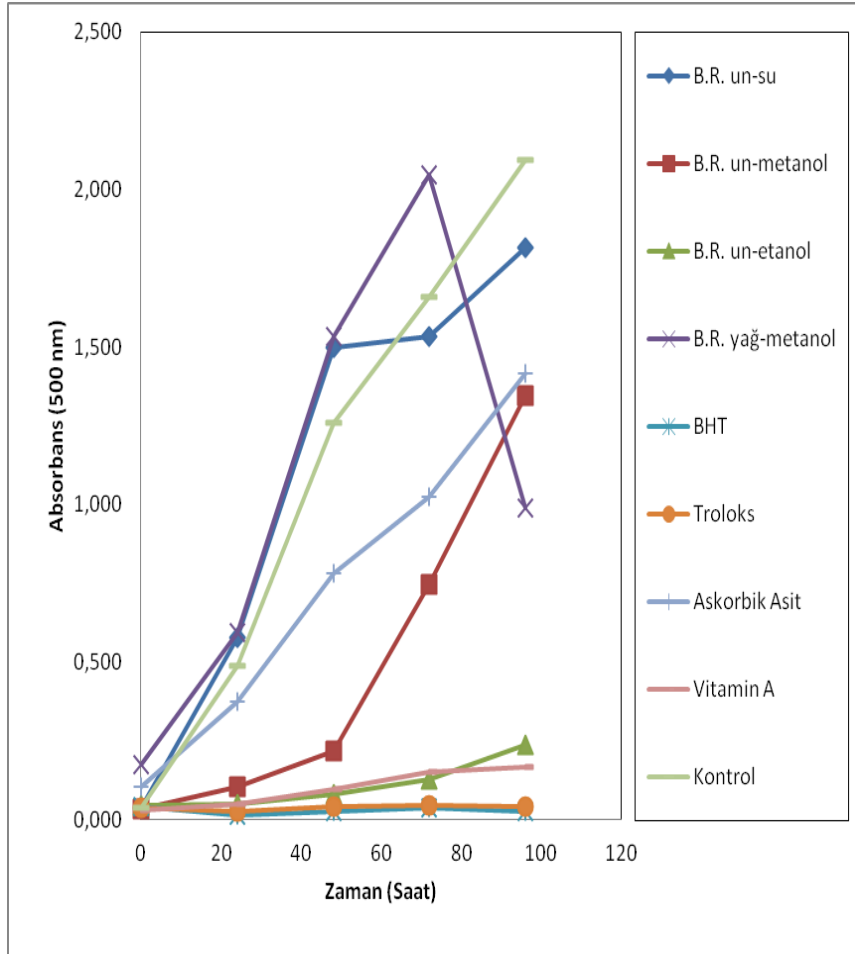
İndirgeme gücü tayini Oyaizu (1986)'a göre yapıldı. Etil alkol ekstraktı etil alkolde, metil alkol ekstraktı metil alkolde ve su ekstraktı distile suda olmak üzere 250 µg/mL derişiminde stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 100 µL ve 500 µL alınarak 15 mL'lik cam tüplere kondu. Üzerlerine toplam hacim 1 mL olacak şekilde distile su eklendi. Daha sonra tüplere 2,5 mL pH 6,6 fosfat tamponu ve 2,5 mL potasyum ferrisiyanür (% 1'lik) ilave edildi ve 50 °C'de 20 dakika bekletildi. Yirmi dakika sonunda tüplere % 10'luk trikloroasetik asit ilave edildi. Buradan alınan 2,5 mL'lik örneklerle 2,5 mL distile su ve 0,5 mL % 1'lik demir (III) klorür ilave edildi ve 700 nm'de absorban değerleri okundu. Böylece iki farklı derişimdeki örneklerin indirgeme gücü tayini yapıldı. Standart antioksidanlar olarak BHT, Troloks, askorbik asit ve vitamin E kullanıldı. Aynı derişimdeki örneklerin indirgeme gücü değerleri, aynı derişimdeki askorbik asidin indirgeme gücü yüzdesi (% askorbik asit) olarak hesaplandı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

Total antioksidan aktivitesi FTC yöntemi ölçülen tüm antioksidan bileşiklerin zamana bağlı absorpsiyon ölçümleri ve hesaplanan linoleik asit peroksidasyonunun inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir.



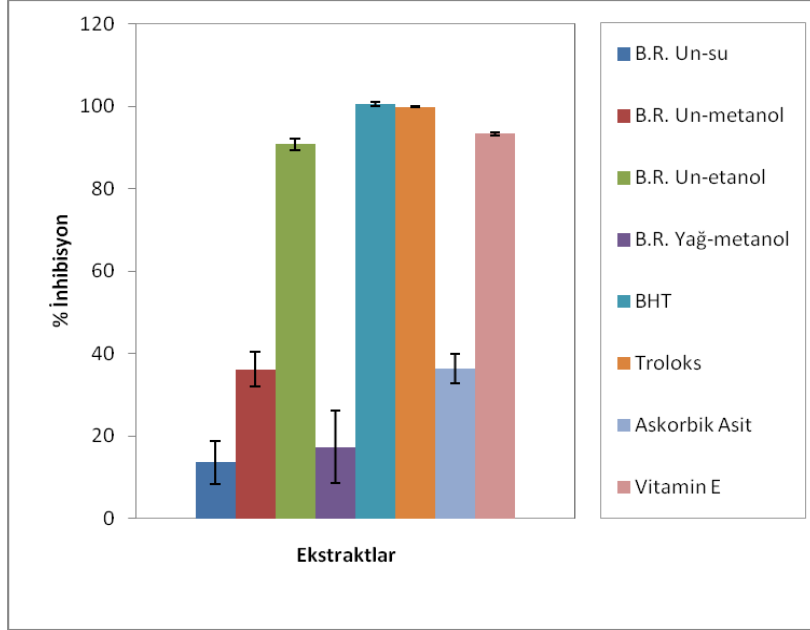
Şekil 4.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların neden olduğu linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonunun zamana bağlı değişimi.

Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ve standartlar için hesaplanan % inhibisyon değerleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standartların FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b>Antioksidan aktivite <math>\pm</math> SD (%)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$100.62 \pm 0.52$
	<i>Troloks</i>	$99.79 \pm 0,14$
	<i>Askorbik asit</i>	$36.39 \pm 3.62$
	<i>Vitamin E</i>	$93.31 \pm 0,35$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$13.57 \pm 5.20$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$36.20 \pm 4.19$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$90.77 \pm 1.48$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$17.37 \pm 8.89$

Ferrik tiyosiyanat yöntemi ile total antioksidan aktivite tayini (FTC) bir antioksidanın lipid peroksidasyonunu ne derecede engellediğini ölçen ET esaslı bir yöntemdir. Çalışmamızda kullanılan standart antioksidanlar ortamdaki lipidlerin peroksidasyonunu yüksek oranda inhibe ederken, buğday ruşeym ekstraktlarından özellikle buğday ruşeym un-etanol ekstraktı en fazla oranda hatta standart antioksidanlarla kıyaslanabilir düzeyde antioksidan aktiviteye sahiptir. Buğday ruşeym un-etanol ekstraktı BHT, Troloks ve vitamin E kadar yüksek antioksidan aktivite gösterirken buğday ruşeym un-metanol ekstraktı askorbik asit ile aynı düzeyde antioksidan aktivite göstermektedir.



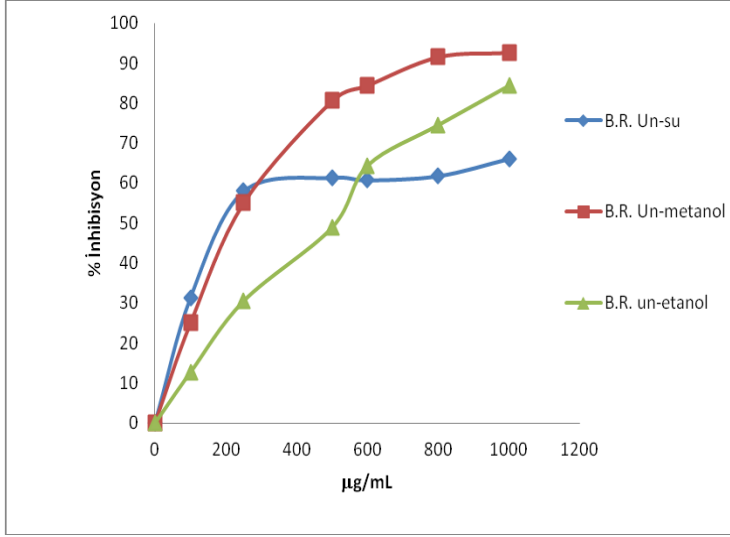
Şekil 4.2. Buğday ruşeymi un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların FTC yöntemi ile hesaplanan % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması.

#### 4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH) Sonuçları

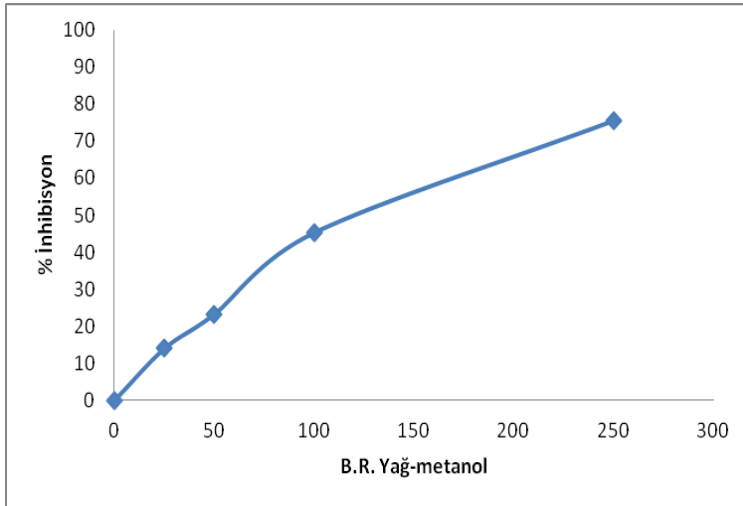
DPPH' kararlı bir serbest radikaldir. Kararlı bir diamanyetik molekül oluşturmak için bir elektron veya hidrojen radikalini bünyesine kabul eder. DPPH' ile bitki ve standart ekstraktlarından oluşturulan reaksiyon karışımının gösterdiği absorbans ne kadar düşük olursa serbest radikal giderme aktivitesi o kadar yüksek oluyor demektir.

DPPH' radikalinin ortamdaki miktarının azalması ile 517 nm'deki absorbansın azalması belli bir antioksidan derişimine kadar doğru orantılıdır. Absorbansın düşmesinin sebebi radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucu hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesidir.

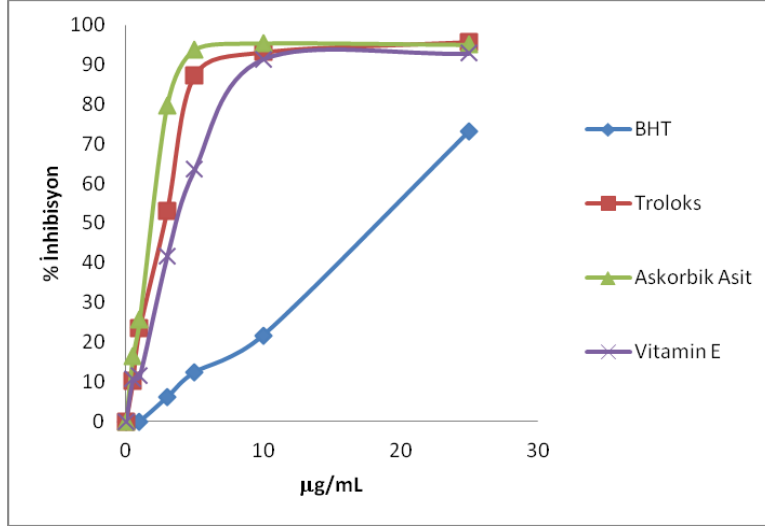
Farklı derişimlerdeki buğday ruşeym ekstraktları ve standart antioksidanlar için elde edilen DPPH radikali süpürme aktivitelerinin % inhibisyon cinsinden grafikleri Şekil 4.3.'te görülmektedir.



Şekil 4.3. Buğday ruşeym un ekstraktlarının DPPH radikali süpürücü aktiviteleri.



Şekil 4.4. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktının DPPH radikali süpürücü aktivitesi.



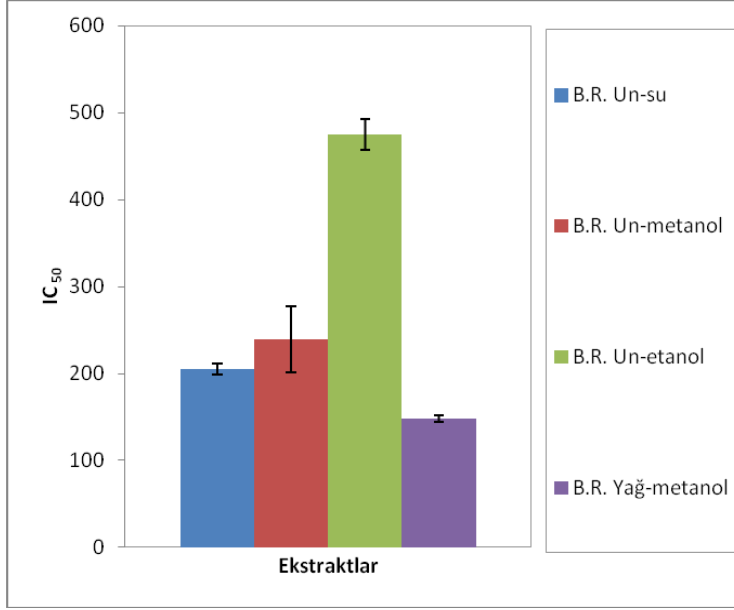
Şekil 4.5. Standart antioksidanların DPPH radikali süpürücü aktiviteleri.

Şekil 4.5.'den görüldüğü üzere, standart antioksidanlar olan BHT, Trolox, Vitamin C ve Vitamin E'nin DPPH radikali süpürücü aktiviteleri çok yüksektir. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ise düşüktür. Grafiklerden lineer regresyon analizi ile hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri Çizelge 4.2. ve Şekil 4.6.-7.'de görülmektedir.

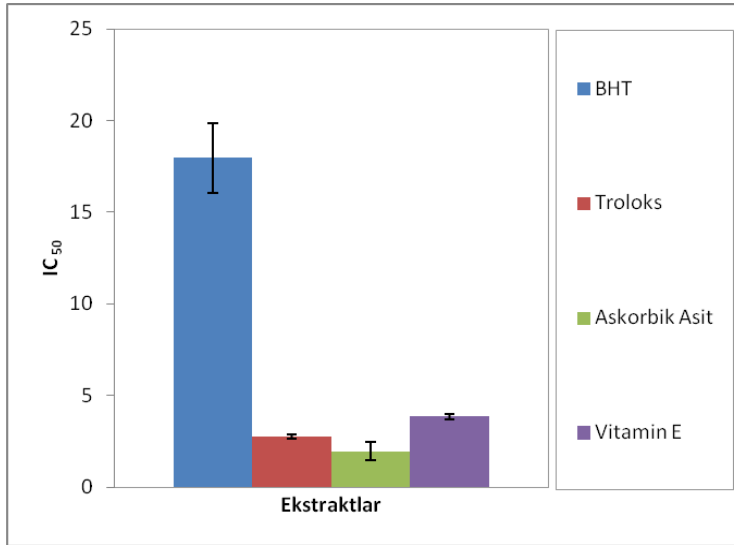
Çizelge 4.2. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların  $IC_{50}$  değerleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b><math>IC_{50} \pm SD</math> (%)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$17.96 \pm 1.89$
	<i>Troloks</i>	$2.76 \pm 0.14$
	<i>Askorbik asit</i>	$1.96 \pm 0.49$
	<i>Vitamin E</i>	$3.85 \pm 0.15$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$205.46 \pm 6.07$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$239.16 \pm 38.15$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$474.78 \pm 17.57$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$147.81 \pm 3.52$

Çizelge 4.2.'deki değerlerden de görüleceği üzere DPPH radikalini süpürme kapasitesi askorbik asit > Troloks > vitamin E > BHT > yağ-metanol ekstraktı > un-su ekstraktı > un-metanol ekstraktı > un-etanol ekstraktı sırasını izlemektedir.



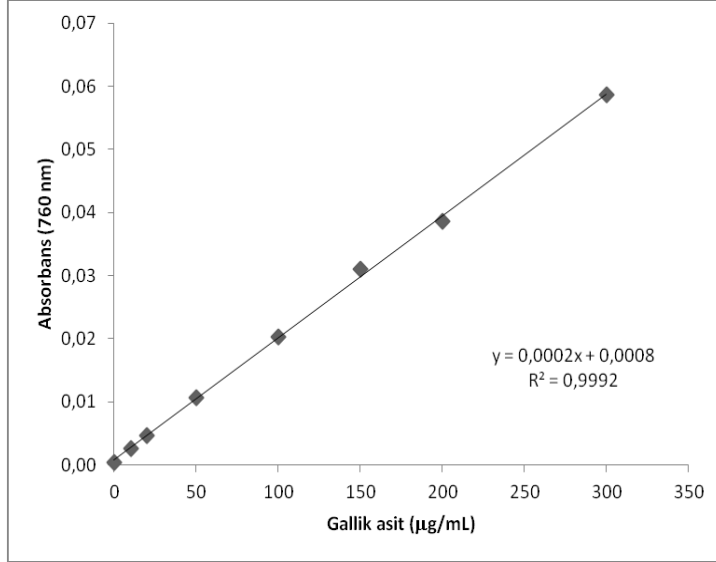
Şekil 4.6. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri.



Şekil 4.7. Standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri.

### 4.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC) Sonuçları

Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak toplam fenolik bileşik tayininde en sık kullanılan standart gallik asittir. Gallik asit standardı kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği Şekil 4.8.'de görülmektedir.



Şekil 4.8. Toplam Fenolik Bileşik Tayini için hazırlanan gallik asit standart çalışma grafiği.

Gallik asit standart çalışma grafiğinden elde edilen doğru denklemi:

$$\text{Absorbans} = 0,0002 \times \text{Toplam fenolik bileşik (GAE)} - 0,0008$$

kullanılarak buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının 300 µL ve 500 µL'lik örneklerindeki GAE değerleri hesaplandı. Stok örnek çözeltilerin derişimi 10 mg/10 mL olduğu için 300 µL ve 500 µL'lik örnek çözeltilerinde 300 µg ve 500 µg örnek bulunmaktadır. Çizelge 4.3.'de yukarıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanan toplam fenolik bileşik miktarı değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.3. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları.

<b>Örnek</b>	<b>300 µg/mL<sup>a</sup></b>	<b>500 µg/mL<sup>b</sup></b>
<i>Un-Su Ekstraktı</i> (µg GAE/mL)	162.17 ± 22.83	221.00 ± 23.56
<i>Un-Metanol Ekstraktı</i> (µg GAE/mL)	113.50 ± 6.50	203.33 ± 32.92
<i>Un-Etanol Ekstraktı</i> (µg GAE/mL)	129.83 ± 26.63	216.17 ± 17.10
<i>Yağ-Metanol Ekstraktı</i> (µg GAE/mL)	45.50 ± 2.50	64.83 ± 9.67

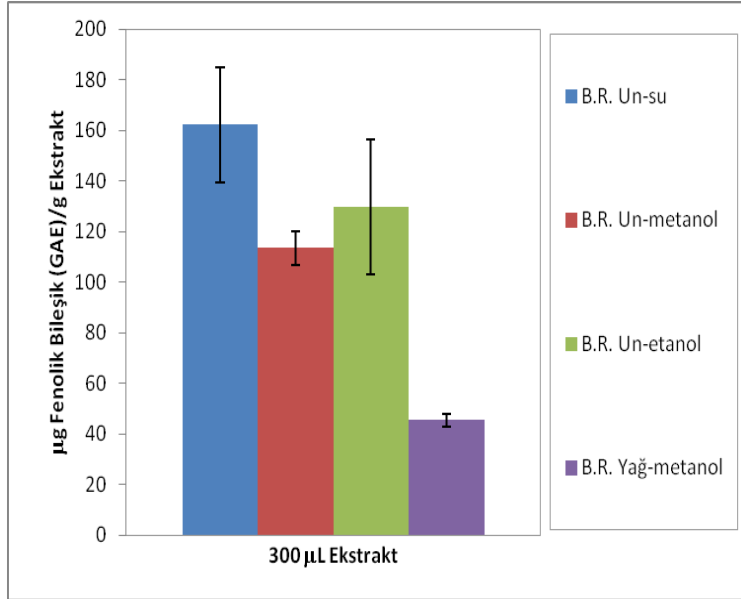
<sup>a</sup>: 300µL ekstrakt ilavesindeki konsantrasyon değerleri (300 µg ekstrakt)

<sup>b</sup>: 500µL ekstrakt ilavesindeki konsantrasyon değerleri (500 µg ekstrakt)

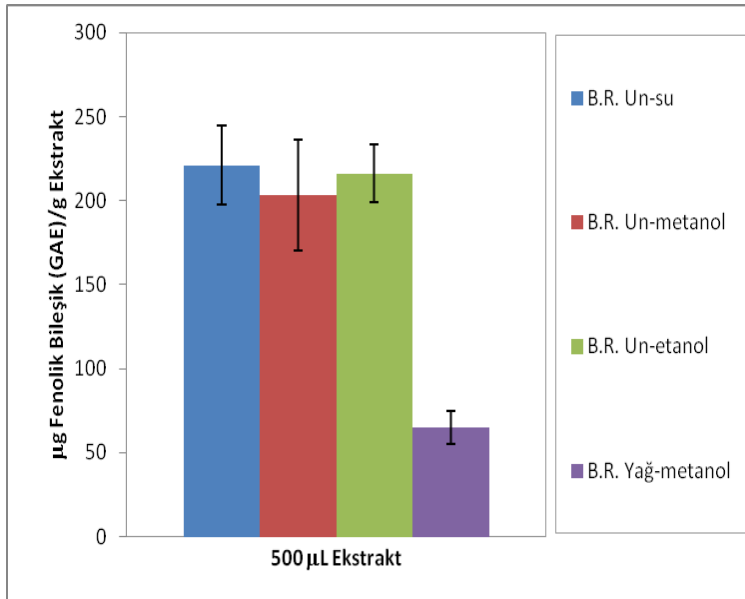
Çizelge 4.3.'deki değerlerden görüleceği üzere buğday ruşeym su ekstraktının fenolik bileşik içeriği her iki derişim için de daha yüksektir. 300 ve 500 µg/mL ekstrakt derişimleri karşılaştırıldığında hem su, metanol, etanol ve yağ ekstraktı için derişim artışı ile fenolik bileşik miktarı artışı arasında bir korelasyon yoktur. Kullanılan total fenolik bileşik tayini yöntemi renk reaksiyonuna dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemin kullanılabilir olduğu doğrusal aralık yapılan çalışmalarda genellikle tespit edilmemektedir. Yüksek derişimlerde doğrusallıktan sapma gözlenebilen bir durumdur (Singleton vd. 1999). Derişimdeki artışın fenolik bileşik miktarında aynı oranda artışa neden olmaması bu saptanmadan kaynaklanabilir.

Çizelge 4.3.'te görülen sonuçlara göre buğday ruşeym ekstrelerinin fenolik bileşik içerikleri sırasıyla un-su ekstraktı > un-etanol ekstraktı > un-metanol ekstraktı > yağ-metanol ekstraktı şeklindedir.





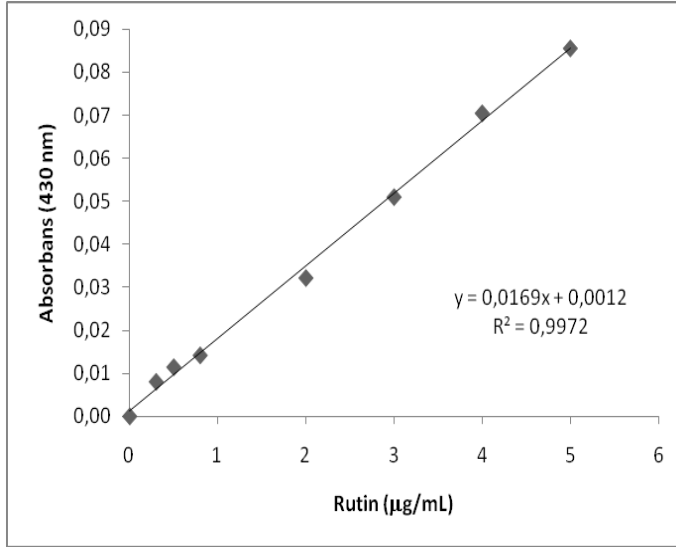
Şekil 4.9. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının 300 µL'lik örneklerinde toplam fenolik bileşik miktarları.



Şekil 4.10. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının 500 µL'lik örneklerinde toplam fenolik bileşik miktarları.

#### 4.4. Toplam Flavonoid Tayini Sonuçları

Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam flavonoid tayini alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre belirlenmiştir. Standart antioksidan olarak iyi bir flavonoid olduğu bilinen rutin bileşiği kullanılmıştır. Flavonoid miktarı rutin alkoldeki çözeltisinin standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak gram örnek başına mg rutin eşdeğeri (RE) olacak şekilde verilmiştir.

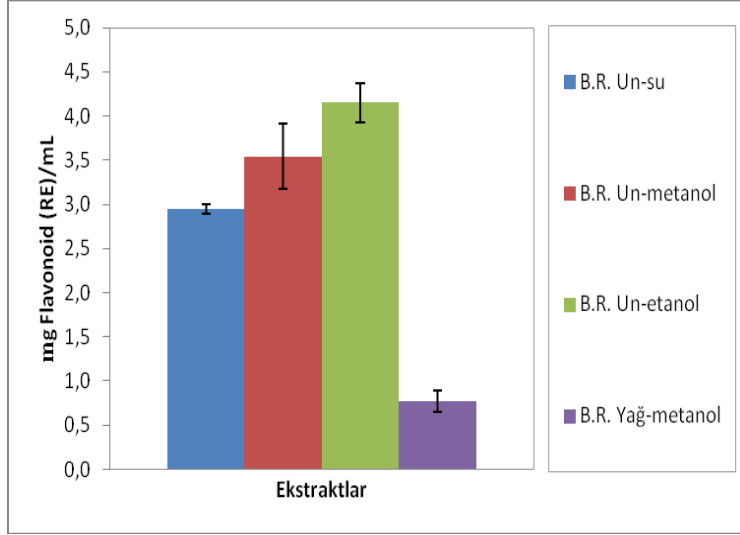


Şekil 4.11. Toplam Flavonoid Tayini için hazırlanan rutin standart çalışma grafiği.

Rutin standardı ile çizilen grafik (Şekil 4.11.) yardımı ile örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri (RE) olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının toplam flavonoid (RE) miktarları.

	<b>Antioksidan</b>	<b>Flavonoid RE (mg/g ekstrakt) ± SD (%)</b>
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$2.95 \pm 0.06$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$3.54 \pm 0.37$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$4.15 \pm 0.22$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$0.77 \pm 0.12$

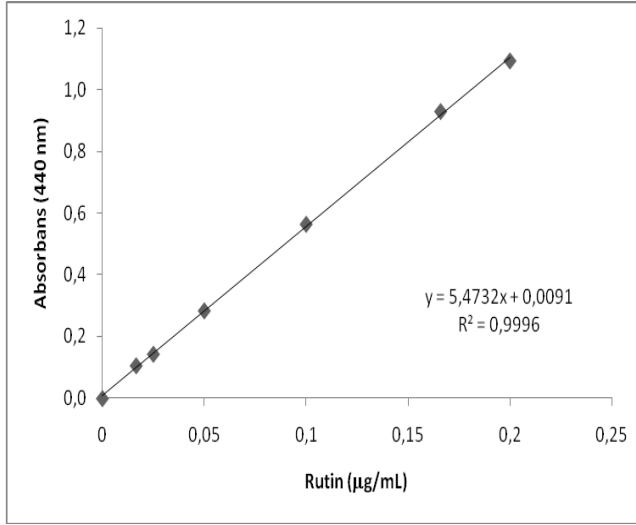


Şekil 4.12. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının mg flavonoid (RE) içeriği.

Çizelge 4.4. ve Şekil 4.12.'de görüldüğü gibi buğday ruşeym un-etanol ekstraktının flavonoid içeriği en fazladır. Bunu sırasıyla buğday ruşeym un-metanol, un-su ve buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı takip etmektedir.

#### 4.5. Toplam Flavonol Tayini Sonuçları

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'a göre yapılmıştır. Standart antioksidan olarak rutin kullanılmıştır. Flavonol miktarı rutinin alkoldeki çözeltisinin standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak gram örnek başına mg rutin eşdeğeri (RE) olacak şekilde hesaplanmıştır.

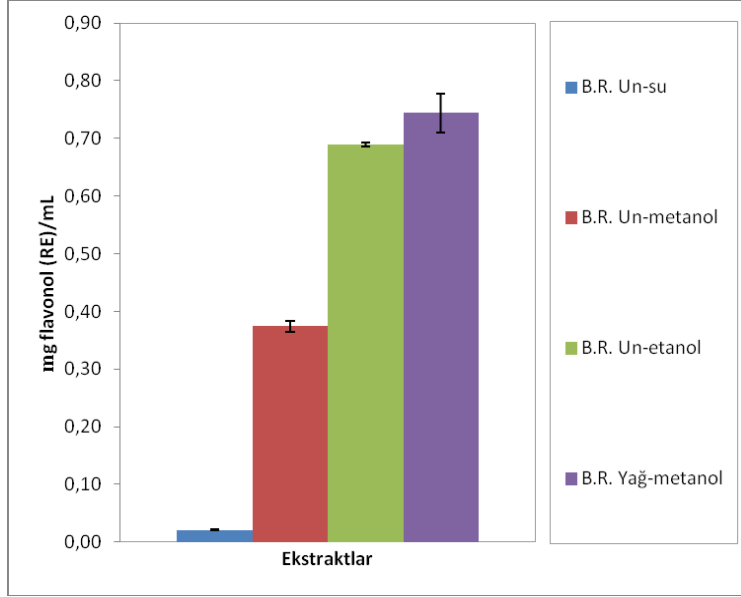


Şekil 4.13. Toplam Flavonol Tayini için hazırlanan rutin standart çalışma grafiği.

Rutin standardı ile çizilen standart grafik (Şekil 4.13.) yardımı ile örneklerdeki toplam flavonol miktarı rutine eşdeğer (RE) olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının içerdiği toplam flavonol (RE) miktarları.

	<b>Antioksidan</b>	<b>Flavonol RE (mg/g ekstrakt) ± SD (%)</b>
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	<i>0.02 ± 0.00</i>
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	<i>0.37 ± 0.01</i>
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	<i>0.69 ± 0.00</i>
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	<i>0.74 ± 0.03</i>

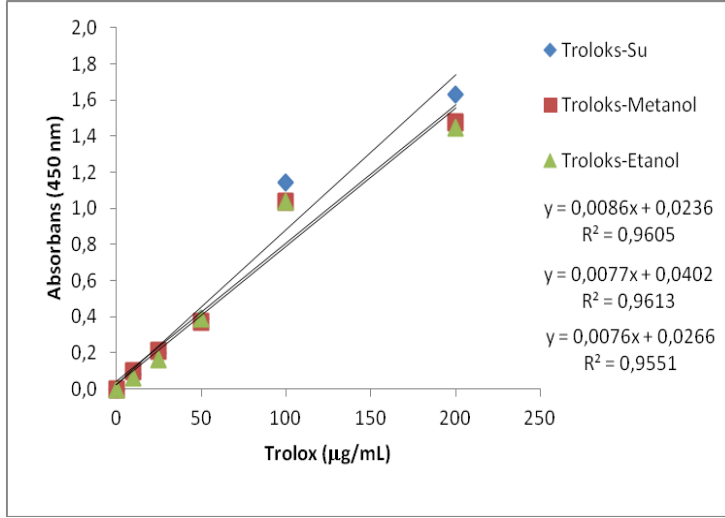


Şekil 4. 14. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının mg flavonol (RE) içeriği.

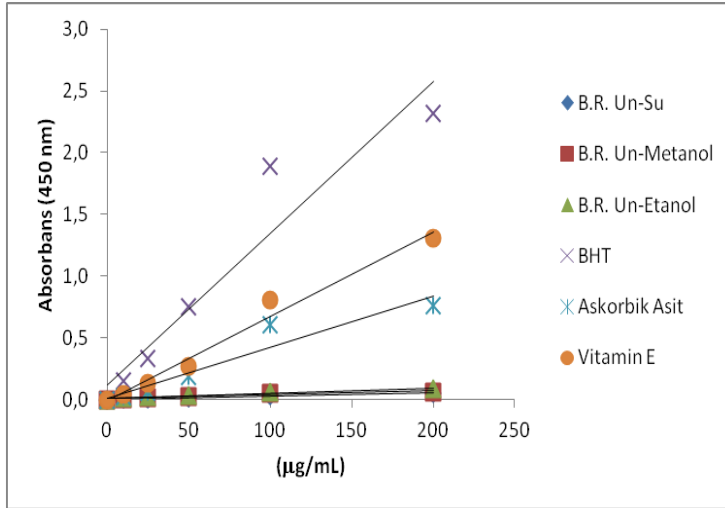
Çizelge 4.5. ve Şekil 4.14'ten de görüldüğü gibi buğday ruşeym ekstraktlarının flavonol içeriği sırasıyla buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı > buğday ruşeym un-etanol ekstraktı > buğday ruşeym un-metanol ekstraktı > buğday ruşeym un-su ekstraktı şeklindedir.

#### 4.6. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları

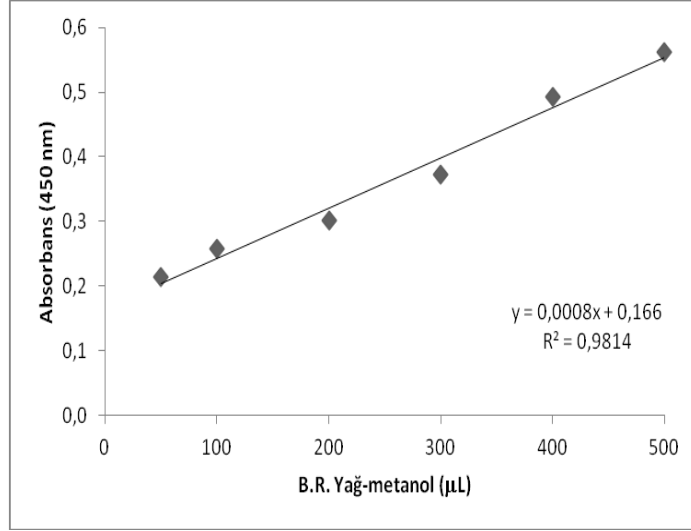
CUPRAC yöntemi ile çalışılan örnek ekstraktları ve standart antioksidanların derişime karşı absorbans grafikleri çizilerek grafiklerin eğimleri oranlanmıştır. Bu çalışmada Troloks için elde edilen grafik Şekil 4.15.'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 15. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı Troloks derişimlerine karşı elde edilen absorbans doğruları.



Şekil 4. 16. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için örneklerin farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbans doğruları.



Şekil 4.17. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için farklı buğday ruşeym yağ-metanol ekstrakt miktarına karşı elde edilen absorbans grafiği.

Çizelge 4.6. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standartların TEAC<sub>CUPRAC</sub> değerleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b>TEAC<sub>CUPRAC</sub> ± SD (%)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	<i>1.57 ± 0.02</i>
	<i>Askorbik asit</i>	<i>0.55 ± 0.05</i>
	<i>Vitamin E</i>	<i>0.91 ± 0,00</i>
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	<i>0.03 ± 0.01</i>
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	<i>0.04 ± 0.00</i>
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	<i>0.05 ± 0.01</i>
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	<i>0.09 ± 0.02</i>

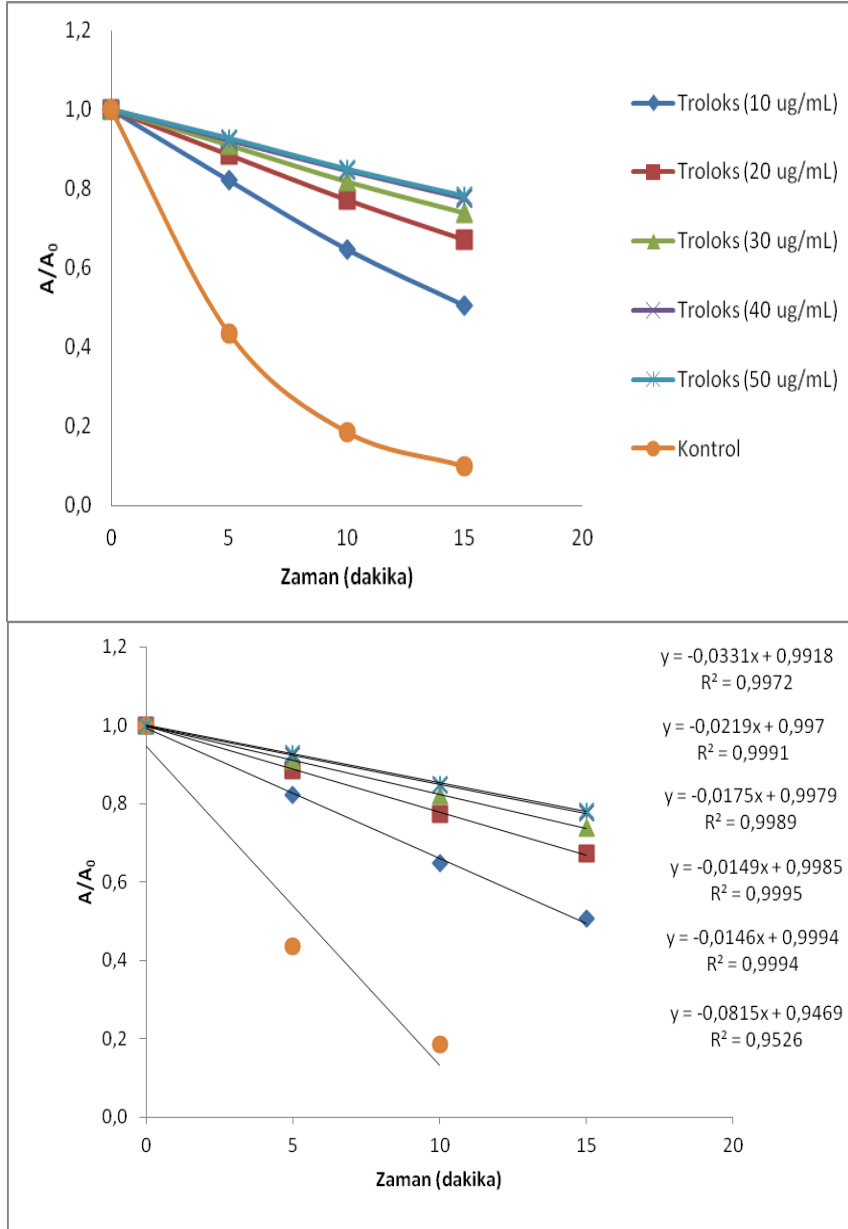
Apak vd. (2004) geliştirdiği bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] şelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasitesi hesaplanmıştır.

CUPRAC yönteminde elde edilen bulgular standart antioksidanlar arasında BHT > vitamin E > askorbik asit şeklinde bir sıralama olduğunu göstermektedir. Buğday ruşeym ekstraktlarından ise buğday ruşeym yağ-metanol > buğday ruşeym un-etanol > buğday ruşeym un-metanol > buğday ruşeym un-su olduğu izelge 4.6.'dan grlmektedir.

#### **4.7. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Sonuçları**

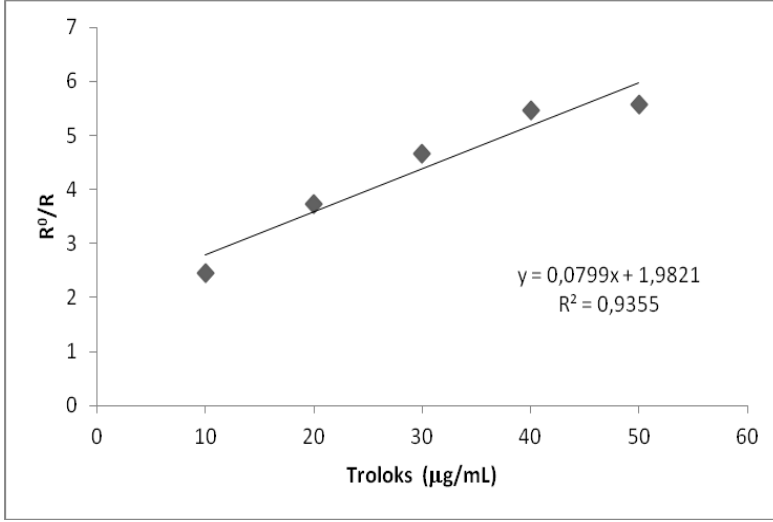
ORAC yöntemi ile pirogallol red kullanılarak yapılan spektrofotometrik antioksidan kapasite tayininde antioksidan maddenin hedef molekülün (pirogallol red) bir serbest radikal varlığında (ABTS) tüketilmesini engelleme yeteneği ölçülür. Bunun için sabit serbest radikal derişiminde farklı antioksidan derişimleri ile elde edilen reaksiyon kinetikleri incelenir. Bu çalışmada da Troloks, BHT, askorbik asit, vitamin E, buğday ruşeymi un-su, buğday ruşeymi un-metanol, buğday ruşeymi un-etanol ve buğday ruşeymi yağ-metanol ekstraktları kinetik olarak incelenmiştir. Antioksidanın bulunmadığı deney kr olarak kabul edilmiş ve absorbansı  $A_0$  olarak alınmıştır. Antioksidanın varlığında elde edilen absorbanlar ise A olarak okunmuştur. Zamana karşı  $A/A_0$  değerleri kullanılarak elde edilen grafiğlere bir örnek olarak Troloks standardına ait grafiğ şekil 4.18.'de gösterilmiştir.



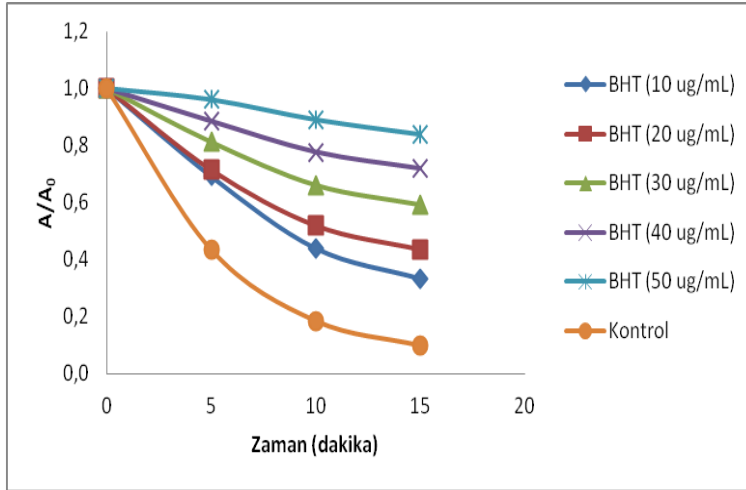


Şekil 4.18. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Trolox derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.

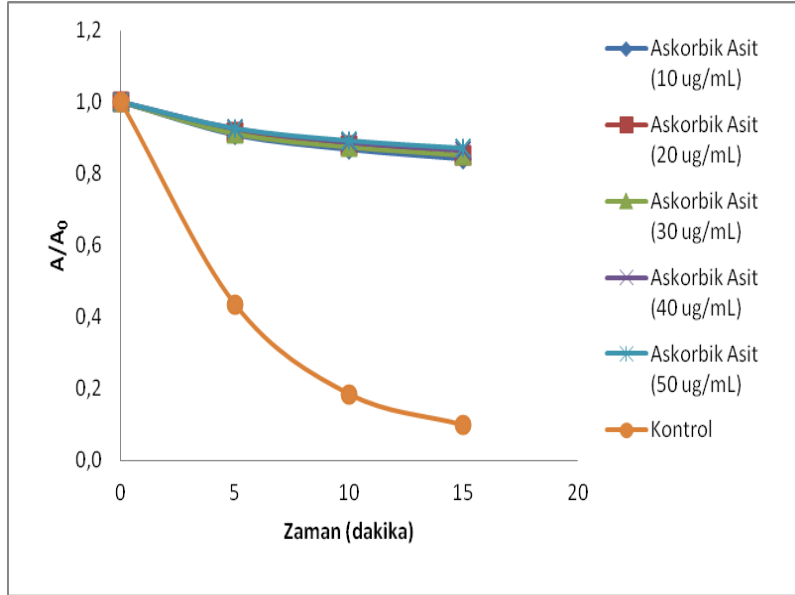
Şekil 4.18.'de görülen farklı derişimler için elde edilen eğrilerin linear bölgelerinin eğimleri ( $R$ ) ile antioksidansız pirogallol red tüketimine ait eğrinin eğimi ( $R^0$ ) oranlanarak derişime karşı elde edilen bu oran ( $R^0/R$ ) grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.19.).



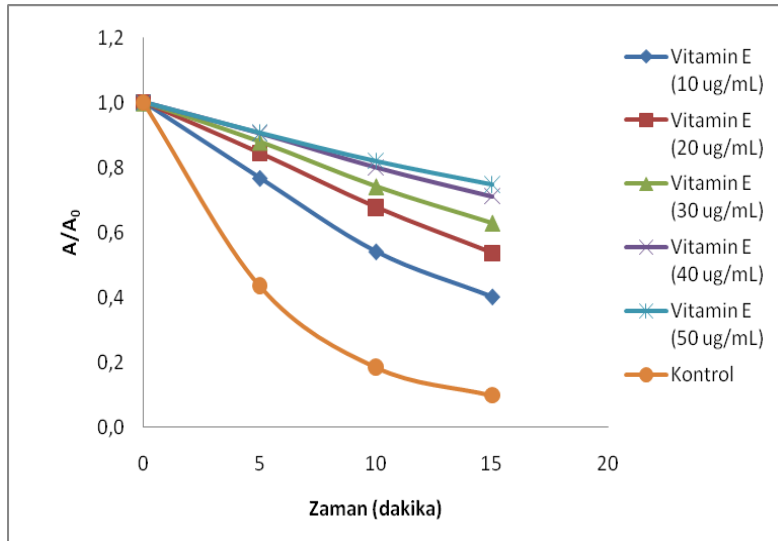
Şekil 4.19. ORAC Yöntemi ile Troloks için elde edilen derişime karşı  $R^0/R$  grafiği.



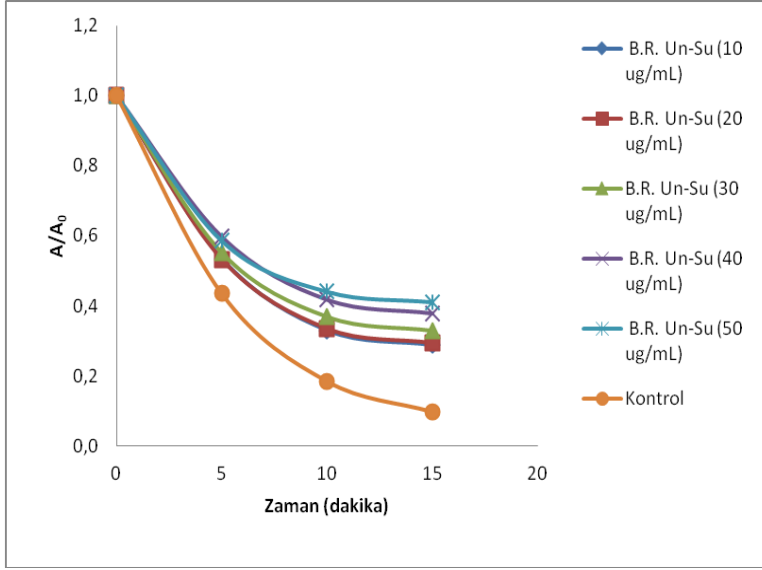
Şekil 4.20. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı BHT derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



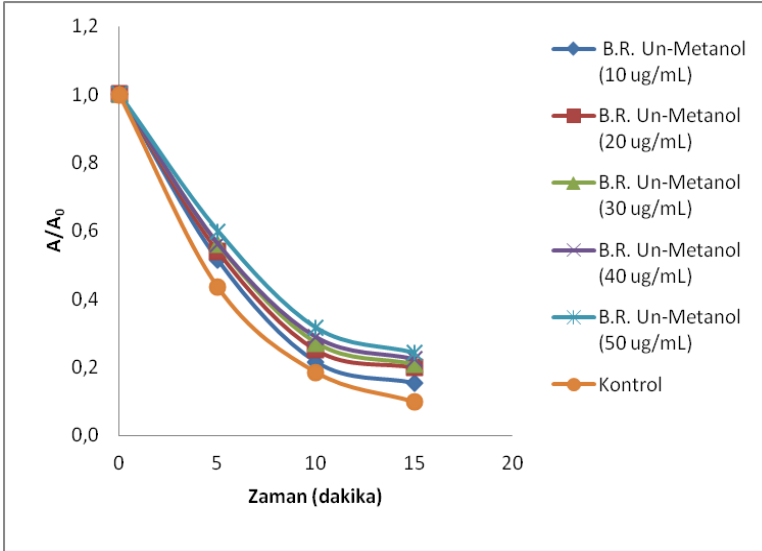
Şekil 4.21. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Vitamin C derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



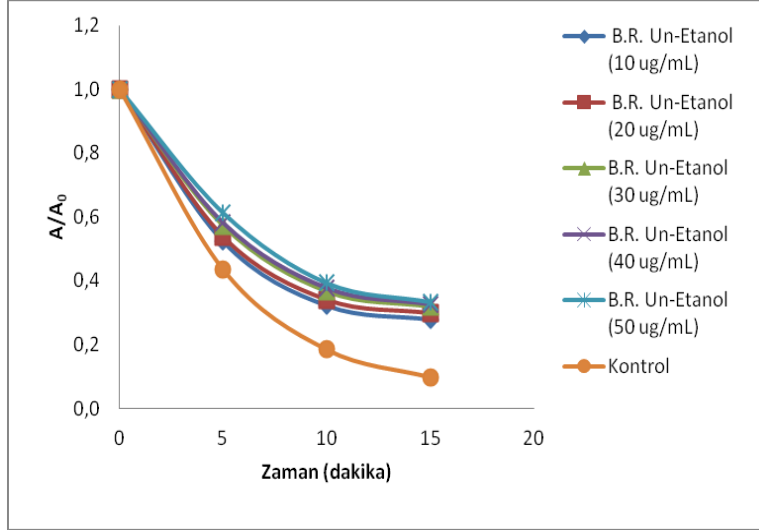
Şekil 4.22. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı Vitamin E derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



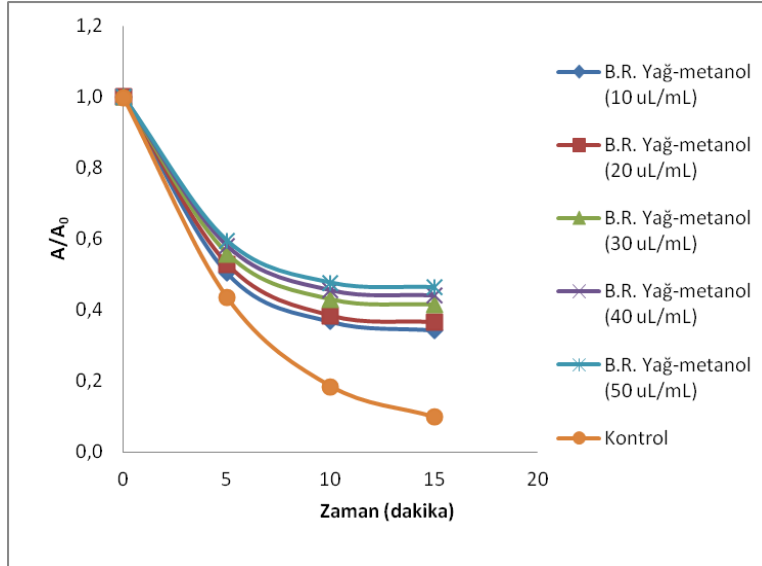
Şekil 4.23. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un-su ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



Şekil 4.24. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un-metanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



Şekil 4.25. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym un-etanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.



Şekil 4.26. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktının farklı derişimlerinde pirogallol red tüketiminin kinetikleri.

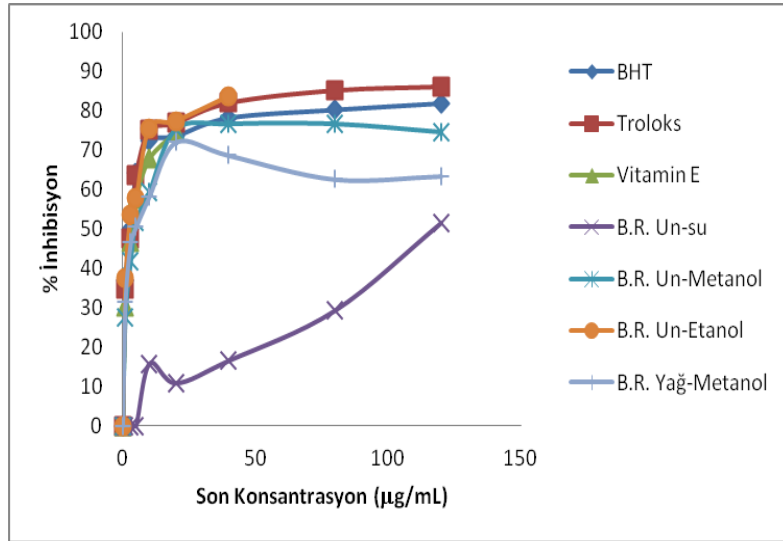
Şekil 4.19.'da Troloks için elde edilen derişime karşı  $R^0/R$  grafiği görölmektedir. Diğer tüm standart antioksidan ve örnekler için de benzer işlem ve hesaplamalar yapılmış ve standart antioksidan ve örnekler için elde edilen doğruların eğimleri Troloks için elde edilen eğime oranlanarak  $TEAC_{ORAC}$  değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.7.). Bu hesaplamalar Lopez-Alarcon ve Lissi (2005)'e göre yapılmıştır.

Çizelge 4.7. Örneklerin ve standart antioksidanların  $TEAC_{ORAC}$  değerleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b><math>TEAC_{ORAC} \pm SD</math></b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$1.39 \pm 0.26$
	<i>Askorbik Asit</i>	$0.42 \pm 0.04$
	<i>Vitamin E</i>	$1.05 \pm 0.98$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$0.07 \pm 0.01$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$0.04 \pm 0.01$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$0.05 \pm 0.01$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$0.06 \pm 0.04$

#### 4.8. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

Hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini deoksiriboz oksidasyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Şekil 4.27.'de farklı derişimlerdeki buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri görölmektedir.

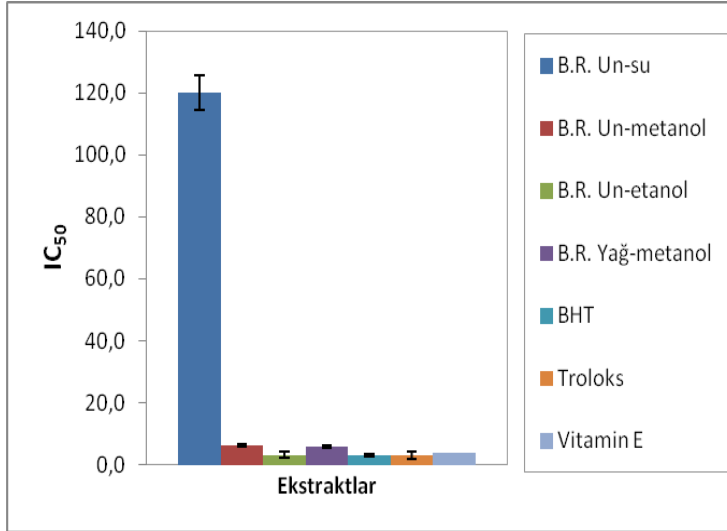


Şekil 4.27. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri.

Grafiklerden lineer regresyon analizi ile hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri Çizelge 4.8.'de görölmektedir.

Çizelge 4.8. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların  $IC_{50}$  değerleri.

<b>Antioksidan</b>		<b><math>IC_{50} \pm SD</math> (%)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$2.97 \pm 0.24$
	<i>Troloks</i>	$2.95 \pm 1.07$
	<i>Vitamin E</i>	$3.77 \pm 0.15$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$120.02 \pm 5.46$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$6.23 \pm 0.35$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$3.04 \pm 1.00$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$5.97 \pm 0.40$



Şekil 4.28. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ve standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri.

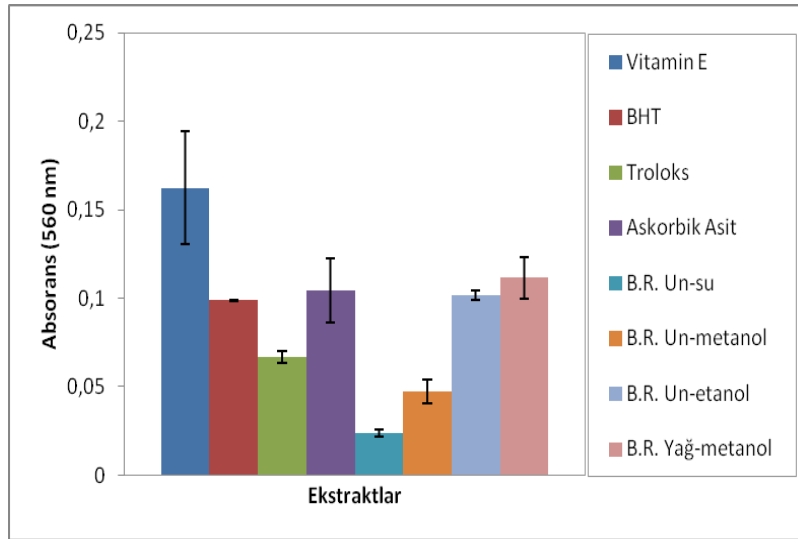
Çizelge 4.8. ve Şekil 4.28.'de görüldüğü gibi buğday ruşeym un metanol ve etanol ekstraktları ile buğday ruşeym yağ ekstraktının OH radikali süpürücü aktivitesi



hemen hemen standartlar kadar yüksektir. Buğday ruşeym un-su ekstraktının OH radikali süpürücü aktivitesi ise diğerlerine göre düşüktür.

#### 4.9. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin biraz modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre yapılmıştır. Süperoksit radikalleri NADH'ın oksidasyonu ve NBT'un indirgenmesi ile PMS-NADH sisteminde oluşturulmuştur. Örneklerin 560 nm'deki absorbanlarındaki düşüş reaksiyon karışımındaki süperoksit anyon tüketimini göstermektedir. Şekil 4.30'da görüldüğü üzere buğday ruşeym un-su ekstraktı en yüksek aktiviteye sahiptir. Bunu buğday ruşeym un-metanol ekstraktı > Troloks > BHT > buğday ruşeym un-etanol ekstraktı > askorbik asit > buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı > vitamin E takip etmektedir. Vitamin E en düşük aktiviteye sahiptir.



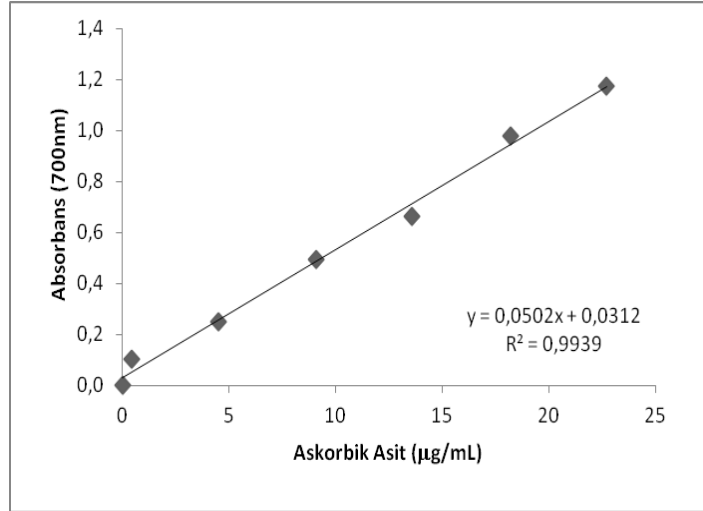
Şekil 4.29. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının ve standart antioksidanların süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayininin 560 nm'deki absorban değerleri.

Çizelge 4.9. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların 560 nm'deki absorbans değerleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b>Absorbans Değerleri (560 nm)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$0,09 \pm 0,00$
	<i>Troloks</i>	$0,07 \pm 0,00$
	<i>Askorbik Asit</i>	$0,11 \pm 0,00$
	<i>Vitamin E</i>	$0,16 \pm 0,03$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$0,02 \pm 0,00$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$0,05 \pm 0,01$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$0,10 \pm 0,00$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$0,12 \pm 0,01$

#### 4.10. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları

İndirgeme gücü Oyaizu (1986)'ya göre yapılmıştır. Bu yöntem  $Fe^{3+}$ 'ün  $Fe^{2+}$  ye indirgenerek;  $Fe^{2+}$ 'nin 700 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesini temel almaktadır. İndirgeme gücü yüksek olan askorbik asit standart olarak kullanılmıştır. Farklı derişimlerdeki askorbik asitin 700 nm'deki absorbansa karşı derişim grafiği çizilmiştir. Diğer standart ve buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının indirgeme gücü aynı derişimdeki askorbik asit ile karşılaştırılarak % askorbik asit cinsinden verilmiştir.

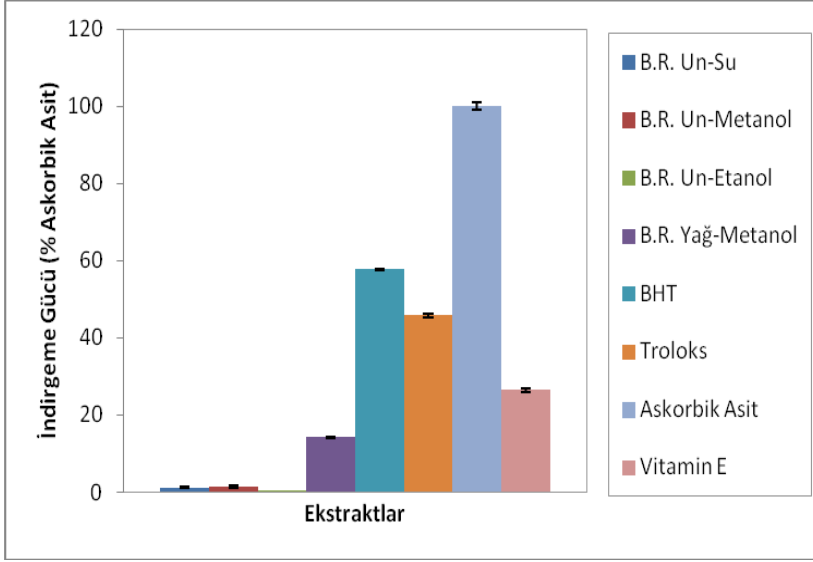


Şekil 4.30. Farklı derişimlerdeki askorbik asitin 700 nm'deki absorbens grafiği.

Çizelge 4.10. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerleri.

	<b>Antioksidan</b>	<b>% Askorbik Asit ± SD (%)</b>
<b>Standartlar</b>	<i>BHT</i>	$57.82 \pm 0.15$
	<i>Troloks</i>	$45.78 \pm 0.56$
	<i>Vitamin E</i>	$26.47 \pm 0.57$
<b>Buğday Ruşeymi</b>	<i>Buğday ruşeym un su ekstraktı</i>	$1.17 \pm 0.20$
	<i>Buğday ruşeym un metanol ekstraktı</i>	$1.35 \pm 0.32$
	<i>Buğday ruşeym un etanol ekstraktı</i>	$0.55 \pm 0.01$
	<i>Buğday ruşeym yağ metanol ekstraktı</i>	$14.17 \pm 0.15$

Çizelge 4.10.'da görüldüğü üzere aynı derişimlerdeki standart antioksidanların ve buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının % askorbik asit cinsinden indirgeme güçleri karşılaştırıldığında  $BHT > Troloks > vitamin E > buğday ruşeym yağ-metanol > buğday ruşeym un-metanol > buğday ruşeym un-su > buğday ruşeym un-etanol ekstraktıdır$ .



Şekil 4.31. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri Çizelge 5.1.'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları ile standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri

Ölçülen Parametreler	Buğday Ruşeym Un-su	Buğday Ruşeym Un-metanol	Buğday Ruşeym Un-etanol	Buğday Ruşeym Yağ-metanol	BHT	Troloks	Askorbik Asit	Vitamin E
<b>Total antioksidan aktivite (FTC) ( % İnhibisyon)</b>	13.57 ± 5.20	36.20 ± 4.19	90.77 ± 1.48	17.37 ± 8.89	100.62 ± 0.52	99.79 ± 0,14	36.39 ± 3.62	93.31 ± 0,35
<b>DPPH (IC<sub>50</sub>) (µg/mL)</b>	205.46 ± 6.07	239.16 ± 38.15	474.78 ± 17.57	147.81 ± 3.52	17.96 ± 1.89	2.76 ± 0.14	1.96 ± 0.49	3.85 ± 0.15
<b>Toplam fenolik bileşik (300µl için) (µg GAE /g ekstrakt)</b>	162.17 ± 22.83	113.50 ± 6.50	129.83 ± 26.63	45.50 ± 2.50	-	-	-	-
<b>Flavonoid (mg RE /g ekstrakt)</b>	2.95 ± 0.06	3.54 ± 0.37	4.15 ± 0.22	0.77 ± 0.12	-	-	-	-
<b>Flavonol (mg RE /g ekstrakt)</b>	0.02 ± 0.00	0.37 ± 0.01	0.69 ± 0.00	0.74 ± 0.03	-	-	-	-
<b>TEAC<sub>CUPRAC</sub></b>	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,09 ± 0,02	1,57 ± 0,02	-	0,55 ± 0,05	0,91 ± 0,00
<b>TEAC<sub>ORAC</sub></b>	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,04	1,39 ± 0,26	-	0,42 ± 0,04	1,05 ± 0,98
<b>Hidroksil radikal süpürücü aktivite tayini (IC<sub>50</sub>) (µg/mL)</b>	120.02 ± 5.46	6.23 ± 0.35	3.04 ± 1.00	5.97 ± 0.40	2.97 ± 0.24	2.95 ± 1.07	-	3.77 ± 0.15
<b>Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini (560 nm)</b>	0.02 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.12 ± 0.011	0.09 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.011 ± 0.001	0.16 ± 0.03
<b>İndirgeme gücü (%Askorbik asit)</b>	1.17 ± 0.20	1.35 ± 0.32	0.55 ± 0.01	14.17 ± 0.15	57.82 ± 0.15	45.78 ± 0.56	100	26.47 ± 0.57

Çizelge 5.1.'de verilen total antioksidan aktivite tayini sonuçlarına bakıldığında BHT, Troloks, Vitamin E ve Buğday ruşeym un-metanol ekstraktının lipid peroksidasyonunu yüksek oranda engellediği ancak buğday ruşeym yağ-metanol ve buğday ruşeym un-su ve buğday ruşeym un-etanol ekstraktlarının lipid peroksidasyonunu engellemede çok yüksek aktivite göstermediği bulunmuştur. Total Antioksidan Aktivite Tayininde metod yağ asidinin peroksidasyonunun antioksidan tarafından ne kadar engellendiğinin ölçülmesi prensibine dayanır. Lipid peroksidasyonu besin kalitesini ve dayanıklılığını etkileyen önemli bir problemdir. Sentetik antioksidanların (BHT ve BHA' da dahil) kanserojenik özellikleri dikkate alındığında doğal antioksidanların lipid peroksidasyonunu engellemek için kullanılması tercih sebebidir. Canlı sistemlerde de özellikle membran lipidlerinin peroksidasyona karşı korunmasında antioksidanların etkili olduğu düşünülmektedir. Öte yandan antioksidan özelliği taşıyan her madde lipid peroksidasyonunu aynı ölçüde engellemeyebilir. Bu çalışmada da görüldüğü üzere askorbik asit çok iyi bilinen ve diğer antioksidan ölçüm yöntemleri ile yüksek aktivite gösteren bir antioksidan olmasına rağmen lipid peroksidasyonunu engelleme işleminde düşük antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar dikkate alındığında buğday ruşeym un-etanol ekstraktının askorbik asite göre yaklaşık 2.5 kat daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ifade edilebilir. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı ve buğday ruşeym un-su ekstraktları daha düşük lipid peroksidasyonu engelleme kapasitesine sahiptir. Sert kış buğdayı ekstraktlarında yapılan bir çalışmada üç çeşit sert kışlık buğday ekstraktlarında lipid peroksidasyonunu engelleme özellikleri incelenmiş ve bu çeşitlerden bir tanesinde etanol ekstraktının  $\alpha$ -tokoferole göre 2.5 kat kadar daha kuvvetli antioksidan özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Yu vd., 2002a).

Serbest radikal zincir reaksiyonu lipid peroksidasyonunun genel kabul görmüş bir mekanizmasıdır. Radikal sönmüleyici ajanlar bu zincir reaksiyonunu sonlandırmak üzere peroksit radikalleri ile tepkimeye girebilirler. Kararlı DPPH radikali antioksidanların radikal sönmüleme kapasitelerini ölçmek üzere kullanılmaktadır (Brand-Williams vd., 1995; Chen and Ho, 1997). Bu çalışmada da buğday ruşeym un ve yağ ekstraktları DPPH radikali süpürücü aktiviteleri açısından test edilmiştir. Sonuçlar deney koşullarındaki DPPH derişiminin yarıya düşürülmesi için gerekli antioksidan miktarı ( $IC_{50}$ ) cinsinden hesaplanmıştır.  $IC_{50}$  değerleri ne kadar düşük ise radikal süpürme aktivitesi o kadar yüksek olarak kabul edilir. İncelenen tüm ekstraktların  $IC_{50}$  değerleri standart antioksidanlarınkinden çok daha yüksek

bulunmuştur. Bu açıdan bakıldığında buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarının DPPH radikalini süpürme aktivitelerinin düşük olduğu söylenebilir. Özellikle buğday ruşeym un-etanol ekstraktının lipid peroksidasyonunu engellemede standart antioksidanlarla mukayese edilebilir yükseklikte etki gösterdiği düşünüldüğünde ve bu sonuçların tersi olarak DPPH radikalini süpürme etkisinin en düşük olduğu dikkate alındığında radikal zincir reaksiyonunun başlamasını baskılayan bir antioksidanın radikal zincir reaksiyonunun ilerlemesi sırasında oluşan radikalleri ortadan kaldırma aktivitesinin olmayabileceği düşünülebilir. Benzer bir sonuç yüksek lipid peroksidasyonunu engelleme aktivitesi gösteren bir çeşit buğday ekstraktının düşük DPPH IC<sub>50</sub> değeri göstermesiyle ortaya konmuştur (Yu vd., 2002a). Bir başka çalışmada da (Yu vd., 2002b) çalışılan üç çeşit buğday etanol ekstraktlarından bir çeşidin Vitamin C ile kıyaslanabilir oranda DPPH radikali süpürücü aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Yine bir başka çalışmada (Sedej vd., 2011) bazı buğday çeşitlerinin ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktivitelerinin, BHT'ye kıyasla yaklaşık 60 kat daha düşük olduğu rapor edilmiştir.

DPPH radikali sentetik bir antioksidan olup doğal sistemlerde bulunmaz. Bu nedenle doğal canlı sistemlerde oksidasyon işlemleri sırasında ortaya çıkan hidroksil radikali ve süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayinleri antioksidanların doğal ortamlardaki davranışları konusunda daha fazla bilgi verebilir. Bu nedenle çalışmanın kapsamına hidroksil radikal süpürücü aktivite tayini ve süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini de alınmıştır. Çizelge 5.1.'deki hidroksil radikal süpürücü aktivite tayini sonuçlarına bakıldığında buğday ruşeym un-su ekstraktı hariç diğer tüm ekstraktlar BHT, Troloks ve Vitamin E ile kıyaslanabilir ölçüde yüksek antioksidan aktivite göstermektedirler. Öte yandan süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini sonuçlarına göre buğday ruşeym un-su ekstraktı standart antioksidanlardan da yüksek süperoksit anyonu süpürücü aktivite göstermektedir.

Toplam fenolik bileşik içeriği açısından incelendiğinde örneklerde buğday ruşeym un-su ekstraktı en yüksek fenolik bileşik içeriğine sahiptir. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı ise en düşük fenolik bileşik içermektedir. Buğday ruşeyminin bütünü düşünüldüğünde genel olarak suda çözünen ya da kısmi polar çözümlerde çözünen fenolik bileşikler açısından daha zengin olduğu görülmektedir.

Flavonoid ve flavonol içerikleri açısından bakıldığında buğday ruşeym un ekstraktlarında flavonol oranının düşük, yağ ekstraktında ise mevcut flavonoidin

hemen hemen tümünün flavonol formda olduğu görülmektedir. Flavonoid/flavonol oranı en yüksek olan buğday ruşeym un-su ekstraktının hidroksil radikal süpürücü aktivitesi en düşük, süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi ise en yüksektir. Bu ekstraktın toplam fenolik bileşik miktarının da en yüksek olduğu düşünüldüğünde su ekstraktının yüksek süperoksit anyonu süpürücü aktivitesinin fenolik bileşiklerden kaynaklandığı ancak bu bileşiklerin muhtemelen flavonol karakterde olmadığı izlenimini vermektedir. Öte yandan buğday ruşeym yağ ekstraktının fenolik bileşik içeriği un ekstraktlarından 3-4 kat daha düşüktür. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktındaki fenolik bileşiklerin içinde flavonoid ve flavonol karakterlerinin oranı son derece düşüktür. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktının hem hidroksil radikal süpürücü aktivitesi hem süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi yüksektir. Buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktının antioksidan karakteri fenolik bileşiklerden ziyade vitamin karakterli (Vitamin E gibi) bileşiklerden kaynaklanabilir.

CUPRAC yöntemi çalışılan yöntemler içinde en son geliştirilmiş olan yöntem olup bakır (II) neokupreinin kromojenik oksidan olarak kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemde bakır (II) (kuprik) iyonu indirgeme kabiliyeti ölçülür. Bu nedenle yöntem bakır indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) olarak adlandırılmaktadır. Bu yöntem son yıllarda diğer antioksidan aktivite tayin yöntemlerine göre tercih edilen bir yöntem olma yolunda ilerlemektedir. Çünkü yöntemin optimum pH'sı fizyolojik pH'a çok yakındır ve fizyolojik pH'da yapılacak olan ölçümler (insan için) gerçeğe en yakın değeri verecektir (Apak vd., 2005). Başlangıçta insan serumunun antioksidan kapasitesini ölçmek için geliştirilen bu yöntem daha sonraları çeşitli antioksidan bileşiklerin *in vitro* antioksidan kapasitesini ölçmek için de başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Bektaşoğlu vd., 2006; Apak vd., 2004). Bu yöntemle test edilen buğday ruşeym un ekstraktları ile yağ ekstraktı test edilen standart antioksidanlara göre çok düşük  $TEAC_{CUPRAC}$  aktivitesi göstermiştir.  $TEAC_{CUPRAC}$  aktivitesi çok yeni bir yöntem olması nedeniyle literatürde bu yöntemin kullanıldığı az sayıda çalışma vardır. Buna rağmen çeşitli standart antioksidan bileşiklerin  $TEAC_{CUPRAC}$  aktivitelerinin ölçüldüğü (Çelik vd., 2007) ve yine bu yöntem kullanılarak çeşitli bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin ölçüldüğü çalışmalar mevcuttur (Apak vd., 2005). Standart antioksidanların  $TEAC_{CUPRAC}$  aktivitelerinin ölçüldüğü çalışmada Troloks aktivitesi 1.00 olarak alındığında Vitamin E 0.90  $TEAC_{CUPRAC}$  değeri ile en düşük aktiviteyi gösterirken, quersetinin 5.16  $TEAC_{CUPRAC}$  değeri ile



en yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada standart antioksidanların (Askorbik asit, Vitamin E ve BHT) TEAC<sub>CUPRAC</sub> değerleri 0.55 ile 1.57 arasında bulunmuştur. Apak vd. (2005) tarafından çeşitli bitki çaylarında yapılan çalışmada CUPRAC değerleri 0.05 ile 4.41 arasında bir dağılım gösterirken bu çalışmadaki örneklerde 0.03 ile 0.09 arasında sonuçlar elde edilmiştir. Bu yöntem açısından incelendiğinde kuprik iyon indirgeme kapasitelerinin çalışılan tüm buğday örneklerinde çok yüksek olmadığı görülmektedir.

ORAC yöntemi, pirogallol red kullanılarak yapılan spektrofotometrik antioksidan kapasite tayininde antioksidan maddenin, hedef molekülün (pirogallol red) bir serbest radikal varlığında (ABTS) tüketilmesini engelleme yeteneğini ölçer. Hedef molekülün reaktivitesi ve konsantrasyonunda meydana gelen artış indüksiyon zamanında düşüşe neden olur. Bu durumda reaktif antioksidanların hedef molekül tüketimlerini ölçmek önemlidir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2005). Folch-Cnao vd. (2010) ORAC aktivitesini ölçtükleri çalışmada bazı standart antioksidanların zaman-absorbans grafiğinden elde edilen eğrinin altında kalan alandan Troloks eşdeğeri olarak hesaplanan TEAC<sub>ORAC</sub> değerlerini 0.45 ile 13.32 arasında bulmuşlardır. Beretta vd. (2005) yaptıkları bir çalışmada farklı türdeki bal çeşitlerinde TEAC<sub>ORAC</sub> değerlerini 1.40 ile 21.07 arasında bulmuşlardır. Alarcon vd. (2008)'de yaptıkları bir çalışmada bazı bitki ve çay örneklerinde gallik asit eşdeğeri olarak hesapladıkları ORAC değerlerini 9 ile 325 arasında bulmuşlardır. Bu çalışmada da standart antioksidanların (Askorbik asit, Vitamin E ve BHT) TEAC<sub>ORAC</sub> değerleri 0.42 ile 1.39 arasında değer gösterirken buğday ruşeym un ve yağ ekstraktlarında 0.04 ile 0.07 arasında sonuçlar elde edilmiştir.

İndirgeme gücü ölçümlerinde antioksidan bileşiklerin Fe<sup>3+</sup>ü Fe<sup>2+</sup>ye indirgeme kapasiteleri ölçülmektedir. Bu kapasite askorbik asit standart (100) kabul edilerek % askorbik asit cinsinden bir birimle ifade edilir. Askorbik asit ile kıyaslandığında standart antioksidanlardan BHT askorbik asitin yaklaşık % 58'i kadar, Troloks % 46'sı kadar ve Vitamin E %26'sı kadar indirgeme gücü göstermekteyken buğday ruşeym yağ-metanol ekstraktı % 14'ü kadar aktivite göstermektedir. Buğday ruşeym un ekstraktlarının hiç biri kayda değer aktivite göstermemektedir.

Lif ve fitokimyasallar açısından son derece zengin besinler olan tahıllar canlıların tüketebileceği en sağlıklı yiyeceklerdir. Buğday ve buğday unu da bu yiyeceklerin içinde önemli bir bileşeni teşkil eder. Tahılların antioksidan kapasiteleri

incelenmiş olup (Adom ve Liu, 2002) farklı tahılların farklı yapıda fitokimyasallar içermeleri nedeni ile farklı besin öğelerine sahip oldukları bilinmektedir. Tahıllar meyve ve sebzelerle birlikte tüketildiklerinde tamamlayıcı olan eşsiz fitokimyasallar içerir. Örneğin tahıllardaki çeşitli fenolik bileşik sınıfları benzoik ve sinamik asit türevlerini, antosiyanidinleri, kinonları, flavonollerini, kalkonları, flavonları, flavanonları ve amino fenolik bileşiklerini içerir. Tahıllar aynı zamanda tokoferoller de bulundurulur. Bu fitokimyasalların bazıları mesela ferulik asit sadece tahıllarda bulunur ve meyve ve sebzelerde kayda değer miktarlarda bulunmazlar. Bu nedenle insan beslenmesinde tarım ve tahıl ürünlerinin daima yer aldığı görülür. Buğday ruşeym unu ve ruşeym yağı buğday unu eldesi sırasında bir yan ürün olarak ortaya çıkan buğday ruşeyminden elde edilir. Bu iki ürün besin endüstrisinde ve farmakolojide katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar. Son yıllarda besin endüstrisinde geliştirilen yeni yaklaşım olan “fonksiyonel gıda üretimi” prensiplerine göre gıda endüstrisinde kullanılan katkı maddelerinin kıvam verici veya kalıp oluşturu gibi özelliklerinin yanında antioksidan özelliklerinin de olması arzu edilir. Bu nedenle bu çalışmada incelenen buğday ruşeym unu ve buğday ruşeym yağının antioksidan aktivite parametreleri incelenmiş ve bazı parametrelerin standart antioksidanlarla kıyaslanabilir düzeyde olduğu saptanmıştır. İncelenen iki tür örnekten özellikle buğday ruşeym yağının oksidatif stresi indirgeme potansiyeli olduğu farelerde yapılan deneylerle de gösterilmiştir (Karabacak vd., 2011). Bu etkinin buğday ruşeym yağının içinde bulunan organik bileşiklerden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Antioksidan aktiviteye katkıda bulunan bu bileşiklerin başta tokoferoller olmak üzere vitaminlerden ve kısmen de fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak buğday ruşeym yağının oksidatif strese karşı koruyucu bir besin katkı maddesi olarak kullanılabilmesi önerilebilir. Yüksek besin değeri nedeni ile “insanın doğal besin hazinesi ve hayat kaynağı” olarak tanımlanan buğday ruşeymi (Ge vd., 2000) sahip olduğu antioksidan özellikler nedeniyle besin endüstrisinde değerli bir katkı maddesi olarak kullanılabilir. Öte yandan hem buğday ruşeym unu hem de buğday ruşeym yağı ile *in vivo* çalışmaların sonuçlarına da ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- Adom, K.K., Liu, R.H. 2002. Antioxidant activity of grains. **J. Agric. Food Chem.**, 50: 6182-6187.
- Alarcon, E., Campos, A. M., Edwards, A. M., Lissi, E. and Lopez-Alarcon, C. 2008. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: a comparison of ORAC-fluorecein and ORAC-pyrogallol red methodologies. **Food Chemistry**, 107: 1114-1119.
- Akkuş İ. 1995. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. **Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım**, 1-15.
- Altınışik, M. 2000. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, [<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>], Erişim Tarihi: 18.03.2011
- Amado, R., Arrigoni, E. 1992. Nutritive and functional properties of wheat germ. **International Food Ingredient**, 4: 30-34.
- Ames, B. N., Gold, L. S., Willet, W. C. 1995. The causes and prevention of cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci**, 92: 5258-5265.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. 2004. A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: 7970- 7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., Altun, M. 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)- neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. **Free Radical Research**, 39: 949-961.
- Aruoma, O. I., Grootveld, M., and Halliwell, B. 1987. **J. Inorg. Biochem.**, 29: 289-299.
- Aruoma, O.L., 1998, Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. **J Am Oil Chem**, 75: 199–212.

- Bektaşoğlu, B., Çelik, S. E., Özyürek, M., Güçlü, R., Apak, R. 2006. Novel hydroxyl radikal scavenging antioxidant activity assay for water-soluble antioxidants using a modified CUPRAC method. **Science Direct**, 345: 1194-1200.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrore, M., Orioli, M., Facino, M. R. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **Science Direct**, 553: 185-191.
- Brigette C. S., Butler J., Halliwell B., Aruoma O. I. 1993. Evaluation of the antioxidant actions of ferulic acid and catechins. **Free Radical Research**, 19: 241-153.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel- Wissenschaft and Technologie**, 26: 25-30.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH<sup>\*</sup> free radical method. **Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie**, 30: 609–615.
- Bucnall, T., Edwards, H. E., Kemsley, K. G., Moore, J. S., and Phillips, G. O. 1987. **Carbohydr. Res.**, 62: 49-59.
- Cao, G., Alessio H. M. and Cutler, R. G. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radikal Biology & Medicine**, 14: 303-11.
- Chen, J. H. and Ho, C. T. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45: 2374-2378.
- Cross C. E., Halliwell B., Borish E. T. 1987. Oxygen radicals and human disease. **An Intern Med.**, 107: 526-545.

- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı T. 1997. Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence. **Office Journal of the Turkish Nephrology Association**, 3-4: 92-95.
- Çaylak, E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stress ile antioksidanlar. 2011. **Tıp Araştırmaları Dergisi**, 9: 73-83.
- Çelik, S. E., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R. 2007. CUPRAC total antioxidant capacity assay of lipophilic antioxidants using the macrocyclic oligosaccharide methyl B-cyclodextrin as the solubility enhancer. **Science Direct**, 67: 1548-1560.
- Dunford, N.T., Zhang, M. 2003. Pressurized solvent extraction of wheat germ oil. **Food Research International**, 36: 905-909.
- Dündar Y., Aslan R. 1999. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, **Hayvancılık Araştırma Dergisi**, 9(1-2): 32-39.
- Dündar Y., Aslan R.. 2000. Antioxidative Stress. **Eastern Journal of Medicine**, 5(2): 45-47.
- Folch-Cano, C., Julian, C., Speisky, H., Olea-Azar, C. 2010. Antioxidant activity of inclusion complexes of tea catechins with  $\beta$ -cyclodextrins by ORAC assays. **Food Research International**, 43: 2039-2044.
- Ge, Y., Sun, A., Ni, Y., Cai, T. 2000. Some nutritional and functional properties of defatted wheat germ protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48: 6215-6218.
- Gelmez N., Kincal N. S., Yener M. E. 2009. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, 48: 217-224.
- Gomez, A.M., Ossa, E.M. 2000. Quality of wheat germ oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. **JAOCs**, 77: 969-974.
- Gutteridge, J. M. C. 1981. **FEBS Lett**, 128: 343-346.

- Gutteridge, J. M. C. 1987. **Biochem. J.**, 243: 709-714
- Gutteridge, J M C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clin Chemistry**, 41:1819-1828.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E. and Apak, R. 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/ TEAC and folin methots. **Department of chemistry**, 41: 76-85.
- Gülçin, İ., Büyükkuroğluemin, M. E., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. **Journal of Ethnopharmacology**, 86: 51-58.
- Gülçin, İ. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, 217: 213–220.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Aruoma, O.I. 1987. The deoxyribose method: a simple “test tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Anal. Biochem.**, 44: 165-215-219.
- Halliwell B., Gutteridge, J. M. C. 1989. Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of oxygen toxicity. Free radicals in biology and medicine. **Oxford: Clarendon Press:** 86-179.
- Higashi, T., Kawamata, F., Sakamoto, T., 1974. Studies on Rat Liver Catalase. VII. Double-Labeling of Catalase by <sup>14</sup>C-Leucine and <sup>3</sup>H-d-Aminolevulinic Acid. **J. Biochem**, Tokyo, 76: 703-708
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. 2005 The chemistry behind antioxidant capacity assay. **J. Agric. Food Chem**, 53: 1841-1856.
- Hung, V.P., Maeda, T., Miyatake, K. and Morita, N. 2009. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. **Food Research International**, 42: 185-190.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollord, C. A. and Sosner, J. J. 2003. Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the dedection of certain nitrogen compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 51(7): 1811-1815.

- Karabacak, M., Kanbur, M., Eraslan, G., Sarıca, Z. S. 2011. The antioxidant effect of wheat germ oil on subchronic coumaphos exposure in mice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74: 2119-2125.
- Kaur, C. and Kapoor H. C. 2001. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science & Technology**, 37(2): 153-161.
- Kılınç, K. ve Kılınç, A. 2002. Oksijen toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. **Hacettepe Tıp Dergisi**, 33(2): 110-118
- Kim, S., Yang, M., Lee, H.O., and Kang S.N. 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of Stevia rebaudiana water extracts. **Food Science and Technology**. 44: 1328-1332.
- King, H.G.C. 1962. Phenolic compounds of commercial wheat germ. **Journal of Food Science**, 27: 446-454.
- Krings, U., El-Saharty, Y.S., El-Zeany, B.A., Pabel, B., Berger, R.G. 2000. Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. **Food Chemistry**, 71: 91-95.
- Krings U., Berger R.G. 2001. Antioxidant activity of some roasted foods. **Food Chemistry**, 72: 223-229.
- Liu, F., Ooi, V. E. C., Chang, S.T. (1997) Free radical scavenging activity of mushroom polysaccharide extracts. **Life Science**, 60: 763-771.
- Lopez-Alarcon, C. and Lissi, E. 2005. Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. **Free Radical Research**, 39(7): 729-736.
- Lopez-Alarcon, C. and Lissi, E. 2006. A novel and simple ORAC methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. **Free Radical Research**, 40 (9): 979-985.
- Malecka, M. 2002. Antioxidant properties of the unsaponifiable matter isolated from tomato seeds, oat grains and wheat germ oil. **Food Chemistry**, 79: 327-330.

- Miller, N.J., Rice- Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, 84: 407- 412.
- Molero, A., Gomez and E. Mart nez de la Ossa. 2000. Quality of wheat germ oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, 77: 969-974.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **J. Sci. Technol**, 26(2): 211-219.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. 1992a. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil and their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. **J. Agric Food Chem.**, 40: 1571-6.
- Nicholls, P., Fita, I., Loewen, P.C. 2000. Enzymology and Structure of Catalases. **Advances in Inorganic Chemistry**, 51: 51-106
- Oyaizu, M., 1986. Studies on Product of Browning Reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **Japanese Journal of Nutrition**, 44: 307-315.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E. K., Prior, R. L. and Huang, D. 2002. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 50: 2772-2777.
- Papadopoulos, K., Triantis, T., Yannakopoulou, E., Nikokavoura, A. and Dimotikali, D. 2003. Comparative studies on the antioxidant activity of aqueous extracts of olive oils and seed oils using chemiluminescence. **Science Direct**. 494: 41-47.
- Pathirana, L. C., Shahidi, F. 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, 93: 47-56.



- Pathirana, L. C. M. and Shahidi, F. 2006. Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. **J. Agric. Food Chem**, 54:1256-1264.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.** 63: 1035-1042.
- Pellegrini, RE, R., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. A. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Nutrition Research**, 18: 1995-2018.
- Pinzino C. 1999. Aging, free radikals, and antioxidants in wheat seeds. **J. Agric. Food Chem.**, 47: 1333-1339.
- Quettier-Deleu, C. et al. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. **Journal of Ethnopharmacology**, 72, 35–42.
- Re, R., Pellegrini, N., Protrggente, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 1231-1237.
- Rice-Evans, C. and Miller, N. J. 1984. Total antioxidant status in plasma and body fluids. **Methods of Enzymology**, 234: 279-293.
- Rizzello, C.G., Nionelli, L., Coda, R., Amgelis, M., Gobbetti, M. 2010. Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. **Food Chemistry**, 119: 1079-1089.
- Rizzello, C., G., Cassone, A., Coda R., Gobbetti, M. 2011. Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. **Food Chemistry**, 127: 952-959.
- Saha, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., Hamzah, A.S., Khozirah, S.,Khamis, S., Syahida, A. 2004. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 92: 263-267.
- Sawa, T., Nakao, M., Akaike, T., Ono, K., & Maeda, H. 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: Implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47(2): 397–402.

- Sedej, I., Sakac, M., Mandic, A., Misan, A., Tumbas, V., Hadnadev, M. 2011. Assessment of antioxidant activity and rheological properties of wheat and buckwheat milling fractions. **Journal of Cereal Science**, 54: 347-353.
- Singleton V. L. and Rossi J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Society for Enology and Viticulture**, 16,3: 144-158
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299: 152-178.
- Slobodan, V. J., Steen, S., Mihajlo, T., Budimir, M. and Michael G. S. 1994. Flavonoids as antioxidants. **J. Am. Chem. Soc.** 116: 4846-4851.
- Storz, G., Imlay, J. A. 1999. Oxidative stress. **Current Opinion in Microbiology**, 2: 188-194.
- Velioğlu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **J. Agric. Food. Chem.**, 46: 4113-4117.
- Vinson, J.A., Zubik, L., Bose, P., Samman, N. and Proch, J. 2005. Dried fruits: Excellent in vitro and in vivo antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, 24: 44-50.
- Warren, C. P. 1999. Antioxidant effects of herbs. **Lancet**, 353(9153): 676.
- Willett, W. C. 2001. Diet and breast cancer. **Journal of Internal Medicine**, 5: 395-411.
- Yermakov, A.I., Ararimov, V.V., Yarosh, N.P. 1987. Methods of biochemical analysis of plants. **Leningrad: Agropromizdat** (in Russian).
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M. 2002a. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. **Food Chemistry**, 78: 457-461.

- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M. 2002b. Free radical scavenging properties of wheat extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50: 1619-1624.
- Zhokhov, S.S., Broberg, A., Kenne, L. and Jastrebova, J. 2010. Content of antioxidant hydroquinones substituted by  $\alpha$ -1,6 linked oligosaccharides in wheat milled fractions, flours and breads. **Food Chemistry**, 121: 645-652.
- Zhu, K. and Zhou, H. 2005. Purification and characterization of a novel glycoprotein from wheat germ water-soluble extracts. **Process Biochemistry**, 40: 1469-1474.
- Zhu, K., Zhou, H., Qian, H. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. **Elsevier**. 41: 1296-1302.
- Zhu, K.X., Zhou, H.M., Qian, H.F. 2006. Proteins extracted from defatted wheat germ: nutritional and structural properties. **Cereal Chemistry**, 83: 69-75.
- Zhu, K.X., Lian, C.X., Guo, X.N., Peng, W. and Zhou, H.M. 2011. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. **Food Chemistry**, 126: 1122-1126.
- Zulueta, A., Esteve, M.J., Frigola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, 114: 310-316.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fatma ÇETİNYÜREK  
Doğum Yeri ve Tarihi : TURGUTLU/1985

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,  
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### a) Makaleler

-SCI  
-Diğer

#### b) Bildiriler

##### -Uluslararası

1. Yavaş R., Çetinyürek F., Uygun, D.A., Karagözler, A.A. Investigation of antioxidant properties of *Arbutus unedo* L. Fruit. 6<sup>th</sup> Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, 18-22 Nisan 2010, Antalya.

2. Çetinyürek F., Yavaş R., Uygun, M., Karagözler, A.A. Investigation of antioxidant properties of *Myrtus communis* fruit . 6<sup>th</sup> Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, 18-22 April, Antalya.

##### -Ulusal

1. Yavaş R., Çetinyürek F., Karagözler, A.A. Karbonik Anhidraz enziminin bezelye (*Pisum sativum*) tanelerinden kısmi saflaştırılması. Kromatografi 2009 Kongresi, 26-29 Eylül 2009, Trabzon.

**c) Katıldığı Projeler**

1. “Buğday Ruşeymi ve Buğday Ruşeym Yağının Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi”. ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu. Proje No: 11029 Proje araştırıcısı.

**İÇ DENEYİMİ -****İLETİŐİM**

E-posta Adresi : fatmacetinyurek@gmail.com  
Tarih : 21.12.2011