

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2015-YL-042

**DENİZ BÖRÜLCESİNİN (*Sarcocornia perennis* L.)
ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİNİN VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Merve TÜNEK

Tez Danışmanı

Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Merve TÜNEK tarafından hazırlanan “Deniz Börülcesinin (*Sarcocornia perennis* L.) Antioksidan Parametrelerinin ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı tez, 09.07.2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. Tülin AYDEMİR	CBÜ	
Üye : Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye : Doç. Dr. Kubilay METİN	ADÜ	

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

Prof. Dr. Aydın ÜNAY
Enstitü Müdürü

T.C.
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.

09/07/2015

Merve TÜNEK

ÖZET

DENİZ BÖRÜLCESİNİN (*Sarcocornia perennis* L.) ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİNİN VE ANTIMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Merve TÜNEK

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2015, 135 sayfa

Deniz kıyılarında yetişen halofit (tuz seven=tuzcul) bitkiler beslenme, medikal amaçlı ve yüksek tuz içeriği nedeniyle ilk çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmaktadır. Bu çalışmada İzmir Karşıyaka sahilinden toplanan deniz börülcesi bitkisinden iki farklı yöntemle (açıkta kurutma ve liyofilizasyon ile kurutma) hazırlanan örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Antioksidan aktivitenin göstergesi olarak DPPH radikali süpürücü aktivite tayini, toplam fenolik bileşik tayini, toplam flavonoid tayini, toplam flavonol tayini, indirgeme gücü tayini, total antioksidan aktivite tayini, süperoksit radikali süpürücü aktivite tayini, kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) tayini, oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) tayini ve hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini çalışılmıştır. Bitki örneği hazırlama yöntemleri karşılaştırıldığında liyofilizatörde hazırlanan örneklerin aktivitesi genel olarak yüksek bulunmuştur. Öte yandan sentetik radikal kullanan antioksidan aktivite yöntemlerinde (DPPH, CUPRAC, ORAC) ekstraktların antioksidan aktiviteleri düşük bulunurken biyolojik sistemlerde bulunan gerçek radikallere (hidroksil ve süperoksit) karşı koruyucu etkileri standart antioksidanlarla kıyaslanacak oranda yüksek bulunmuştur. Ayrıca, ekstraktların lipid peroksidasyonunu önleme kapasitesinin bir ölçüsü olarak total antioksidan kapasitesi tayin sonuçlarına göre de ekstraktların antioksidan kapasiteleri oldukça yüksek bulunmuştur. Ekstraktların total fenolik bileşik, total flavonoid ve total flavonol içerikleri de belirlenmiştir. Çalışmada, deniz börülcesi örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri de agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile ölçülmüş ve incelenen ekstraktların bazılarının Gram (+) (*M. luteus* ve *S. aureus*) veya Gram (-) (*E. coli*) bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterme kapasitesinin olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deniz börülcesi, DPPH, CUPRAC, ORAC, total antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PARAMETERS AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF GLASSWORT

(*Sarcocornia perennis* L.)

Merve TÜNEK

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Alev KARAGÖZLER

2015, 135 pages

Halophyte plants from seashore are used by humans for nutrition, medical purposes and high salt content. In this work, glasswort species collected from İzmir Karşıyaka seashore were subjected to two different drying methods (by lyophilization and air drying) and infusion extracts of the dried plant were investigated for their antioxidant and antimicrobial properties. DPPH radical scavenging activity, total phenolics, total flavonoids, total flavonols, reducing power, total antioxidant activity, superoxide radical scavenging activity, cupric ion reducing antioxidant capacity (ORAC) and hydroxyl radical scavenging activity. When compared, activities of the samples prepared via lyophilization were generally found higher. Additionally, activities of the extracts toward methods using synthetic radicals (i.e. DPPH, CUPRAC, ORAC) were found to be low whereas protection effects of the extracts towards radicals that exist in biological systems were high enough to compare with standard antioxidants. Moreover, as a measure of protection from lipid peroxidation, total antioxidant capacities of the extracts were found to be notably high. Total phenolics, total flavonoids and total flavonol contents of the extracts were also determined. In this study, antimicrobial activities of glasswort samples were also determined using agar well diffusion method and it was determined that some of the extracts demonstrated antimicrobial activity towards Gram (+) (*M. luteus* and *S. aureus*) and Gram (-) (*E. coli*) bacteria.

Keywords: Glasswort, DPPH, CUPRAC, ORAC, Total antioxidant activity, antimicrobial activity

ÖNSÖZ

Öncelikle bu projenin planlanması, çalışılması ve yürütülmesinde her türlü maddi, manevi desteğini ve değerli bilgilerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Yüksek lisans dönemimde olduğu gibi hayatımın her anında, her kararında beni sabırları ve kocaman sevgileriyle maddi ve manevi olarak destekleyen annem Nihal TÜNEK'e, babam Süleyman TÜNEK'e ve müstakbel eşim Sinan SEZGİN'e ve tüm aileme minnetle teşekkür ederim.

Önce değerli hocam olarak deneylerimde değerli bilgi ve tavsiyeleriyle bana içtenlikle yardımcı olan, yakın arkadaşım olarak ise bana çok büyük manevi destek veren Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER' e ve bana da annelik yapan Nezahat YAVAŞER'e içtenlikle teşekkür ederim. Deniz börülcesinin taksonomik olarak türünün belirlenmesinde çok yardımcı olan Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Özkan EREN ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet Emre YAPRAK hocalarıma teşekkürlerimi içtenlikle sunarım. Deneylerimin yapılış aşamalarında yardımlarını, bilgilerini, samimiyetlerini, güler yüzlerini ve sabırlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Hacı Halil BIYIK, Doç. Dr. Kubilay METİN, Arş. Gör. Rukiye GÜMÜŞADA FIRINCI ve Arş. Gör. Erkan FIRINCI'ya gönülden teşekkür ederim. Antimikrobiyal Aktivite Tayini deneyinde içtenlikle değerli bilgilerini aktaran, sabırla bana yol gösteren ve çalışma ortamı sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL'e ve deneyin yapılmasında büyük katkısı olan, yardımını ve samimiyetini esirgemeyen Ayşe ALKIŞ'a yardımlarından dolayı minnettarım. Bana laboratuara gelmeyi sevdiren, laboratuvarımızın çalışma ortamının huzurlu olmasını ve moralimin her daim yüksek olmasını sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Murat UYGUN ve Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN ve çok sevdiğim çalışma arkadaşlarım Pelin ALPAY, Aylin YURDAGÜL, Bernis GİRGİN, Begüm AKDUMAN, Çağdaş SUNNA, ve Onur KORKMAZ'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmaya “Deniz Börülcesinin (*Sarcocornia perennis*) Antioksidan Parametrelerinin ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı FEF-14025 No'lu araştırma projesi olarak maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve olanaklarından yaralandığım Kimya Bölümü'ne teşekkür ederim.

Merve TÜNEK

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller, Oksidasyon ve Oksidatif Stres	2
1.1.1. Serbest Radikaller İlgili çalışmaların Tarihçesi	4
1.1.2. Serbest Radikal Türleri	4
1.1.3. Serbest Radikallerin Kaynağı ve Oluşum Mekanizmaları	6
1.1.4. Oksidatif Stres	8
1.2. Antioksidanlar, Antioksidan Savunma Sistemleri ve Sınıflandırılmaları	9
1.2.1. Doğal Antioksidanlara Örnekler	13
1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	14
1.2.1.2. Glutatyon peroksidaz (GPx)	15
1.2.1.3. Glutatyon redüktaz (GR).....	15
1.2.1.4. Katalaz	16
1.2.1.5. Askorbik asit (Vitamin C).....	17
1.2.1.6. Tokoferol (Vitamin E).....	18
1.2.1.7. Koenzim Q	18
1.2.1.8. Mineraller	19

1.2.1.9. Karotenoidler	20
1.2.1.10. Fenolik Bileşikler	20
1.2.2. Sık Kullanılan Antioksidanlara Örnekler	29
1.2.2.1. Sentetik antioksidanlar	29
1.2.2.2. Doğal antioksidanlar	30
1.3. Antimikrobiyaller	32
1.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	34
1.4.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH).....	36
1.4.2. Total Fenolik Bileşik Tayini	38
1.4.3. Total Flavonoid Tayini	39
1.4.4. Total Flavonol Tayini	39
1.4.5. İndirgeme Gücü Tayini.....	39
1.4.6. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC).....	40
1.4.7. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....	41
1.4.8. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC).....	41
1.4.9. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Tayini (ORAC)	42
1.4.10. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....	44
1.4.11. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC).....	46
1.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	47
1.5.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	48
1.5.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi	49
1.5.3. Biyootografi.....	49
1.5.4. Tüp Dilüsyon Yöntemi	49
1.5.5. Agar Dilüsyon Yöntemi	50
1.6. Deniz Börülcesi Hakkında Genel Bilgi	50
2. KAYNAK ÖZETLERİ	53

2.1. Yüksek Antioksidan ve/veya Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Bitki Çalışmasına Örnekler	53
2.2. Antioksidan ve antimikrobiyal Aktivite Tayini Yapılan Deniz Börülcesi Çalışmalarına Örnekler	54
3. MATERYAL VE YÖNTEM	60
3.1. Kimyasal ve Cihazlar	60
3.2. Yöntem.....	61
3.2.1. <i>Sarcocornia perennis</i> Bitkisinin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması	61
3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH).....	62
3.2.3.Total Fenolik Bileşik Tayini	62
3.2.4. Total Flavonoid Tayini.....	63
3.2.5. Total Flavonol Tayini	63
3.2.6. İndirgeme Gücü Tayini	63
3.2.7. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)	64
3.2.8. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini	64
3.2.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)	65
3.2.10. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Tayini (ORAC).....	65
3.2.11. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini	65
3.2.12. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	66
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	67
4.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)	67
4.2. Total Fenolik Bileşik Tayini	72
4.3. Total Flavonoid Tayini.....	76
4.4. Total Flavonol Tayini	80
4.5. İndirgeme Gücü Tayini	83
4.6. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)	86

4.7. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....	89
4.8. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC).....	91
4.9. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Tayini (ORAC)	95
4.10. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....	104
4.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	107
5. SONUÇ	112
KAYNAKLAR.....	116
ÖZGEÇMİŞ.....	132

SİMGELER DİZİNİ

AAPH	[2,2'-Azo-bis (2-aminodipropan) dihidroklorür]
ABTS	[2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu]
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHI	Brain Heart Infusion
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
CUPRAC	Kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikril hidrazil
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ET	Elektron transferi
FRAP	Demir (III) indirgeyici antioksidan güç
FTC	Ferrik tiyosiyanat metodu
GPx	Glutatyon peroksidaz
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HAT	Hidrojen atomu transferi
KoQ10	Koenzim Q10
MDA	Malonildialdehit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT	Nitroblue tetrazolyum
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasitesi
PGR	Pirogallol red
PMS	Fenazin metasülfat
RE	Rutin eşdeğeri

ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TBA	Tiyobarbitürik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antioksidan bileşiklerin sınıflandırılması	12
Şekil 1.2. DPPH'in antioksidan bileşikler ile arasındaki reaksiyon.....	38
Şekil 1.3. NBT ²⁺ 'nin süperoksit radikalleri ile formazan formuna dönüşüm reaksiyonu.....	42
Şekil 1.4. Bakır (II) neokuproin şelatının antioksidan bileşik tarafından bakır (I) neokuproin şelatına indirgenme reaksiyonu.....	43
Şekil 1.5. PGR ile antioksidan bileşiğin APPH serbest radikali ile yarışmalı reaksiyonu.....	44
Şekil 1.6. Deoksiribozun hidroksil radikallerine maruz kalması ile TBA reaktif MDA formuna dönüşmesi reaksiyonu	46
Şekil 1.7. ABTS• ⁺ radikalinin antioksidan bileşik tarafından ABTS formuna indirgenme reaksiyonu	48
Şekil 1.8. İzmir Karşıyaka Mavişehir Bölgesi'ndeki Atatürk Organize Sanayi Kanalı Deresi'nin denize dökülen bölgenin civarındaki çeşitli deniz börülcesi türleri.....	51
Şekil 1.9. Halofitlerin anatomisi	53
Şekil 4.1. <i>S. perennis</i> liyofilizatörde kurutulmuş ekstraktların DPPH radikali süpürme aktivilerinin kinetik eğrileri	71
Şekil 4.2. <i>S. perennis</i> açıkta kurutulmuş ekstraktların DPPH radikali süpürme aktivilerinin kinetik eğrileri	72
Şekil 4.3. <i>S. perennis</i> ekstraktlarının lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması	73
Şekil 4.4. Standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması	73
Şekil 4.5. Total Fenolik Bileşik tayini için hazırlanan rutin bileşiği standart kalibrasyon grafiği.....	76
Şekil 4.6. Total Fenolik Bileşik tayini için hazırlanan gallik asit standart kalibrasyon grafiği	76

Şekil 4.7. <i>S. perennis</i> ekstraktlarındaki rutin eşdeğeri olarak total fenolik bileşik miktarlarının karşılaştırılması	78
Şekil 4.8. Total Flavonoid Tayini için hazırlanan rutin bileşiği standart kalibrasyon grafiği.....	80
Şekil 4.9. <i>S. perennis</i> ekstraktlarının rutin eşdeğeri olarak total flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması	81
Şekil 4.10. Total Flavonol Tayini için hazırlanan rutin bileşiği standart kalibrasyon grafiği.....	83
Şekil 4.11. <i>S. perennis</i> ekstraktlarının rutin eşdeğeri olarak total flavonol içeriklerinin karşılaştırılması	85
Şekil 4.12. Farklı derişimlerdeki askorbik asitin 700 nm'deki absorbands grafiği	87
Şekil 4.13. <i>S. perennis</i> ekstraktlarının % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması	88
Şekil 4.14. Standart antioksidanların % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması	89
Şekil 4.15. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin, linoleik asit peroksidasyonunu inhibe etmelerinin zamana bağlı değişimi	90
Şekil 4.16. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin, linoleik asit peroksidasyonunu % inhibisyonu ile ölçülen Total Antioksidan Aktivitelerinin karşılaştırılması	91
Şekil 4.17. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini için 560 nm'deki absorbands değerlerinin karşılaştırılması	93
Şekil 4.18. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için standart antioksidanların farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbands değerleri	95
Şekil 4.19. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için <i>S. perennis</i> (liyofilizatörde kurutulmuş) ekstraktlarının farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbands değerleri.....	95

- Şekil 4.20. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* (açıkta kurutulmuş) ekstraktlarının farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbans değerleri..... 96
- Şekil 4.21. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* ekstraktlarının farklı derişimlerine karşı elde edilen TEAC_{CUPRAC} değerlerinin karşılaştırılması 97
- Şekil 4.22. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için Standart antioksidanların farklı derişimlerine karşı elde edilen TEAC_{CUPRAC} değerlerinin karşılaştırılması..... 97
- Şekil 4.23. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki Troloks'un pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 99
- Şekil 4.24. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde Troloks'un farklı derişimlerine karşı elde edilen R⁰/R değerleri 99
- Şekil 4.25. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki BHT'nin pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 100
- Şekil 4.26. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki rutin pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 100
- Şekil 4.27. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki gallik asitin pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 101
- Şekil 4.28. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* liyofilize edilmiş metanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 101
- Şekil 4.29. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* liyofilize edilmiş etanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 102
- Şekil 4.30. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* liyofilize edilmiş su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 102

- Şekil 4.31. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* liyofilize edilmiş demleme su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri..... 103
- Şekil 4.32. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* açıkta kurutulmuş metanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri..... 103
- Şekil 4.33. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* açıkta kurutulmuş etanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik..... 104
- Şekil 4.34. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* açıkta kurutulmuş su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri 104
- Şekil 4.35. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* açıkta kurutulmuş demleme ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri..... 105
- Şekil 4.36. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde *S. perennis* ekstraktlarının TEAC_{ORAC} değerlerinin karşılaştırılması..... 106
- Şekil 4.37. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde standart antioksidanların TEAC_{ORAC} değerlerinin karşılaştırılması 106
- Şekil 4.38. *S. perennis* liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asitin hidroksil radikali süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri..... 108
- Şekil 4.39. *S. perennis* liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asitin hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri için lineer regresyon analizi hesaplanan IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması 109
- Şekil 4.40. *E. coli* bakterilerine karşı *S. perennis* açıkta kurutulmuş etanol ekstraktının (1mg/mL) inhibisyon zon çapı (8 mm)..... 110
- Şekil 4.41. *M. Luteus* bakterilerine karşı *S. perennis* liyofilize edilerek kurutulmuş metanol ekstraktının (10 mg/mL) inhibisyon zon çapı (14 mm) 110

- Şekil 4.42. *S. aureus* bakterilerine karşı *S. perennis* açıkta kurutulmuş etanol ekstraktı (10 mg/mL) (Eks. 1, soldaki), ve gallik asitin(10 mg/mL) (Eks. 3, sağdaki)inhibisyon zon çapları (sırası ile10 ve 8 mm) 111
- Şekil 4.43. *S. marcescens* bakterilerine karşı *S. perennis* liyofilize edilerek kurutulmuş demleme su ekstraktının (1 mg/mL) inhibisyon zon çapı (10 mm) 111
- Şekil 4.44. *S.marcescens* bakterilerine karşı *S. perennis* gallik asitin (10 mg/mL) inhibisyon zon çapı (10 mm)..... 112

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Oksidatif strese neden olan belli başlı reaktif türler.....	5
Çizelge 1.2. Serbest radikallerin kaynakları.....	6
Çizelge 1.3. Karbon zincirlerine göre sınıflandırılmış fenolik bileşikler.....	22
Çizelge 4.1. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanların IC ₅₀ değerleri.....	72
Çizelge 4.2. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) ve gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak total fenolik bileşik değerleri.....	77
Çizelge 4.3. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) olarak total flavonoid bileşik değerleri	81
Çizelge 4.4. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) olarak total fenolik bileşik değerleri	81
Çizelge 4.5. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve diğer standart antioksidan bileşiklerin % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerleri	88
Çizelge 4.6. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri	91
Çizelge 4.7. <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin süperoksit radikali süpürücü aktivite tayini için 560 nm'deki absorbands değerleri	93
Çizelge 4.8. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin 560 nm'deki absorbands değerleri	96
Çizelge 4.9. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde <i>S. perennis</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin TEAC _{ORAC} değerleri	105

- Çizelge 4.10. *S. perennis* liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asit için lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC₅₀ değerleri 108
- Çizelge 4.11. *S. perennis* ekstraktlarının ve gallik asitin agar kuyucuk difüzyon yönteminin uygulanması ile ölçülen inhibisyon zon çapları 114
- Çizelge 4.12. Liyofilizatörde kurutulmuş *S. perennis* ekstraktları ve standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite antimikrobiyal özellik tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri..... 116
- Çizelge 4.13. Açıkta kurutulmuş *S. perennis* ekstraktları ve standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite antimikrobiyal özellik tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri..... 117

1. GİRİŞ

Son yıllarda epidemiyolojik çalışmalara dayanılarak beslenmenin kanser, koroner kalp hastalıkları, obezite, diyabet tip 2, hipertansiyon ve katarakt gibi kronik hastalıkların tedavisinde önemli bir role sahip olduğu ifade edilmektedir. Ağırlıklı olarak bitkisel beslenme düzeninin bu tür birçok kronik hastalıkların gelişimini önlediği yönündeki genel kanıya varılmıştır (Halvorsen vd., 2002).

Hastalıklara karşı korunmayı ve/veya hastalıkları önlemeyi çoğunlukla bitkilerde bulunan (esansiyel) antioksidan bileşiklerin sağladığı düşünülmektedir (Halvorsen vd., 2002). Bitkisel antioksidanlar insan sağlığının daha iyi olmasına katkıda bulunan hayati öneme sahip bileşiklerdir ve günlük olarak tüketilmeleri tavsiye edilir (Benbrook, 2005). Hastalıkların tedavi edilmesinde geleneksel tıbbi yöntemlerin yanında antimikrobiyal özelliklere sahip olan bitkilerin bir kısmının ham ekstraktlarının kullanımı önemlidir (Selvamohan vd., 2012).

Aromatik ve tıbbi bitkilerin hem patojenlere hem de hücrel oksidasyonlara karşı, antioksidan ve antimikrobiyal etki gösteren çeşitli moleküllerin kaynağı olduğunu ispatlayan çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu yüzden, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyellerini görebilmek için tıbbi bitkilerin farklı türlerinin karakterize edilmesi önemlidir (Şengül vd., 2009).

Sağlığın korunmasında, vücutta oluşan hasarları tam olarak önlemek için endojen antioksidan savunması (süperoksit dismutaz, H_2O_2 süpürücü enzimler, metal bağlayıcı proteinler) yetersizdir, bu yüzden dışarıdan alınan (esansiyel) antioksidanlar önemlidir (Halliwell, 1996). Daha fazla sebze ve meyve tüketimi, antioksidan alımını arttırmak için en iyi yollardan biridir; bir sonraki uygun yol ise antioksidan bileşikler bakımından zengin gıdaları araştırmaktır (Benbrook, 2005). Bundan dolayı son yıllarda dokulara zarar veren serbest radikallerin indirgenmesinde antioksidan olarak bitkilerin iyileştirici özelliklerine karşı ilgi artmıştır (Pourmorad, 2006).

Hem epidemiyolojik hem de klinik çalışmalar ile tahıl, meyve ve sebzelerde oluşan fenolik antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerin varlığı kanıtlanarak kronik ve dejeneratif hastalıkların azaltılmasında önemli derecede katkıda bulunulmuştur (Shaidi, 2000). Ayrıca pek çok farklı bitki yeni antioksidanların keşfi için incelenmiştir. Fakat hala bitki türlerinin antioksidan kapasitelerine

ilişkin daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır (Pourmorad, 2006). Mikroorganizmaların zamanla ilaçlara karşı direncinin artması ve bunların yeni üyelerine aktarmaları sonucu, antimikrobialların kullanım ömrü sınırlanmakta ve yeni antimikrobiyal maddelere olan ihtiyaç sürekli olmaktadır. Böylece, bitkiler yeni antimikrobiyal arayışında her zaman, klinik mikrobiyologlar için kaçınılmaz altyapıyı oluşturmaktadır ve sürekli incelenmelerine ihtiyaç vardır (Erdoğan, 2013).

Son yıllarda biyolojik örneklerde, bitki ve besin örneklerinde antioksidan aktiviteyi/kapasiteyi ölçmek için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Tüm çalışmalar göstermektedir ki bir örneğin antioksidan kapasitesi, tayini için kullanılan yöntemle göre farklılıklar göstermektedir. Bunun nedeni, kullanılan yöntemin kimyasına antioksidan örneğin verdiği cevabın farklı olmasıdır. Karşılaştırma yapabilmek için bir seri örnek farklı yöntemlerle analiz edildiğinde bir antioksidan bileşiğin bir yöntemle ölçülen antioksidan kapasitesinin diğer bir yöntemle ölçülene kıyasla farklı olabileceği gözlenmektedir; örneğin TEAC yöntemi ile en yüksek aktiviteyi gösteren örnek FRAP ile seri içinde ikinci üçüncü sıraya düşebilmektedir. Bu nedenle de bir örnekte antioksidan kapasitesi tayini en az iki; tercihen üç, dört yöntem kullanılarak yapılmalıdır ve diğer bileşiklerle karşılaştırılması gereklidir (Çetinyürek, 2012)

1.1. Serbest Radikaller, Oksidasyon ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller herhangi bir biyokimyasal süreç için önemlidirler ve aerobik yaşam ve metabolizmanın önemli bir kısmını temsil ederler (Panchawat, 2010). Vücuttaki biyokimyasal reaksiyonlar, bazı hastalıklara yol açan, hücrelere zarar verebilecek önemli biyomoleküller olan serbest radikalleri (reaktif oksijen türleri) kaçınılmaz olarak oluştururlar (Bhatt ve Negi, 2012).

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan, düşük aktivasyon enerjisine sahip, kısa ömürlü küçük moleküllerdir (Koca ve Karadeniz, 2013; Yavaşer, 2011). Serbest radikallerin reaktivitesi, eşleşmemiş elektronun bir elektron kazanma isteğinden kaynaklanır ve eşleşmemiş elektronlar biyolojik önemi olan birçok atomda bulunabilirler; oksijen, kükürt, karbon, hidrojen veya azot merkezli radikaller oluşabilir (Deaton ve Marlin, 2003; Delibaş ve Özçankaya, 1995).

Eşleşmemiş elektronlar, büyük bir reaktivite kazandırdıkları serbest radikallerin protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna, yararlı biyomoleküllerin fonksiyonlarını yitirmesine ve ayrıca hasar görmüş ya da yaşlanan hücrelerin daha fazla serbest radikal ürettiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Delibaş ve Özçankaya, 1995; Gümüştas ve Atıkeren, 2008; Koca ve Karadeniz, 2013).

İnsan vücudu enerji üretmek için oksijen ve hidrojeni kullanır. Enerji üretimi için yakıt olarak soluduğumuz havadaki oksijene sürekli olarak ihtiyacımız vardır. Gerekli hidrojeni ise, aldığımız gıdaların hücrelerimizde emilmesi ve sindirilmesi sonucunda üretiriz (Anonim 10).

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır ve en önemlileri de oksijenden türeyenlerdir (Delibaş ve Özçankaya, 1995; Öğüt ve Atay, 2012). Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı olan maddelerde temel element olması, aerobik canlılardaki oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarında ve solunumda rol oynaması nedeniyle önemlidir (Kayış, 2010). İnsan yaşamı için çok önemli olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (Koca ve Karadeniz, 2013).

Metabolik süreçte atomlar elektron kaybedebilirler. Kaybedilen bu eşleşmemiş elektronlar zaman zaman oksijen tarafından kabul edilirler. Bu süreç **oksidasyon** olarak adlandırılır, çünkü bu olay oksijen tarafından gerçekleştirilmiştir (Anonim 10). Oksidasyon, birçok canlı organizmadaki biyolojik sürecin gerçekleşmesi için gereken enerjinin üretiminde temel bir gereksinimdir (Şen, 2011).

Oksidasyon süreci sonunda, serbest bir radikal olarak yeni bir reaktif oksijen atomu meydana gelir. Bu tip serbest radikaller metabolizma sürecinde sıklıkla üretilirler ve **reaktif oksijen türleri (ROS)** olarak adlandırılırlar (Anonim 10).

Hücrede (aerobik organizmalar) solunumla alınan oksijenin %90'dan fazlası oksidatif fosforilasyonun merkezi olan mitokondrilerde elektron taşıma zincirinde (ETZ) enerji üretimi için suya dönüştürülmek üzere tüketilirken geriye kalan %1-

3'ü reaktif oksijen türlerine (süperoksit ve hidroksil radikali) dönüşür (Gümüştas ve Atukeren, 2008; Kayış, 2010; Öğüt ve Atay, 2012).

Serbest radikaller hücrelerde normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluşabildiği gibi, dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır (Gümüştas ve Atukeren, 2008). Kirliliğe maruz kalma, zararlı güneş ışınları, toksik maddeler, radyasyon ve sigara gibi diğer faktörler serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Bu faktörlere sürekli maruz kalmak kontrol edilemeyen serbest radikallerin oluşumuna yol açar ve kronik hastalıklar artış gösterir (Anonim 10).

Serbest radikal hasarının meydana geldiği en önemli bölgelerden birisi çift tabakalı fosfolipid yapıdaki hücre membranıdır. Serbest radikal hasarının meydana geldiği diğer bölgeler ise düşük yoğunluklu lipoproteinler, hücre proteinleri ve DNA'dır (Anonim 10).

1.1.1. Serbest Radikaller ile İlgili Çalışmaların Tarihçesi

Moses Gomberg' in çalışmaları ile birlikte serbest radikallere ilgi başlamıştır. Moses Gomberg 1900 yılında ilk olarak trifenilmetil (Ph_3C) radikalinin varlığını ortaya koymuştur. İkinci Dünya Savaşı (1939-1945) olayları ise "**serbest radikal biyokimyası**"nın ortaya çıkışına doğrudan etkili olmuştur. İkinci Dünya Savaşı'nın son yılında (1945) Hiroşima ve Nagasaki'ye atılan atom bombaları tüm halk üzerinde ağır ölümlere neden olmuş ve hayatta kalanların yaşam süresi kısalmıştır. Gershman ve Gilbert 1954 yılında, oksijen zehirlenmesinin ve iyonlaştırıcı radyasyon hasarının öldürücü etkilerinin reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ile ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir ve 1960'lı yıllarda reaktif oksijen türlerinden biri olan süperoksit radikalini bulmuşlardır. O zamandan beri serbest radikaller reaktif oksijen ve reaktif azot türleri (ROS ve RNS) olarak kötü anlamda ün kazanmışlardır (Auroma, 1998; Devasagayam vd., 2004).

1.1.2. Serbest Radikal Türleri

Halojen atomlar, oksijen metabolizması ara ürünleri olan oksijen türleri, Cl veya Br gibi tek atomlu yapılar, Na, K gibi alkali metal atomları, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO, NO_3 gibi atom kombinasyonları radikaller olarak sınıflandırılmaktadır. Negatif yüklü, pozitif yüklü veya nötral olabilen serbest radikaller dış orbital konfigürasyonunun yanı sıra termodinamik yapıları ve lokal kinetik aktiviteleri göz önünde bulundurularak değerlendirilir (Kayış, 2010).

Canlı organizmalardaki önemli serbest radikaller, hidroksil ($\text{OH}\cdot$), süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$), nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) ve peroksildir ($\text{RO}_2\cdot$). Peroksinitrit (ONOO^-), hipokloröz asit (HOCl), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve ozon (O_3) serbest radikal değildir fakat canlı organizmalarda kolayca serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilirler. “**Reaktif oksijen türleri**” terimi sadece $\text{OH}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$, $\text{NO}\cdot$, ve $\text{O}_2\cdot^-$ radikallerini değil, radikaller gibi zincir reaksiyonların başlatılması ve/veya ilerletilmesinde yer alan, fakat radikal olmayan HOCl , $^1\text{O}_2$, ONOO^- , O_3 ve H_2O_2 gibi bileşikler de ifade ettiğinden, bu türlerin hepsi için kullanılan genel bir terimdir (Auroma, 1998; Kumar, 2011).

Oksidatif strese neden olan belli başlı reaktif türler Çizelge1.1.'de listelenmiştir.

Çizelge1.1. Oksidatif strese neden olan belli başlı reaktif türler.

	Radikal Olanlar	Radikal Olmayanlar
Reaktif Oksijen Türleri (RCS)	Süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$) Hidroksil ($\text{OH}\cdot$) Hidroperoksil ($\text{HO}_2\cdot$) Lipid peroksil ($\text{LO}_2\cdot$) Lipid alkoksil ($\text{LO}\cdot$) Peroksil ($\text{RO}_2\cdot$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2) Hipobromöz asit (HOBr) Ozon (O_3) Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) Lipid peroksit (LOOH) Peroksinitrit (ONOO^-)
Reaktif Azot Türleri (RNS)	Nitrik/Nitröz oksit ($\text{NO}\cdot$) Azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$)	Peroksinitrit (OONO^-) Peroksinitröz asit (ONOOH) Nitroksil (NO^-) Nitril klorür (NO_2Cl) Nitrozil Katyonu (NO^+) Nitril katyonu (NO_2^+) Diazot trioksit (N_2O_3) Diazot tetraoksit (N_2O_4) Nitröz asit (HNO_2) Alkil peroksinitritler (ROONO)
Reaktif Klorür Türleri (RCS)	Atomik klor ($\text{Cl}\cdot$) Trikloro metil ($\text{CCl}_3\cdot$)	Hipokloröz asit (HOCl) Nitril klorür (NO_2Cl) Kloraminler

(Cihaner, 2009; Çetinyürek, 2012; Yavaşer, 2011)

1.1.3. Serbest Radikallerin Kaynağı ve Oluşum Mekanizmaları

Hücrede ve çevrede sürekli olarak oluşan serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklı olabilirler. Serbest radikallerin başlıca farklı kaynakları aşağıda listelenmiştir.

Çizelge1.2. Serbest radikallerin kaynakları.

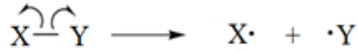
Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
<ul style="list-style-type: none"> * Mitokondrial elektron transport zinciri * Endoplazmik retikulum * Araşidonik asit metabolizması * Redoks döngüsü * Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar vs.) ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar * Ksantin Oksidaz, NADPH Oksidaz, Sitokrom Oksidaz vs. enzimler * Lipid peroksidasyonu * Otooksidasyon reaksiyonları * Metal katalizli reaksiyonlar 	<ul style="list-style-type: none"> * Diyet faktörleri (pişirme sürecinde organik maddelerin yanması, alkol ve sigara tüketimi vb.) * Çevresel Faktörler (hava kirliliği, endüstriyel atıklar) * İlaçlar, ksenobiyotikler, fungal toksinler, bazı metal iyonları, asbest minerali * Zararlı ışınlar (UV, X-ray, gama ray, mikrodalga) * Stres, heyecan gibi zihinsel durumlar ve duygular

(Gümüştaş ve Atukeren, 2008; Kumar, 2011; Sen vd, 2010)

Serbest radikallerin oluşumu iki genel reaksiyon türü ile gerçekleşir. Serbest radikaller bir moleküldeki kimyasal bağın, homolitik veya redoks reaksiyonu ile bölünmesiyle oluşturulurlar.

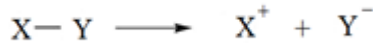
i. Homolitik Bölünme

İki tür bileşimin/atomun ya da aynı tür iki bileşimin/atomun arasındaki kovalent bağ, bu bağ kırabilecek uygun sıcaklık veya uygun enerjiye sahip ışığa maruz kaldığında homolitik olarak ayrışır ve böylece serbest radikaller oluşturulur.



ii. Redoks Tepkimesi

Kovalent bağlar, ya bir akseptörün donörden bir elektron alması ya da bir donörün bir akseptöre bir elektron vermesi ile gerçekleşen elektron transfer süreciyle redoks reaksiyonu ile kırılabilirler (Sen vd, 2010; Anonim 7).



Serbest radikallerin verdiği kimyasal reaksiyonları kısaca özetleyecek olursak:

I. Tek Moleküllü Radikal Reaksiyonlar: İlk oluşan radikaller kararsızlıklarından dolayı, karşılaştıkları bir diğer radikal ya da molekül ile reaksiyona girmeden önce tamamen ayrışabilirler ya da yeniden düzenlenebilirler.

II. Radikal-Molekül Etkileşimleri: Serbest radikaller, doymuş organik bir moleküldeki karbon atomundan ayrılan bir atomun yerine geçerek ya da doymamış organik bir moleküldeki C=C bağına katılarak katılma tepkimesi verebilirler. Ancak serbest bir radikalın radikal olmayan bir molekül ile reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkan ürün, yeni bir radikal üründür. Çünkü bu reaksiyonlar genellikle başlama, gelişme ve sonlanma basamaklarından oluşan zincir reaksiyonlardır ve reaksiyonların bir kısmı yeni bir döngü başlatabileceğinden, yeni bir radikal oluşumuna yol açarlar.

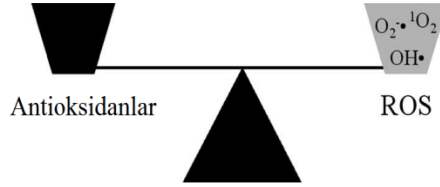
III. Radikal-Radikal Etkileşimleri: İki serbest radikal karşılaştığında, kovalent bağlı bir form oluşturup birleşmek üzere eşleşmemiş elektronlarını kullanabilirler; oluşan ürün radikal değildir (Halliwell, 1996; Sen vd, 2010; Auroma, 1998; Anonim 7).

1.1.4. Oksidatif Stres

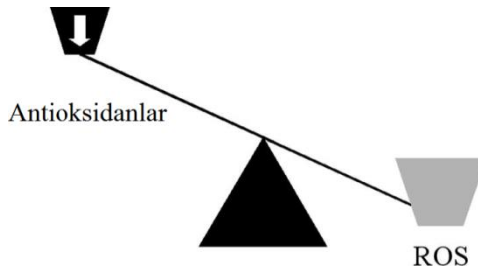
“**Oksidatif stres**” terimi reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve antioksidan savunma sisteminin dengesinin bozulması anlamına gelmektedir (Auroma, 1998; Çakatay ve Kayalı, 2006). Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “**prooksidan**” olarak tanımlanır (Çetinyürek, 2012). Oksidatif stres için bir başka deyişle “prooksidan/antioksidan dengesindeki bozukluk” tanımı da yapılabilir. Bu dengesizlik potansiyel hasarlara yol açar ve sıklıkla “**oksidatif hasar**” olarak adlandırılır. Oksidatif hasarın artışı sadece oksidatif stresten kaynaklanmaz, ayrıca sistemlerin yenilenmesi ya da onarılmasındaki başarısızlıktan da kaynaklanabilir (Halliwell, 2007).

Oksidatif stres, antioksidan savunma sistemi ile serbest radikaller arasındaki dengenin durumuna bağlı olarak farklı şiddetlerde olabilir.

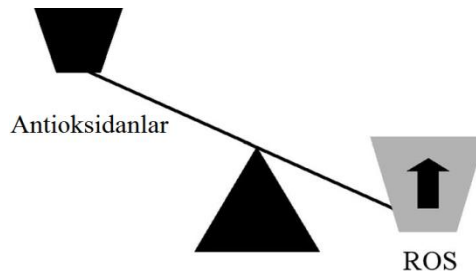
Normal koşullarda dinlenme sırasında ve sağlıklı bir hücrede ROS üretimi devam etmektedir. Fakat antioksidan savunma sistemleri tarafından dengeli bir şekilde “tamponlanmışlardır”. Böylece üretim ve ayrılma arasında bir denge vardır ve ROS üretiminde net bir artış yoktur. Bu aynı zamanda oksitlenmiş antioksidanların, ROS üretimi ile birlikte aynı düzeyde yeniden üretildiğini (yani indirgenildiğini) ifade eder.



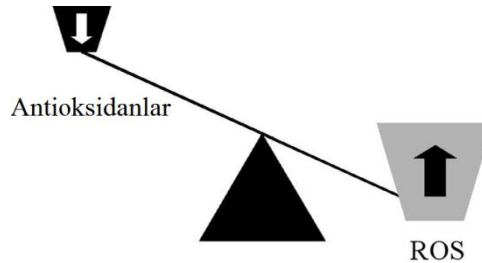
Oksidatif stres, antioksidan savunma sistemlerinin belirli bileşenlerindeki ya da genelindeki azalmadan dolayı ROS'nin üretiminde hiçbir artış olmadan oluşabilir.



Yeterli antioksidan kapasiteye rağmen ROS üretiminin artışı antioksidan sistemi bastırabilir.



Oksidatif stresin en şiddetli olduğu durum, hem antioksidan kapasitesinin azaldığı hem de ROS üretiminin artış gösterdiği durumdur. Belirli hastalık koşullarında bu durum yaşanır.



Oksidatif stresin varlığı direkt oksidatif hasar anlamına gelmez. Yalnızca oksidatif zararın belirtilerinin direkt ölçümü ile doğrulanabilirler (Christopher ve Marlin, 2003).

Serbest radikaller nedeniyle ortaya çıkan oksidatif stres, belirli hastalıklar/bozukluklar ile önemli ölçüde bağlantılıdır (Panchawat vd. 2010). Sağlıklı aerob hücrelerdeki bu reaktif türlerin oluşumu antioksidan savunma sistemleri tarafından neredeyse dengelenmiştir. Ancak bu denge mükemmel değildir, bununla birlikte bazı reaktif türlerin neden olduğu hasarlar sürekli olarak meydana gelmektedir (Halliwell, 2007).

1.2. Antioksidanlar, Antioksidan Savunma Sistemleri ve Sınıflandırılmaları

Antioksidanlar, *in vivo* koşullarda oluşan ve DNA'ların, lipidlerin, proteinlerin ve diğer biyomoleküllerin hasarına neden olan serbest radikallere (reaktif oksijen ve azot türleri) karşı aktivite gösterip onları süpürürler ya da oluşumlarını engellerler

(Halliwell, 1996). Antimikrobiyaller ise, mikroorganizmaları öldüren ya da gelişimlerini engelleyen ajanlardır (Anonim 4).

Klinik ve besin literatüründe serbest radikaller ve antioksidanlar oldukça tartışılmıştır. **Antioksidanlar**, in vivo koşullarda oluşan ve DNA'ların, lipidlerin, proteinlerin ve diğer biyomoleküllerin hasarına neden olan reaktif oksijen ve azot türlerine karşı aktivite gösterirler, oluşumlarını engellerler ya da oksitleyici zincir reaksiyonlarının başlamasını ya da ilerlemesini önleyerek diğer moleküllerin oksidasyonunu engellerler. Böylece insan vücudundaki oksidatif zararı azaltabilirler. Antioksidanlar reaktif oksijen (ROS) ve azot (RNS) türlerinin oluşumunu engellemek veya onları ortamdan uzaklaştırmak için gereklidirler (Halliwell, 1996; İsmail vd., 2004).

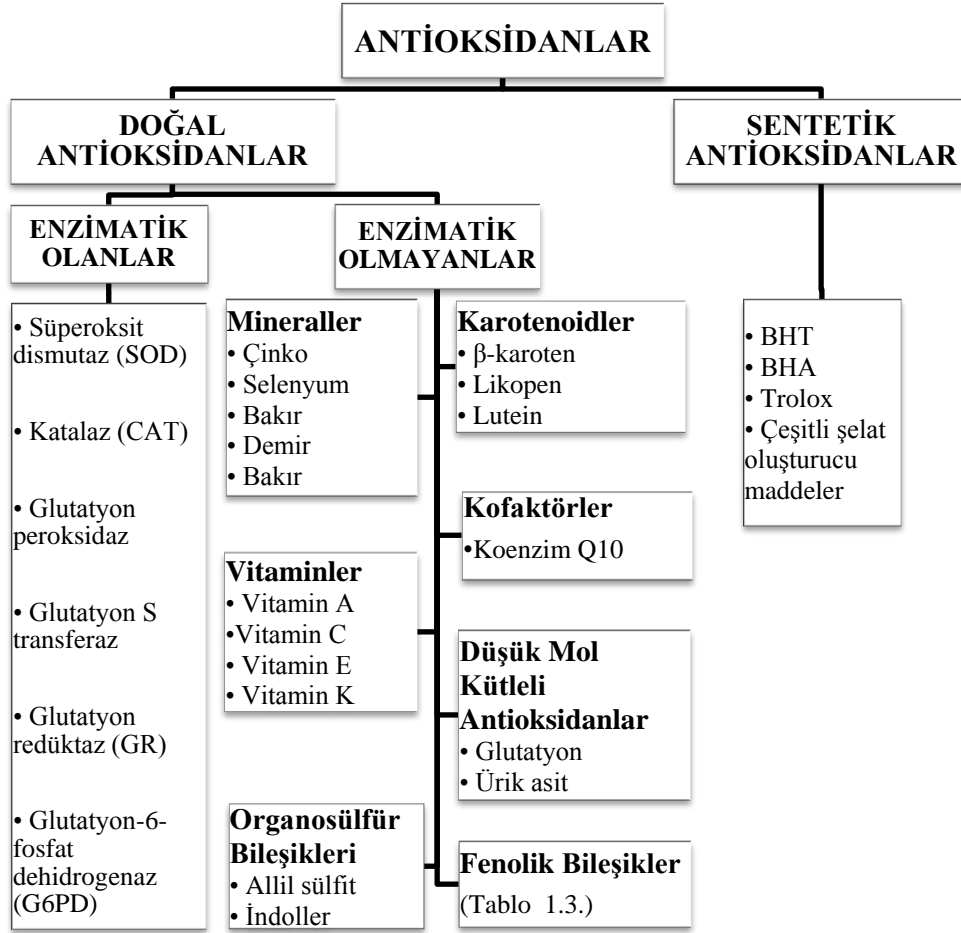
Reaktif oksijen türlerine karşı vücuttaki organ sistemlerinin ve hücrelerin korunması için, vücutta oldukça gelişmiş ve kompleks "**antioksidan savunma sistemleri**" mevcuttur (Percival, 1998). Fizyolojik koşullar altında, insan vücudunda reaktif oksijen türlerinin fazlasını elimine eden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon (GSH) gibi diğer **endojen** savunma sistemleri bulunur. Ancak endojen antioksidan savunma sistemlerimiz, canlı organizmalarda pek çok antioksidan mekanizmasında önemli bir rol oynayan vitaminler, mineraller, karotenoidler ve polifenoller gibi **eksojen** kaynaklı indirgen bileşikler olmadan görevlerini tam olarak yerine getiremezler ve yaş ilerledikçe düşüş gösterirler. Bu nedenle, oksidasyon lehine bir redoks durumunu temsil eden oksidatif strese karşı korunmak amacıyla eksojen antioksidanlara da sürekli olarak ihtiyaç vardır (Bouayed ve Bohn; 2010; Benbrook, 2005). Tüm aerobik organizmalar tarafından kullanılan bu savunma mekanizmaları, oksidasyonu önlemek/serbest radikalleri nötralize etmek için enzimatik ya da nonenzimatik olabilecek, hem *endojen* hem *eksojen* bazlı, sinerjik (ROS zehirli etkilerini gidermek üzere birlikte hareket edilmesi) ve interaktif fonksiyonları olan antioksidan savunma sisteminin bir kısmını kullanır (Gruzdienne vd., 2005; Percival, 1998).

Dokularda antioksidan savunma ajanlarının çeşitliliği, ROS zehirli etkilerini gidermek üzere birlikte hareket edilmesinde, oksidatif stres ile başa çıkmak için gelişmiştir (Atalay ve Lappalainen, 2015).

Antioksidanlar, oksidanların biyolojik hedeflerle reaksiyona girmesini, radikal zincir reaksiyonları oluşturmalarını ya da oksijenin oldukça reaktif ürünlere dönüşmesini önleyerek serbest radikallerin vereceği hasarı en aza indirmeye çalışırlar (Cihaner, 2009).

Antioksidanlar sentetik olarak elde edilebilirler ya da vücudumuzda ve bitkilerde doğal olarak bulunabilirler. Doğal antioksidanlar:

Katalitik aktivitelerine göre *enzimatik* ve *non-enzimatik* olarak incelenirler. **Enzimatik** antioksidanlar, hücre ve organ lokalizasyonlarının özgülüğü ve metal (Cu, Zn, Mn, Fe ve Se) kullanımları aracılığıyla belirli ROS türlerine karşı yönlendirilmiş etkilerinin yüksek seçicilikleri ile karakterize edilirler. Bu antioksidanların tipik üyeleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPO), glutatyon redüktaz (GR), glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), askorbat-glutatyon döngüsünün tüm enzimleri ve transferazlardır. **Nonenzimatik** antioksidan savunma sistemi ise, karotenoidler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), vitaminler (A, C, K ve E), mineraller (Se, Zn), askorbik asit (AA), indirgenmiş glutatyon (GSH), α -tokoferol, flavonoidler, organosülfür bileşikleri (allium, allil sülfid, indoller), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (GSH-Px, ürik asit), antioksidan ko-faktörler (ko-enzim Q₁₀), polifenoller ve diğerleri gibi böyle antioksidanlar tarafından ifade edilmişlerdir. Yukarıdaki tüm bileşikler ROS'ni enzimatik ya da nonenzimatik olarak nötralize edebilirler (Yılmaz, 2010).



Şekil 1.1. Antioksidan bileşiklerin sınıflandırılması

Antioksidan savunma sistemlerinin sınıflandırılması henüz mükemmel bir şekilde ayrıntılandırılmış değildir ve kapsamlı bir çalışma girişiminde bulunulmamıştır. Bu nedenle bu sistemlerin ulusal sınıflandırma kategorisi şimdiye dek mevcut olmamıştır. Fakat çeşitli özelliklerine göre çok sayıda sınıflandırma çalışmaları vardır. Bu sınıflandırmalardan birisi Şekil 1.1’de görülmektedir (Pradedova vd., 2010).

Yukarıda bahsettiğimiz genel sınıflandırmadaki antioksidanlar ayrıca; hidrofilik (askorbik asit, urat, flavonoidler), hidrofobik (β -karoten, α -tokoferol), direkt etkili (SOD, CAT), indirekt etkili (vitamin E), düşük moleküler ağırlıklı (poliaminler, GSH, askorbik asit (AA), α -tokoferol, A, K ve P vitamin grupları), yüksek

moleküler ağırlıklı (SOD, seruloplazmin, katalaz, glutasyon bağımlı enzimler, albuminler, ferritinler, laktoferrin), metal bağlayıcı (seruloplazmin, ferritin, laktoferrin, albumin) ve katalizör olanlar şeklinde gruplandırılabilirdiği gibi, membran (vitamin A ve E, β -karoten), dolaşım (vitamin C, aminoasitler ve polifenoller), sitosol (ko-enzim Q10) ve sistem (Se, Zn) antioksidanları şeklinde de sınıflandırılmaktadır (Yılmaz, 2010; Percival, 1998).

Enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan antioksidan savunma sistemleri etkilerini başlıca üç şekilde gösterirler;

1) *Serbest radikal oluşumunun engellenmesi*

- i. Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırarak
- ii. Oksijeni uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak
- iii. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak (şelatlayıcı metal iyonları)

2) *Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi*

- i. Toplayıcı etki: ROS'lerini etkileyerek onları tutmaya ve daha az reaktif başka moleküllere çevirmeye yönelik etki (enzimler).
- ii. Bastırıcı etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olan etki (flavonoidler, vitaminler).
- iii. Zincir kırıcı etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (hemoglobin, seroplazmin, mineraller, vitaminler).

3) *Serbest radikallerin oluşturduğu hasarların onarılması*

- i. Onarıcı etki: ROS'lerinin DNA, protein ve hücre membranında oluşturduğu hasarları onarıcı etki (Kayış, 2010).

1.2.1 Doğal Antioksidanlara Örnekler

Doğal antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009). Bitkiler, hayvansal ürünler (peptitler, aminoasitler, karotenoidler), enzimler (glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) ve bazı

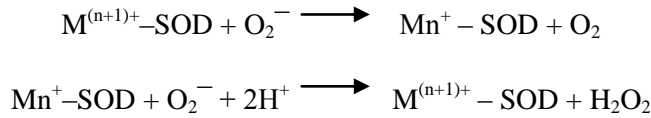
mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır (Hall, 2001).

Doğal antioksidanların etkinlikleri genel olarak radikal reaksiyonlarda fenolik hidrojeni içermeleri, radikal reaksiyonlar boyunca kararlılıkları ve yapılarındaki kimyasal süstitüe grupların varlığına bağlıdır (Hall, 2001).

1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit Dismutaz (SOD) süperoksit anyon radikallerinin dismutasyonunu moleküler oksijen ve hidrojen peroksite dönüşümü reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. Bu nedenle, nerdeyse oksijene maruz kalan tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma sistemidir. Süperoksit dismutazlar molekül ağırlığı 17-85 k DA aralığında olan metalloenzimlerdir. SOD enzimi oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunur. Oksijen toksisitesine karşı önemli bir koruyucudur. SOD'nin fonksiyonu aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkisine karşı korumaktır. Süperoksit radikallerinin, H₂O₂ ve oksijene hızlıca dismutasyonunu katalize eder. SOD katalitik aktivitesi çok yüksek olan bir enzimdir (Özdemir, 2011).

Süperoksitin SOD katalizli dismutasyonunu aşağıdaki gibi yazabiliriz:



Burada, M = Cu (n=1) ; Mn (n=2) ; Fe (n=2) ; Ni (n=2) olabilir (Anonim 11).

Toplamda, $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$ şeklinde ifade edilebilir. (Özdemir, 2011)

SOD enzimi birkaç yaygın formda bulunur: Bunlar kofaktör olarak bakır ve çinko, ya da mangan, demir veya nikel içerirler. Bu nedenle metal kofaktörlerine bağlı olarak üç önemli süperoksit dismutaz grubu vardır (Anonim 11).

(a) *Bakır ve Çinko içeren dismutazlar* (Cu, Zn-SOD) genel olarak ökaryotik hücrelerin sitozolünde ve kloroplastlarda bulunur. Tek disülfid bağı ile birbirine bağlı iki aynı alt birimden oluşur ve alt birim başına birer çinko ile bakır içerirler. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gerekli iken çinko; Co²⁺, Hg²⁺, Ca²⁺ ile yer

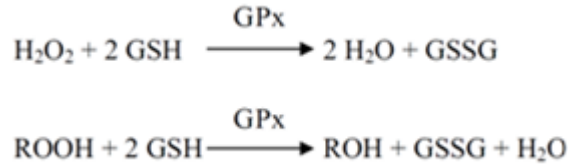
değiştirebilir. Dismutasyon bakır ile süperoksit radikali arasındaki etkileşimle başarılıdır (Özdemir, 2011).

(b) *Demir ve Mangan içeren dismutazlar* (Mn–SOD, Fe–SOD) prokaryotlarda ve mitokondri matriksinde bulunur. Birbirinin aynı iki alt birimden oluşan ve her alt birimde bir atom Mn ya da Fe içeren dismutazlardır (Özdemir, 2011).

(c) *Nikel içeren dismutazlar* (Ni–SOD) prokaryotlarda bulunur (Anonim 11).

1.2.1.2. Glutasyon peroksidaz (GPx)

Glutasyon Peroksidaz organik hidroperoksitlerin (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) veya hidrojen peroksidin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizler.

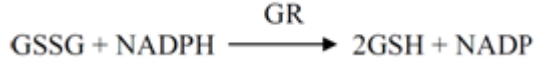


İki önemli Glutasyon Peroksidaz enzimi türü vardır. Selenyum bağlı (selenosistein kovalent olarak bağlı) GPx hem organik hidroperoksitler hem de hidrojen peroksitlerle aktivite gösterir. Selenyum bağımsız Glutasyon Peroksidaz ise hidrojen peroksit ile ihmal edilebilir bir aktifliğe sahip olup sadece organik hidroperoksitleri redükler (Knapen vd., 1999).

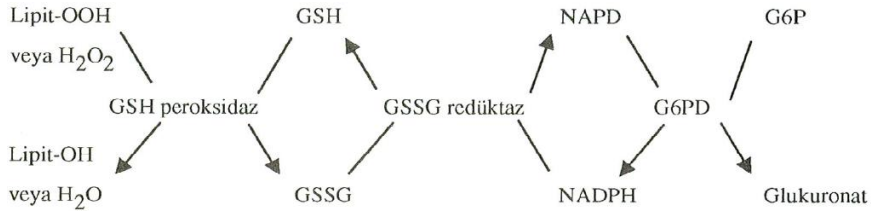
Tetramerik bir enzimdir. Solunum sırasında serbest radikal hasarı sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GPx, hem lipit peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar (Anonim, 2012).

1.2.1.3. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz vasıtasıyla hidroperoksit ya da hidrojen peroksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş formuna (GSH) dönüşümünü katalizler. NADPH bağlı (elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanır) bir flavo enzimdir (Yavaşer, 2011; Antmen, 2005; Pai ve Schulz, 1983).



Redükte glutatyonun (GSH) yüksek konsantrasyonu ve okside formun (GSSG) düşük düzeyleri hayvanların yaşamı için gereklidir. Gerekli GSH/GSSG (yaklaşık 300/1) oranları glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimleri tarafından sağlanır. NADPH'ın G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gerekli biyosentetik süreçlerde önemli olabilir (Erenel vd, 1992; Pai ve Schulz, 1983).

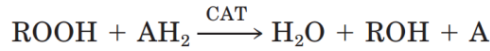
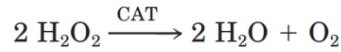


(Erenel vd, 1992)

1.2.1.4. Katalaz (CAT)

Katalaz, her alt biriminde ferritopporhidrin (Fe³⁺-Hem) grubu içeren (her birimi 60 kDa) özdeş dört polipeptit zincirinin (her biri 500 aminoasit uzunluğunda) düzenlenmesi ile oluşmuş tetramerik bir enzimdir ve yaklaşık 240 kDa moleküler ağırlığa sahiptir (Mates vd., 1999; Anonim 6).

Katalaz doğada en çok bitkilerde olmak üzere nerdeyse oksijene maruz kalan tüm canlı hücrelerde bulunur ve yüksek bir aktiviteyle çalışır. Çünkü oksijenli solunumda sürekli H₂O₂ üretimi meydana gelir ve bu madde hücre için son derece toksik bir madde olduğundan hızla ortadan kaldırılması gerekmektedir (Seriner ve Bilgin, 2012; Anonim 6; Anonim 8). Katalazın temel fonksiyonu moleküler oksijen varlığında metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen H₂O₂ ve ROOH gibi peroksitlerle çok hızlı reaksiyona girerek özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemek için su ve moleküler oksijene ayrışmalarını katalizler. Bundan dolayı oksijen radikalinin toksik etkilerine karşı hücresel bileşiklere verilebilecek zararları önleyen koruyucu bir enzimdir (Seriner ve Bilgin, 2012; Lee vd., 2003; Anonim 6).

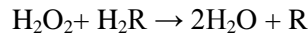


CAT, hidrojen peroksiti substrat olarak, hem elektron alıcısı hem de elektron vericisi olarak kullanılmaktadır (Seriner ve Bilgin, 2012).

İçerdiği 4 porfirin *hem* (demir) grubu hidrojen peroksit ile reaksiyona girmeyi sağlar. Reaksiyonların devamının sağlanmasında çok önemli bir enzimdir (Anonim 6).

Katalaz, hidrojen peroksitin oluşumuna karşı hücreleri korur. Buna rağmen normal koşullar altında bazı hücrelerde gerekli değildir. Hücre yanıt adaptasyonunda oksidatif strese karşı tolerans yeteneğini kazanmada önemli bir role sahiptir (Mates vd., 1999).

Katalaz ayrıca formaldehit, formik asit, fenoller, asetaldehit ve alkolleri içeren toksinler ve çeşitli metabolitlerin H_2O_2 tarafından aşağıdaki reaksiyon gereğince oksidasyonunu da katalizler (Anonim 6).



1.2.1.5. Askorbik asit (Vitamin C)

Suda çözünen bir antioksidandır. İnsanlarda ve bazı primatlarda sentezlenemez, diyet ile alınması gereklidir. Turunçgillerde, sebzelerde ve meyvelerde bol miktarda, balık ve sütte ise az miktarlarda bulunur (Iqbal vd., 2004).

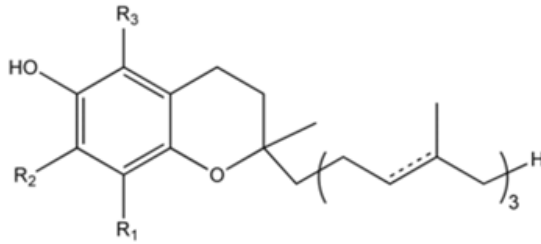
Vitamin C bir elektron donörüdür, bu nedenle indirgeyici ajandır. Tüm bilinen fizyolojik ve biyokimyasal etkileri bir elektron donörü olarak etki etmesi nedeniyledir. Antioksidan olarak isimlendirilir, çünkü elektron vererek diğer bileşiklerin oksitlenmesini önler. Ancak, bu reaksiyonun doğası gereği bu süreçte kendisi de oksitlenir (Padayatty vd., 2003)..

C vitamini bir elektron kaybettikten sonra oluşan tür semidehidro askorbik asit ya da askorbil radikali olarak adlandırılan serbest bir radikaldir. Diğer radikaller ile karşılaştırıldığında göreceli olarak daha kararlı ve reaktivitesi oldukça düşüktür. Bu özellik C vitamininin niçin antioksidan olarak tercih edildiğinin açıklayıcısıdır.

Basit bir ifadeyle, reaktif ve muhtemelen zararlı bir serbest radikal askorbik asit ile etkileşir, reaktif radikal indirgenir ve oluşan askorbil radikali daha az reaktiftir. Kimyasal özellikleri nedeniyle askorbik asit iyi bir radikal süpürücüdür (Padayatty vd., 2003).

1.2.1.6. Tokoferol (Vitamin E)

Sadece bitkilerde sentezlenen ve yağda çözünen bu vitaminin α , β , γ , δ olmak üzere dört farklı tokoferol formu bulunur. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini şekli olan d- α -tokoferoldür (Antmen, 2005; Anonim, 2005).



α -tokoferol $R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$

γ -tokoferol $R_1 = R_2 = CH_3; R_3 = H$

β -tokoferol $R_1 = R_3 = CH_3; R_2 = H$

δ -tokoferol $R_1 = R_2 = R_3 = H$

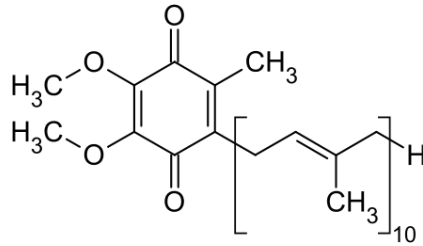
Tokoferol (Vitamin E) (Anonim 2)

Vitamin E bulunduğu biyolojik ortamlardaki serbest radikal türlerini toplayarak peroksidasyonun erken döneminde zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Bir diğer yol ile de singlet oksijen, süperoksit ve daha çok hidroksil radikallerini indirger. Bu işlevini peroksidasyon reaksiyon zincirini sonlandırarak gerçekleştirir. Uzunca bir süre vitamin E'nin antioksidan aktivitesinin sadece bu reaksiyonun zincirini sonlandırarak gerçekleştirdiği kabul edilmesine karşın bugün vitamin E'nin radikal giderme, baskılama, onarma ve endojen savunmayı artırma mekanizmalarının tümünü kullanabildiği, bu nedenle çok hızlı ve geniş bir antioksidan etki kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Dündar ve Aslan, 1999).

1.2.1.7. Koenzim Q

Günümüzde antioksidan özellikleri uzun zamandan beri bilinen vitamin C ve E (hücre duvarını korumakta), α, β -karoten, likopen, lutein gibi karotenler, sülfürlü bileşikler içeren tioller (hücre içini korumakta), flavonoidler (DNA, elastin ve

kollajen fibrillerini korumakta) ve organizma tarafından üretilen endojen antioksidanlardan olan katalaz gibi enzimler sıralanabilmektedir. Yukarıda belirtilen antioksidanlara ilave olarak, hücrelerdeki enerji üretiminde kilit enzimatik noktalarda görev yapan, her hücrede bulunabilen, vitamin benzeri ve yağda çözünebilir başka bir antioksidan daha mevcuttur. Söz konusu bu antioksidan ilk kez 1957 yılında kalp mitokondriumundan izole edilmiş ve 1 kinon ve 10 izoprenil grubu içerdiğinden Koenzim Q10 (KoQ10) olarak adlandırılmıştır (Kavas ve Kınık, 2011; Overvad vd., 1999; Ercan ve El, 2010).



Koenzim Q10

Koenzim Q10 (KoQ10; Ubikinol-10 ve/veya Ubikinon-10) hücredeki enerji üretimi sırasında kilit enzimatik reaksiyonlarda koenzim olarak görev yapan, her hücrede bulunabilen, yağda çözünen, vitamin benzeri bir bileşiktir. Membran stabilitesinin sağlanmasında, enerji dönüşümünde ve ATP üretiminde rol oynar. Koenzim Q10 (KoQ10) biyolojik dokularda biyokimyasal olarak hem indirgenmiş formda (ubikinol-10) hem de okside formda (ubikinon-10) bulunan bir redoks molekülüdür.

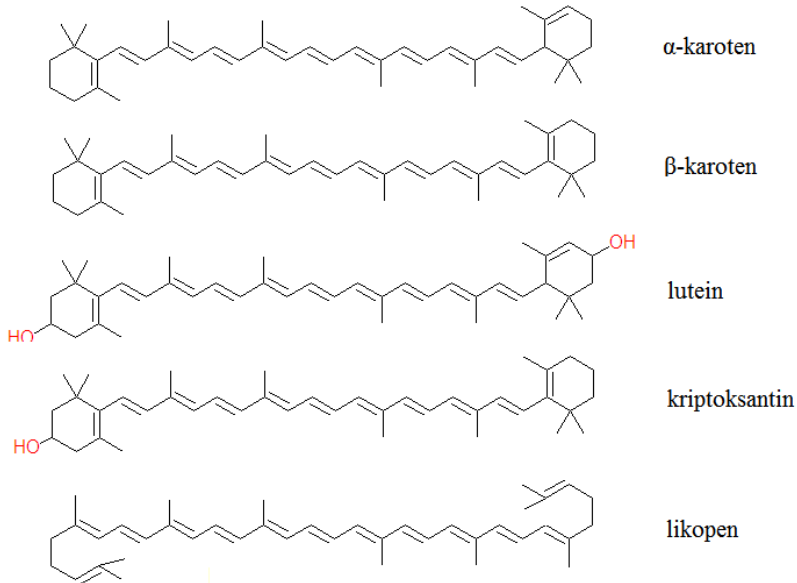
Koenzim Q10 oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin zarar görmesini engeller. Serbest radikallerle ara ürün olarak görev yapar ve elektron redüksiyon reaksiyonuna maruz kalır. Stabil karakterli olmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronla stabil hale gelir. Koenzim Q bu özelliğiyle önemli bir antioksidandır. Ubikinol-10, α -tokoferol gibi plazmada bulunan diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda olmasına rağmen, plazma oksidanlara maruz kaldığında ilk tepkimeye giren antioksidandır. Koenzim Q10 aynı zamanda diğer antioksidanların dejenerasyonunda görev alır (Ercan ve El, 2010).

1.2.1.8. Mineraller

Çeşitli mineraller ya antioksidan bir enzimin parçası olarak ya da tek başlarına antioksidan etki göstermektedir. Antioksidan özellik gösteren minerallerden selenyum, bakır ve mangan, serbest radikalleri yok etmek için bir enzimle birleşmektedir. Bakır (Cu), Selenyum (Se), Mangan (Mn), Demir (Fe) ve Çinko (Zn) gibi mineral maddeler özellikle süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin aktivasyonu için gerekli olurken, bakır ve demir membran lipidlerinde oluşan serbest radikallerin reaksiyonuna katılmaktadır (Kavas ve Kınık, 2011).

1.2.1.9. Karotenoidler

Karotenoidler, bitkiler ve bakteriler tarafından sentezlenen fakat hayvanlar tarafından sentezlenemeyen pigmentli bileşiklerin bir sınıfıdır. Sebze ve meyveler karotenoidlerin önemli kaynaklarıdır. Doğada 600'den fazla karotenoid türü tespit edilmiştir. Ancak yalnızca yaklaşık 40 tanesi tüketilen besinlerde mevcuttur. Bunların % 90'ı β -karoten, α -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantin bileşiklerini içerir (Rao ve Rao, 2007).



Yaygın karotenoid türlerinin molekül yapısı (Anonim 1)

Karotenoidlerin, singlet oksijeni ve diğ er reaktif oksijen türlerini süptüren çok etkili bir ajan oldukları bilinmektedir (Fiedor ve Burda, 2014).

1.2.1.10. Fenolik bileşikler

Bitkilerin antioksidan özellikleri esas olarak içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin çoğ u ayrıca antimikrobiyal niteliğ e de sahiptirler (Bhatt ve Negi, 2012). Fenolik bileşikler bitkiler aleminde oldukça geniş bir yer kaplamaktadırlar ve bitkilerde (doğ al) en çok bulunan ikincil metabolitlerdir (Dai ve Mumper, 2010).

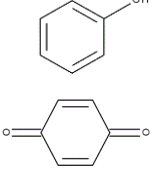
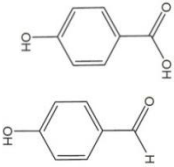
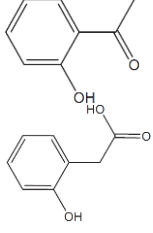
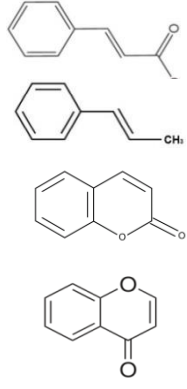
Fenolik bileşikler bir ya da daha fazla hidroksi grubu taşıyan bir ya da daha fazla aromatik halka ile birlikte 8000'in üzerinde yapısal değ iş iklik gösterirler ve genel olarak fenolik halkaların sayısı ve bu halkalara bağı lı yapısal elementler baz alınarak flavonoidler, tanninler, stilbenler, kumarinler, kinonlar ve fenolik asitler kategorize edilmişlerdir (Huang vd., 2009).

Fenolik bileşikler ortak bir özellik olarak sübtitüe hidroksil grubu olan bir aromatik halkadan en azından bir tanesine sahiptirler. Bir diğ er özellikleri sıklıkla ş eker ya da protein olmak üzere diğ er moleküllere bağı lı olarak bulunmalarıdır. Fenolik bileşiklerin serbest formları bitki dokularında oluş ur.

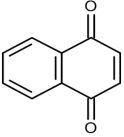
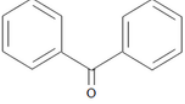
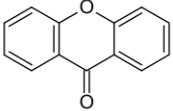
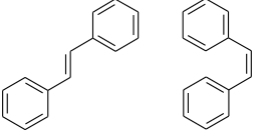
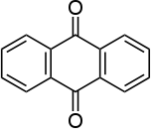
Fenolik bileşikler farklı yollarla sınıflandırılmışlardır, çünkü basit moleküller ile yüksek derecede polimerize olmuş bileşikler aralığ ındaki heterojen yapıların büyük bir kısmını oluştururlar (Lourdes Reis Giada, 2013).

Karbon zincirine göre fenolik bileşikler Çizelge1.3.'deki gibi sınıflandırılabilir.

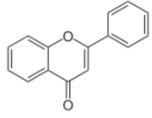
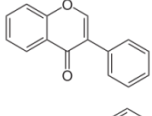
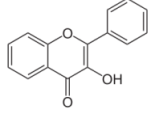
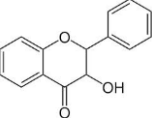
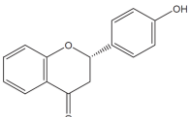
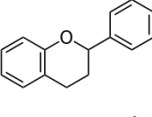
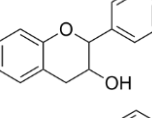
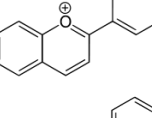
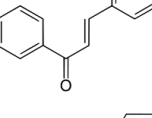
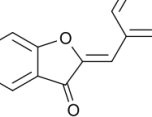
Çizelge1.3. Karbon zincirlerine göre sınıflandırılmış fenolik bileşikler.

KARBON İSKELETİ	SINIF	MOLEKÜLER YAPI
C_6	Basit Fenoller Benzokinonlar	
$C_6 - C_1$	Fenolik Asitler Fenolik Aldehitler	
$C_6 - C_2$	Asetofenonlar Fenil Asetik Asitler	
$C_6 - C_3$	Sinnamik Asitler Fenil Propenler Kumarinler Kromonlar	

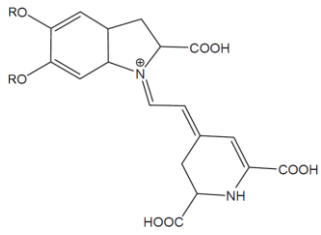
Çizelge 1.3. (devam)

C₆ - C₄	Naftakinonlar	
C₆ - C₁ - C₆	Benzofenonlar Ksantonlar	 
C₆ - C₂ - C₆	Stilbenler Antrakinonlar	 

Çizelge 1.3. (devam)

C₆ – C₃ – C₆	Flavonoidler	Flavonlar	
		İzoflavonlar	
		Flavonoller	
		Flavanonoller	
		Flavanonlar	
		Flavanlar	
		Flavanoller	
		Antosiyanidinler	
		Kalkonlar	
		Auronlar	

Çizelge 1.3. (devam)

C₁₈	Betasiyaninler	
Dimer Oligomer Polimer	Biflavoniller Lignanlar Ligninler Taninler Filobafenler	Bu sınıflardaki antioksidanlar yukarıda belirtilen monomer antioksidanların dimerleri, oligomerleri ya da polimerleridirler.

(Lourdes Reis Giada, 2013; Vermerris ve Nicholson, 2009)

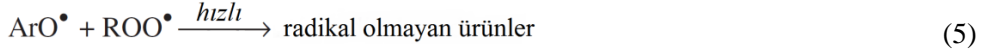
Basit fenoller: Süstitüe fenollerdir. Fenollerin serbest radikallere hidroksil grupları aracılığıyla H atomu transfer ederek organik materyallerin oksidasyon hızını azalttıkları bilinmektedir.

Fenolik antioksidanların aşağıdaki reaksiyonda oluşan kararlı radikali (1), genellikle dioksijen ya da substratlara karşı reaktif değildir (2,3) ve oksidasyona devam edemezler.



Birbirleri ile biomoleküler olarak (4) ya da bir diğer ROO^\bullet radikali ile reaksiyona girerek (5) bozunurlar (Foti, 2007)





Fenolik asitler: Bir fenolde süstitüe olmuş bir karboksil grubu varlığı ile karakterize edilirler. Bitkilerdeki en basit bileşenlerdir (Vermerris ve Nicholson, 2009; Meral vd., 2012).

Fenolik asitler beslenmede fenolik bileşiklerin yaklaşık üçte birini oluştururlar. Fenolik asitler ve esterleri, özellikle de hidroksibenzoik asit, hidroksisinnamik asit, kafeik asit ve klorojenik asidin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Fenolik asit ve esterlerinin antioksidan aktivitesine katkıda bulunan diğer karakteristik özelliklerine rağmen antioksidan aktiviteleri genellikle moleküldeki hidroksil gruplarının sayısı ile belirlenmiştir. Genel olarak, hidroksillenmiş sinamik asit, benzoik asitten daha etkilidir (Lourdes Reis Giada, 2013).

Sinnamik asitler: Bitkisel kaynaklardan izole edilmiş ya da sentezlenmiş sinamik asit türevlerinin, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal ve antimikobakteriyal özellikleri iyi bilinmektedir. Sinnamik asit türevlerinin özellikle hidroksil grupları ile kombinlenmiş sinamoil kısmı, güçlü serbest radikal süpürme özelliği gösterir. Sinnamik asitin esterlerinin, amidlerinin, asitlerinin ve hidrazidlerinin halk sağlığı literatüründe bu aktiviteleri rapor edilmiştir. Özellikle *p*-kumarik asit ve 4-hidroksi-*trans*-sinnamik asitin, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu minimize ederek reaktif oksijen türlerini süpürücü antioksidan aktivite göstermiştir (Pontiki vd., 2014.).

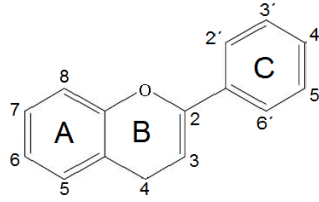
Kumarinler: Kumarinler bitkilerde serbest ya da glikozitleri halinde bulunmaktadır. Serbest kumarinler bitkilerden petrol eteri, benzen, kloroform veya eter ile ekstrakte edilir. Glikozitleri ise, metanol, etanol veya etanol-su karışımı ile ekstrakte edilmektedirler (Işık, 2005).

Flavonoidler: Sarı renkli olmaları nedeniyle latince ‘sarı’ anlamına gelen ‘flavus’ sözcüğünden türetilerek ‘flavonoid’ adını almışlardır. On beş karbonlu 2-fenil benzopiron (difenil propan) yapısı (C₆-C₃-C₆) gösterirler. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşikler olarak kabul edilirler (Kahraman, 2002). Fenolik bileşiklerin 4000 den fazlası bu gruptadır. İskelet yapılarının farklı olmasına göre başlıca flavonlar, flavonoller, flavanonlar veya flavanonoller, flavanoller, antosiyaninler,

kalkonlar, izoflavonoidler, neoflavonoidler ve biflavonoidler olmak üzere sınıflandırılmışlardır (Huang vd., 2009).

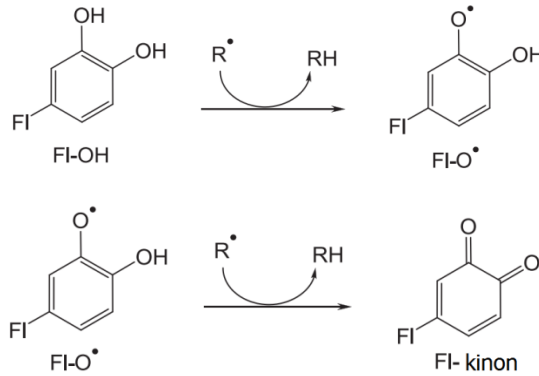
Bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunurlar, bitkilerin ikincil metabolitlerindendirler.

Flavonoidlerin antioksidan ve serbest radikal yakalama özelliklerinin yapılarında bulunan üç gruptan ileri geldiği öne sürülmektedir. Bu yapısal gruplar şunlardır:



Flavonoidlerin genel molekül yapısı

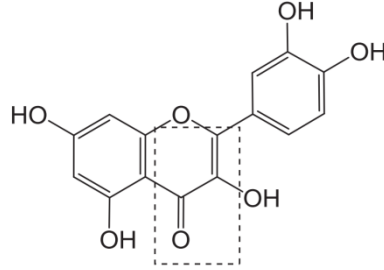
1. B halkasındaki 3',4'-dihidroksi grubu (radikal hedef yeri) elektron delokalizasyonuna etki ederek antioksidan etkiyi sağlar ve daha yüksek kararlılıkta flavonoid radikalinin (FI-O[•]) oluşumuna katkıda bulunur. Bu kararlı radikal de bir diğer serbest radikal ile tepkimeye girerek kararlı 3',4'-diketonları (FI-kinon) oluşturur (Yavaşer, 2011).



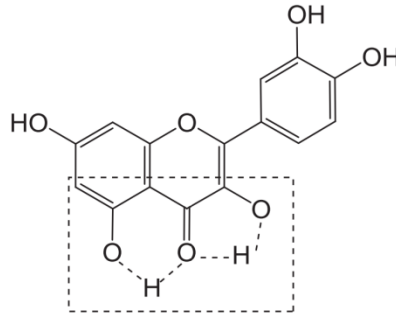
A ve C halkalarının süstitüsyonunun serbest radikalleri süpürmelerindeki etkisi az iken, B halkasının hidroksil konfigürasyonu serbest radikal türlerinin süpürülmesinde en önemli faktördür (Procházková vd., 2011).

2. C halkasındaki 4-keto grubu ile 2-3 çift bağı B halkasındaki radikalın delokalizasyonunu artırır. Antioksidan güç, aromatik çekirdeğin elektron

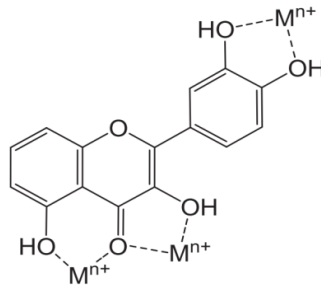
delokalizasyonuna bağlıdır. Bu bileşikler serbest radikaller ile reaksiyona girdiğinde üretilen fenoksil radikalleri aromatik çekirdeğin rezonans etkisiyle kararlı hale getirilir. 2-3 çifte bağı, tüm moleküldeki rezonansı artırır (Yavaşer, 2011).



3. C halkasının 4-keto grubu ile beraber C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları maksimum radikal süpürme potansiyeli için gereklidir (Yavaşer, 2011).



Ayrıca B halkasındaki katekol kısım, C halkasındaki 3-hidroksil ve 4-keto grupları ve C ve A halkası arasındaki 4-keto ve 5 hidroksil grupları flavonoidlerin metalleri bağlama bölgeleri olduğu öne sürülmüştür (Procházková vd., 2011)..



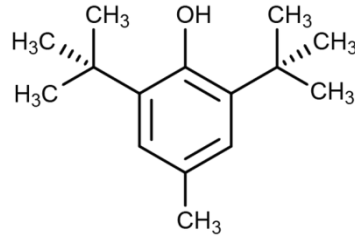
Tanninler: Moleküler ağırlıkları 500 ile 4000 D arasında değişmekle birlikte suda çözünen polifenolik bileşiklerdir. Genel olarak 2 sınıfta kategorilenmişlerdir: hidrolize tanninler (gallo- ve elagi- tanninler) ve kondense tanninler (proantioksiyanidinler). Tanninler genellikle alkaloidler, polisakaritler ve proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar (Huang vd., 2009).

Tanninlerin antioksidan aktivitesi, flavonoidlerinkinden çok daha az olarak belirlenmesine rağmen, son zamanlarda yapılan araştırmalar antioksidan aktivitelerinin polimerizasyon dereceleri ile ilgili olduğu görülmüştür (Lourdes Reis Giada, 2013).

1.2.2. Sık Kullanılan Antioksidanlara Örnekler

1.2.2.1. Sentetik antioksidanlar

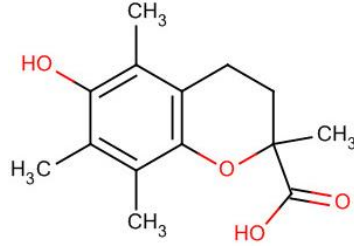
Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (2,6-di-tert-bütil-metil fenol ya da 2,6-di-tert-bütil-toluen) antioksidan özellikleri bakımından yararlı olan, kimyasal olarak fenol türevi lipofilik organik bir bileşiktir. Beyaz kristal görünümündedir (Anonim, 2015; Çakmakçı ve Gökalp, 1992).



BHT

Sentetik yolla elde edilen bu antioksidanlar önceleri petrol ürünlerinin oksidatif gelişmesini önlemek için kullanılmıştır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992). Uzun yıllardan beri yağ asitleri gibi moleküllerin oksidasyonunu önlediğinden gıda antioksidan katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Pek çok insan BHT içeren maddelerden uzak durmuştur, çünkü sentetik doğasından ötürü endişe duymuşlardır. Son zamanlarda araştırmacı bir grup, 4 tatlı su fitoplanktonunda ve 3 siyanobakteride antioksidan olarak BHT üretiminin olduğunu keşfetmişlerdir. Bilim adamları doğal BHT üretimi için potansiyel bir kaynak olarak bu türlerin tayin edilmesini önermişlerdir (Peason ve Shaw, 2009).

Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) hidrofilik sentetik bir bileşiktir ve zincir kırıcı tokoferol ve tokotrienollerin bir sınıfı olan vitamin E'nin bir türevidir.



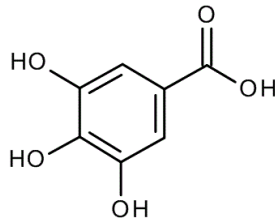
Troloks

H₂O₂ varlığında hücrelerin gelişimlerinde DNA'nın parçalanmasını önlediği kanıtlanmıştır. Ancak araştırmacıların bilgisi, troloksun klinik çalışmalarda kullanımının henüz olmadığı yönündedir (Mestres vd., 2014).

1.2.2.2. Doğal antioksidanlar

Gallik asit, 3,4,5-trihidrobenzoik asit olarak bilinen, bitkiler aleminde oldukça yaygın olarak bulunan organik bir asittir. Meşe palamudu, üzüm, sumak, fındık, şerbetçiotu ve meşe kabuğu yüksek gallik asit içeriğine sahiptir. Taninlerin bir kısmı ve serbest molekül olarak iki formu mevcuttur. Saf gallik asit organik olarak toz halinde renksiz bir kristaldir. Tuz ve esterleri, gallatlar olarak adlandırılır.

Gallik asit düzlemsel bir moleküldür ve hidroksil grupları arasındaki molekül içi iki hidrojen bağına sahiptir. Üç hidroksil grubunun hidrojen atomları halka aynı yönde konumlanmışlardır. Moleküller arası mevcut olan tüm hidrojen bağları ile kristal yapı oluşmuştur.

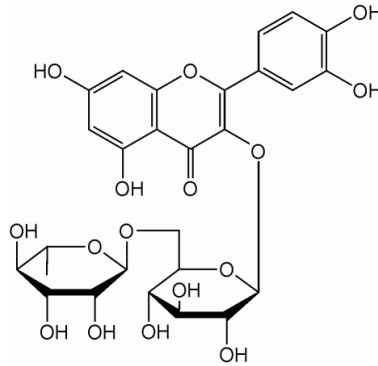


Gallik asit

Gallik asit farmakoloji endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü insanlarda, hayvanlarda ve hücre kültüründeki *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile sağlıklı hücrelere zarar vermeden kanserli hücrelere karşı sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Ayrıca antifungal ve antiviral özellikleri de gözlemlenmiştir. Oksidatif zarara karşı hücreleri korumaya yardımcıdırlar ve antioksidan olarak kullanılmışlardır.

Gallik asit ayrıca güçlü bir şelatlayıcı ajandır ve demir ile yüksek kararlılığa sahip bir kompleks oluşturur (Masoud vd., 2011).

Rutin (kuarsetin-3-ramnozil glikozit) doğal bir flavon türevidir, ilk olarak 19. yüzyılda karabuğdayda keşfedilmiştir. Sebze ve meyvelerde oldukça yaygın olarak bulunan düşük moleküler ağırlıklı polifenolik bir bileşiktir. Karabuğday diyet olarak önemli bir rutin kaynağıdır.



Rutin

Rutin bileşiğinin antialerjik, vasoaktif, antienflamatuar, antitümör, antibakteriyal, antiviral ve antiprotozoal bir kaç farmakolojik aktivitesi, hastalıkların tedavisinde oldukça kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar ile rutin yüksek radikal süpürme aktivitesi ve antioksidan kapasitesinin yanında ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) peroksidasyonunu inhibe ettiği görülmüştür (Yang vd., 2008).

1.3. Antimikrobiyaller

Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Bakterileri yok ederek (bakterisid etki) ya da gelişim ve üremelerini engelleyerek (bakterisidal etki) etki ederler (Saran ve Karahan; 2010).

Aromatik ve tıbbi bitkilerin çevredeki diğer organizmalarla reaksiyona giren, fungal veya bakteriyal büyümeyi inhibe eden ve mikroorganizmalara saldıran ajanlara karşı koruma görevi yapan antimikrobiyal özelliklere sahip belirli biyoaktif molekülleri ürettikleri bilinmektedir (Şengül vd., 2009; Júnior ve NCC, 2010).

Dünyada hem gelişmiş hem de gelişmemiş ülkelerde enfeksiyona bağlı hastalıkların ve ölümlerin artması, enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeyi zorunlu kılmıştır. Bu nedenle farmakologların ve özellikle mikrobiyologların antimikrobiyal ajan arayışında bitkilere başvurmaları oldukça doğaldır. Tarih boyunca bitkilerin tecrübe edilmiş olması avantajından yola çıkılarak, araştırılan bitki içeriği ve kullanımı ile ilgili edinilmiş bilgiler, laboratuvarlarda bilimsel olarak araştırılmış da olur. Sonuçta kullanılan bitkilerin mikroorganizmalar üzerine etkilerinin ortaya çıkarılması halkın yanlış kullanımlarının da önüne geçebilecektir (Erdoğan ve Everest, 2013).

Bulaşıcı hastalıklar, bakteri direnci ve antibiyotiklerin yetersiz kullanımı nedeniyle, önemli bir sağlık problemidir ve gerçekleşen ölümlerin ve hastalıkların ana nedenlerinden biridir. Geçtiğimiz yıllarda bakteri direnci problemi, patojenik bakterilerin antibiyotiklere karşı direncinin gelişmesiyle artış göstermiştir. Geleneksel tıpta, bitkisel ürünler ile çeşitli hastalıklar tedavi edilmiştir. Yaklaşık olarak dünya nüfusunun % 80'i başlıca sağlık bakımlarını yerine getirmek için bitkisel ürünleri kullanmışlardır. Bitkilerin biyolojik özelliklerinin içeriğindeki ikincil metabolitlerden kaynakladığı ve bu özelliklerden bazı hastalıkların tedavisinde ilaç geliştirilmesi için yararlanıldığı bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Bu nedenle, yeni ve antimikrobiyal etki gösteren bileşiklerin bulunup geliştirilmesine ve bulaşıcı hastalıkların tedavisi üzerine yeni etki mekanizmaları ile birlikte tıbbi bitkilerin araştırılmasına sürekli olarak ihtiyaç vardır (Menchana vd., 2013).

Antimikrobiyaller, etki mekanizmalarına göre beş sınıfta toplanırlar:

- i. Hücre duvarının sentezini inhibe edenler:** Hücre duvarı sentezi tamamlanmamış bakterileri etkileyerek bakteriyi yok eder. Hücre duvarı sentezini tamamlamış bakterilere etkisi yoktur.
 - (a) Beta laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları)
 - (b) Glikopeptitler (vankomisin, teikoplanin)
 - (c) Diğerleri (fosfomisin, sikloserin, basitrasin, ristosetin, ramoplanin, mersasidin, moenomisin)
- ii. Protein sentez inhibitörleri:** Bakteri hücresinde protein sentezini inhibe ederek bakterisid ve bakteriyostatik etki oluştururlar.
 - a) 50S alt üniteye bağlanarak etkili olanlar (makrolidlerketolidler, linkozamidler, streptograminler, kloramfenikol, oksazolidinonlar);
 - b) 30S alt üniteye bağlanarak etkili olanlar (aminoglikozidler, tetrasiklinler, glisilsiklinler);
 - c) Diğerleri (mupirosin, nitrofurantoin)
- iii. Nükleik asit sentez inhibitörleri:** RNA ve DNA'nın fonksiyonunu bozarlar (kinolonlar, rifamisinler, metronidazol)
- iv. Bakteri hücre metabolizmasını bozanlar:** Bakteri metabolizması için gerekli olan bir maddenin sentezini önleyerek etkili olurlar (trimetoprim-sülfametoksazol, paraamino salisilik asit).
- v. Membran bütünlüğünü bozanlar:** Bakterinin sitoplazmik membran geçirgenliğini artırarak ve hücre içinde bulunan maddelerin hücre dışına çıkmasını sağlayarak bakterisid etki oluştururlar.
 - a) Peptid antibiyotikler (polipeptit antibiyotikler [basitrasin, gramisidin S, polimiksinler], lineer katyonik peptitler [defensinler, maganinler],

ribozomal peptitler [lantibiyotikler],diğerleri [pirokorisin, drododoin, apiadesin]);

- b) Siklik lipopeptitler (daptomisin) (Anonim, 2013; Nazlıcan, 2005; Saran ve Karahan, 2010).

1.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Biyolojik örnekler ve gıda karışımlarındaki antioksidan bileşiklerin tamamının ya da bir kısmının birbirleri ile etkileşebilmesine karşın, gıda içeriğinin karmaşıklığı nedeniyle her bir antioksidan bileşiğın ayrılması ve çalışılması maliyetli ve verimsizdir. Bu nedenle, hastalıkların önlenmesinde antioksidan etkinin hızlı bir şekilde ölçülmesi için uygun bir metodun bulunması araştırmacılar için çok ilgi çekicidir. Ancak, böyle metotlar henüz geliştirilmemiştir. Kimyasal bir reaksiyon kullanılarak bir total antioksidan kapasite deneyinin yapılması gerçekdışı ve uygulanması kolay olmayan bir yol olarak görünmektedir. Yine de *in vitro* olarak total antioksidan kapasitenin ölçüldüğü iddia edilerek çok sayıda yayımlanmış metotlar mevcuttur (Huang vd., 2005).

Belirli bir bileşiğın, bileşiklerin bir karışımının ya da böyle bileşikler içeren doğal bir kaynağın antioksidan aktiviteleri genel olarak serbest radikalleri süpürme kapasitesi ile ilişkilidir (Shaidi, 2000).

Antioksidanların karmaşık bir yapıya sahip olmasından dolayı bu bileşiklerin ayrılması, çalışılması pahalı ve zordur. Buna rağmen *in vitro* koşullarda antioksidan kapasiteyi ölçmeyi amaçlayan birçok metot bulunmaktadır (Aydın, 2011).

Bu metotlar kimyasal reaksiyonlarına göre başlıca iki gruba ayrılırlar: Hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan metotlar ve bir tek elektron transferine (ET) dayanan metotlardır. Bu metotlar, örneğın koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal veya oksidan giderici kapasiteyi ölçmeyi hedefler (Aydın, 2011). Üçüncü bir metot ise hem HAT hem de ET reaksiyon mekanizmalarını içerir (Büyüktüncel, 2013).

Mekanizma türü ne olursa olsun aynı şekilde sonlanırlar. HAT ve ET reaksiyonları paralel bir şekilde de ilerleyebilir ve verilen sistemde baskın olan mekanizma türü, antioksidanın yapısı ve özellikleri, çözünürlük ve dağılıma katsayısı ve sistemdeki

çözgen tarafından belirlenebilir. Bağ ayrışma enerjisi ve iyonlaşma potansiyeli antioksidanların etkinliğini ve mekanizmayı belirleyen en önemli iki faktördür (Prior vd., 2005).

- i. HAT temelli metotlar:** Bu yöntemde antioksidan tarafından serbest bir radikale H atomu verilmesiyle, antioksidanın serbest radikali giderme yeteneği ölçülür (Prior vd., 2005). ORAC, TRAP ve crocin ağartma metodu HAT-temelli metotlardır (Aydın, 2011). HAT temelli yöntemlerin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği gözlemlenir (Büyüktuncel, 2013). Ortamdaki çözgen ve pH'a bağlı değildir, genellikle oldukça hızlı (sıklıkla 2 dk) bir şekilde gerçekleşirler. İndirgen ajanların varlığı, metal içeriği HAT reaksiyonlarının bir komplikasyonudur ve hatalı bir şekilde çok yüksek reaktiviteye yol açabilir (Prior vd., 2005).

HAT temelli metotlar genellikle sentetik bir radikal üretici, oksitlenebilir bir prob ve bir antioksidan bileşikten oluşur. Bu metotlarda, peroksil radikali üretmek üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Eklenen antioksidanlar, radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. Peroksil radikali tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuç olarak peroksil radikali ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir (Büyüktuncel, 2013).

HAT temelli metotlar aşağıdaki gibi sayılabilir:

- Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC),
 - Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi (TRAP),
 - Oksijen kullanım inhibisyonu (IOU),
 - Linoleik asit oksidasyonu inhibisyonu,
 - LDL oksidasyonunun inhibisyonu
 - Krosin ağartma deneyi
- ii. ET temelli metotlar:** Metalleri, karbonilleri ya da radikalleri içeren herhangi bir bileşiğe indirgenmek üzere antioksidandan bir elektron transfer edilmesiyle antioksidanın kapasitesi ölçülür (Prior vd., 2005). ET-dayanan

spektrofotometrik metotlar bir reaksiyon karışımında iki bileşen içerir: antioksidan ve oksidan. Oksidan antioksidandan bir elektron alır ve bu oksidanda renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi, antioksidan derişimiyle orantılıdır (Büyüktuncel, 2013). UV/VIS ile absorbans değişimi ölçülür. Bu absorbans değişiminin derecesi antioksidan konsantrasyonu ile orantılı olduğundan, antioksidanın indirgeyici kapasitesi tayininde kullanılır (Aydın, 2011). Antioksidan derişimine karşı absorbans değişimi lineer bir eğri verir (Çetinyürek, 2012).

ET reaksiyonları genellikle yavaştır ve reaksiyonun tamamlanması için uzun zaman gerekebilir, bu yüzden antioksidan kapasite kinetikten ziyade üründeki yüzde azalmaya göre hesaplanır. Çok düşük miktardaki bileşen ve kirleticiler (partiküler metaller) bu yöntemleri etkiler ve sonuçların fazla değişkenlik, düşük tekrarlanabilirlik ve düşük tutarlılık göstermesine neden olabilir (Prior vd., 2005).

FCR ile toplam fenolik bileşik tayini, Cu^{2+} indirgeme kapasitesi, TEAC, DPPH ve FRAP metotları bu sınıfa girer (Aydın, 2011).

ET temelli metotlar:

- Folin-Ciocalteu ayırıcı ile toplam fenolik madde miktarı (FCR/TPC),
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC/ABTS),
- Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP),
- Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC),
- DPPH (2,2'difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme tayini

HAT ve ET temelli yöntemler bir örneğin önleyici antioksidan kapasitesi yerine, serbest radikali (ya da oksidan) süpürme gücünü ölçmeye yöneliktir. Çünkü antioksidanların oksidanlara karşı oranları değişkendir (Huang vd., 2005).

Yukarıda bahsedilen tüm yöntemlerin bir bitkinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması mümkün olmakla birlikte, örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği bu yöntemler arasında her zaman doğrusal ilişki

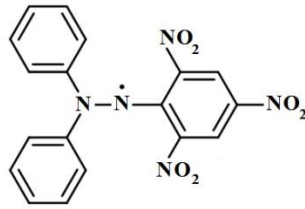
oluşmasını engelleyebilir. Bu nedenle tek bir yöntem kullanarak bitkinin antioksidan kapasitesi hakkında karar vermek uygun olmayabilir (Ardağ, 2008).

1.4.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

Bir ekstrakttaki veya diğer biyolojik kaynaklardaki bir bileşiğin antioksidan aktivitesini değerlendirmek için ilk olarak DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikalini süpürme yöntemi önerildi (Kedare ve Singh, 2011).

Bu yöntem antioksidan aktivitenin belirlenmesinde kararlı bir radikal olan DPPH'in kullanılması görüşüyle Blois (1958) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem en basit yöntem olup, DPPH'in antioksidan tarafından süpürülme kapasitesi temeline dayanır. DPPH molekülündeki azot atomunun eşleşmemiş elektronu antioksidan molekülünden bir hidrojen atomu alır ve DPPH indirgenir (Kedare ve Singh, 2011).

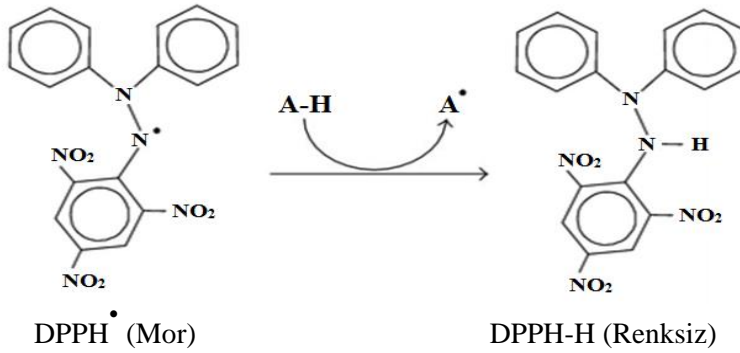
DPPH, üzerindeki eşleşmemiş elektronun delokalizasyonundan dolayı kararlı bir serbest radikaldir ve bu delokalizasyonunun etkisi ile karakterize edilmiştir. DPPH'in etanoldeki çözeltisinde, eşleşmemiş elektronunun delokalizasyonu sonucunda oluşan mor renk, etanol çözeltisinde yaklaşık 520 nm civarındaki absorpsiyon bandı tarafından karakterize edilir (Molyneux, 2004; Kedare ve Singh, 2011).



DPPH radikali

DPPH bir hidrojen atomu veya bir elektron kabul ettiğinde kararlı, diyamanyetik bir molekül olur, ancak DPPH'in oksitlenmesi zordur ve sonradan geri dönüşümsüzdür. DPPH'in eşleşmemiş elektronu ve DPPH çözeltisinin mor rengi nedeniyle 517 nm'de güçlü bir absorpsiyon bandı gözlemlenir, elektronun eşleşmesi ile bu band (mor renk) kaybolur. Kaybolan mor rengin şiddeti ile alınan elektron sayısı arasında stokiyometrik bir oran vardır (Kedare ve Singh, 2011).

DPPH molekülü ile donör molekül (AH) arasındaki reaksiyon,



Şekil 1.2. DPPH'in antioksidan bileşikler ile arasındaki reaksiyon

Bu yöntem sınırlıdır çünkü DPPH radikali diğer radikaller ile etkileşir ve antioksidan/DPPH'in farklı oranlarına karşı dengeye ulaşmak için zaman yanıt eğrisi lineer değildir. DPPH bazı Lewis bazları ve solvent türlerinin yanı sıra oksijene karşı da duyarlıdır. DPPH yalnızca organik çözücülerde çözünebilir ve kantitatif analiz için örneğin içeriğindeki bileşiklerin absorbands girişimi bir sorun oluşturabilir (Kedare ve Singh, 2011).

Veri yorumlamak için en basit yaklaşım, substrat derişimine karşı absorbands grafiği çizmektir.

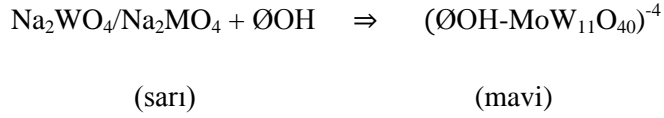
1.4.2. Total Fenolik Bileşik Tayini

Gıda ve içeceklerdeki total fenolik içeriğın nicel olarak belirlenmesi için farklı yöntemler mevcuttur. En çok genel olarak Folin Ciocalteu reaktifinin (FCR) kullanıldığı antioksidan kapasite deneylerinden Singleton ve Rossi'nin uyguladığı yöntem kabul görmüştür (Shaver vd., 2011).

Doğal fenolik bileşiklerin heterojenliği ve kolayca oksitlenebilen diğer maddelerle girişim yapabilme durumu nedeniyle total fenolik bileşik miktarı belirlenmesinde birkaç yöntemin kullanılması şartıdır ve yöntemlerin hiçbiri mükemmel değildir. Bu yöntem diğerlerine göre daha kolay, anlaşılabilir, tekrarlanabilir ve daha duyarlıdır, uygulanabilirliği de doğrulanmıştır (Singleton vd., 1999).

Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen bu yöntem, Folin-Ciocalteu reaktifindeki (FCR) fosfotungstik asit ve fosfomolibdik asit komplekslerinin

fenoller tarafından indirgenip molibden mavisi ve tungsten mavisi komplekslerinin oluşması ve bu rengin kolorimetrik olarak 760 nm'de absorbanasının ölçülmesi esasına dayanır (Karaca, 2011; İşbilir Selen, 2008; Ikawa vd., 2003).



(Agbor vd., 2014.)

Folin-Ciocalteu reaktifi sadece fenoller ile değil başka bileşikler ile de reaksiyona girer. Fenollerden daha hızlı reaksiyon veren maddeler, tersiyer alifatik aminler, tersiyer alifatik amin içeren alifatik biyolojik tamponlar, triptofanlar, hidroksilaminler, hidrazinler, bazı pürinler ve diğer çeşitli organik ve inorganik indirgeyici ajanlardır (Ikawa vd., 2003). Bu nedenle reaktifin örneğinin sadece fenolik bileşik miktarını değil, total indirgeme kapasitesini ölçtüğü konusunda tartışma vardır (Çetinyürek, 2012).

Her bir örnekteki fenolik bileşik miktarı genellikle gallik asitin veya benzeri bir fenolik bileşiğin (örneğin rutin) lineer eğrisinden yararlanılarak belirlenir (Medina, 2011).

1.4.3. Total Flavonoid Tayini

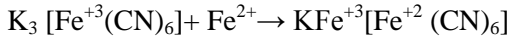
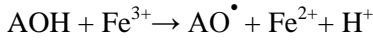
Quettier-Deleu (2000)'e göre uygulanan ve aynı zamanda alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi olarak da adlandırılan bu metodun prensibi, alüminyum klorürün, flavonoidlerin 4-keto ve C-3 ya da C-5 (ya da her ikisi) hidroksil grubu ile kararlı bir asit kompleksinin oluşturulmasına dayanmaktadır. Alüminyum klorür ayrıca flavonoidlerin A ve B halkalarındaki orto-dihidroksil grupları ile kararsız bir asit kompleksi de oluşturur (Pallab vd., 2013).

1.4.4. Total Flavonol Tayini

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'a göre yapıldı. Standart olarak rutin kullanıldı. Flavonol miktarı rutin bileşiğinin etanoldeki çözeltisi ile oluşturulan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak mg örneğe denk gelen µg rutin eşdeğeri (RE) olacak şekilde hesaplandı (Çetinyürek, 2012).

1.4.5. İndirgeme Gücü Tayini

Oyaizu (1986) tarafından ortaya konulan bu yöntemde, potasyum ferrisiyanür varlığında ferrik demir (Fe^{3+}) antioksidan bileşik aracılığıyla ferröz demire (Fe^{2+}) indirgenir ve ferröz demirin potasyum ferrisiyanür ile oluşturduğu potasyum ferri ferro siyanür kompleksinin 700 nm’de absorbansı ölçülür (Guo vd., 2009).



İlk başta $\text{KFe}^{+3}[\text{Fe}^{+2} (\text{CN})_6]$ kompleksi oluşmadan önce sarı olan çözeltilerin rengi, prusya mavisi olan $\text{KFe}^{+3}[\text{Fe}^{+2} (\text{CN})_6]$ kompleksinin oluşma miktarına göre yeşil ile mavi arası bir renk alır. Ne kadar çok maviye dönük bir renk oluşursa, o kadar çok Fe^{3+} iyonu indirgenmiş demektir ve reaksiyon karışımının absorbansı o kadar fazla olacaktır. Yani absorbans değerindeki artış örneğin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır (Guo vd., 2009; Singhal vd., 2011; Vladimir-Knežević 2011; Anonim 9).

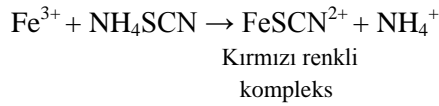
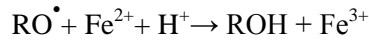
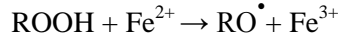
1.4.6. Total Antioksidan Aktivite Tayini (FTC)

Bitkiler farklı miktarlarda ve çeşitli kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip antioksidan bileşiklerin büyük bir kısmını içerdiklerinden, doğal antioksidanların değerlendirilmesi oldukça karmaşık bir iştir (Gruzdienne vd., 2005). Toplam antioksidan etkinin, her bir antioksidan bileşiğin antioksidan etkilerinin toplamından daha büyük olması farklı antioksidanlar arasındaki etkileşimlerden kaynaklanabilir (Arnao vd., 2009). Bu nedenle, bitkisel bir örneğin serbest radikalleri süpürme yeteneğini ölçmek için kullanılan bir kaç yöntemden en çok uygulananı “**total antioksidan kapasite tayini**” dir. Bu yöntem incelenen örnekteki tüm antioksidanların serbest radikalleri süpürme yeteneğinin toplam ölçüsüdür (Benbrook, 2005).

Bu yöntem Saha vd. (2004) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemin esasının, asidik ortamda ferröz demirin Fe^{2+} ferrik demire Fe^{3+} oksidasyonu ve demir komplekslerinin oluşumuna dayandığı yaygın olarak kabul görmüştür. Lipid hidroperoksitlerin ferröz iyonlarını ferrik iyonlara okside etme yeteneğini, tiyosiyanat aracılığıyla kompleks oluşturarak spektrofotometrik olarak ölçülür. Ferrik tiyosiyanat 500-510 nm aralığında güçlü absorpsiyon yapan kırmızı-violet

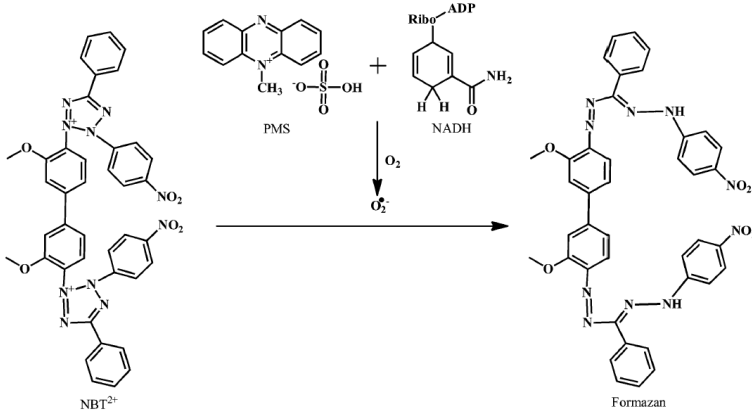
rengi bir komplekstir. Ferrik tiyosiyanatın kolorimetrik olarak belirlenmesi diğer yöntemlere göre daha duyarlı, tekrarlanabilir ve basittir (Shaidi ve Zhong, 2005).

Bu yöntemde linoleik asitin oksidasyonu sırasında peroksit oluşumu meydana gelir. Bu bileşikler Fe^{2+} iyonlarını Fe^{3+} okside eder. Fe^{3+} iyonları tiyosiyanat ile bir kompleks oluşturur ve bu kompleks 500 nm'de maksimum absorbansa sahiptir (Keser vd., 2012).



1.4.7. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Bu yöntemde *N*-metilfenazin metasülfat (PMS), nitroblue tetrazolyum klorür (NBT) ve NADH (nikotinamid adenin dinükleotitin indirgenmiş formu)'ın oluşturduğu PMS-NADH-NBT sistemi kullanılarak antioksidanların süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) radikalini süpürme aktivitesi değerlendirilir. Çözünmüş oksijen varlığında PMS ile NADH'ın bağlanma reaksiyonu aracılığıyla üretilen süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) radikali, ortamdaki sarı renkli nitroblue tetrazolyum (NBT^{2+})'u mavi-mor renkli formazan (NBT) türevine indirger. Formazan 560 nm'de maksimum absorbans verir. Reaksiyon karışımdaki süperoksit radikallerini süpüren antioksidan bileşiklerin fazla olması durumunda düşük absorbans değerleri elde edilir (İşbilir Selen, 2008; Nimse ve Pal, 2015).

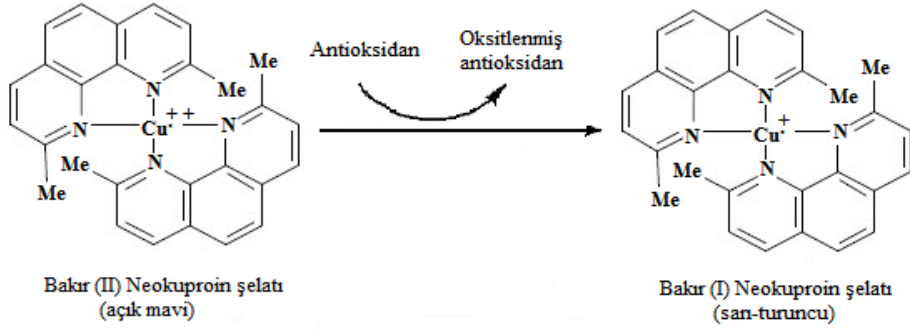


Şekil 1.3. NBT²⁺'nin süperoksit radikalleri ile formazan formuna dönüşüm reaksiyonu (Nimse ve Pal, 2015).

1.4.8. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Apak vd. (2004) tarafından ortaya konulan bu yöntemde, bakır(II) klorür çözeltisi ile alkolik neokuproin çözeltisi ve sulu amonyum asetat çözeltisinin (pH: 7, bakır(II) neokuproin şelatı bu pH değerinde kullanışlıdır) karıştırılmasından sonra bakır (II) neokuproin şelatı oluşturulur. Daha sonra eklenen antioksidan çözeltisi ile bakır (II) neokuproin şelatı arasındaki yaklaşık 30-60 dakika süren (renk oluşumu bazı antioksidanlar için yavaş bazıları için hızlıdır) redoks reaksiyonu sonucunda bakır (II) neokuproin şelatının antioksidan tarafından indirgenmesiyle oluşan sarı-turuncu renkli kromojen bakır (I) neokuproin şelatının 450 nm'de absorbans değeri ölçülür. Bu reaksiyonda antioksidanların reaktif Ar-OH grupları oksitlenir (Apak vd., 2008).

Bu yöntem ilk başta, polifenollerin bakır(II)'yi indirgeme kapasitesi için kullanılıyordu. Ancak daha sonra bitki ekstraktlarında ve insan serumunda total antioksidan kapasite tayini için geliştirilmiş ve bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini (CUPRAC) olarak isimlendirilmiştir (Apak vd., 2008).



Şekil 1.4. Bakır (II) neokuproin şelatının antioksidan bileşik tarafından bakır (I) neokuproin şelatına formuna indirgenme reaksiyonu.

1.4.9. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Tayini (ORAC)

Test edilen antioksidanın (ya da karışım), serbest radikal sürecine karşı azalmaya başlayan hedef bir molekülü zarar vermeden koruması temelinde, antioksidanların ya da karışımlarının serbest radikal süpürme aktivitelerini belirlemek için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Bu tür yarışmalı teknikler biyolojik serbest radikallere karşı serbest radikal süpürücülerin ya da antioksidanların reaktivitelerini test etmek için yaygın olarak kullanılmışlardır. Bu uygulamaların basit ve anlamlı olması için gerekli önkoşullar:

- i. Serbest radikal üretimi için kontrollü serbest radikal kaynağı sadece başlangıç derişimi ve sıcaklık ile belirlenir.
- ii. Serbest radikalın azaldığını gösteren hedef moleköl kolayca değerlendirilebilmelidir.

Bu teknikler arasında en çok Cao vd. tarafından ortaya konulan prosedür uygulanmıştır. Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC), serbest bir radikal kaynağı varlığında (genel olarak AAPH [2,2'-Azo-bis (2-aminodipropan) dihidroklorür]) antioksidan bileşğinin, hedef molekölün tüketiminin geciktirilmesine katkısının kapasitesi ile ilişkilidir. Absorbanstaki azalma ile değerlendirilir (López-Alarcón ve Lissi, 2006).

Cao vd. tarafından ortaya konulan ORAC deneyinin orjinalinde hedef moleköl olarak fikoeritrin kullanılmıştır, fakat daha sonra fluoresein en çok kullanılan hedef moleköl olmuştur. Ancak, son zamanlarda peroksil radikallerine karşı

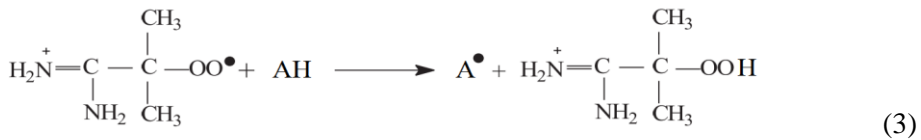
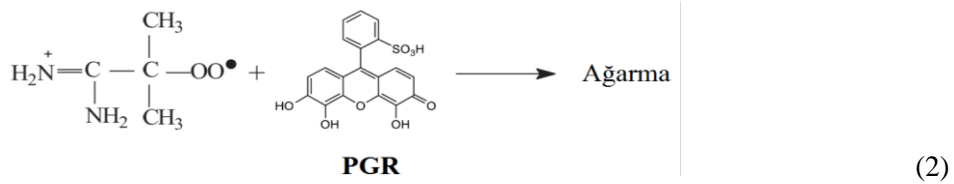
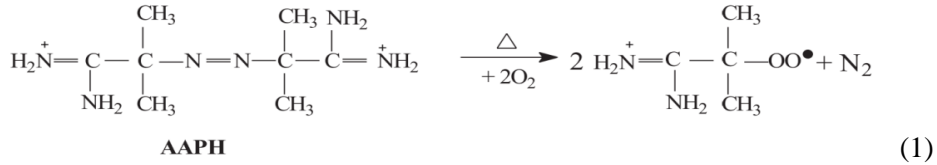
antioksidanların reaktivitesi ile daha uygun ORAC indeksi veren hedef molekül olarak pirogallol red (PGR)'in kullanımın önerildiği rapor edilmiştir (Alarcón vd., 2008).

Pirogallol red (PGR) hidrojen peroksit, bromat ve iyodat tarafından kolayca oksitlenebilen renkli bir reaktandır. Bu oksidasyon, absorpsiyon spektrumdaki değişim ile kolayca izlenebilir.

PGR, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi için hedef molekül olarak kullanılması bazı avantajlar sunar:

- i. Tüketimi görünür bölge absorpsiyon spektroskopisinde kolayca takip edilebilir.
- ii. Başka ara ürünler oluşmadan peroksil radikalleri ile tüketilir ve basit kinetik yasalar takip edilir.
- iii. Çok reaktif antioksidanların göreceli reaktivitelerine ilişkin kantitatif bilgi elde edilmesini mümkün kılar (López-Alarcón ve Lissi, 2005).

Antioksidan ile PGR'nin oluşturulan serbest radikaller ile yarışmalı reaksiyonu aşağıdaki gibidir:



Şekil 1.5. PGR ile antioksidan bileşiğin APPH serbest radikali ile yarışmalı reaksiyonu. (1) APPH'nin serbest radikal formuna dönüşmesi. (2) APPH serbest

radikalinin PGR ile reaksiyonu. (3) AAPH radikalının antioksidan bileşik ile reaksiyonu. AH: Antioksidan.

Pirogallol red'in kırmızı rengi ne kadar çok korunmuşsa, ortamdaki serbest radikal miktarı o kadar az demektir. Bu da antioksidanın serbest radikalleri süpürme aktivitesinin iyi olduğunun göstergesidir.

ORAC gibi böyle yöntemlerde genellikle hedef molekülün (PGR) test edilen antioksidanın varlığında (R) ve yokluğunda (R^0) tüketim oranı belirlenir. Hedef molekülün tüketiminin başlangıç eğiminden bu kinetik bilgi elde edilir (López-Alarcón ve Lissi, 2006).

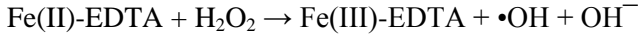
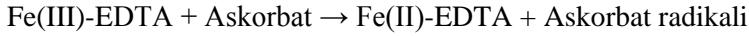
ORAC değerleri genellikle Troloks eşdeğeri olarak ifade edilir. Bunun için hedef molekülün tüketim eğrisinin altında kalan alandan ya da doğrusal kısmının eğiminden yararlanılır.

1.4.10. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Hidroksil radikalının zayıf UV absorpsiyon spektrumuna sahip olması nedeniyle süpürücü maddelerin hidroksil radikaliyle hız sabitlerinin belirlenmesinde direkt yöntem uygulanamaz. Bu nedenle hidroksil radikal süpürücü bileşiklerin aktivitelerinin belirlenmesinde yarışmalı kinetik yönteminin uygulandığı spektrofotometrik veya florometrik yöntemler kullanılmaktadır. Halliwell vd. (1987) tarafından ortaya konulan bu yöntemler temel olarak; seçilen prob ve süpürücü maddenin hidroksil radikali için yarışması ve yarışma sonucunda prob madde ile hidroksil radikalının reaksiyonundan üretilen ürünlerin süpürücü varlığında ve yokluğunda absorbans veya floresans değerlerinin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Bektaşoğlu, 2007).

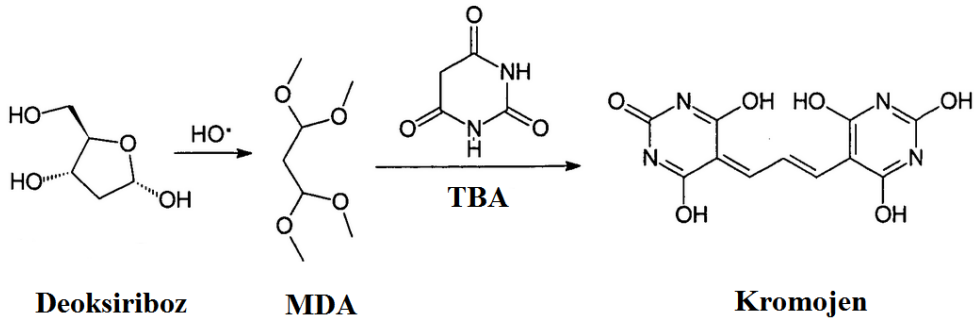
Hidroksil radikali aktivitesi, Fe^{3+} /askorbat/EDTA/ H_2O_2 sistemi ile oluşturulan hidroksil radikalleri ile antioksidan ve deoksiribozun (2-deoksi-D-riboz) yarışmalı reaksiyonundan yararlanılarak ölçülür (Mary vd., 2002).

Deoksiriboz şekeri Fenton sistemi ile oluşturulmuş hidroksil radikallerini indirger (Çetinyürek, 2012). Bu yöntemde Fenton reaksiyonunun uygulama şekillerinden biri; askorbik asit, hidrojen peroksit ve FE(III)-EDTA karışımıyla hidroksil radikallerinin üretilmesidir.



Demir(III) tuzlarının indirgenmesinde askorbat yerine süperoksit radikali de kullanılabilir (Bektaşoğlu, 2007).

Pek çok şekerin inkübasyonu, Fe^{2+} tuzu içeren aerobik koşullar altında TBA-reaktif maddenin açığa çıkmasıyla sonuçlanır. Tüm bu sistemlerdeki TBA deneylerinde oluşan kromojen madde, TBA ile 3-karbonaldehitin katılma ürününe spektral olarak özdeş olarak malonilaldehit bazen de malonildialdehit (MDA) olarak adlandırılır (Halliwell vd., 1988).



Şekil 1.6. Deoksiribozun hidroksil radikallerine maruz kalması ile TBA reaktif MDA formuna dönüşmesi reaksiyonu.

Bu yöntemle göre; kromojen maddenin maksimum absorbans gösterdiği 532 nm'deki düşük absorbans değeri; yüksek deoksiriboz parçalanmasının inhibisyonu anlamına gelmektedir (Takım, 2010).

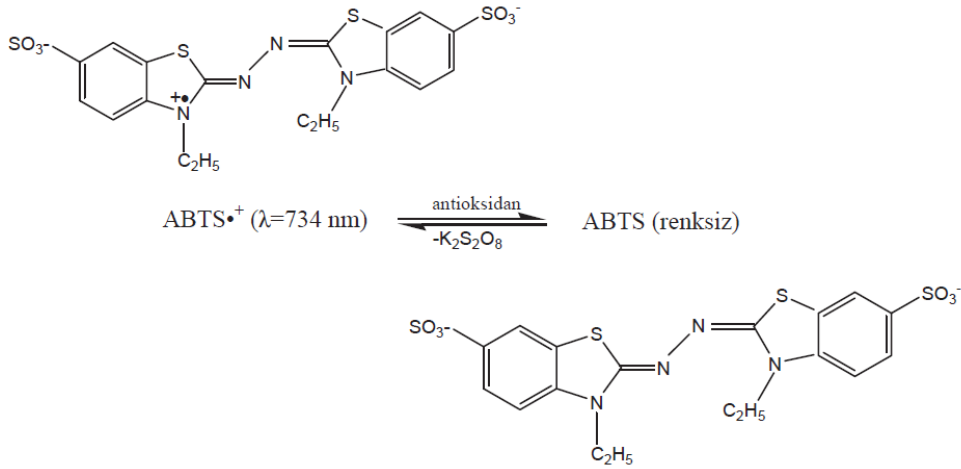
Fenton reaksiyonunun uygulanmasında kullanılan fosfat tamponunun, reaksiyonun meydana gelmesi için kesinlikle gerekli olduğu söylenemez. Fosfat tamponu kullanımı metal iyonuna bağlı radikal reaksiyonlarında çalışmadaki karmaşıklığı arttırmasına rağmen kullanımı önemlidir çünkü fosfat önemli bir hücre içi tampondur ve birçok hücre dışı sıvısı içerisinde mevcuttur (Bektaşoğlu, 2007).

Fosfat tamponu gibi EDTA'nın da (etilendiamin tetraasetikasit) hidroksil radikal oluşumu için kesinlikle gerekli olduğu söylenemez. Fenton reaksiyonunda EDTA'nın kullanılması hidroksil radikal oluşumunu değil hidroksil radikalının

oluşum yerini etkiler. EDTA bulunmadığı durumlarda demir tuzları tampona, prob maddeye veya reaksiyon karışımındaki bazı bileşiklere bağlanır. Reaksiyon karışımında şelat oluşturmamış demir iyonları eklendiğinde bir kısmı deoksiriboza bağlanır. Bağlı demir iyonları Fenton reaksiyonunda yer almaya devam etmelerine rağmen üretilen hidroksil radikalleri çözeltiliye salıverilmez. Hidroksil radikal süpürücüler bu tür deoksiriboz bozunmasını inhibe edemezler çünkü demir iyonları tarafından yerel olarak üretilen hidroksil radikali için deoksiriboz ile yarışamazlar (Bektaşoğlu, 2007).

1.4.11. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)

TEAC yöntemi ilk olarak Miller ve Rice-Evans (1993) tarafından ortaya konulmuştur. Bu yöntemin temeli $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin antioksidan bileşikler tarafından indirgenmesine dayanır. Yöntemin orijinalinde metmiyoglobinin peroksidaz aktivitesi ile oluşturulan $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin birikiminin antioksidan bir bileşik tarafından indirgenmesi temel alınır. Fakat bu radikal peroksidaz aktivitesini inhibe edebileceğinden, Re ve arkadaşları tarafından (1999) $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin, 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS$)'in persülfatla oksidasyonu ile önceden oluşturulması tekniği geliştirilmiştir. Mavi-yeşil renkli kromofor bir bileşik olan $ABTS^{\bullet+}$ radikalinden kaynaklanan çözeltilinin rengi, antioksidan bileşiklerin $ABTS^{\bullet+}$ radikalini renksiz bir bileşik olan $ABTS$ formuna indirgemesiyle açılır ve bu radikalın 734 nm'deki karakteristik absorpsiyonu okunur. Antioksidan bileşiklerin kararlı $ABTS^{\bullet+}$ serbest radikalini süpürme kabiliyeti, vitamin E'nin suda çözünebilir bir analogu olan Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilokroman-2-karboksilik asit) ile karşılaştırılması yapılarak değerlendirilir (Büyüktünel, 2013; Arts vd., 2004; Pellegrini, 2003).



Şekil 1.7. ABTS^{•+} radikalinin antioksidan bileşik tarafından ABTS formuna indirgenme reaksiyonu (Bektaşoğlu, 2007).

Toplam radikal süpürme kapasitesi, Troloksun absorbansı azaltmasıyla ilişkili olarak hesaplanır. Sonuçlar gram örnek başına Troloks eşdeğer antioksidan kapasite cinsinden ifade edilir (TEAC/mg) (Bektaşoğlu, 2007).

1.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Etnofarmakolojide farklı mikrobiyal türlerin bir kısmına karşı biyolojik ekstraktlardan elde edilen potansiyel antimikrobiallerin etkisini belirlemek üzere antimikrobiyal duyarlılık testlerinin (AST; Antimicrobial Susceptibility Test) kullanımı araştırılır. AST metotları antimikrobiyal aktivite için bitki ekstraktlarının incelenmesi için kullanılmıştır, fakat minimum inhibitör derişiminin (MIC) belirlenmesi ile enfeksiyonlarla mücadelede bir antimikrobiyalin yararlarını belirlemek için oldukça kullanılmıştır. Kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı sıklıkla direnç gösteren bir türe ait bir organizmadan şüpheleniliyorsa, klinik araştırmaların *in vitro* duyarlılığı özellikle önemlidir. Mevcut yeni antimikrobiyal ajanların karşılaştırılmasında ve epidemiyolojik çalışmaların duyarlılığında ayrıca önemlidirler (Ncube vd., 2008).

Yeni doğal antimikrobiallerin başarılı bir şekilde keşfedilmesi, biyolojik olarak aktif kimyasalların belirlenmesi için yeterli derecedeki düşük miktarlarına duyarlı olan biyoanaliz tekniklerinin geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Standardize edilmiş

in vitro testler bitki ekstraktları veya bileşiklerin incelenmesi için gereklidir ve sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin karşılaştırılmasında sonuç almak amacıyla doğal ürünlerin minimum inhibisyon derişimini (MIC) belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gereklidir(Ncube vd., 2008).

Antimikrobiyal duyarlılık testleri (AST) difüzyon ve dilüsyon metotları olarak gruplandırılabilir (Ncube vd., 2008). Difüzyon metotları kalitatif (nitel) teknikler olarak bilinirler. Antimikrobiyal aktiviteye sahip maddelerin varlığı ya da yokluğu hakkında bir fikir verirler. Diğer yandan dilüsyon metotları minimal inhibitör derişimini belirlemek üzere kantitatif (nicel) yöntemler olarak kabul edilmişlerdir (Valgas vd., 2007).Yaygın difüzyon testleri agar disk difüzyon, agar kuyucuk difüzyon ve biyootografi; dilüsyon testleri ise tüp dilüsyon ve agar dilüsyon (brothmikro/makrodilüsyon) testlerini içerir (Ncube vd., 2008).

1.5.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Agar disk difüzyon teknikleri sınırlamaları olmasına rağmen bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite deneyleri için oldukça kullanılmıştır. Bu difüzyon teknikleri genel olarak bakterisidal ve bakteriyostatik etkileri ayırt etmez. Minimum inhibisyon derişimi belirlenemeyebilir ve genel olarak ö tarama için kullanılmıştır, yani nitel testler gibi. Bu yöntem saf maddelerin antimikrobiyal duyarlılık testleri için kullanılabilir, çünkü bileşenleri içeren karışıma uygulandığında farklı difüzyon oranları göstereceğinden sonuçlar güvenilir olmayabilir (Ncube vd., 2008).

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık olarak kullanılan yöntem disk difüzyon testleridir. Ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem Kirby Bauer tarafından geliştirilmiştir ve bu isimlerle de anılmaktadır. Bu test, kağıt disklere emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla; belli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan mikroorganizmanın yoğun bir şekilde inoküle edildiği katı besiyerlerine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde

ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobik ajanlara karşı duyarlılık durumu belirlenir (Anonim 5).

1.5.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

Agar kuyucuk metodunun prensibi agar disk difüzyon metodu ile aynıdır. Standardize edilmiş inokulum kültürü jelleşmiş agar plakasının yüzeyine eşit olarak dağıtılır. Kuyucuklar 6 ve 8 mm aralığında çapı olmak üzere, petri kabı ve bitişik kuyucuklar arasında en az 30 mm aralık olması sağlanarak steril bir mantar delici kullanılarak agarda aseptik olarak kuyucuklar açılır. Bitki ekstraktlarının sabit hacimleri kuyucuklar içine aktarılır. Plakalar daha sonra bakteriler için uygun üreme sıcaklığında 24 saat (bakterisine göre değişir) inkübasyona bırakılır (Ncube vd., 2008).

1.5.3. Biyootografi

Agar disk difüzyon metodunun bir varyasyonu olarak İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) tabakası üzerinde analit adsorbe edilir. Biyootografi ayrıca aktif bileşenleri belirlemek için biyodeny güdümlü fraksiyonlama ile fitokimyasal ön tarama tekniği olarak da kullanılmıştır. Ham ekstraktlar ile kompleks kimyasal bileşiklerden antimikrobiyal bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması sürecini basitleştirerek zorluğun üstesinden gelir. Nispeten bitki ekstraktları için çok az miktarda örnek kullanımı için idealdir ve ayrıca aktif bileşiklerin polaritelerinin belirlenmesini mümkün kılar (Anonim 5).

1.5.4. Tüp Dilüsyon Yöntemi

Tüp dilüsyon "makro" ve "mikro" olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise "U" ya da "V" tabanlı "mikroplate"ler kullanılır. Tüp dilüsyon metodunda besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) eklenmiş Mueller-Hinton buyyon kullanılır.

Test edilecek olan antibiyotikler önce özel çözücüleri içinde hazırlanır ve takiben bu sıvı besiyerinde iki kat azalan sulandırılmaları yapılır. Mikroorganizmanın standart bir inokulumu hazırlanıp, antimikrobiyal ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Ayrıca antibiyotik içermeyen,

üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp veya çukur da besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri 35° C’de bir gecelik inkübasyondan sonra bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilir (Anonim 5).

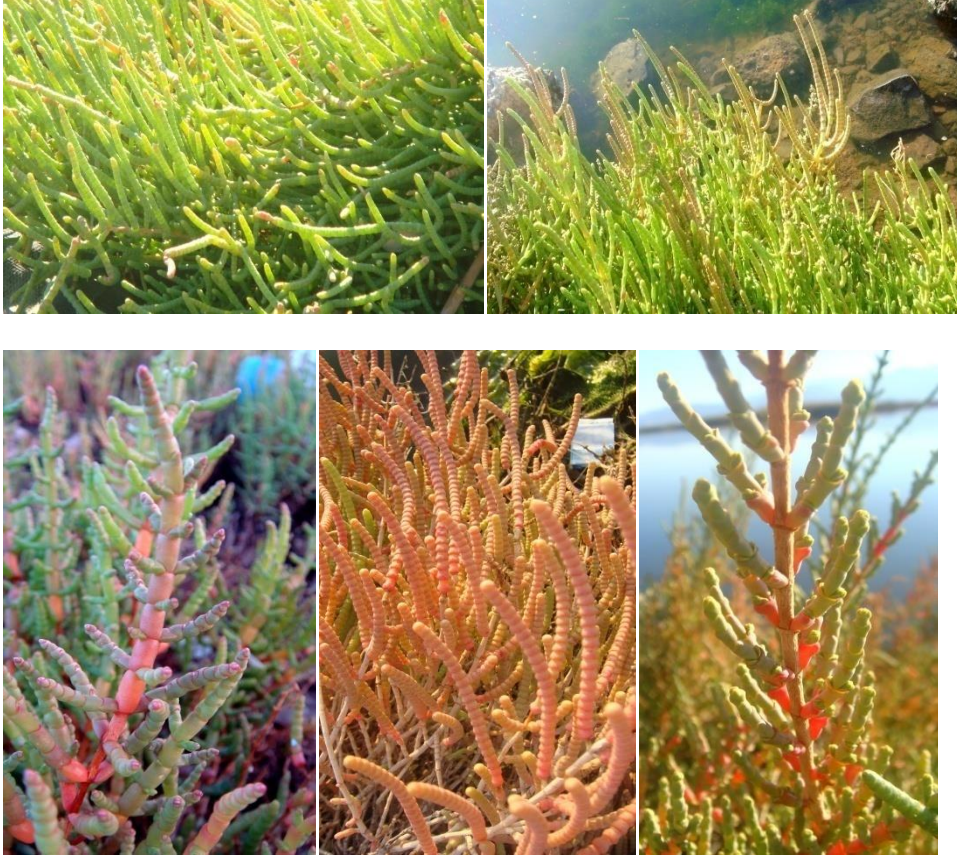
1.5.5. Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırımının agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Bu yöntem için de önerilen besiyeri Mueller-Hinton agardır (Anonim 5).

1.6. Deniz Börülcesi Hakkında Genel Bilgi

Deniz börülcesi türleri tuza karşı en toleranslı toprak-deniz bitkileridir ve denize yakın yerlerde lagünler, gelgit sonucu oluşan tuzlu alanlar, tuzlu göllerin kıyıları ve tuzlu bataklıklar gibi ıslak tuzlu habitatlarda yaygın olarak bulunurlar (Jeon vd., 2012; Isca vd., 2014; Yaprak, 2008).





Şekil 1.8. İzmir Karşıyaka Mavişehir Bölgesi'ndeki Atatürk Organize Sanayi Kanalı Deresi'nin denize dökülen bölgenin civarındaki çeşitli deniz börülcesi türleri.

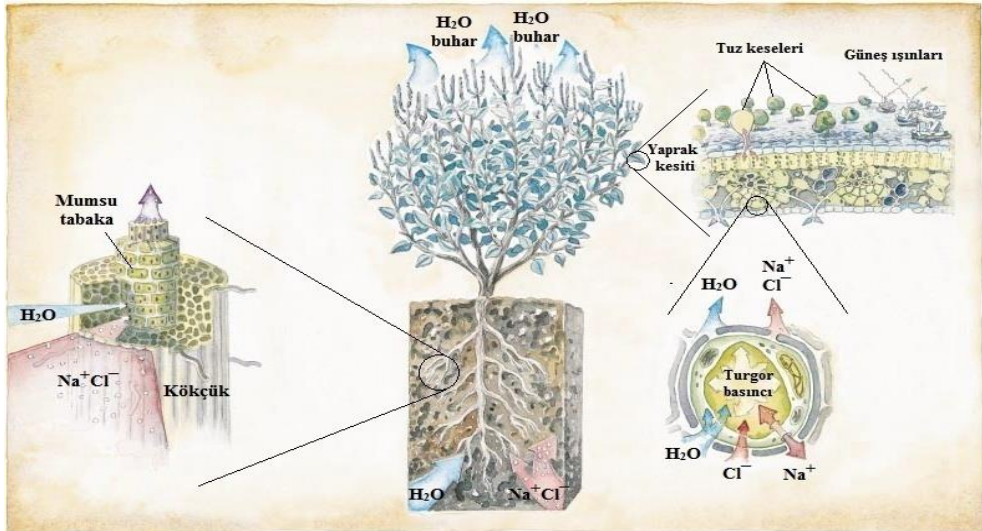
Deniz börülcilerinin gıda olarak kullanımı en azından 550 yıl öncesine dayanmaktadır. Deniz yosunları ve yenilebilir sebzelere benzemektedirler. Bir kaç türü insan ve hayvan beslenmesinde kullanılmıştır. İşlem görmüş sebze ve salata, fermente gıda, turşu ve şarap içerik maddesi olarak tüketilmektedirler. Deniz börülcesi türleri sadece beslenmede değil halk sağlığı alanında da bağışıklığı güçlendirmek için kullanılmıştır. Bazı türlerinin son zamanlarda obezite, kabızlık, diyabet, kanser, hazımsızlık, gastroenterik bozukluklar, hepatit, nefropati, hipertansiyon, hemoroid, astım ve artrit rahatsızlıklarına karşı tıbbi ilaç olarak ya da yemek tariflerinde gıda olarak tüketildiği bilinmektedir.

Fitokimyasal çalışmalarda çeşitli deniz börülcesi türlerinin yağ asitleri, steroller, saponinler, klorojenik asit türleri, alkaloidler, flavonoidler ve diğer fenolik

bileşikler, Mg, Ca, Fe, K gibi doğal mineraller, diyet lifler, biyoaktif maddeler olarak pitosteroller ve polisakkaritler gibi organik ve inorganik bileşikleri içerdiği rapor edilmiştir. Bu içeriklerinden dolayı bazı deniz börülcesi türlerinin halk sağlığındaki uygulamalarında antiinflamator, hipoglisemik, sitotoksik, antihiperlipidemik, antidiyabetik, antikanser, bakteriyostatik ve antioksidan aktivite gösteren bu tür önemli biyolojik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Deniz börülcesinin ayrıca farmakolojik ve fizyolojik etkileri de kozmetik ve gıdasal ürünler için yararlı materyallerdir. İçeriğindeki bileşiklerin fermente gıdalar için besinsel katkı maddeleri olarak kullanılmaları yararlı olabilir (Isca vd., 2014; Rhee vd., 2009; Jeon vd., 2012; Essaisi vd., 2013).

Kurutulmuş deniz börülcesindeki mineraller (NaCl hariç) çoğunlukla, yıkama işleminden sonra (yüzeydeki NaCl'nin giderilmesi) muhafaza edilirler (Jeon vd., 2012).

Deniz börülcesi gibi bazı tuz toleranslı bitkiler (halofitler), deniz suyu varlığında gelişmek için yaprak, kök ve hücrelerinde mekanizma geliştirmişlerdir. Her kökçükteki hücrelerin oluşturduğu dış katman ya da epidermis tuza (NaCl) karşı dayanıklıdır, neredeyse tuzu hiç geçirmezler. Ek olarak, hücre içine geçen suyun basıncından dolayı her bir hücrenin iç katmanı ya da endodermisi mumsu bir yapıdadır. Her bir yaprak içerisindeki hücreler tuzu işlemek için özel donanıma sahiptirler (Glenn vd., 1998).



Şekil 1.9. Halofitlerin anatomisi (Glenn vd., 1998)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Yüksek Antioksidan ve/veya Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Bitki Çalışmalarına Örnekler

Nuutila vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada soğanın asit hidrolizli örneklerinde bol miktarda bulunan flavonoidlerden en çok kuarsetin ve kaemferol ve onların glikozitlerinin bulunduğu rapor edilmiştir.

Katalinic vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada 70 tane tıbbi bitkinin su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH ve FRAP metodu ile incelenmiştir. İncelenen bitkilerden *Melissae folium* cinsi adaçayımmın indirgeme gücü olarak belirlenen total antioksidan aktivitesinin, iyi bilinen standart antioksidanlardan vitamin C, Trolox, (+) - kateşin ve BHT ile karşılaştırıldığında çok iyi olduğu görülmüştür. DPPH radikalini süpürme aktivitesinin ise vitamin C'den daha iyi olduğu, (+) - kateşin ile benzer olduğu, fakat kuarsetin kadar iyi olmadığı görülmüştür.

Pourmorad vd. (2006) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada sarıyonca çiçeği (*Melilotus officinalis*), baldıkara (*Adiantum capillus-veneris*), damar otu (*Plantago major*), dev atkuyruğu (*Equisetum maximum*) ve ısırgan (*Urtica dioica*) bitkilerinin metanol ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktiviteleri incelenmiştir. Sarıyonca çiçeğinin kuersetin ile hemen hemen aynı, BHT'den ise daha yüksek DPPH süpürme aktivitesine sahip olduğu görüldü. Diğer bitkiler ise sıralama *E. maximum* > *P. major* > *U. dioica* > *A. capillusveneris* olacak şekilde düşük DPPH süpürme aktivitesi göstermişlerdir

Çoban (2007), araştırılan bitkilerin DPPH süpürme aktiviteleri incelenmiştir ve metanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri göz önüne alındığında *A. rotundum*, davarotu (*M. Secacul*) ve *Z. absinthifolia* bitkilerinin α - tokoferol kadar anlamlı olarak DPPH radikalini süpürdükleri saptanmıştır. Etil asetat ekstraktlarının IC₅₀ değerlerine bakıldığında ise *T. sipyleus*, *P. recta*, *A. tinctoria* ve *S. acre* türlerinin α - tokoferol kadar etkili oldukları saptanmıştır. Süperoksit anyonunu süpürücü etkilerine bakıldığında, metanol ekstraktlarından *A. tinctoria* ve *S. acre*'nin IC₅₀ değerleriyle α - tokoferol'e yakın etki gösterdikleri saptanmıştır. Etil asetat ekstraktlarından ise *A. rotundum*, *T. sipyleus*, *S. acre*, *M. secacul* ve *P. recta* bitkilerinin α - tokoferole en yakın etkiyi gösterdikleri saptanmıştır.

Škerget vd. (2009)'nin yaptığı çalışmada kırmızı soğanın yenilebilir kısmının ve kabuğunun etanol ve aseton ekstraktlarının fenolik bileşik içeriği, antimikrobiyal ve radikal süpürme aktivitesi araştırıldı. Soğan kabuğunun etanol ve aseton ekstraktının DPPH radikalini süpürme aktivitesinin kuarsetinin aktivitesinden daha düşük olduğu, fakat BHT ile karşılaştırılabilecek yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite deneyinde ise, genel olarak soğanın kabuk kısmı, yenilebilen kısmına oranla daha fazla olmak üzere *B. cereus*, *E. coli* ve *P. fluorescens* bakterilerine karşı önemli derecede güçlü inhibitör etki göstermiştir. Kırmızı soğan kabuğunun özellikle kuarsetin olmak üzere (ekstrakte edilmiş fenolik bileşiklerin tümünün yaklaşık olarak % 44'ü) fenolik bileşikler bakımından zengin olduğu bulunmuştur.

Arıduru ve Arabacı (2013) tarafından yapılan bu çalışmada ciğertaze otunun metanol, etanol, etil asetat ve aseton ekstraktlarının DPPH ve Folin (total fenolik) yöntemi ile antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Standart olarak Troloks ve BHT kullanılmıştır. Ciğertaze otunun tüm ekstraktlarının DPPH süpürme aktivitesinin Troloks ve BHT ile hemen hemen aynı olduğu gözlemlenmiştir. Ciğertaze otu bitkisinin ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları en iyi olarak etanol ekstraktı 43.55 (mg GAE/g ekstrakt) daha sonra metanol ekstraktı 23.62 (mg GAE/g ekstrakt), etil asetat ekstraktı 18.29 (mg GAE/g ekstrakt) ve aseton ekstraktı 11,58 (mg GAE/g ekstrakt) olarak belirlenmiştir.

Khalaf vd. (2008)'nin yapmış olduğu bu çalışmada yaygın olarak kullanılan bazı bitkilerden, siyah çay türlerinden *Camellia sinensis* ve *Eugenia caryophyllus*, yeşil çay olarak *Camelliasinensis* türü, karabiberin *Piper cubeba* türü ve zencefilin *Zingiber officinale* türünün metanol ekstraktlarının DPPH aktiviteleri, standart olarak askorbik asit kullanılarak incelenmiştir. Yeşil çayın (*Camellia sinensis* Linn.) DPPH radikalini süpürme aktivitesi askorbik asidin aktivitesinden daha yüksek olduğu gözlenirken, karabiber (*Piper cubeba* Linn.), zencefil (*Zingiber officinale*) ve siyah çayların 2 türünün de (*Camellia sinensis* Linn.ve *Eugenia caryophyllus*) DPPH radikalini süpürme aktiviteleri askorbik asit ile yakın değerlerde olduğu görülmüştür.

2.2. Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivite Tayini Yapılan Deniz Börülcesi Çalışmalarına Örnekler

Halofit (tuzlu topraklarda ve denizin rüzgarla gelen suyuna dayanıklı bitkiler grubu) bitkiler ilk çağlardan beri beslenme, medikal özellikleri ve yüksek tuz içerikleri nedeniyle toplanıp tüketilmektedir (Davy vd.,2001; Lieth 1997)

Sarcocornia genus'u (Chenopodiaceae) benzeri *Salicornia* genusundaki bitkiler gibi yenebilen türler içerir. Bu bitkiler Avrupa pazarında yapraksız sürgünleri ile kuşkonmaza olan benzerlikleri nedeniyle sebze olarak kullanılmaktadırlar (Gargouri 2013). Bu bitkilerin tuzlu tatları ve yüksek besin içerikleri, iyi diyet destek maddesi olmalarını sağlar ve bu özellikler bazı çalışmalarla gösterilmiştir (Lu vd., 2001; Ventura vd., 2011).

Sarcocornia genus'undan bitkilerin özellikle omega-3-yağ asitleri, fenolik bileşik içerikleri, antioksidan ve mineral özellikleri "fonksiyonel gıda" tanımına uymaktadır (Del Giudice ve Pascucci, 2010).

Halofit özellikleri ile bilinen *Salicornia* ve *Sarcocornia* genuslarına ait bitkilerle yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Alpınar K vd. (2009), tarafından Ayvalık'ta yetişen yabani besin bitkilerinin antioksidan kapasitesini ölçmek üzere dört farklı yöntemle (CUPRAC, ABTS, FRAP ve Folin) analiz yapılmış ve *S. europaea* (deniz börülcesi)'nin antioksidan kapasitesi sarıdikenden (*Scolymus hispanicus* L.), tilki üzümünden (*Tamus communis* L. subsp. *Cretica* L.), yabani hardaldan (*Sinagosis arrensis* L.), yapışkan otundan (*Silene dichotoma* Ehrh. Subsp. *Dichotoma-ISTE*), ve turp otundan (*Raphanus raphanistrum* L.) yüksek bulunmuştur.

Manikandan vd. (2009) bir halofit olan *Salicornia brachiata*'nın su ve % 80 metanol ekstraktları hazırlanmış ve antibakteriyal aktiviteleri ölçülmüştür. Antibiyotiği ile karşılaştırılmış ve gram pozitif bakterilere karşı etkili oldukları sonucuna varılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin alkaloid, flavonoid, tannin, polifenolik bileşikler ve yağlardan kaynaklandığı tartışılmıştır. Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyal aktivite gözlenmiştir. Ölçülen MIC değerleri yüksek olduğu için aktif bileşiklerin farmasotik yararlarının olmayacağı sonucuna varılmıştır.

Poyrazoğlu oban vd. (2009) Aydın ve çevresinde yetiştirilen ebe gmeci (*Malva vulgaris*), deniz brlcesini (*Salicornia europaea*) ve kuşkonmaz (*Asparagus officinalis* L. ve *Asparagus acutifolius* türleri) bitkilerinin aseton, eter, etanol ve su bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak kuşkonmaz türlerinin ebe gmeci ve deniz brlcesini bitkilerine göre mikroorganizmalara karşı daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. *Salicornia europaea* L.'nin eter ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre çalışılan tüm mikroorganizmalara karşı referans antioksidanlara benzer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Ha Na vd. (2010), *S. herbecea* L. bitkisinin sirke üretimi sürecindeki mikrobiyal topluluk varyasyonları ve sirke karakteristiği üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Deniz brlcesinin sirke üretim ortamına ilavesi ile sirkenin asetik asit ve polifenol içeriğinin arttığı ve deniz brlcesinin fermantasyon sırasında mikroorganizma üretimi üzerinde aktivatör rolü oynamasının yanı sıra sirkenin kalitesini yükselten bir besin katkı maddesi olabileceği tartışılmıştır.

Aghaleh vd. (2011), tuz stresinin iki *Salicornia* türünden (*S. persica* ve *S. europaea*) fizyolojik ve antioksidatif yanıtlarına etkisini araştırmışlardır. Büyüme parametreleri, serbest prolin içeriği, iyon birikimi, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, GPx) aktivitesine etkiyi araştırmak için tohumlar iki ay boyunca yarı kuvvetli Hoagland zeltisi içinde ve NaCl'n değişen derişimleri ile muamele edilerek sonuçlar kontrol edilmiştir. Her iki türün de kuru ve yaş ağırlıkları 85-170 mM NaCl derişiminde artmış, daha yüksek tuz derişimlerinde azalmıştır. Prolin derişimi her iki türde de artmıştır. Kök ve sürgünlerde Na⁺ derişimi artmış, K⁺ ve P_i derişimi azalmıştır. Lipid peroksidasyonunun bir ls olan MDA düzeyi 85 ve 170 mM NaCl derişiminde azalmış fakat daha yüksek tuz derişiminde artmıştır. Tuzluluk arttı SOD, CAT ve GPx aktiviteleri her iki türde de artmıştır. Türlerden *S. persica*'nın oksidatif hasara karşı daha iyi koruma mekanizmasına sahip olduğu vetuza dayanıklılık özellik gösterdiği saptanmıştır.

Jin Young King vd. (2011) *Salicornia herbecea* L. bitkisinin dikafeoilkuinik asit türevleri ve flavonoid glukozitlerini ve bu bileşiklerin antioksidatif aktivitelerini çalışmışlardır. İki yeni antioksidan bileşik [izokuersitrin 6-O-metoksilat ve metil 4-kafeoil-3-dihidrokafeoil kuinat (salikornat)] izole edilmiş ayrıca daha önce bilinen 3,5-dikafeoilkuinik asit; kuersetin 3-O-β-D-glukopiranozit, 3-kafeoil-4-

dihidro kafeoilkuinik asit ve izoramsetin 3-O- β -D-glukopiranozit'in varlığı da gösterilmiştir. Bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri de ölçülmüştür ve pozitif bulunmuştur.

Kang vd. (2011) tarafından *Salicornia herbecea* tohum ekstreleri ile yapılan bir çalışma ile bitki tohumlarının (çekirdek) insan kolon ve bağırsak hücreleri üzerinde antioksidan ve sitotoksik etkileri incelenmiştir. DPPH, ABTS ve nitrikoksit kullanılarak ölçülen antioksidan aktivite hekzan fraksiyonlarında en yüksek bulunmuştur. Etanol fraksiyon HCT 11 ve HT-29 kolon kanser hücrelerine en yüksek sitotoksik etkiyi gösterirken, normal ölümsüz INT-407 ince bağırsak hücrelerine daha az toksisite gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte normal ve kanser hücreleri üzerinde seçimli toksisite saptanmıştır. Bu sonuçlara göre *S. herbecea* tohumlarının potansiyel antioksidan ve sitotoksik etkiye sahip olduğu ve medikal uygulamalar için bir besin kaynağı olarak kullanılabilirliği öngörülmüştür. *S. herbecea*'nın botanik, kimyasal ve farmakolojik özellikleri araştırılmıştır. Oryantal ülkelerde bu bitkinin ince bağırsak hasarı, nefropati ve hepatitin tedavisi için alternatif ilaç olarak kullanıldığından bahisle bunlara ilave olarak ateroskleroz, hiperglisemi ve şeker hastalığında da kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu derlemede *S. herbecea*'nın antioksidan, antimikrobiyal, antiproliferatif ve antienflamatuar aktivitelerinin içerdiği tungtungmadik asit, kuersetin 3-O-glikozit ve izoramsetin 3-O- ileri geldiği ifade edilmektedir.

Jeon vd. (2012) tarafından deniz börülcesi (*Salicornia herbacea* L.) ve pirinç (*Oryza sativa* L.) ile katkılanmış Doenjang (Kore soya ezmesi)'ın kimyasal ve biyokimyasal karakterizasyonu araştırılmıştır. Fermente yiyeceklere tuzlu topraklarda yetişen bitkilerin katkı maddesi olarak katılması besin değerinin yükseltilmesi açısından denemektedir. Deniz börülcesindeki NaCl'ün fermantasyonda mikroorganizma üremesine karşı inhibitör etkisi yaptığı bilindiğinden yarım saatlik yıkama ile kurutulmuş deniz börülcesinin tuzu giderilerek fermantasyon ile elde edilecek olan Kore Soya ezmesine farklı oranlarda katılmıştır. Sonuçlara göre deniz börülcesinin soya ezmesinin üretiminde kullanımının ezmenin kimyasal ve besin içeriği kalitesini arttıracığı ifade edilmiştir.

Gargouri vd. (2013) tarafından *Sarcocornia perennis* L. ile yapılan bir çalışmada total antioksidan kapasitesi, DPPH radikali süpürücü aktivite, total polifenol ve total flavonoid içerikleri ve kondanse tanin miktarları araştırılmış ve sırasıyla total

antioksidan kapasite (8,289 g Vit C/g kuru ağırlık), DPPH radikal süpürücü aktivite (IC₅₀ 0,403 mg/mL), total polifenol (4,322 mg GAE/ g DW), total flavonoid (3,300 mg CE/g DW), kondanse taninler (1,09 mg CE/g DW) olarak bulunmuştur. Çalışmada ayrıca bitki ekstraktının kurşun elementinin böbrek hücrelerine yaptığı toksik etkinin giderilmesindeki etkinliği *in vitro* koşullarda araştırılmış ve *S. perennis* ekstraktlarının böbrek hücrelerinin Pb toksisitesine karşı koruduğu saptanmıştır.

Toprak tuzluğunun giderek artması ve tatlı su kaynaklarının araştırılması sürdürülebilir ekin üretimi için yeni çözümler gerekmektedir. Ventura ve Sagi (2013) bu çözümlere katkıda bulunmak üzere *Salicornia* ve *Sarcocornia* genuslarına ait tuz toleranslı bitkileri incelemişlerdir. Bu çalışmada belirtildiğine göre kültüre edilmemiş bitki materyali düşük birbirine benzerlik göstermesi nedeniyle ürün kalitesi önceden öngörülememektedir. Ayrıca bu bitkilerin doğal büyüme sezonları takip edildiğinden her mevsim bulunma olasılıkları ve ayrıca bitki türünün bölgesel bolluğu düşük olabilmektedir. Bu tip bitkilerin mutfak işleminde kullanılması yüksek kalite ürün gerektirir. Öte yandan genuslar arasındaki biyolojik farklılıklar farklı uygulama pratiklerini gerektirmektedir (Ventura ve Sagi, 2013).

Chenopodiaceae ailesinin üyesi olan deniz börülcesi cinsi bitkilerin çeşitli türlerinin antibakteriyal etkileri de rapor edilmiştir. Biyolojik materyalde (et gibi) bozunmaya ve kokuşmaya (fovlng) neden olan bakterilerin tuzlu kıyı sedimentlerinde yetişen halofitlerin metanolik ekstraktlarına karşı duyar olduğu (Kumar vd., 2009 ve Manikandan vd., 2009) bilinmektedir. Soğutulmuş dana kıymasına *Salicornia fruticosa* halofitlerinin toprak üstü kısımlarının suyunu ve metanol ekstraktlarını katarak lipid peroksidasyonu ve bakteriyel üremeye etkisini incelemişlerdir. Gram (+) bakterilere karşı ekstraktların koruyucu etkisi tespit edilmiş ve pH üzerine etkisi, TBA değerlerine etkisi, aerobik mikroorganizmalara ve küf ve mayalara etkisi incelenmiştir. Test sonuçlarına göre, kontrol grubuna göre *S. fruticosa* ekstraktları katılan grupta bozunmanın daha düşük olduğu bulunmuştur (Elsebaie, 2013).

S. herbacea L. bitkisinin mineral içeriği, protein ve karbonhidrat içeriği de araştırılmıştır (Essaidi vd., 2013). Bu çalışmanın sonuçlarına göre kuru madde 680 ± 7,3 g/kg; kül miktarı 81 ± 3,6 g/kg bulunmuştur. Yüksek kül miktarı *S. herbacea*'nın alkali bitki kategorisinde olduğunu göstermiştir. Alkali bitkiler

sabun üretiminde doğal sodyum kaynağı olarak kullanılabilirler. Bitkinin protein oranı da yüksek bulunmuştur ($221,0 \pm 12,8$ g/kg kuru madde). Bu durum bu bitkinin geleneksel olarak pek çok ülkede besin olarak kullanımını açıklamaktadır. Kalori içeriği de yüksek (440 ± 50 kcal/100 g kuru madde) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite gösterdiği de saptanmıştır. Metanol ekstraktı aynı zamanda sitokrom P450 CYP1A2, CYP3A4 ve CYP2D6 enzimlerinin de inhibisyonuna neden olmuştur. *S. herbacea* ekstraktlarında klorojenik asit, kafeik asit, siringic asit, p-kumarik asit, sinapic asit, ferulik asit, salisilik asit, mirisetin, kuarsetin, trans-sinamik asit, hesperetin, kaemferol, izoramsetin, remsetin, akasetin, galangin fenolik asitleri ve flavonoidler tespit edilmiştir.

Salicornia brachiata'nın HepG2 hücreleri üzerine antioksidan ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır. *S.brachiata*'nın metanol ekstraktlarında 46,57 mg/g total fenolik bileşik; 200 µg/mL örnek için % 23 DPPH radikal süpürücü aktivite; % 20 ABTS radikal süpürücü aktivite; ferrik tiyosiyanat yöntemi ile ölçülen % 72 inhibisyon aktivitesi; TBA (tiyobarbitürik asit) yöntemi ile ekstrakt miktarına bağlı olarak yükselen bir inhibisyon tespit edilmiştir. HepG2 hücre hattı kullanılarak yapılan testte doza bağlı hücre proliferasyonu gözlenmiştir. Bu sonuçlar *S.brachiata*'nın antioksidan ve antikanser aktivitelerini göstermektedir (Santhanakrishnan vd., 2013).

Bertin vd. (2014), iki farklı bölgeden toplanmış *Sarcocornia ambigua* bitki örneklerini besin, biyoaktif bitkiler ve antioksidan aktiviteleri açısından karşılaştırılmıştır. Antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile ($36,64$ ve $135,83$ µmol TEAC/100 g) ve FRAP yöntemi ile ($31,92$ ve $170,14$ µmol Fe²⁺/100 g) ölçülmüştür. Bitkilerin fenolik bileşik içerikleri HPLC-ESI-MS/MS ile incelenmiş ve bir kumarin (scopoletin), bir fenolik aldehit, sekiz fenolik asit (p-kumarik, sinamik, vanilik, ferulik, kafeik, sinapik, klorojenik asitler) ve beş flavonoid (kuersetin, naringin, kaemferol ve) bulunmuştur. Bu halofitin doğal antioksidanlar ve besin maddeleri açısından zengin olduğu ve besin farmasotik endüstrilerde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Salicornia ramosissima halofitinden elde edilen çeşitli ekstraktların fenolik ve flavonoid içerikleri, DPPH radikali süpürücü aktiviteleri, indirgeme güçleri, β-karoten linoleik asit ve ORAC yöntemleri ile antioksidan aktivite tayinleri ve güneş koruma faktörü ve UVA-koruma faktör özellikleri çalışılmıştır (Surget, G

vd. 2015). Etilasetat fraksiyonunun koruma özellikleri α -tokoferolden daha yüksek ve güneş ışığı koruma özelliği de sentetik UV-filtrelerinden daha etkin bulunmuştur.

Yukarıda özetlenen literatür bilgisi ışığında *Sarcocornia perennis* L. (*S. perennis* L.) ile ilgili son derece kısıtlı sayıda araştırma olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada Türkiye’de besin olarak kullanım alanı bulan deniz börülcesi bitkisinin antioksidan özelliklerinin geniş bir biçimde belirlenmesi hedeflenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal ve Cihazlar

Kimyasallar:

Etil alkol, metil alkol, gallik asit, BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), Folin Ciocalteu reaktifi (FCR), rutin, NADH (nikotin amidadenin dinükleotid), NBT (nitroblue tetrazolyum), PMS (fenazin metasülfat), sodyum hidroksit (NaOH), PGR (pirogallol red), alüminyum klorür hegzahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil), *n*-hekzan, demir (II) klorür (FeCl_2) ve TBA (tiyobarbitürik asit) kimyasalları Sigma (Steinheim, Almanya)'dan temin edildi.

Potasyum heksasiyano ferrat [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], Vitamin C, AAPH [2,2'-Azo-bis (2-aminidinopropan) dihidroklorür], Troloks [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit] ve sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) kimyasalları Fluka (Buchs/Switzerland)'dan temin edildi.

Bakır (II) klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), neokuproin (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin ve demir (II) klorür kimyasalları Aldrich (Milwaukee, WI, ABD)'den temin edildi.

Amonyum asetat (NH_4Ac), amonyum tiyosiyanat (NH_4SCN), linoleik asit, EDTA (etilen diamin tetra asetik asit), demir (III) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), demir (III) klorür hegzahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve hidroklorik asit (HCl) kimyasalları Merck (Dramstadt/Almanya)'dan temin edildi.

Glasiyel asetik asit, potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), trikloroasetik asit (TCA) Carlo Erba (Ronado/İtalya)'dan temin edildi.

Rutin bileşiği Riedel-de Han (Seelze/Almanya)'dan temin edildi.

Cihazlar:

Su banyosu [Memmert (WBU)], terazi [0,0001 g duyarlılıkta, Ohaus-Pioneer (PA214C)], pH metre [Hanna (pH) 211], çalkalamalı su banyosu [Memmert (WB14)], spektrofotometre [Shimadzu (UV-1601)], vorteks [Heidolph (Reax Top)], otomatik pipetler [Brand (Transferpette)], manyetik karıştırıcı [Hanna (HI190M)], buzdolabı [Vestel (White FR 540)], saf su cihazı [GLF (2001/4)],

liyofilizatör [Labconco (Freezone 6)], rotari evaporatör [İka (RV 05 Basic 1B)], etüv [Heraeus (Fuktion Line)], santrifüj [Hettich (Universal 32R)]

3.2. Yöntem

3.2.1. *Sarcocornia perennis* L. (*S. perennis* L.) Bitkisinin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması

Bitkinin toplanması: Deniz börülcesi örnekleri İzmir Karşıyaka Mavişehir Bölgesindeki Atatürk Organize Sanayi Kanalı Deresi'nin denize dökülen bölgenin civarından toplandı (GPS: N 38° 27'57.6"; E 27° 04' 6.24"). Laboratuara getirilen örnekler temizlenip ayıklandıktan sonra botanik kurutma işlemlerine sadık kalınarak kurutuldu ve bir örneği saklandı. Bitki örneği Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Özkan Eren ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet Emre Yaprak tarafından taksonomik olarak tanımlandı ve ekstrakt hazırlama aşamasına geçildi.

Ekstraktların hazırlanması: Bu işlem için çürüklerinden ayıklandıktan sonra yıkanarak topraktan arındırılan örnekler adi süzgeç kağıdı üzerinde laboratuarda oda sıcaklığında açıkta ve yaprak kısımlarının küçük parçalara ayrılmasıyla liyofilizatörde olmak üzere iki farklı yöntemle kurutuldu. Kurutulan örnekler farklı polariteye sahip üç farklı çözügen [etanol, metanol, su (sırasıyla 20 °C'deki dielektrik sabitleri: $\epsilon_{\text{etanol}} = 32,63$, $\epsilon_{\text{metanol}} = 24,30$, $\epsilon_{\text{su}} = 80,37$)] ile ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. İlaveten bir de "demleme su" ekstraktı hazırlandı. Yirmi gram yaş deniz börülcelerine denk gelen öğütülmüş kuru örneklerden etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının her biri için sırasıyla; liyofilizatörde kurutulmuş örnekten 3,4 g; açıkta kurutulmuş örnekten 3,5 gram tartıldı ve üzerlerine 50'şer mL çözügen (etanol, metanol, su) eklendi. Oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda 4 saat karışmaya bırakıldı (Demleme su ekstraktları ilk yarım saatlik süreçte 70 °C'de ısıtılarak karıştırıldı). Dört saatlik karışma sürecinden sonra ekstraktlar süzüldü. Kalıntılara tekrar 50'şer mL çözügen eklenerek ikinci ekstraksiyon süreci 20 saat ve üçüncü ekstraksiyon süreci 24 saat olmak üzere aynı işlemler 3 kez tekrarlanarak toplamda 48 saatlik ekstraksiyon süreci tamamlandı. Süzüntüler birleştirildi. Su ve demleme su ekstraktlarının suyu liyofilizatörde, etanol ve metanol ekstraktlarının çözügenleri evaporatörde uçuruldu. Elde edilen kalıntılar folyo ile kaplanmış cam şişelerde ağzı kapalı olarak

buzdolabına (+ 4 °C) yerleştirilmiş desikatörde saklandı ve tüm örnekler aşağıdaki antioksidan kapasite tayin yöntemleri ve antimikrobiyal aktivite tayin uygulandı.

3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

DPPH radikal süpürücü aktivite tayini Brand-Williams vd. (1995)'a göre yapıldı. DPPH'in metanolde hazırlanan $1,0 \times 10^{-4}$ M çözeltisinden 0,3 mL alınarak üzerine 0 (Kontrol)-5-50-150-250-500-750-1000-1250 ve 1500 µg/mL derişimindeki ekstrakt çözeltilerinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) 0,9 mL ilave edildi, vorteks ile çalkalandı ve 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Her bir derişim için 3 tekrar yapıldı. İnkübasyon süreci bittikten sonra 517 nm'de absorbans okundu. Standart antioksidanlar olarak BHT, troloks, rutin ve gallik asit kullanıldı. Yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formülden hesaplanarak derişime karşı % inhibisyon grafiğı çizildi ve her bir örnek/standart antioksidan için IC_{50} değeri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

A_{Kontrol} : Kontrolün absorbansı

$A_{\text{Örnek}}$: Örneğın/standart antioksidanın absorbansı

3.2.3. Total Fenolik Bileşik Tayini (TPC)

Toplam fenolik bileşik tayini, Singleton vd. (1999)'a göre yapıldı. Her bir ekstraktın 1 mg/mL derişimdeki çözeltileri (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) hazırlandı. Bu çözeltilerden 0,25 mL alındı, üzerlerine 11,25 mL distile su eklenerek toplam hacim 11,5 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözeltilerin üzerlerine 0,25'şer mL Folin-Ciocalteu Reaktifı (FCR) satın alındığı şekilde ilave edildi, 3 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 0,75'şer mL % 2'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklendi. Elde edilen bu karışım 2 saat çalkalayıcıda çalkalandı ve bu süreç sonucunda oluşan sarı rengın absorbansı 760 nm' de okundu. Bu yöntemde rutin bileşığı standart olarak kullanıldı. Rutin kalibrasyon (rutin miktarına karşı absorbans) grafiğının çizilmesi için 50 µg/mL derişiminde etanolde hazırlanan rutin stok çözeltisinden 40-80-120-160-200-240 ve 280 µL alınıp toplam hacimler su ile 11,5 mL'ye tamamlandı ve yukarıda anlatıldığı gibi örnekler için yapılan

işlemlerin aynısı uygulandı. Sonuç olarak örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, rutin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak rutin eşdeğeri olarak hesaplandı.

3.2.4. Total Flavonoid Tayini

Toplam flavonoid tayini Quettier-Deleu (2000)'e göre yapıldı. Her bir ekstraktın 1,0 mg/mL derişimdeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) 1'er mL alındı, üzerlerine metanolde hazırlanan % 2'lik $AlCl_3$ çözeltilisinden 1'er mL eklendi, oda sıcaklığında 15 dk beklendikten sonra 430 nm'de absorbansları okundu. Bu yöntemde rutin bileşiği standart olarak kullanıldı. Rutin kalibrasyon (derişime karşı absorbans) grafiğinin çizilmesi için 10-20-30-40-50 ve 60 $\mu g/mL$ derişiminde etanolde hazırlanan rutin çözeltilerinden 1'er mL alındı ve ekstraktlara uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Rutin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri olarak hesaplandı.

3.2.5. Total Flavonol Tayini

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'a göre yapıldı. Her bir ekstraktın 1 mg/mL derişimindeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) 1'er mL alındı, üzerlerine sırası ile 1'er mL metanolde hazırlanan % 2'lik $AlCl_3$ ve 3'er mL % 5'lik sodyum asetat ($NaC_2H_3O_2$, suda) çözeltilisinden eklendi, 20 °C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinin sonunda 430 nm'de absorbansları okundu. Bu yöntemde rutin bileşiği standart olarak kullanıldı. Rutin kalibrasyon (derişime karşı absorbans) grafiğinin çizilmesi için etanolde 10-20-30-40-50 ve 60 $\mu g/mL$ derişiminde hazırlanan rutin çözeltilerinden 1'er mL alındı ve ekstraktlara uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Rutin bileşiğinin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri olarak hesaplandı.

3.2.6. İndirgeme Gücü Tayini

İndirgeme gücü tayini Oyaizu (1986)'a göre yapıldı. Her bir ekstraktın ve standart antioksidanların 1 mg/mL derişimdeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) 100'er

μL ; standart antioksidanların 1 mg/mL derişimdeki çözeltilisinden ise 5'şer μL alındı ve hacimleri su ile 400 μL 'ye tamamlandı. Üzerlerine sırası ile 1 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6) ve 1 mL % 1'lik potasyum ferrisiyanür [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] eklendi ve 20 dk 50 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra sırasıyla 1 mL 10'luk trikloroasetik asit (TCA), 3,4 mL distile su ve 0,68 mL % 1'lik FeCl_3 eklenip hazırlanan çözeltilerin 700 nm'de absorbansları okundu. Aynı işlemler kalibrasyon grafiği çizilmek üzere 1 mg/mL derişimindeki askorbik asit çözeltilisinden 2-4-6-8 ve 10 μL alınarak tekrar edildi. Ekstraktların ve standart antioksidanların indirgeme gücü değerleri askorbik asit kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak % askorbik asit olarak hesaplandı.

3.2.7. Total Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntem Saha vd. (2004)'e göre uygulandı. Her bir ekstraktın ve standart antioksidanların 1 mg/mL derişimdeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ve demleme su ekstraktları suda çözüldü) 1'er mL alındı (kontrol için 1 mL tampon). Üzerlerine sırası ile 1,025 mL 0,081 M linoleik asit emülsiyonu (2,51 mL linoleik asit + 100 mL etanol), 2 mL 0,04 M fosfat tamponu (PBS, pH: 7,4) ve 0,975 mL distile su ilave edilip 40 °C'de inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu çözeltilerden $t = 0$ anından itibaren 24 saat arayla 100 μL alınıp üzerine sırasıyla 9,7 mL etanol (kör için 9,8 mL), 100 μL FeCl_2 (20 mM % 3,5'lük HCl'de) ve 100 μL % 30'lük amonyum tiyosiyanat eklendi. Hazırlanan bu karışımlar vortekslelendikten sonra 500 nm'de absorbansları okundu. Belirtilen sürelerle karşılık absorbans grafiği çizildi. Kontrolün absorbansının maksimum olduğu saatteki absorbanslar baz alınarak örneklerin ve standart antioksidanların total antioksidan aktivite değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\text{A.A.} = 100 - [(\Delta A_{\text{Örnek}} - \Delta A_{\text{Kontrol}}) / A_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

A.A. : Antioksidan Aktivite

Burada:

$\Delta A_{\text{Örnek}}$: Örnek/standart antioksidan için (t anındaki absorbans – t_0 anındaki absorbans)

$\Delta A_{\text{Kontrol}}$: Kontrol için (t anındaki absorbans – t_0 anındaki absorbans'tır)

3.2.8. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin biraz modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre yapıldı. Tüplere (10 mL'lik) sırasıyla 16 mM Tris-HCl (pH: 8,0) tamponunda hazırlanan 50 μ M NBT, 78 μ M NADH, 100 μ g/mL derişiminde ekstrakt (alkol ekstraktları ve standart antioksidanların 500 μ g/mL derişimindeki çözeltilerinden 0,1 mL alınıp tampon ile 0,5 mL'ye tamamlandı) ve 10 μ M fenazin metasülfat (PMS) çözeltilerinden 0,5'er mL eklenip 25 °C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra 560 nm'de absorbens değerleri okundu.

3.2.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini Güçlü vd. (2006)'a göre yapıldı. Tüplere (10 mL'lik) sırasıyla 0,5 mL 0,01 M CuCl₂, 0,5 mL 7,5 mM etanolde hazırlanan neokuproin, 0,5 mL 1 M amonyum asetat (NH₄Ac) (pH: 7,0), 0,1 mL (0-10-20-30-40-50 ve 60 μ g/mL derişimlerinde) ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi ve 0,45 mL distile su eklenip 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra 450 nm'de absorbens değerleri okundu. Her bir ekstrakt ve standart antioksidan için derişime karşı absorbens grafikleri çizildi. Elde edilen grafiklerin eğimleri Troloks standardı için çizilen standart grafiğin eğimine oranlanarak TEAC_{CUPRAC} değerleri hesaplandı.

3.2.10. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikal absorbans kapasitesi tayini Lopez-Alarcon ve Lissi (2005)'e göre yapıldı. Kuvartz küvete sırasıyla 0,5 mL 20 mM AAPH [2,2'-Azo-bis (2-aminodipropan) dihidroklorür] [75 mM fosfat tamponunda hazırlandı (pH: 7,4)], 0.1 mL farklı (70-140-210-280 ve 350 μ g/mL) derişimlerde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi, 0,45 mL fosfat tamponu (pH: 7,4) ve 50 μ L 100 μ M PGR (pirogallol red) çözeltisi eklenip çalkalandı ve hemen UV cihazına yerleştirilip 15 dakika boyunca her dakikadaki absorbens düşüşü kaydedildi. t anındaki absorbens değerleri t₀ anındaki absorbens değerine oranlanarak zamana karşı A₀/A grafiği çizildi.

3.2.11. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini Halliwell vd. (1987)'nin biraz modifikasyonu ile Umamaheswari ve Chatterjee (2008)'e göre yapıldı. Bu tayinde fosfat tamponunda çözünebilir ekstraktların (su ve demleme su ekstraktları) ve standart antioksidanların (gallik asit ve Troloks) hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri incelendi. Tüplere sırasıyla 0,1 mL 28 mM Deoksi-D-Riboz [20 mM fosfat tamponunda (pH: 7,4)], 0,5 mL farklı (2-4-6-8 ve 10 mg/mL) derişimlerde ekstrakt/standart antioksidan çözeltisi [20 mM fosfat tamponunda (pH: 7,4)], 0,2 mL [0,1 mL 1,04 mM EDTA + 0,1 mL 0,2 mM FeCl₃ (azot gazı geçirilmiş suda)] çözeltisi, 0,1 mL 1,0 mM H₂O₂(suda) çözeltisi ve 0,1 mL 1,0 mM askorbik asit (azot gazı geçirilmiş suda) çözeltisi eklenip 1 saat 37 °C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süreci bittikten sonra tüplere sırasıyla 1'er mL % 2,8'lik TCA (trikloroasetikasit) (suda) ve %1'lik TBA (tiyobarbitürükasit) (50 mM NaOH sulu çözeltisinde) eklendi ve 100 °C'deki su banyosuna yerleştirilip 20 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Kaynama sürecinden sonra bulanıklık gözlenen çözeltiler 25 °C'de 11000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Daha sonra 532 nm' de çözeltilerin köre karşı absorbanları okundu. Yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formülden hesaplanarak derişime karşı % inhibisyon grafiği çizildi ve her bir örnek/standart antioksidan için IC₅₀ değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

A_{Kontrol} : Kontrolün absorbanı

$A_{\text{Örnek}}$: Örneğin/standart antioksidanın absorbanı

3.2.12. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal aktivite tayini agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Katı besi yeri olarak Muller Hilton Agar hazırlandı: Bu amaçla ayrı ayrı 300 mL suda 6,3 g Muller Hilton Broth (Oxoid) ve agar agar (Merck) (besiyerinin katılaşması için) çözüldü. Hazırlanan bu iki çözelti otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edildikten sonra birbirlerine eklendi (Toplamda 600 mL Muller Hilton agar çözeltisi hazırlanmış oldu). Hazırlanan besiyeri steril plastik petri kaplarına döküldü ve soğumaya bırakıldı.

Antimikrobiyal aktivite denemelerinde kullanılmak üzere *Escherichia coli* ATCC35218, *Micrococcus luteus* ATCC934, *Staphylococcus aureus* ATCC25929, *Pseudomonas aeruginosa* (klinik izolat), *Serratia marcescens* (toprak izolatı), *Enterococcus faecalis* ATCC51299 bakterileri 1 gün önceden Brain Heart İnfusion Agar (Merck) besiyerlerine ekildi ve 37 °C'de inkübe edildi. Bu bakterilerden steril distile su içerisinde 0,5 MacFarland bulanıklığına eşdeğer şekilde süspansiyon hazırlandı.

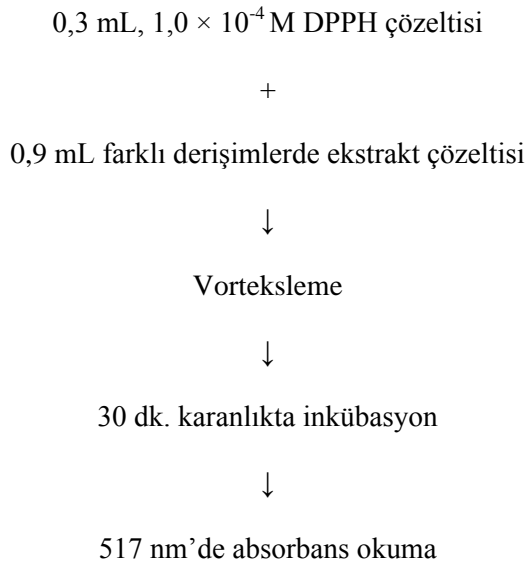
Soğuyup katılaştıran Muller Hilton Agar besiyerlerine bakteri süspansiyonlarından steril eküvyon ile ekim yapıldı ve bu besiyerlerine agar delici (6 mm) ile kuyucuklar açıldı. Bu kuyucuklara her bir ekstraktın ve kontrol olarak kullanılan gallik asitin 1 mg/mL ve 10 mg/mL derişimlerdeki çözeltilerinden 0,5 mL eklendi ve petriler 1 saat buzdolabında (+4 °C'de) bekletildikten sonra etüvde (24 saat, +37 °C) inkübasyona bırakıldı. İşlemler 2 tekrarlı yapıldı, DMSO negatif kontrol olarak kullanıldı. 1 günlük inkübasyon sürecinden sonra besiyerlerinde oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda 10 farklı antioksidan aktivite göstergesi yöntem ile *S. perennis* L. ekstraktları incelenmiştir. Bu yöntemler ve bulgular aşağıdaki gibidir.

4.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

Ekstraktlar ve standart olarak kullanılan antioksidanlar, Brands-Williams vd. (1995)'e göre uygulanan bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki şemada gösterilen işlemlere tabi tutulmuştur.



517 nm'deki absorbans ne kadar düşükse DPPH radikali o kadar süpürülmüş demektir. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart olarak kullanılan antioksidanların farklı derişimleri için elde edilen DPPH radikali süpürme aktivitelerinin % inhibisyon cinsinden grafikleri Şekil 4.1. ve 4.2.'de görülmektedir.

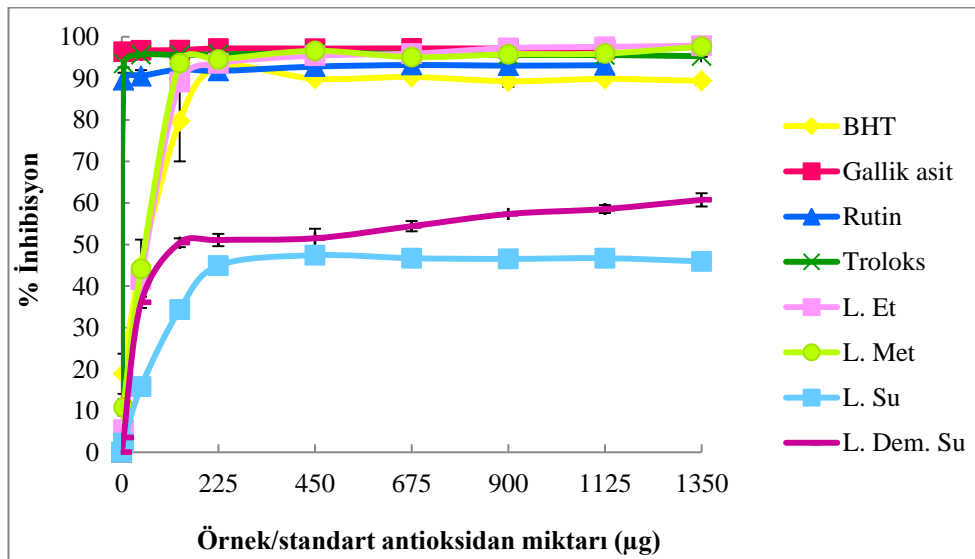
DPPH'in % 50'sini süpüren antioksidan miktarı (IC_{50}) ne kadar düşükse antioksidan maddenin DPPH radikalini süpürme aktivitesi o kadar yüksek demektir. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart olarak kullanılan antioksidanlar için lineer regresyon analizi yöntemi ile elde edilen IC_{50} değerleri Çizelge 4.1.'de ve Şekil 4.3. ve 4.4.'de görülmektedir.

İlk kez Blois (1958) tarafından önerilen ve DPPH yöntemi olarak tanınan antioksidan aktivite tayin yöntemi kararlı bir radikal olan 1,1-difenil-2-pikril

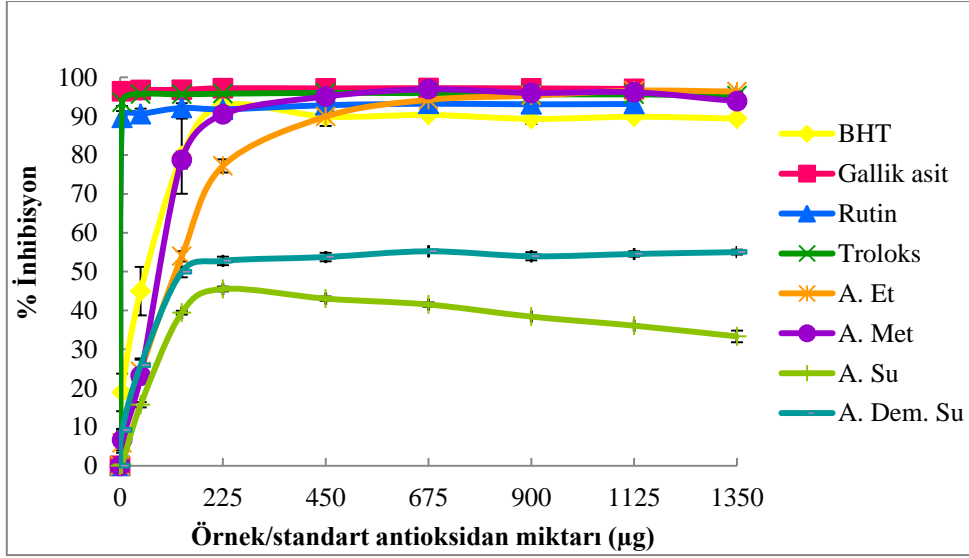
hidrazil molekülünün radikal olmayan türe dönüştürülmesini ölçen bir yöntemdir. Antioksidan çalışmalarında son zamanlarda en çok kullanılan bu yöntem aynı zamanda doğal sistemlerde bulunmayan sentetik bir radikali süpürdüğü gerekçesi ile oldukça da eleştiri alan bir yöntemdir. Hızlı sonuç vermesi yöntemin bir avantajıdır.

Bu çalışmada ayrıca örnek hazırlama yöntemlerinin ekstraktların antioksidan aktivitelerine etkisi de araştırıldığından Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı şekilde iki farklı yöntemle kurutulmuş örneklerden dört farklı ekstrakt hazırlandı. Çizelge 4.1'de listelenen sonuçlara göre ekstraktların DPPH radikal süpürme aktivitesi standart antioksidanlarla kıyaslandığında çok düşüktür. Liyofilizatörde kurutulmuş örneğin metanol ekstraktı en yüksek aktiviteyi göstermekte iken, onu liyofilizatörde kurutulmuş örneğin etanol ve demleme su ekstraktı izlemektedir. Açıkta kurutulmuş örneklerin aktiviteleri ise düşüktür.

Bir antioksidan molekülün DPPH radikalini sönmelendirme kapasitesi onun molekül yapısı ile ilişkilidir (Molyneux, 2004). Pek çok antioksidan olan veya olmayan moleküllerin oluşturduğu bitki ekstraktlarında süpürme mekanizmasının çok daha karmaşık olması beklenebilir.



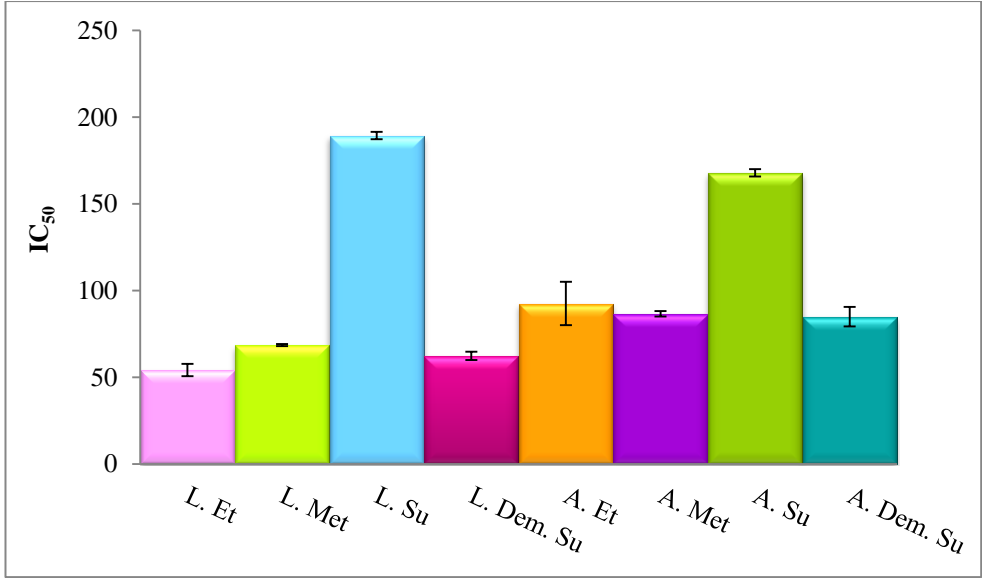
Şekil 4.1. *S. perennis* L. liyofilizatörde kurutulmuş ekstraktların DPPH radikali süpürme aktivitelerinin kinetik eğrileri.



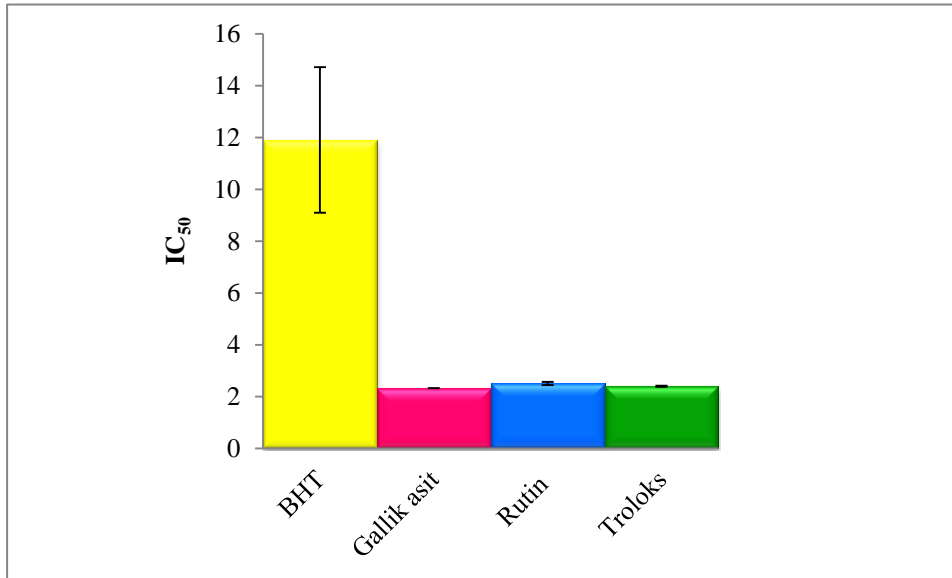
Şekil 4.2. *S. perennis* L. açıkta kurutulmuş ekstraktların DPPH radikali süpürme aktivilerinin kinetik eğrileri.

Çizelge 4.1. *S. perennis* L. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanların IC₅₀ değerleri.

ÖRNEKLER		IC ₅₀ ± SD (µg)
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	54,16 ± 3,54
	Metanol Ekstraktı	68,58 ± 0,61
	Su Ekstraktı	189,40 ± 2,13
	Demleme Su Ekstraktı	62,38 ± 2,38
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	92,54 ± 12,49
	Metanol Ekstraktı	86,59 ± 1,57
	Su Ekstraktı	167,90 ± 2,13
	Demleme Su Ekstraktı	84,93 ± 5,64
Standart Antioksidanlar	BHT	11,91 ± 2,81
	Gallik Asit	2,33 ± 0,01
	Rutin	2,51 ± 0,06
	Troloks	2,40 ± 0,02



Şekil 4.3. *S. perennis* L. ekstraktlarının lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.4. Standart antioksidanların lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1.'deki IC₅₀ değerlerinden görüldüğü gibi standart antioksidan olarak kullanılan BHT, Gallik asit, Rutin ve Troloks'un DPPH radikalini süpürme

aktiviteleri çok yüksektir. Sıralama gallik asit > Troloks > rutin > BHT > L. Met > L. Et > L. Dem. Su > A. Dem. Su > A. Et > A. Met > A. Su > L. Su şeklindedir.

Santhanakrishan vd.(2013), tarafından *Salicornia brachiata* ile yapılan bir çalışmada sadece metanol ekstraktı hazırlanmış ve bu ekstraktın 200-1000 µg/mL derişimi aralığında DPPH radikali süpürücü aktivitesi izlenmiş ve % 85 oranında % inhibisyon okunmuştur. *S. brachiata* ile sonuçları aynı koşullarda standart antioksidanlar ile karşılaştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda iki farklı yöntemle hazırlanmış dörder ekstraktın DPPH radikali süpürücü aktivitesi ölçülmüş ve standart antioksidanlarla karşılaştırılmıştır.

DPPH yöntemi sonuçları ortamdaki DPPH moleküllerinin % 50'sini sönmüldürecek antioksidan miktarı olarak tanımlanabilecek IC₅₀ değerleri ile verilir. Bu değer derişim-% inhibisyon eğrilerinin lineer olduğu bölgenin y ekseninde % 50 değerine karşılık gelen noktadan hesaplanır. Bu açıdan bakıldığında Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere *S. perennis* örneklerinin hepsi standartlara göre düşük DPPH süpürme kapasitesi göstermektedir. Öte yandan eğrilerin platoya eriştiği ~450 µg antioksidan miktarından sonra örneğin liyofilize etanol ekstraktının Troloks, rutin, BHT ve gallik asit ile çok benzer davranışları gösterdiği, aynı davranışın açıkta kurutulmuş örnek ekstraktları için de geçerli olduğu ifade edilebilir. Benzer DPPH sonuçları Kim vd. (2011) tarafından *Salicornia herbecea* L.'nin etanol, metanol, bütanol ve su ekstraktları için de rapor edilmiştir. *Salicornia ramosissima* ile yapılan bir başka çalışmada da (Surget vd.,2015) ham ekstrakt, etil asetat ekstraktı ve su ekstraktının DPPH radikali süpürme aktivitesi pozitif kontrol olarak α-tokoferol, BHA, Troloks ve askorbik asit ile karşılaştırılmış ve çalışmamızdaki bulgulara benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Sitoprotektif ve antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışmada (Gargouri vd., 2013) *Sarcocornia perennis* L. bitkisinin DPPH yöntemi ile tayin edilen IC₅₀ değeri 0,403 mg/mL olarak ölçülmüştür. Standartlarla karşılaştırmanın yapılmadığı bu çalışmada elde edilen IC₅₀ değeri bizim çalışmamızda elde edilenden büyüktür. *Salicornia herbecea* L. ile yapılan bir çalışmada da (Essaidi vd., 2013) bitkinin metanol ekstraktlarının BHT ile kıyaslanabilir düzeyde DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir. Yine de BHT'nin IC₅₀ değeri (18,4 ± 1,3 µg/mL) ile kıyaslandığında metanol ekstraktının IC₅₀ değeri 55,3 ± 2,7 µg/mL olarak bulunmuştur.

Deniz börülcesinin bir türü olan *Salicornia herbecea*'nın çekirdek ekstraktları ile yapılan bir çalışmada (Kang vd., 2011) ekstraktlar, insan ince bağırsak hücrelerinde in vitro olarak denenmiş ve yaklaşık % 80 serbest radikal süpürme etkisine ulaşabildikleri tespit edilmiştir.

4.2. Total Fenolik Bileşik Tayini (TPC)

Ekstraktlar ve standart antioksidan olarak kullanılan rutin bileşiği, Singleton vd. (1999)'e göre uygulanan bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

11,5 mL rutin (farklı derişimlerde) veya 0,25 mL, 1 mg/mL derişiminde ekstrakt
çözeltisi+ 11.25 mL su

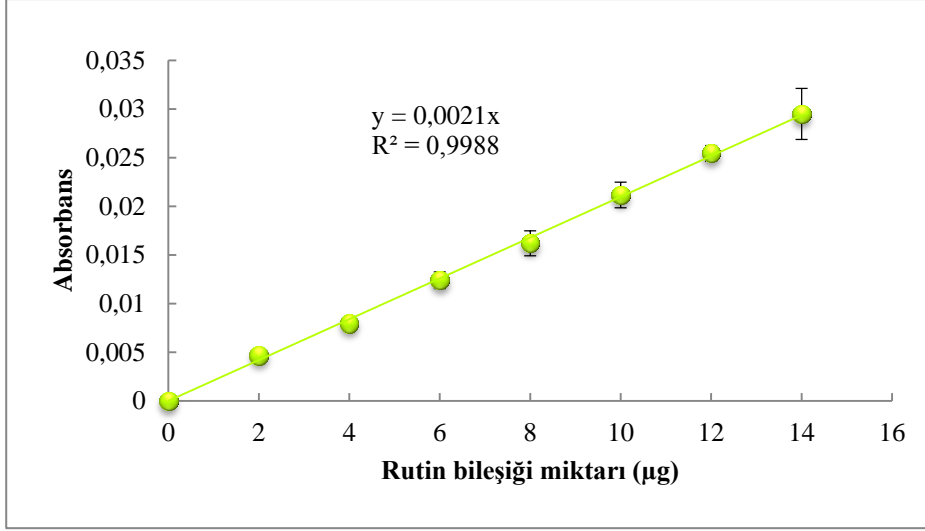
+
0,25 mL FCR reaktifi
+
3 dk inkübasyon
+
0,75 mL % 2'lik Na₂CO₃
↓
Oda sıcaklığında 2 saat çalkalama
↓
760 nm'de absorbans okundu

Antioksidan olarak rutin bileşiği kullanılarak elde edilen standart kalibrasyon grafiği Şekil 4.6.'de görülmektedir.

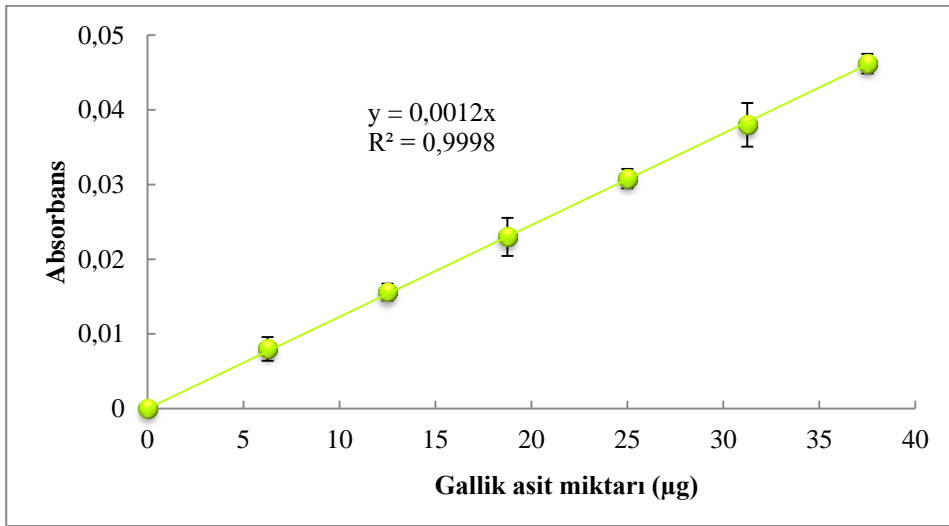
Rutin bileşiği kalibrasyon grafiği için elde edilen doğrunun denklemi:

$$\text{Absorbans} = 0,0021 \times \text{Total Fenolik Bileşik (RE)}$$

Bitkinin farklı ekstraktlarının 250 µg'ı kullanılarak bu yöntemde elde edilen absorpsiyon değerleri, rutin standart kalibrasyon grafiğine yerleştirilerek örneklerin rutin eşdeğerleri (RE) hesaplandı. Aynı işlem gallik asit kullanılarak da yapıldı. Çizelge4.2.'de, yukarıdaki eşitlikten yararlanılarak rutin eşdeğeri olarak hesaplanan total fenolik bileşik miktarı değerleri verilmiştir.



Şekil 4.5. Total Fenolik Bileşik tayini için hazırlanan rutin bileşiği standart kalibrasyon grafiği.



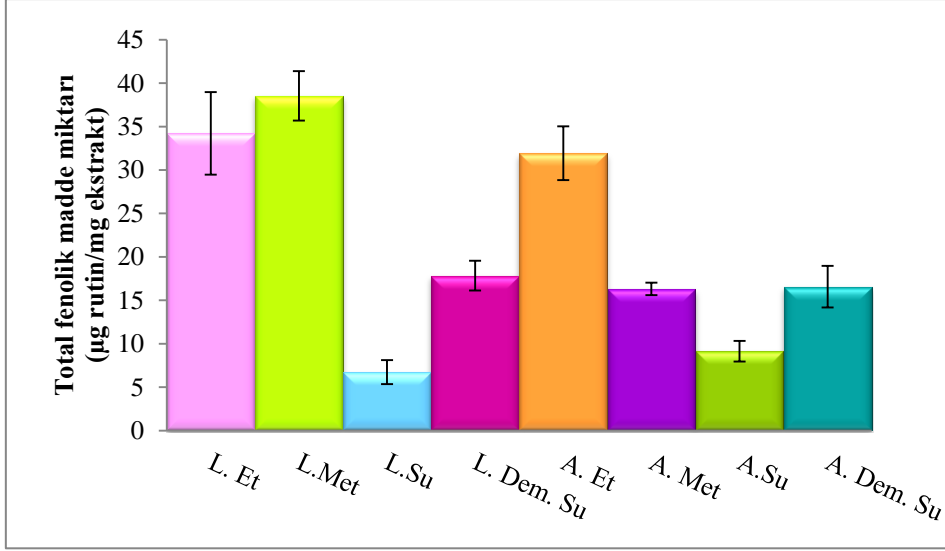
Şekil 4.6. Total Fenolik Bileşik tayini için hazırlanan gallik asit standart kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.2. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş *S. perennis* L.'nin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) ve gallik asit eşdeğeri(GAE) olarak total fenolik bileşik değerleri.

ÖRNEKLER		Eklene örnek miktarı (µg)	Total Fenolik Madde(µg rutin/mg ekstrakt)	Total Fenolik Madde(µg gallik asit/mg ekstrakt)
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	250	34,22 ± 4,75	19,55 ± 2,71
	Metanol Ekstraktı	250	38,54 ± 2,85	22,02 ± 1,63
	Su Ekstraktı	250	6,73 ± 1,38	3,84 ± 0,79
	Demleme Su Ekstraktı	250	17,84 ± 1,71	10,19 ± 0,97
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	250	31,94 ± 3,10	18,25 ± 1,77
	Metanol Ekstraktı	250	16,32 ± 0,72	9,32 ± 0,41
	Su Ekstraktı	250	9,14 ± 1,19	5,22 ± 0,68
	Demleme Su Ekstraktı	250	16,57 ± 2,39	9,47 ± 1,36

Bu testte standart olarak 2 farklı fenolik bileşik (rutin ve gallik asit) kullanıldı. Total fenolik bileşik yönteminde, bitki ekstraktlarının karmaşık molekül yapıları nedeniyle, sonuçlar iyi bulunan veya iyi temsil eden bir saf madde cinsinden verilir. Total fenolik bileşik tayininde bu standart bileşik genellikle gallik asittir. Ancak, bitki ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin çeşitli olması ve *S. perennis* L.'in fenolik madde çeşitliliği ile ilgili çalışma yapılmamış olması nedeniyle, ekstraktlar fenolik olan gallik asit ve bir flavonoid glikozit olan rutin kullanılarak, her iki grubu da temsil eden bir total fenolik ölçümü yapılmaya çalışıldı.

Tablo 4.2. ve Şekil 4.7.'de görülen sonuçlara göre deniz börülcesi ekstraktlarının fenolik bileşik içerik miktarlarının sıralaması L. Met > L. Et > A. Et > L. Dem. Su > A. Dem. Su > L. Su > A. Su şeklindedir.



Şekil 4.7. *S. perennis* L. ekstraktlarındaki rutin eşdeğeri olarak total fenolik bileşik miktarlarının karşılaştırılması.

Gargouri vd. (2013) tarafından *S. perennis* L. ile yapılan çalışmada total fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden 4,32 mg (GAE/g olarak ölçülmüştür. Bu sonuca göre çalışmamızda ölçülen fenolik madde miktarları Çizelge 4.2’de görülmektedir.

Essaidi vd. (2013)’nin çalışmasında bir başka deniz börülcesi türü olan *Salicornia herbecea* L.’nin total fenolik madde miktarı $164,2 \pm 11,2$ g GAE/kg olarak verilmiştir.

Santhanakrishan vd. (2013)’nin *Salicornia brachiata* L. ile yapılan çalışmada metanol ekstraktlarının total fenolik bileşik içeriği 46,57 mg GAE/g olarak rapor edilmiştir.

Surget vd. (2015) tarafından yapılan *Salicornia ramosissima* ile yapılan total fenolik madde içeriği ölçümünde ham ekstraktta $27,44 \pm 0,68$ mg GAE/g; etil asetat ve su fraksiyonlarında ise sırasıyla $431,55 \pm 19,91$ mg GAE/g ve $18,63 \pm 0,57$ mg GAE/g bulunmuştur.

Alpınar vd. (2009) tarafından *Salicornia europaea* L. ile yapılan çalışmada $0,14 \pm 0,014$ mmol Troloks/g fenolik madde ölçülmüştür.

Kang vd. (2011) tarafından *Salicornia herbecea* tohum ekstraktlarından total fenolik madde analizi yapılmış ve metanol ekstraktları total polifenol içeriği 15,7 µg tannik asit eşdeğeri/ mg olarak ölçülmüştür.

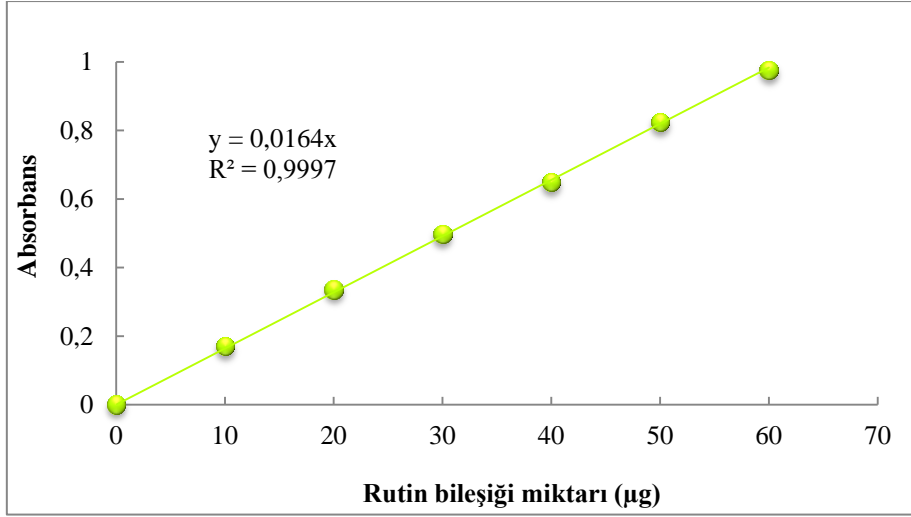
Total fenolik madde içeriği ile ilgili sınırlanmış değerler yoktur. Bitkinin yaşı, konumu, maruz kaldığı çevresel faktörler, ekstraksiyon yöntemi ve ekstraksiyon çözgeni ölçümün değişiminde rol oynarlar. Fenolik madde ölçümünde genellikle metanol ekstraktları kullanılır. Bu çalışmada sadece metanol değil etanol ve su ekstraktlarında da fenolik madde tayini yapılmıştır. Aynı örnekten 3 ayrı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen total fenolik madde miktarları toplanabilir özellikte değildir. Zira aynı fenolik bileşiklerin hem metanolde hem etanolde hatta suda da farklı oranlarda olmak üzere çözünmesi mümkündür ve bu durum üç farklı çözgen ile elde edilen total fenolik madde içeriği sonuçlarını toplanabilir olmaktan uzaklaştırmıştır. Yine de, bu çalışmada elde edilen total fenolik madde içeriği açısından zengin olduğu ifade edilebilir.

4.3. Total Flavonoid Tayini

Ekstraktlar ve standart antioksidan olarak kullanılan rutin bileşiği, Quettier-Deleu (2000)'e göre uygulanan bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

1 mL farklı derişimlerde rutin veya 1 mg/mL derişiminde ekstrakt
çözeltisi
+
1 mL % 2'lik AlCl₃
↓
Oda sıcaklığında 15 dk inkübasyon
↓
430 nm'de absorbans okundu

Standart antioksidan olarak rutin bileşiği kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.8.'de görülmektedir.



Şekil 4.8. Total Flavonoid Tayini için hazırlanan rutin bileşigi standart kalibrasyon grafiği.

Rutin bileşigi kalibrasyon grafiği için elde edilen doğrunun denklemi:

$$\text{Absorbans} = 0,0164 \times \text{Toplam Flavonoid (RE)}$$

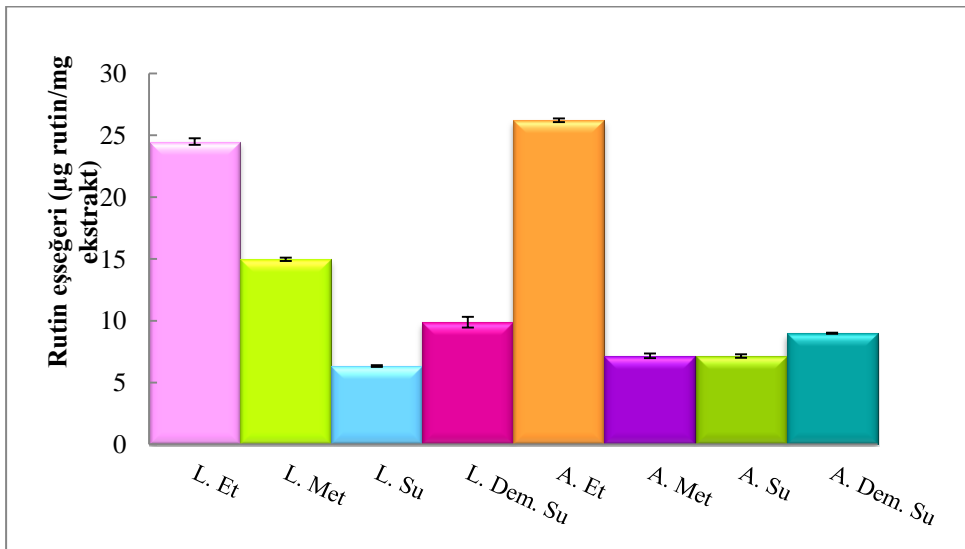
Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standart olarak rutin bileşigi kullanıldı. Her bir *S. perennis* ekstraktındaki flavonoid miktarı, mg örnek başına düşen µg rutin eşdeğeri (RE) olarak hesaplandı. Çizelge 4.3.'de, yukarıdaki eşitlikten yararlanılarak rutin eşdeğeri olarak hesaplanan toplam flavonoid miktarı değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.3. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş *S. perennis* L.'nin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) olarak total flavonoid bileşik değerleri.

ÖRNEKLER		Total Flavonoid (μg rutin/mg ekstrakt) \pm SD (%)
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	24,49 \pm 0,26
	Metanol Ekstraktı	14,97 \pm 0,13
	Su Ekstraktı	6,34 \pm 0,07
	Demleme Su Ekstraktı	9,89 \pm 0,43
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	26,22 \pm 0,15
	Metanol Ekstraktı	7,17 \pm 0,19
	Su Ekstraktı	7,15 \pm 0,14
	Demleme Su Ekstraktı	8,98 \pm 0,04

Çizelge 4.3. ve Şekil 4.9'da görülen değerlere göre deniz börülcesi ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerinin sıralaması A. Et > L. Et > L. Met > L. Dem. Su > A. Dem. Su > A. Met > A. Su > L. Su > L. Su şeklindedir.

Farklı hazırlama yöntemi ile elde edilen örneklerden liyofilizatörde kurutulmuş olanlar ile açıkta kurutulmuş olanlar arasında belirgin bir fark görülmemiştir.



Şekil 4.9. *S. perennis* ekstraktlarının rutin eşdeğeri olarak total flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması.

Salicornia ve *Sarcocornia* ailesine ait deniz börülcesi türlerinin flavonoid içeriğinin araştıran çok az sayıda araştırma vardır. Kang vd. (2011) tarafından *Salicornia herbecea* ile yapılan bir çalışmada bitkinin tohumlarında 39,4 µg kuersetin eşdeğeri/mg katı flavonoid ölçülmüştür. Bu çalışmada hazırlanan fraksiyonlar arasında etil asetat fraksiyonunun hem polifenoller hem de flavonoidler açısından en yüksek düzeyi göstermiştir (sırasıya 48,9 ve 73,8 µg/mg).

Kim vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada *Salicornia herbecea* L. türünden ikisi ilk kez olmak üzere sekiz bileşiğin izolasyonu ve karakterizasyonu bildirilmiştir. Ekstraksiyonlar metanol ile hazırlanmış, sonra farklı çözümlerle fraksiyonlama yapılmıştır. Sekiz bileşikten 3 tanesinin kesin flavonoid yapısında olduğu ve bileşiklerin dikafeoilkuinik asit türevleri olduğu tespit edilmiştir. Flavonoid ve fenolik asitlerdeki katekol yapının serbest radikal süpürme ve metal şelatlama etkisi için gerekli olduğu bilinmektedir.

Rhee vd. (2009) tarafından *Salicornia herbecea*'nın botanik kimyasal ve farmakolojik özelliklerini araştıran çalışmalar derlenmiştir. *S. herbecea* bitkisinin toprak üstü kısmında iki flavonoid (kuarsetin 3-O-β-D-glukopiranozid ve izoramnetin 3-O-β-D-glukopiranozid) izole edilmiştir.

Bertin vd. (2014) tarafından *Sarcocornia ambigna* bitkisinde major fenolik bileşikler saflaştırılarak yapılan aydınlatılmış ve azalan bolluk sırasına göre ferulik asit, kafeik asit, vanilik asit, p-kumarik asit, kaemferol, kuersetin, siringik asit, galankin ve izokuersetinin varlığı tespit edilmiştir.

Essaidi vd. (2013) tarafından *Salicornia herbecea* L.'nin fenolik bileşimi incelenmiş ve sekiz fenolik asit ve sekiz flavonoidin varlığı tespit edilmiştir. Adı geçen flavonoidler mirisetin, kuersetin, kaemferol, ramsetin, izoramsetin, galangin, hesperetin ve akasetin olarak bildirilmiştir.

Gargouri vd. (2013)'ün çalışmasında *Sarcocornia perennis* L.'nin total flavonoid içeriği 3,3 mg kateşin eşdeğeri/g olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda total flavonoid rutin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve en yüksek değerler etanol ekstraktlarında ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

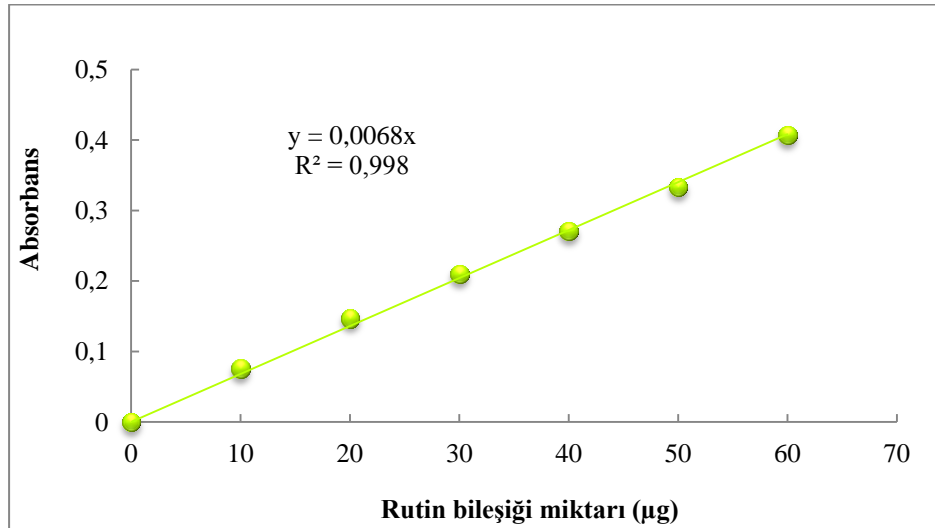
Surget vd. (2015) tarafından *Salicornia ramosissima* ile yapılan çalışmada ham ekstraktlarda $9,69 \pm 0,28$ mg kateşin eşdeğeri/g ve etil asetat fraksiyonlarında $368,91 \pm 13,79$ mg kateşin/g flavonoid ölçülmüştür.

4.4. Toplam Flavonol Tayini

Ekstraktlar ve standart antioksidan olarak kullanılan rutin bileşiği, Yermakov vd. (1987)'e göre uygulanan bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

1 mL farklı derişimlerde rutin veya 1 mg/mL derişiminde ekstrakt çözeltisi
 +
 1 mL % 2'lik $AlCl_3$
 +
 3 mL % 5'lik Sodyum asetat ($NaC_2H_3O_2$)
 ↓
 20 °C'de 2 saat inkübasyon
 ↓
 440 nm'de absorbans okundu

Standart antioksidan olarak rutin bileşiği kullanılarak elde edilen standart kalibrasyon grafiği Şekil 4.10.'de görülmektedir.



Şekil 4.10. Total Flavonol Tayini için hazırlanan rutin bileşiği standart kalibrasyon grafiği.

Rutin bileşigi kalibrasyon grafiği için elde edilen doğrunun denklemi:

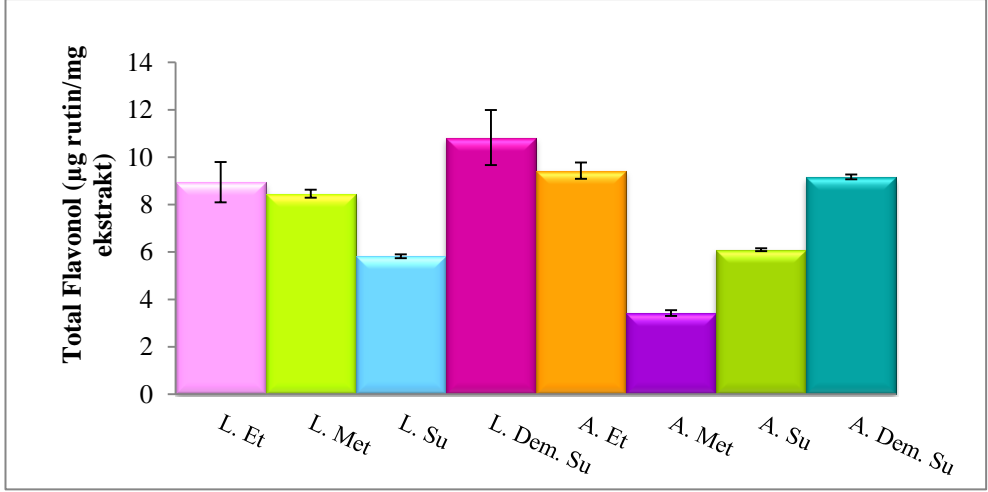
$$\text{Absorbans} = 0,0068 \times \text{Toplam Flavonol (RE)}$$

Deniz börülcesi ekstraktları için, rutin bileşigi standart kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak rutin eşdeğerleri (RE) hesaplandı. Tablo 4.4.'de, yukarıdaki eşitlikten yararlanılarak rutin eşdeğeri olarak hesaplanan toplam flavonoid miktarı değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.4. ve Şekil 4.11'de görülen değerlere göre deniz börülcesi ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarının sıralaması L. Dem. Su > A. Et > A. Dem. Su > L. Et > L. Met > A. Su > A. Dem. Su > A. Met > L. Su > A. Met şeklindedir.

Çizelge 4.4. Liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin etanol, metanol, su ve demleme su ekstraktlarının rutin eşdeğeri (RE) olarak total fenolik bileşik değerleri.

ÖRNEKLER		Total Flavonol (µg rutin/mg ekstrakt) ± SD
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	8,94 ± 0,85
	Metanol Ekstraktı	8,46 ± 0,17
	Su Ekstraktı	5,82 ± 0,08
	Demleme Su Ekstraktı	10,82 ± 1,16
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	9,43 ± 0,34
	Metanol Ekstraktı	3,42 ± 0,12
	Su Ekstraktı	6,10 ± 0,06
	Demleme Su Ekstraktı	9,17 ± 0,10



Şekil 4.11. *S. perennis* L. ekstraktlarının rutin eşdeğeri olarak total flavonol içeriklerinin karşılaştırılması.

Total flavonol tayini sonuçları da total flavonoid sonuçlarına benzer şekilde farklı örnek hazırlama yöntemine göre belirgin flavonol içeriği farkı göstermemektedir.

S. perennis L. için yapılmış tek bir çalışmada metanol ekstraktlarının gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanan fenolik bileşik içeriği 4,32 mg GAE/g ekstrakt bulunmuştur. Aynı yöntemle çalışılmamış olmakla beraber liyofilizatörde kurutulmuş örneğin etanol + metanol + su ekstraktlarının total fenolik içeriği ~ 45 mg/g olarak hesap edilmiştir.

Aynı çalışmada kateşin eşdeğeri olarak hesap edilen *S. perennis* L. metanol ekstraktının total flavonoid içeriği 3,3 mg CE/g kuru ağırlık olarak verilmiştir. *S. perennis* L.'nin flavonol içeriği ile ilgili literatürde bir çalışma bizim bulgularımıza göre yoktur.

Öte yandan yine halofit özelliği gösteren *Salicornia ramosissima* bitkisi ile yapılan bir çalışmada (Surget vd., 2015) bu tuzlu bataklık bitkisinin çeşitli fenolik bileşiklerle, bazı flavonoller ve kafeik asit türevlerini bulundurduğu tespit edilmiştir.

Essaidi vd. (2013) *Salicornia herbecea* L. bitkisinde 6 farklı flavonolün varlığını tespit etmişlerdir.

Fenolik bileşik analizleri göstermektedir ki bu bitkilerin miktarları aynı genus içinde türler arasında ve farklı ekotipler arasında farklılık göstermektedir. Halofit türlerinin içinde bulunduğu çevresel stres koşulları (sıcaklık, tuzluluk, su varlığı, ışık şiddeti, besin yoksunluğu, iyonik stres gibi) antioksidan özellik gösteren küçük, non-enzimatik moleküllerin sentezini arttırarak reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltmaya çalışır. Bitkilerin fenolik madde profillerinin genellikle onların antioksidan aktivitelerine yansıdığı da bilinmektedir.

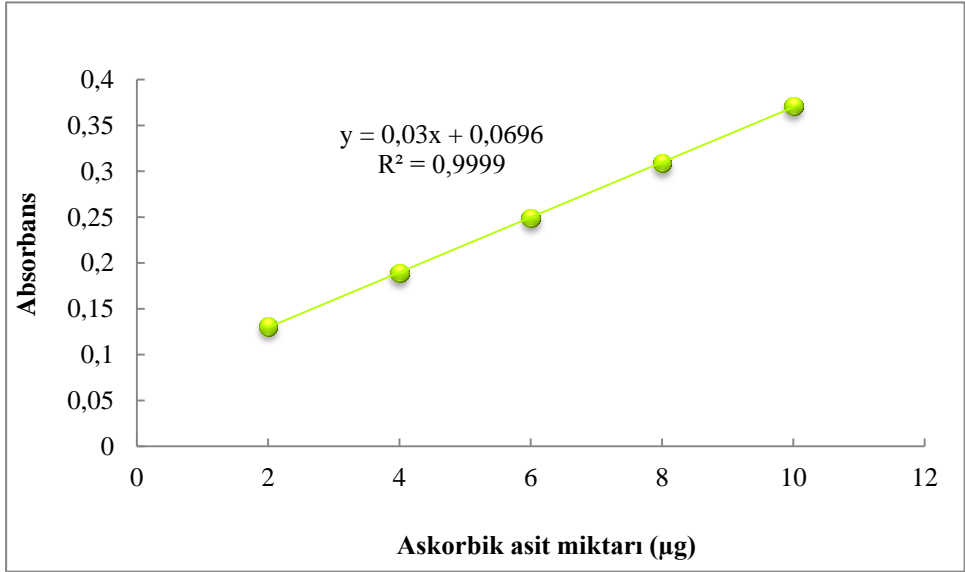
4.5. İndirgeme Gücü Tayini

S. perennis L. ekstraktları ve standart antioksidan olarak kullanılan askorbik asit, BHT, gallik asit, rutin ve Troloks Oyaizu (1986)'e göre uygulanan bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

1 mg/ mL derişimlerinde farklı hacimlerde askorbik asit çözeltisi veya 100 µL ekstrakt çözeltisi
 +
 Su ile toplam hacim 0,4 mL'ye tamamlandı
 +
 1 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6)
 +
 1 mL % 1'lik potasyum ferrisiyanür [$K_3Fe(CN)_6$]
 ↓
 Su banyosunda 50 °C'de 20 dk inkübasyon
 +
 1 mL % 10'luk trikloroasetik asit (TCA)
 ↓
 Hazırlanan bu karışımdan 1 mL alındı ve üzerine
 +
 1 mL distile su ve
 +
 0,2 mL % 1'lik demir (III) klorür ($FeCl_3$) eklendi
 ↓
 700 nm'de absorbans okundu

Askorbik asitin farklı derişimlerine karşı çizilen absorbans grafiği Şekil 4.12'de görülmektedir. *S. perennis* L. ekstraktları ve diğer standart antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü, aynı miktardaki askorbik asit ile karşılaştırılarak % askorbik asit cinsinden Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. ve Şekil 4.13 ve 4.14’de görülen sonuçlara göre aynı derişimlerdeki *S. perennis* L. ekstraktları ve diğer standart antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü değerlerinin % askorbik asit cinsinden sıralaması gallik asit > BHT > Troloks > rutin > L. Met > A. Et > L. Et > L. Dem. Su > A. Dem. Su > A. Et. > L. Su > A. Su şeklindedir.

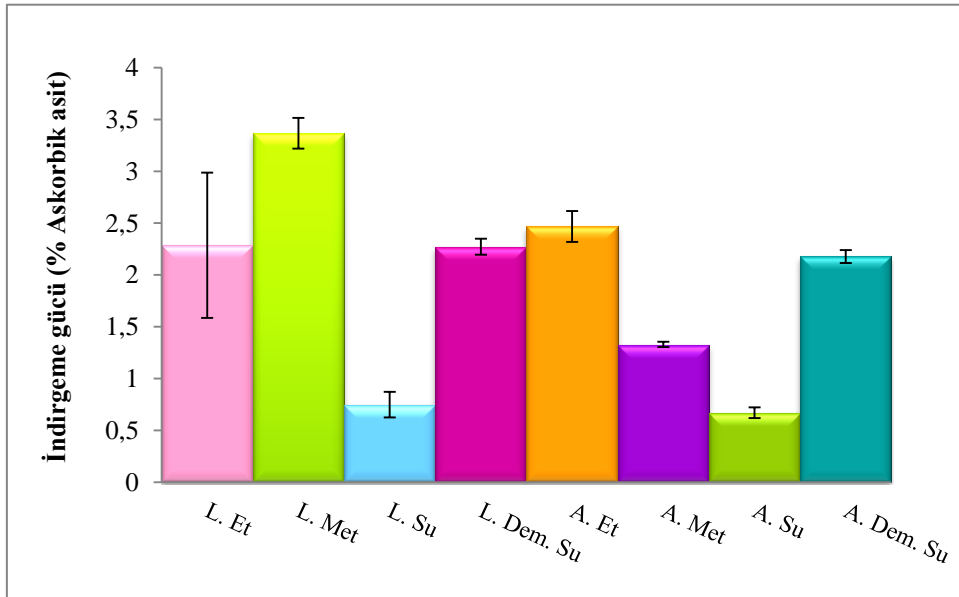


Şekil 4.12. Farklı derişimlerdeki askorbik asitin 700 nm’deki absorbans grafiği.

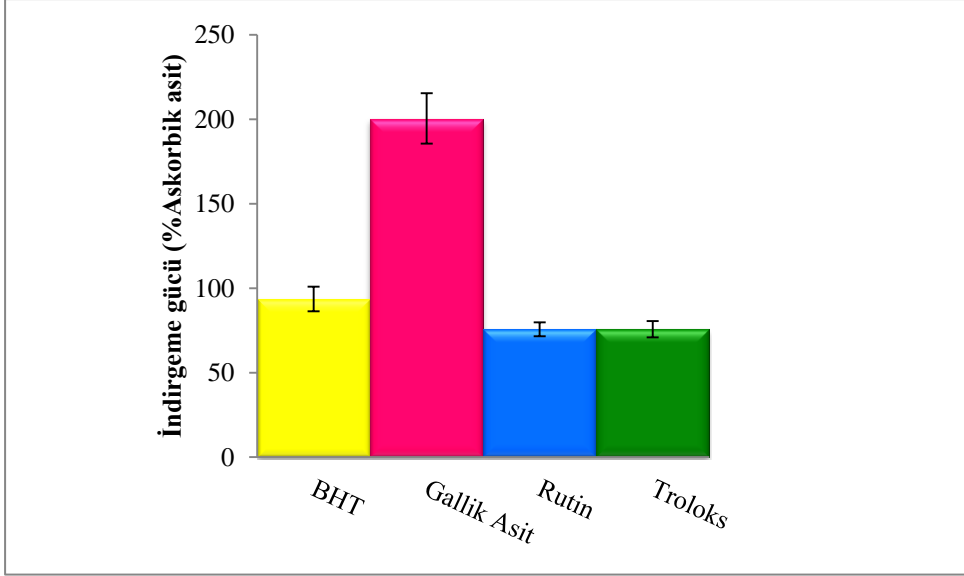
S. perennis L. örneklerinin indirgeme gücü ile ilgili literatürde veri bulunmamaktadır. Ancak benzer halofitlerden *Salicornia ramosissima* ile yapılan bir çalışmada (Surget vd., 2015) bitkinin etanol ekstraktının indirgeme gücü oldukça yüksek olduğu ifade edilmiştir (α -tokoferolden daha yüksek). Çalışmamızda liyofilizatörde veya açıkta kurutulmuş örneklerin ekstraktlarında yüksek indirgeme gücü tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.5. *S. perennis* L. ekstraktları ve diğer standart antioksidan bileşiklerin % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerleri.

ÖRNEKLER	İndirgeme Gücü (% Askorbik Asit ± SD)	
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	2,29 ± 0,70
	Metanol Ekstraktı	3,37 ± 0,15
	Su Ekstraktı	0,75 ± 0,12
	Demleme Su Ekstraktı	2,27 ± 0,08
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	2,47 ± 0,15
	Metanol Ekstraktı	1,33 ± 0,03
	Su Ekstraktı	0,67 ± 0,05
	Demleme Su Ekstraktı	2,18 ± 0,06
Standart Antioksidanlar	BHT	93,64 ± 7,31
	Gallik Asit	200,53 ± 14,91
	Rutin	75,67 ± 4,14
	Troloks	75,73 ± 4,80



Şekil 4.13. *S. perennis* L. ekstraktlarının % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.14. Standart antioksidanların % askorbik asit cinsinden indirgeme gücü değerlerinin karşılaştırılması.

4.6. Total Antioksidan Aktivite Tayini

S. perennis L. ekstraktları ve standart antioksidan olarak kullanılan BHT, gallik asit, rutin ve Troloks Saha vd. (2004)'e göre uygulanan FTC yöntemine göre sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

1 mL, 1 mg/mL derişiminde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi

+

1,025 mL 0,081 M linoleik asit emülsiyonu

+

2 mL 0,04 M fosfat tamponu (PBS) (pH: 7,4)

+

0,975 mL su

↓

40 °C'de inkübasyon

↓

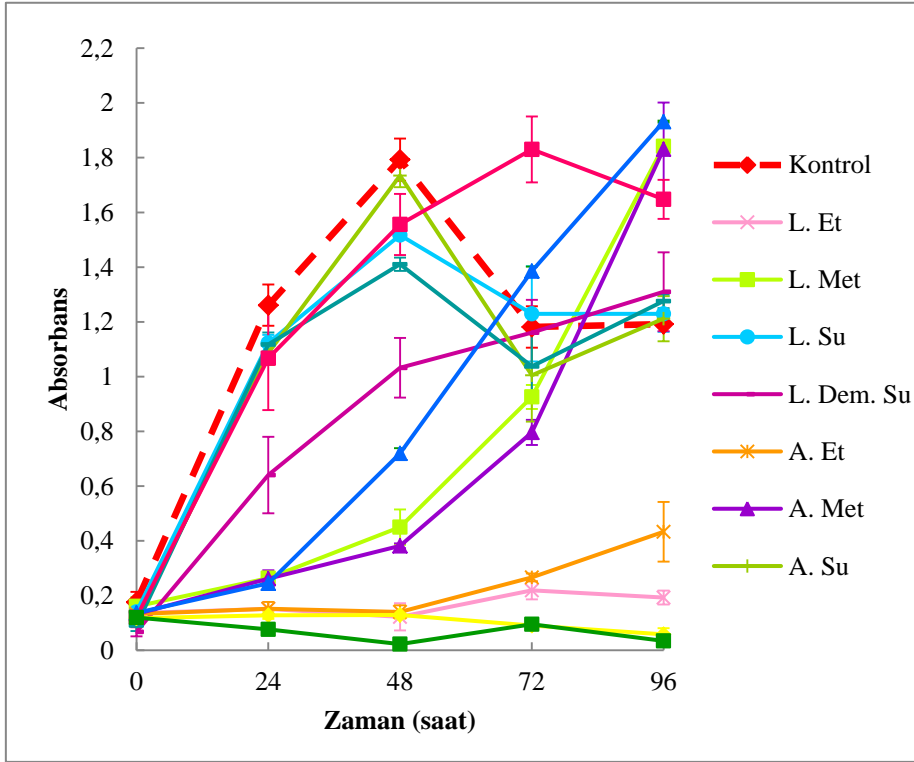
Hazırlanan karışımdan 0., 24., 48. Ve 72. saatlerde 0,1 mL alınır ve üzerine

+

9,7 mL etanol

+

0,1 mL demir (II) klorür ve
 +
 0,1 mL % 30'luk amonyum tiyosiyanat eklendi
 ↓
 Karışım vortekslendi
 ↓
 500 nm'de absorbans okundu



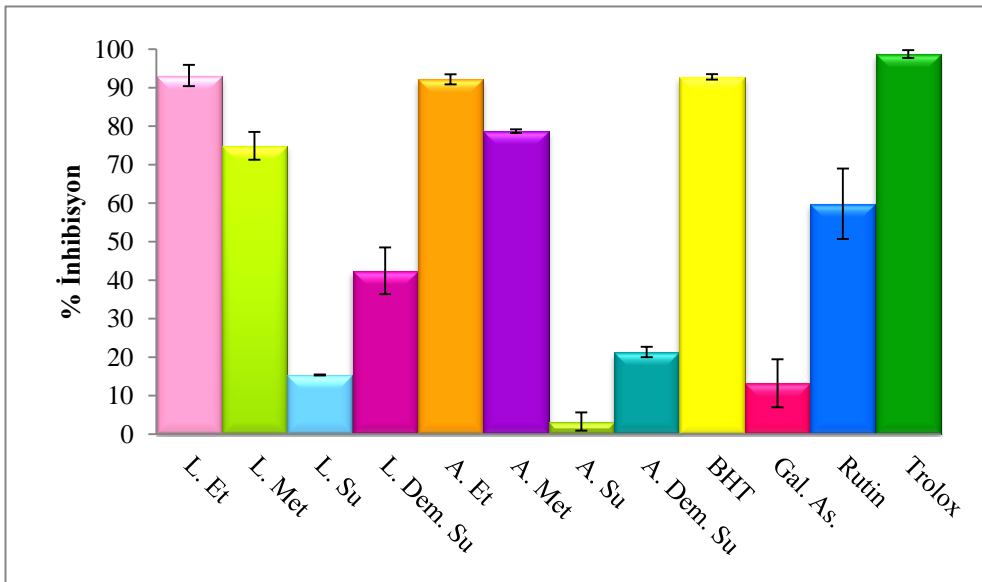
Şekil 4.15. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin, linoleik asit peroksidasyonunu inhibe etmelerinin zamana bağlı değişimi.

S. perennis L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşikler için hesaplanan % inhibisyon değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. ve Şekil 4.16.'de görülen sonuçlara göre *S. perennis* L. ekstraktları ve diğer standart antioksidan bileşiklerin total antioksidan aktivitelerinin % inhibisyon cinsinden sıralaması Troloks > L. Et > BHT > A. Et > A. Met > L. Met > Rutin > L. Dem. Su > A. Dem. Su > A. Su > L. Su şeklindedir.

Çizelge 4.6. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin FTC yöntemi ile hesaplanan total antioksidan aktiviteleri.

ÖRNEKLER		Total Antioksidan Aktivite % İnhibisyon \pm SD
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	93,19 \pm 2,77
	Metanol Ekstraktı	74,90 \pm 3,61
	Su Ekstraktı	15,37 \pm 0,13
	Demleme Su Ekstraktı	42,43 \pm 6,08
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	92,18 \pm 1,33
	Metanol Ekstraktı	78,71 \pm 0,48
	Su Ekstraktı	3,26 \pm 2,35
	Demleme Su Ekstraktı	27,65 \pm 9,23
Standart Antioksidanlar	BHT	92,93 \pm 4,05
	Gallik Asit	13,21 \pm 6,23
	Rutin	59,86 \pm 9,13
	Troloks	96,45 \pm 4,04



Şekil 4.16. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin, linoleik asit peroksidasyonunu % inhibisyonu ile ölçülen Total Antioksidan Aktivitelerinin karşılaştırılması.

FTC yöntemi lipid peroksidasyonunun başlangıç basamaklarında peroksit miktarını ölçer. FTC yönteminde düşük absorbans değerleri yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Şekil 4.15 *S. perennis* L. ekstraktlarının ve standart antioksidanların zamana bağlı absorbans değişimlerini göstermektedir. Yüzde inhibisyon değerlerinin işlendiği Çizelge 4.6.'dan görüleceği üzere liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş örneklerin alkol ekstraktlarının total antioksidan aktiviteleri sentetik antioksidanlar olan BHT ve Troloks'a çok yakın, doğal antioksidanlar olan gallik asit ve rutinden ise çok yüksek bulunmuştur. Su ve demleme su ekstraktlarının total antioksidan aktiviteleri de gallik asit ile kıyaslanabilir düzeydedir.

Bitkiler besin, medikal, katkı maddesi amaçlı kullanımlarında içeriklerinin bütünü ile aktivite gösterdiklerinden FTC yöntemi ile saptanan yüksek total antioksidan özelliğinin *S. perennis* L. için önemli bir gösterge olduğu ifade edilebilir.

S. perennis L.'in antioksidan özelliği ile ilgili çalışma sayısı, bizim araştırmalarımıza göre, çok azdır. Yine bu çalışma nedeniyle yapılan incelemeye göre *S. perennis* L.'in FTC yöntemi ile total antioksidan aktivitesinin ölçüldüğü bir başka çalışmaya rastlanmamıştır.

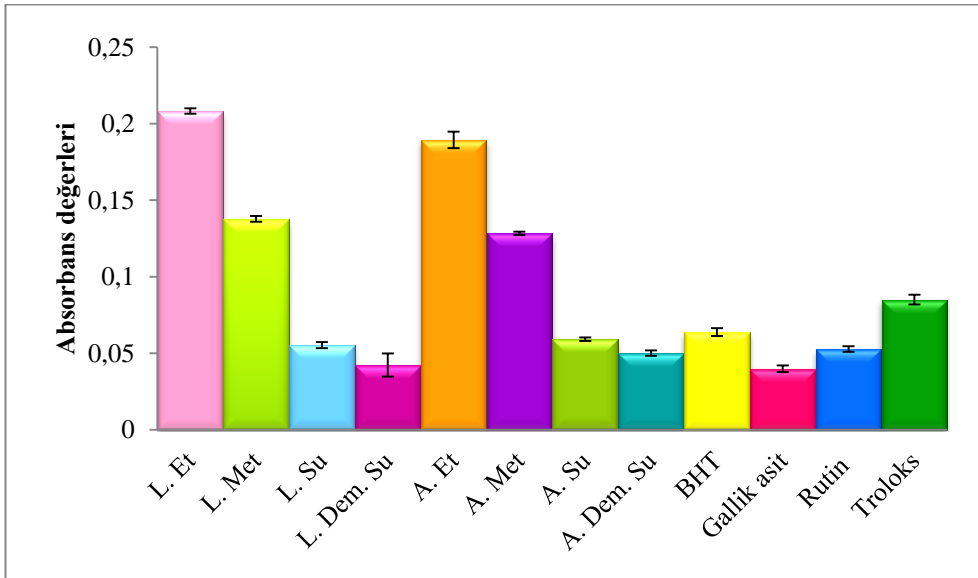
4.7. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin biraz modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre uygulandı. *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan olarak kullanılan BHT, gallik asit, rutin ve Troloks sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

0,5 mL 50 µM NBT
+
0,5 mL 78 µM NADH
+
0,5 mL 100 µg/mL ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi
+
0,5 mL 10 µM fenazin metasülfat (PMS)
↓
5 dk 25 °C'de inkübasyon
↓
560 nm'de absorbans okundu

Çizelge 4.7. *S. perennis* L. ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin süperoksit radikali süpürücü aktivite tayini için 560 nm'deki absorbands değerleri.

ÖRNEKLER		Absorbans \pm SD
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,21 \pm 0,00
	Metanol Ekstraktı	0,14 \pm 0,00
	Su Ekstraktı	0,05 \pm 0,00
	Demleme Su Ekstraktı	0,04 \pm 0,00
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,13 \pm 0,01
	Metanol Ekstraktı	0,19 \pm 0,00
	Su Ekstraktı	0,06 \pm 0,00
	Demleme Su Ekstraktı	0,05 \pm 0,01
Standart Antioksidanlar	BHT	0,06 \pm 0,00
	Gallik Asit	0,04 \pm 0,00
	Rutin	0,05 \pm 0,00
	Troloks	0,08 \pm 0,00



Şekil 4.17. *S. perennis* L. ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini için 560 nm'deki absorbands değerlerinin karşılaştırılması.

Elde edilen absorbands değeri ne kadar düşükse, PMS-NADH-NBT sistemi tarafından oluşturulan süperoksit radikalleri antioksidan bileşikler tarafından o kadar süpürülmüştür demektir. Bunun anlamı örneğin/antioksidanın süperoksit anyonu süpürme aktivitesi o kadar yüksektir demektir.

Buna göre Çizelge 4.7 ve Şekil 4.17’de görülen değerlere göre örneklerin ve antioksidanların süperoksit anyonunu süpürme aktivitelerinin sıralaması gallik asit = L. Dem. Su > rutin = L. Su = A. Dem. Su > BHT = A. Su > Troloks > A. Et > L. Met > A. Met > L. Et şeklindedir.

Süperoksit anyonu oksijen kullanan canlılarda üretilen bir doğal radikal olup, bir bitkinin bu radikali süpürücü etkiye sahip olması onun antioksidan değerini arttırmaktadır.

Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere *S. perennis* L.’nin su ve demleme su ekstraktları sentetik ve doğal standart antioksidanlarla çok yakın veya onlardan daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedirler.

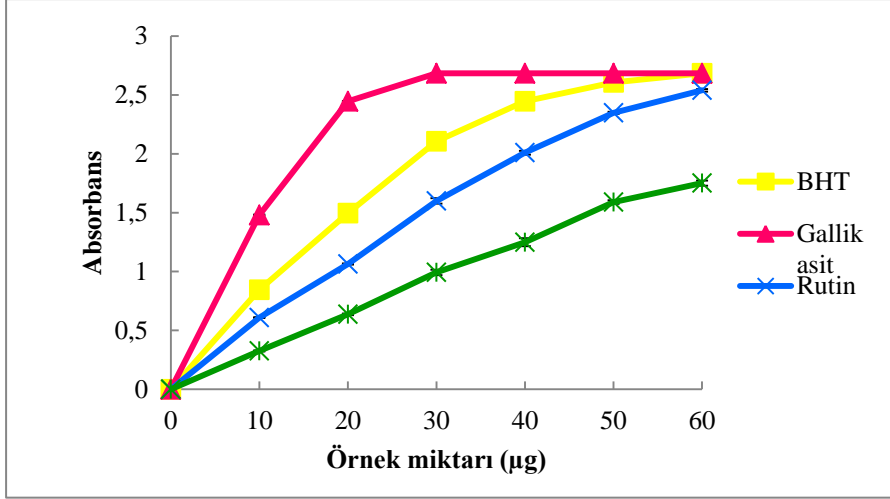
Yapılan incelemeye göre *S. perennis* L.’in Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini ile antioksidan aktivitesinin ölçüldüğü bir başka çalışmaya rastlanmamıştır.

4.8. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

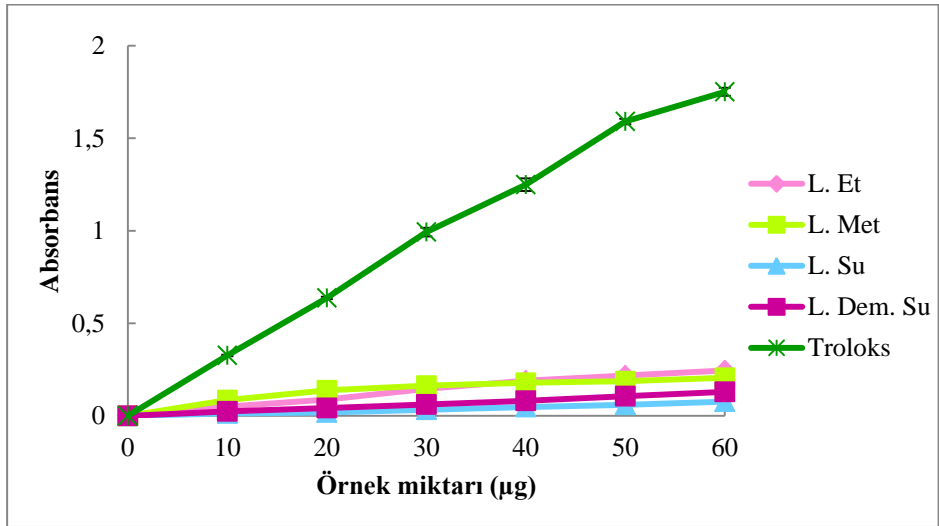
S. perennis L. ekstraktları ve standart antioksidan olarak kullanılan BHT, gallik asit, rutin ve Troloks, Güçlü vd. (2006)’e göre uygulanan bu yöntemle göre sırasıyla aşağıdaki işlemlere tabi tutulmuştur.

0,5 mL, 0,01 M CuCl₂
+
0,5 mL, 7,5 × 10⁻³ M neokuproin
+
0,5 mL, 1 M amonyum asetat (NH₄Ac) (pH: 7,0)
+
0,1 mL farklı derişimlerde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi
+
0,45 mL su
↓
Oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon
↓
450 nm’de absorbands okundu

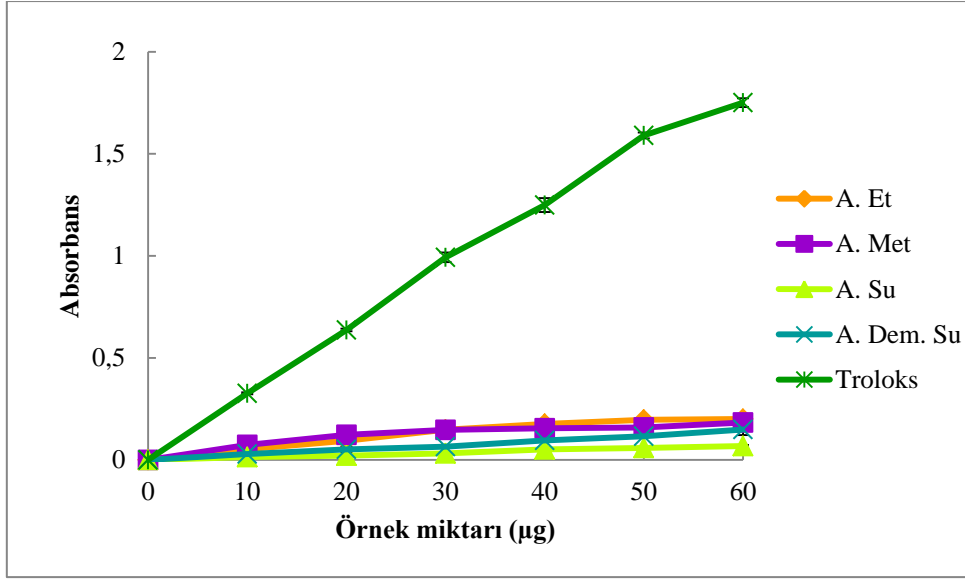
Örnekler ve standart antioksidanlar için derişime karşı çizilen absorbands grafiklerinin doğrusal kısımlarının eğimi Troloks'un eğimine oranlanarak TEAC_{CUPRAC} değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.18. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için standart antioksidanların farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbands değerleri.



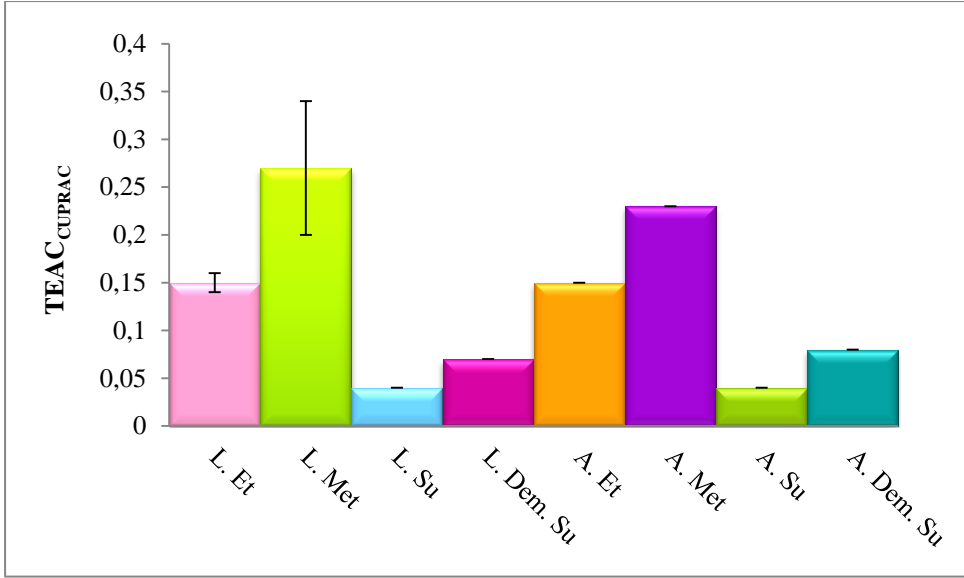
Şekil 4.19. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* L. (liyofilizatörde kurutulmuş) ekstraktlarının farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbands değerleri.



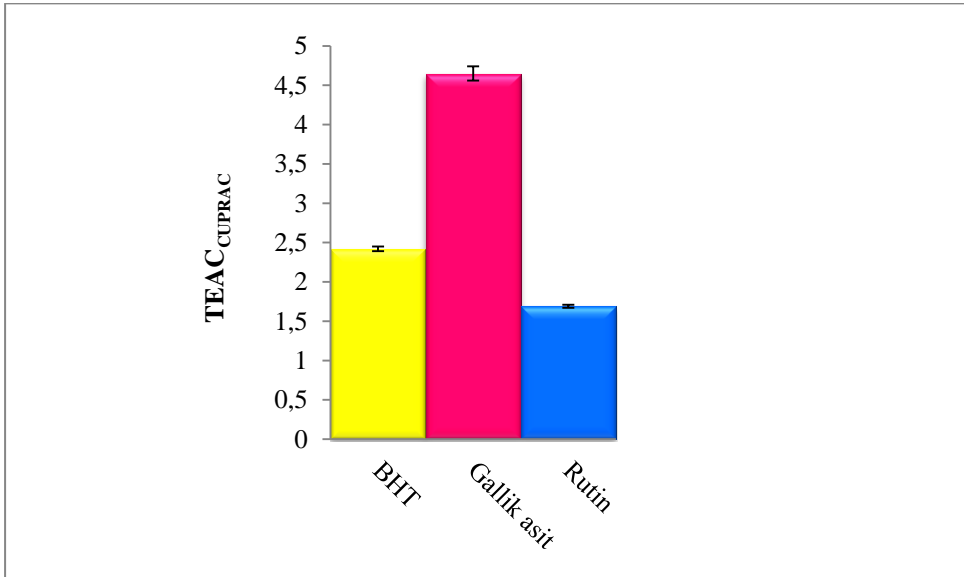
Şekil 4.20. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* L. (açıkta kurutulmuş) ekstraktlarının farklı derişimlerine karşı elde edilen absorbans değerleri.

Çizelge 4.8. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin 560 nm'deki TEAC_{CUPRAC} değerleri.

ÖRNEKLER		TEAC _{CUPRAC} ± SD
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,15 ± 0,01
	Metanol Ekstraktı	0,27 ± 0,07
	Su Ekstraktı	0,04 ± 0,00
	Demleme Su Ekstraktı	0,07 ± 0,00
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,15 ± 0,00
	Metanol Ekstraktı	0,23 ± 0,00
	Su Ekstraktı	0,04 ± 0,00
	Demleme Su Ekstraktı	0,08 ± 0,00
Standart Antioksidanlar	BHT	2,42 ± 0,03
	Gallik Asit	4,65 ± 0,09
	Rutin	1,69 ± 0,02
	Troloks	1,00



Şekil 4.21. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için *S. perennis* L. ekstraktlarının TEAC_{CUPRAC} değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.22. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için standart antioksidanların TEAC_{CUPRAC} değerlerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.8. ve Şekil 4.21. ve 4.22.'de görüldüğü gibi elde edilen sonuçlara göre örnekler ve standart antioksidanlar için $TEAC_{CUPRAC}$ değerlerinin sıralaması gallik asit > BHT > rutin > L. Met > A. Met > A. Et > L. Et > A. Dem. Su > L. Dem. Su > A. Su = L. Su şeklindedir.

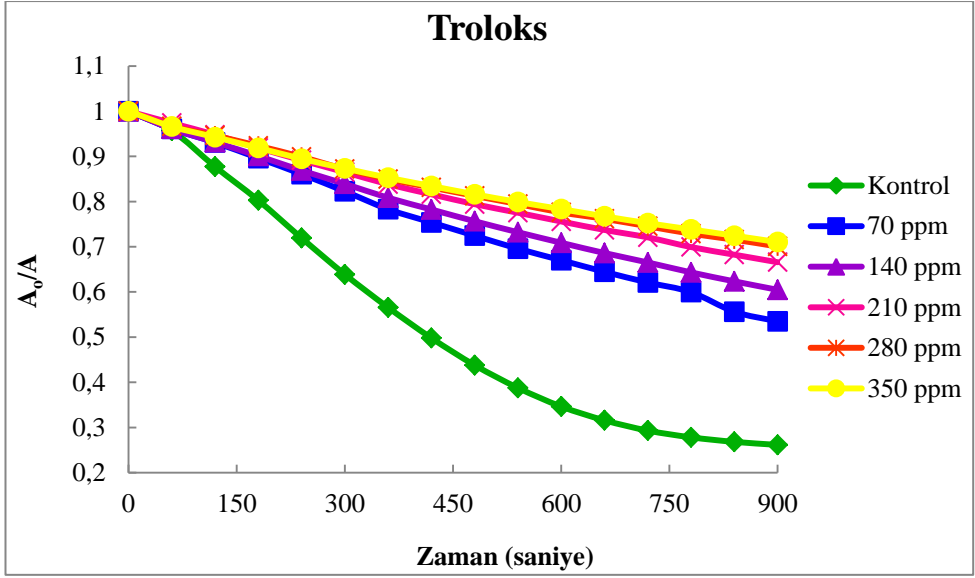
CUPRAC yöntemi 2004 yılında geliştirilmeye başlanmış ve hızla literatüre geçmiş bir yöntemdir. Bu yöntemde sentetik kararlı bir radikal olan neokuproine karşı antioksidan aktivite ölçülmektedir. *S. perennis* L. örneklerinin CUPRAC ile çalışılmış antioksidan aktivite tayin çalışması yoktur. Çizelge 4.8'de görüldüğü üzere sentetik antioksidanlara karşı bitki ekstraktlarının DPPH yönteminde gözlenen düşük antioksidan aktivite bu yöntemde de tespit edilmiştir.

Alpınar vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada Ayvalık'tan toplanan *Salicornia europaea* L. bitkisinin fırında kurutulduktan sonra elde edilen metanol ekstraktının $TEAC_{CUPRAC}$ değeri 0,07 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ise hem liyofilizatörde hem açıkta kurutulmuş *S. perennis* L.'nin metanol ekstraktlarının $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri sırasıyla 0,27 ve 0,23 olup daha yüksek değerler elde edilmiştir.

4.9. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

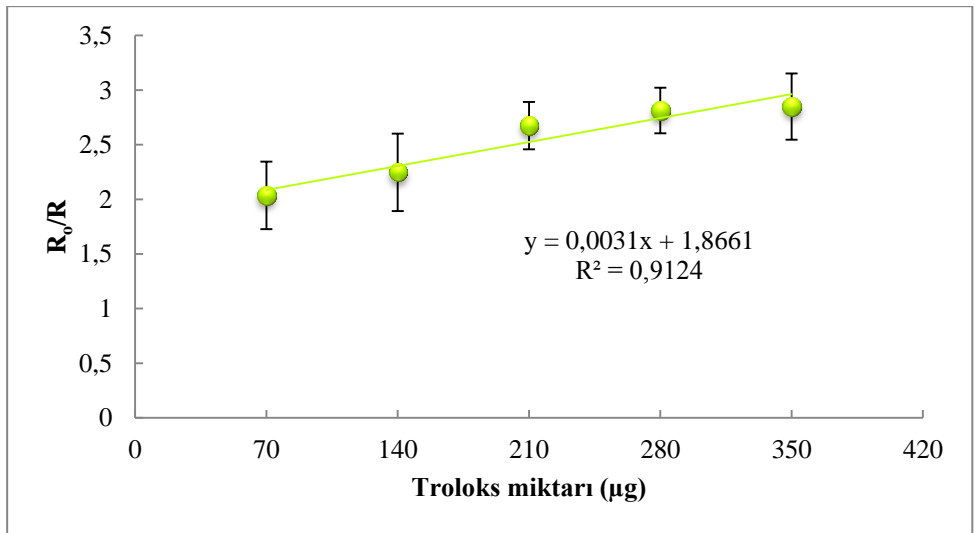
0,5 mL 20 mM AAPH
+
0,1 mL farklı derişimlerde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltilisi
+
0,45 mL, 75 mM fosfat tamponu (pH: 7,4)
+
50 µL 100 µM PGR
↓
540 nm'de absorbans okundu

Her bir ekstraktın/standart antioksidanın farklı derişimleri için PGR'nin 540 nm'de, t anındaki absorbans değerleri t_0 anındaki absorbans değerine oranlanarak zamana karşı A_t/A_0 grafikleri çizilerek PGR tüketiminin kinetik eğrileri oluşturuldu.

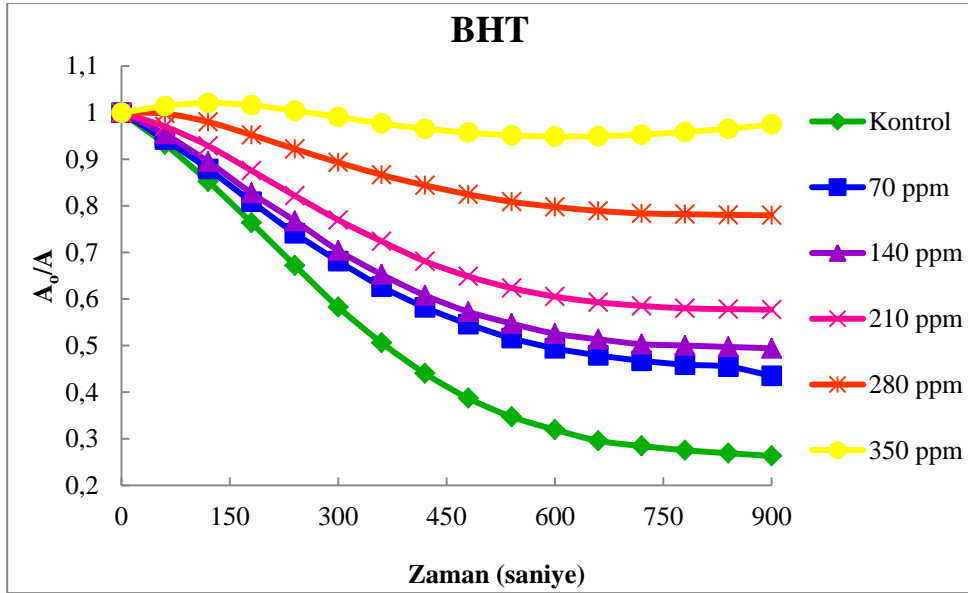


Şekil 4.23. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki Troloks'un pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.

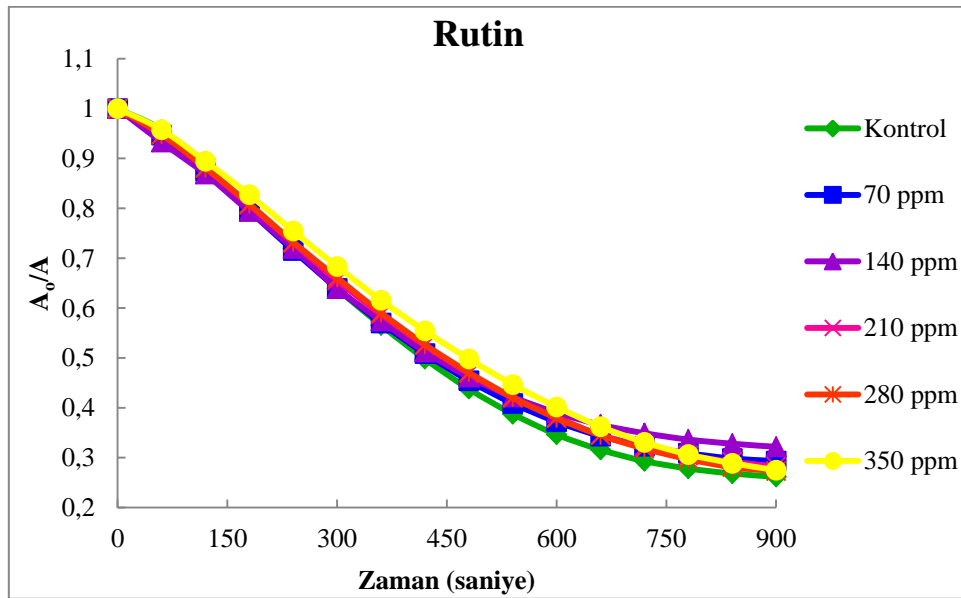
Daha sonra Troloks'un farklı derişimleri ve kontrol için çizilen eğrilerin doğrusal kısımlarının eğimleri hesaplandı ve kontrol (antioksidan yok) eğiminin (R_0) Troloks'un farklı derişimleri için elde edilen eğimlere (R) oranlanmasıyla elde edilen R_0/R değerleri derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.24).



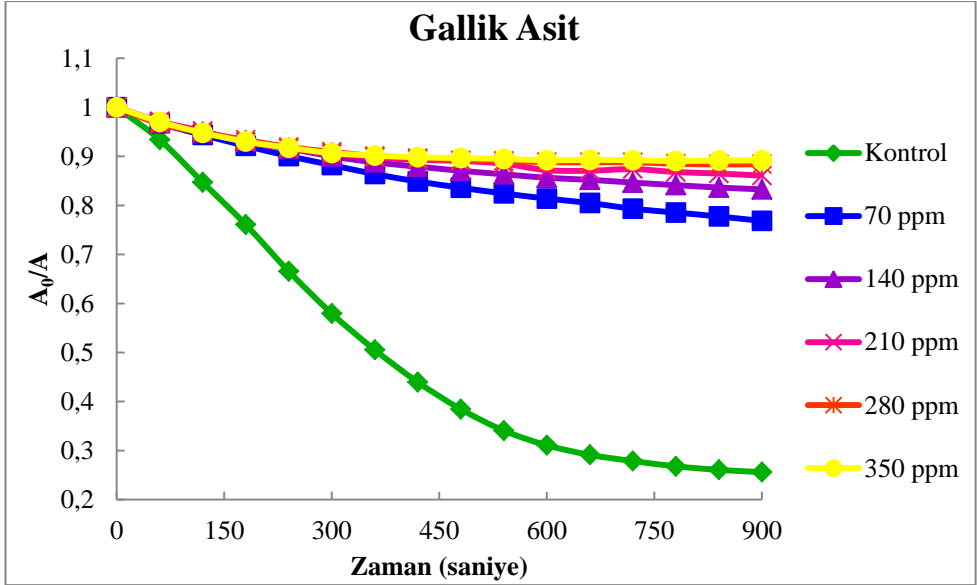
Şekil 4.24. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde Troloks'un farklı derişimlerine karşı elde edilen R_0/R değerleri.



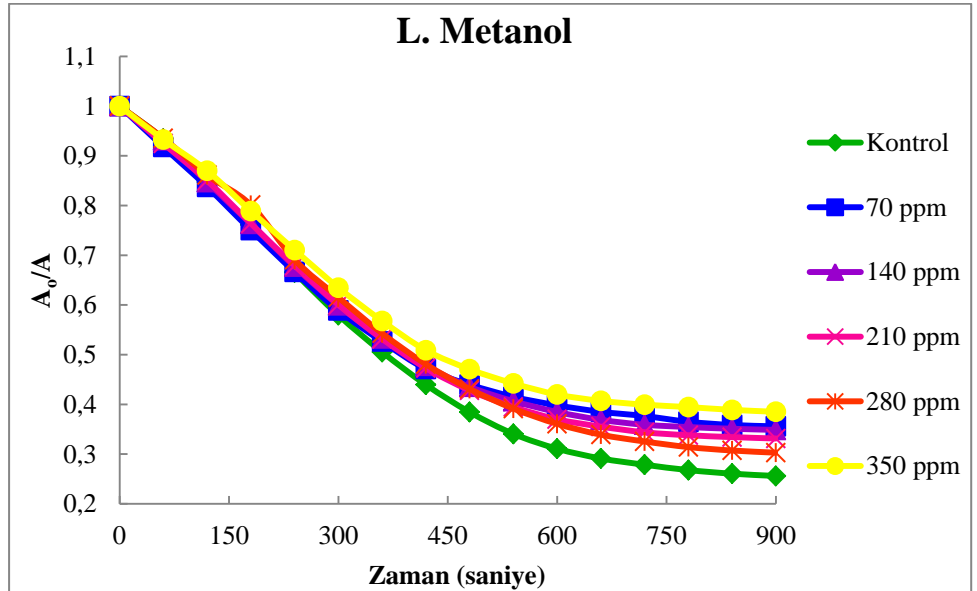
Şekil 4.25. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki BHT'nin pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



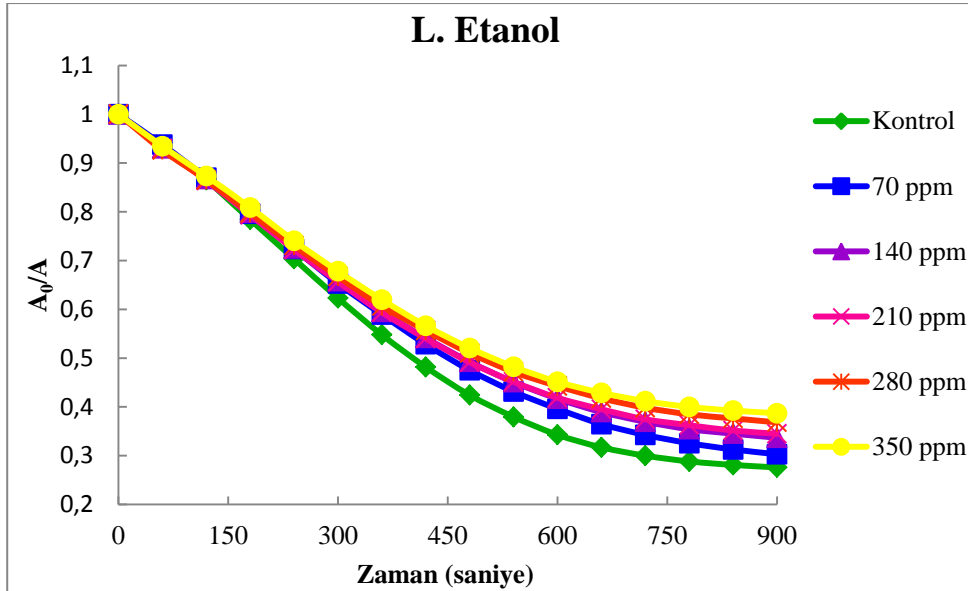
Şekil 4.26. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki rutin'in pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



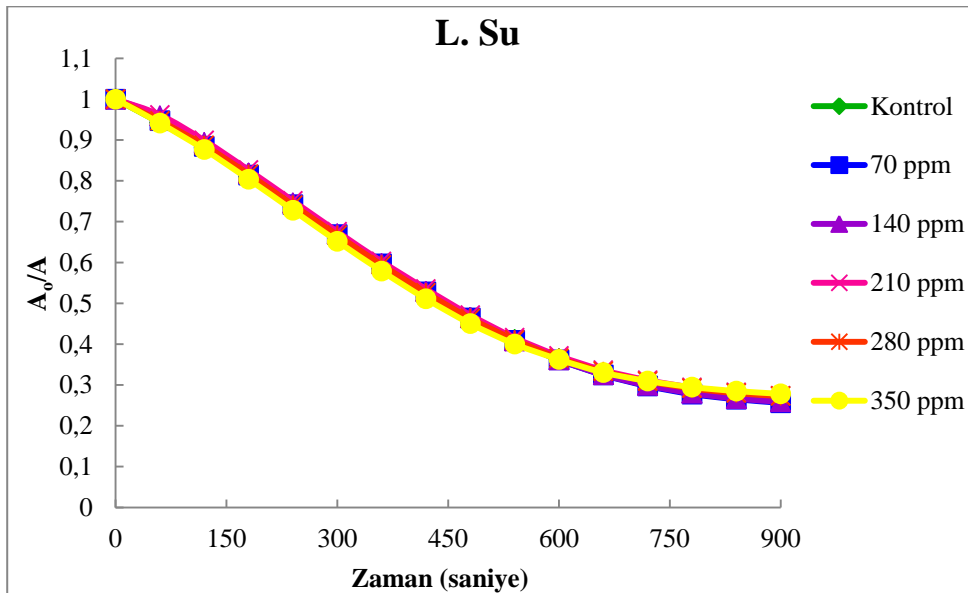
Şekil 4.27. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki gallik asitin pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



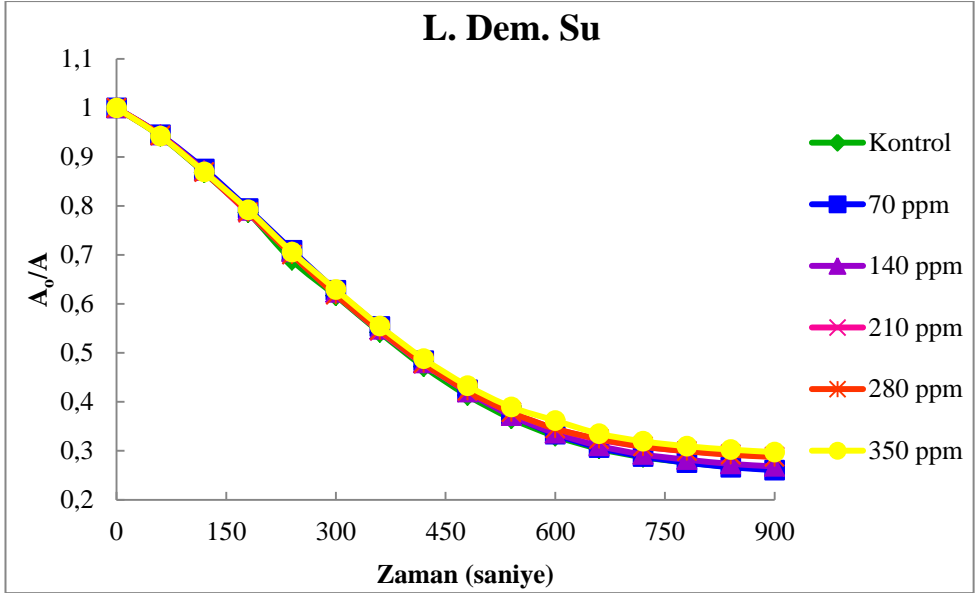
Şekil 4.28. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. liyofilize edilmiş metanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



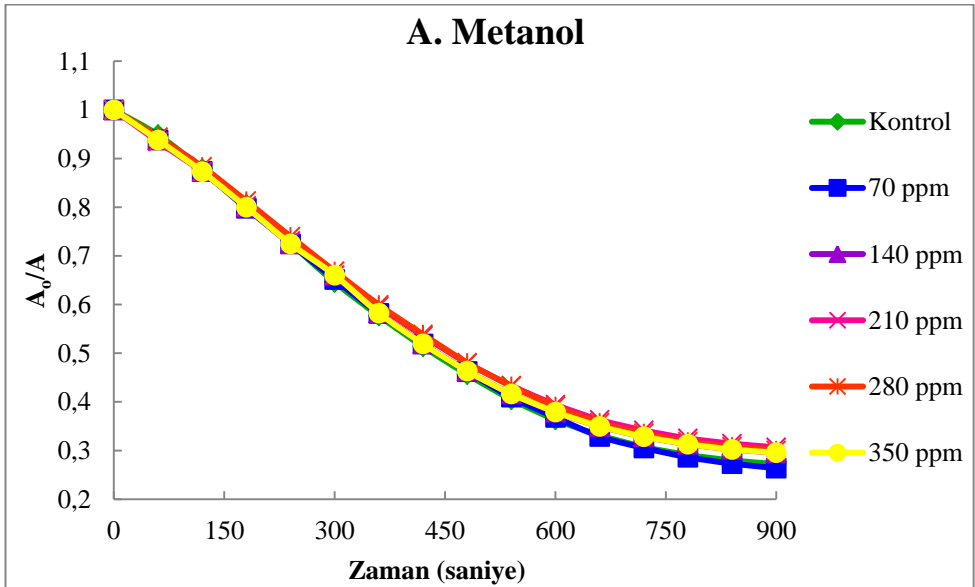
Şekil 4.29. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. liyofilize edilmiş etanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



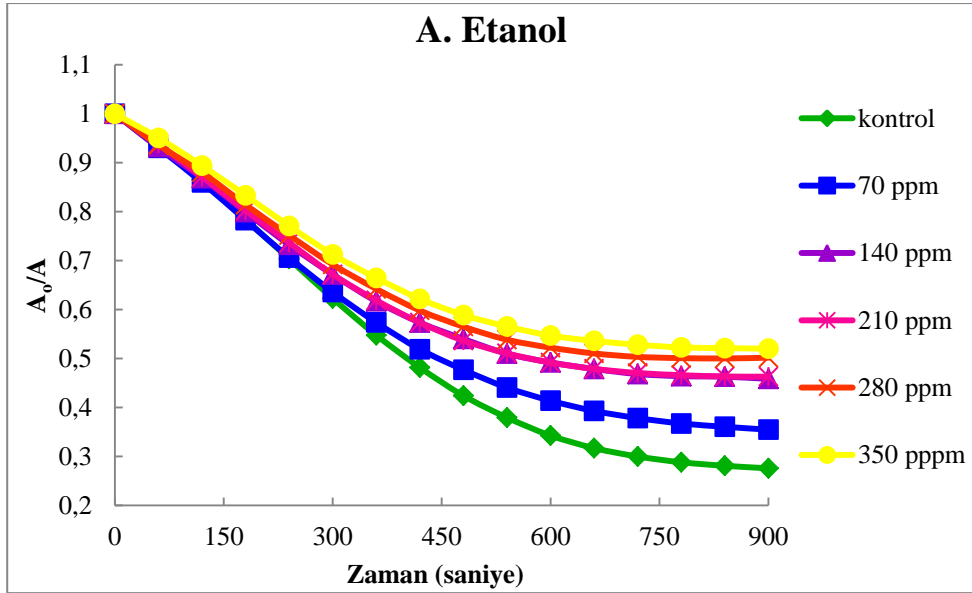
Şekil 4.30. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. liyofilize edilmiş su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



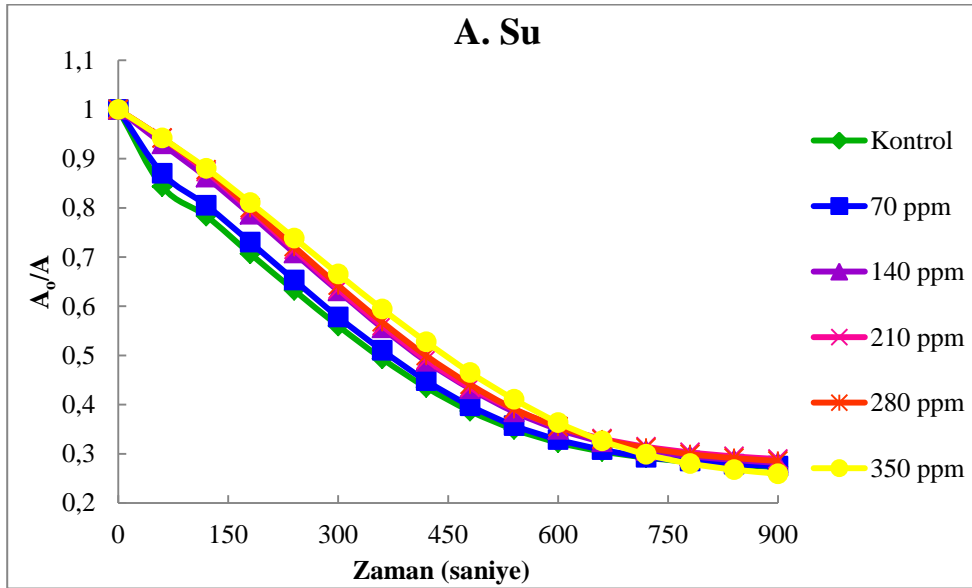
Şekil 4.31. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. liyofilize edilmiş demleme su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



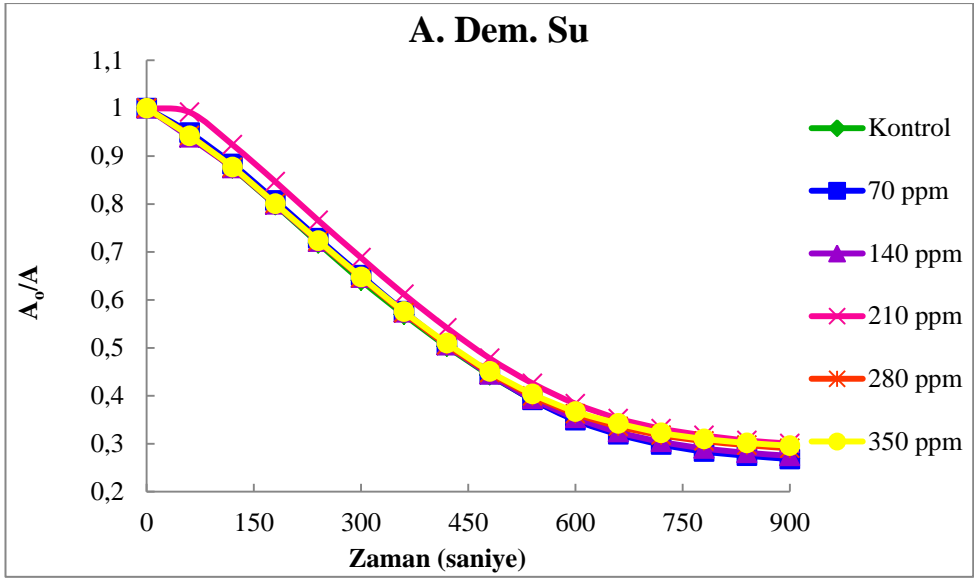
Şekil 4.32. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. açıkta kurutulmuş metanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



Şekil 4.33. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. açığta kurutulmuş etanol ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.



Şekil 4.34. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. açığta kurutulmuş su ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.

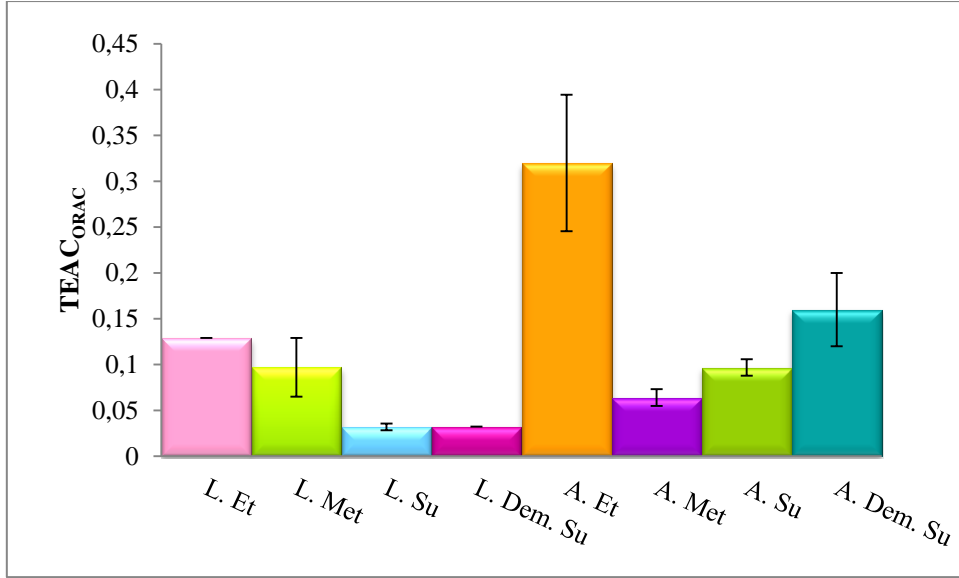


Şekil 4.35. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde farklı derişimlerdeki *S. perennis* L. açıkta kurutulmuş demleme ekstraktının pirogallol red tüketiminin kinetik eğrileri.

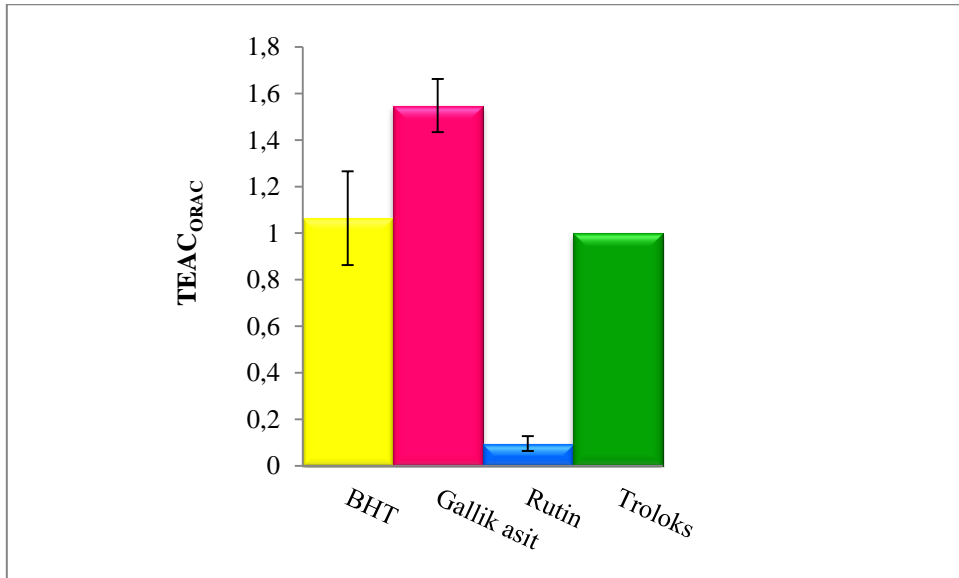
Yukarıda standart antioksidanlar ve örnekler için elde edilen pirogallol red tüketim eğrileri için de derişime karşı çizilen R_0/R grafiklerinin eğimleri Troloks'un eğimine oranlanarak $TEAC_{ORAC}$ değerleri hesaplandı.

Çizelge 4.9. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde *S. perennis* L. ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin $TEAC_{ORAC}$ değerleri.

ÖRNEKLER		$TEAC_{ORAC} \pm SD$
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,13 ± 0,00
	Metanol Ekstraktı	0,10 ± 0,03
	Su Ekstraktı	0,03 ± 0,00
	Demleme Su Ekstraktı	0,03 ± 0,00
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Etanol Ekstraktı	0,32 ± 0,07
	Metanol Ekstraktı	0,06 ± 0,01
	Su Ekstraktı	0,10 ± 0,01
	Demleme Su Ekstraktı	0,16 ± 0,04
Standart Antioksidanlar	BHT	1,06 ± 0,20
	Gallik Asit	1,55 ± 0,32
	Rutin	0,10 ± 0,03
	Troloks	1,00



Şekil 4.36. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde *S. perennis* L. ekstraktlarının TEAC_{ORAC} değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.37. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde standart antioksidanların TEAC_{ORAC} değerlerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.9. ve Şekil 4.36. ve 4.37.'de görüldüğü gibi elde edilen sonuçlara göre TEAC_{ORAC} değerlerinin sıralaması gallik asit > BHT > A. Et > L. Et > A. Dem. Su > rutin = L. Met > A. Su > A. Met > L. Su > L. Dem. Su şeklindedir.

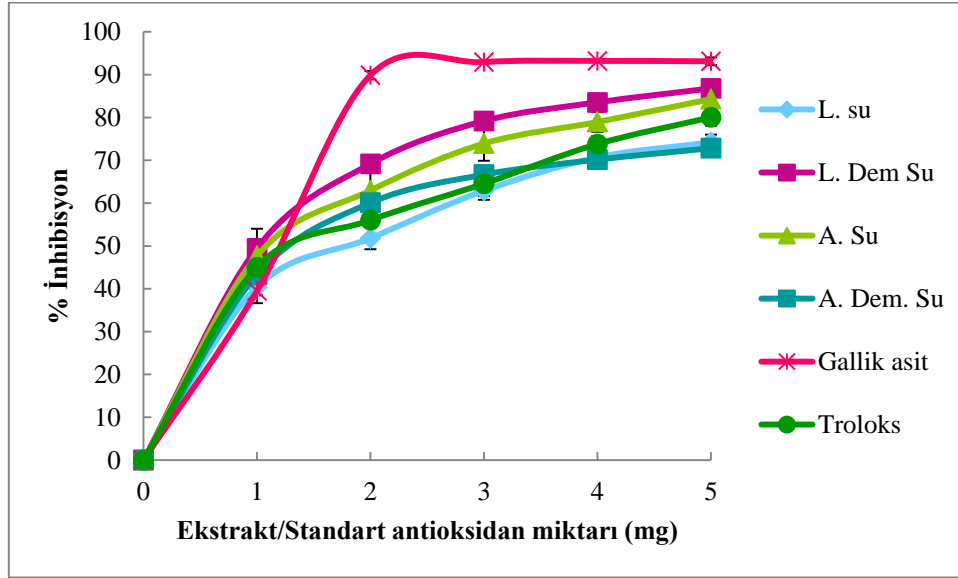
Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi AAPH sentetik radikalini süpürme aktivitesini ölçen bir yöntemdir. Orijinal yöntem floresans ölçümüne dayanırken daha sonra geliştirilen ve bu çalışmada kullanılan yöntemde spektrofotometrik ölçüm yapılabilmektedir. ORAC yöntemi hayvan ve bitki örnekleri için standartlaştırılmaya çalışılan ve rutin klinik analizlerde kullanılması tavsiye edilen (örneğin kan antioksidan seviyesinin ölçülmesinde) bir yöntemdir. Sentetik radikalın kullanıldığı bu yöntemde göre de Çizelge 4.9.'da görüleceği üzere ekstraktların antioksidan aktiviteleri rutin hariç diğer standartlarla kıyaslandığında düşüktür. Ancak ekstraktlar rutin ile kıyaslanabilir antioksidan aktiviteye de sahiptirler.

S. perennis L. türüne ait ORAC çalışması bizim bulgularımıza göre literatürde bulunmamaktadır. Deniz börülcesi türleri içinde sadece *Salicornia ramosissima*'nın ekstraktları için ORAC testlerine ulaşılabilmektedir. (Surget vd., 2015). ORAC testi tek bir değerle iki sonuç veren bir tsttir. Yüzde inhibisyon değeri hesaplanabildiği gibi antioksidanın peroksil radikallerini inhibi etme hızını da görmek mümkün olur. *S. ramosissima*'nın etilasetat etil asetat ekstraktlarının ORAC değeri $9,06 \pm 1,81$ μmol Troloks eşdeğeri/mg olarak ölçülmüştür.

4.10. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

0,1 mL, 28 mM Deoksi-D-Riboz
+
0,5 mL farklı derişimlerde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi
+
0,2 mL EDTA + FeCl₃ (v/v:1/1) çözeltisi
+
0,1 mL, 1,0 mM H₂O₂
+
0,1 mL, 1,0 mM askorbik asit
↓
37 °C'de 1 saat inkübasyon
+
1,0 mL % 2,8'lik TCA
+
1,0 mL % 1'lik TBA
↓

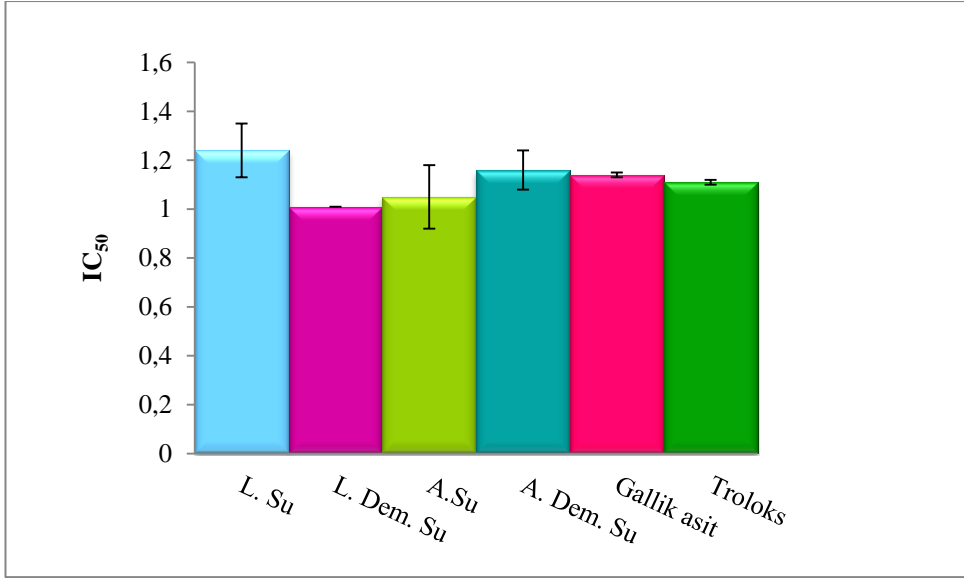
100 °C'de 20 dk kaynatma
↓
Bulanıklık varsa; 25 °C'de 11000 rpm'de 10 dk santrifüjleme
↓
532 nm'de absorbans okundu



Şekil 4.38. *S. perennis* L. liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asitin hidroksil radikali süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri.

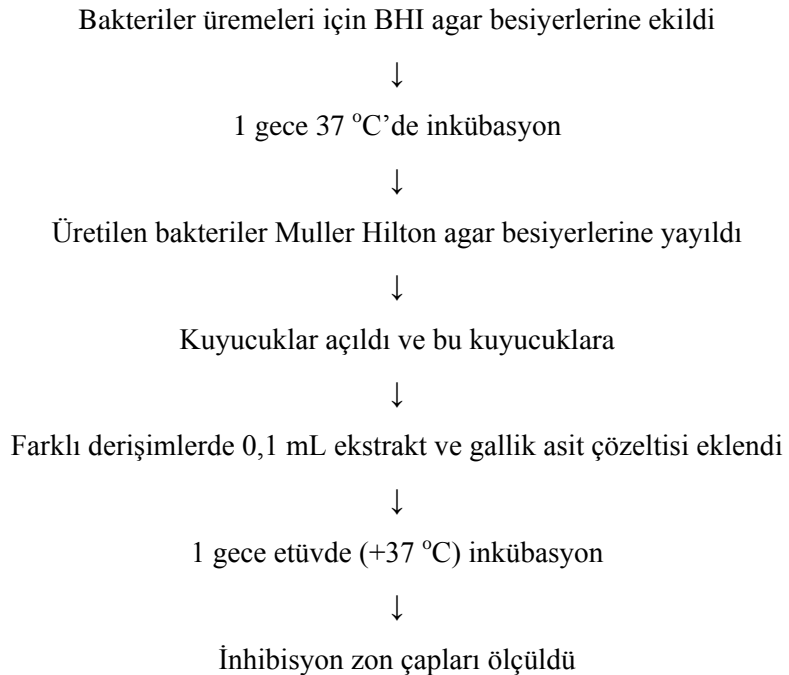
Çizelge 4.10. *S. perennis* L. liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asit için lineer regresyon analizi ile hesaplanan IC_{50} değerleri.

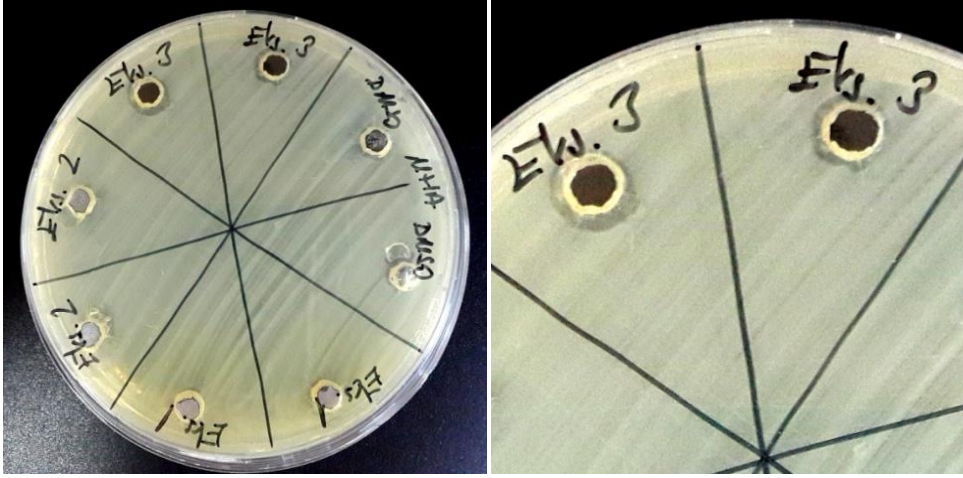
ÖRNEKLER		Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite ($IC_{50} \pm SD$)
Liyofilizatörde Kurutulmuş Örnekler	Su	1,24 ± 0,11
	Demleme Su	1,01 ± 0,00
Açıkta Kurutulmuş Örnekler	Su	1,05 ± 0,13
	Demleme Su	1,16 ± 0,08
Standart Antioksidanlar	Gallik Asit	1,14 ± 0,01
	Troloks	1,11 ± 0,01



Şekil 4.39. *S. perennis* L. liyofilizatörde ve açıkta kurutulmuş su, demleme su ekstraktlarının ve standart antioksidanlardan Troloks ve gallik asitin hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri için lineer regresyon analizi hesaplanan IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması.

4.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

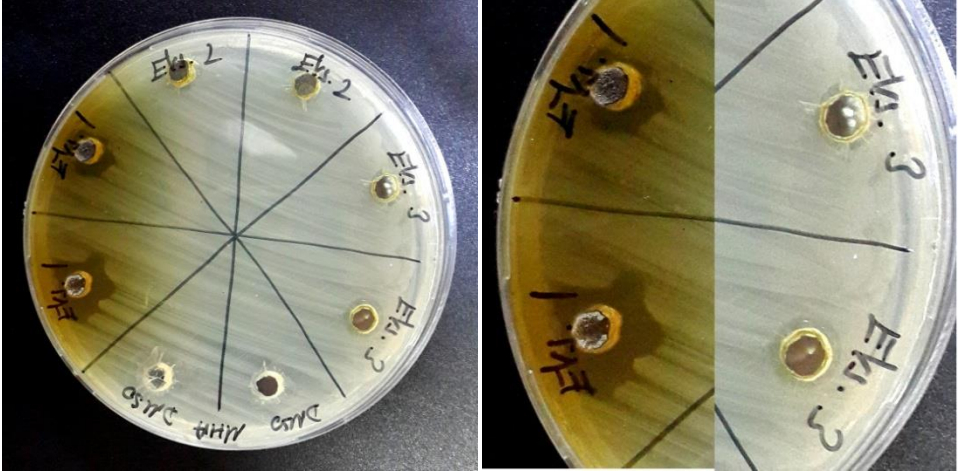




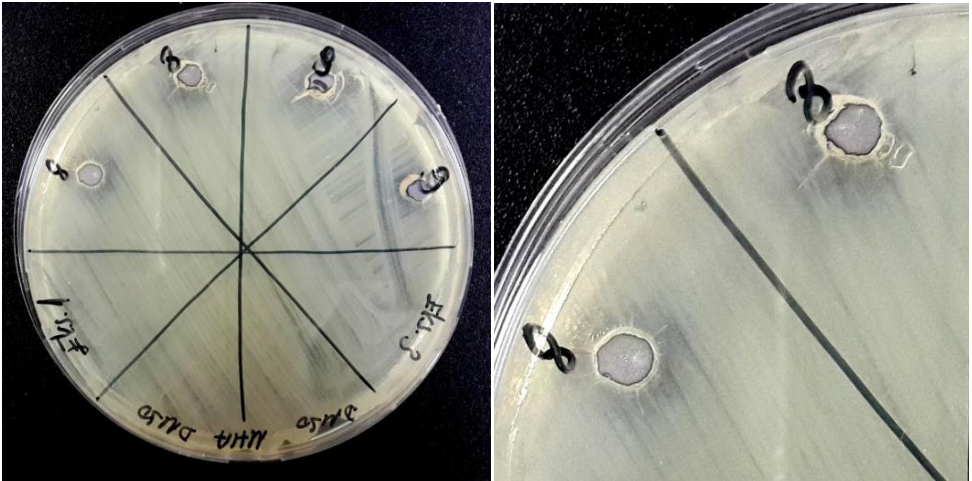
Şekil 4.40. *E. coli* bakterilerine karşı *S. perennis* L. açıkta kurutulmuş etanol ekstraktının (1mg/mL) inhibisyon zon çapı (8 mm).



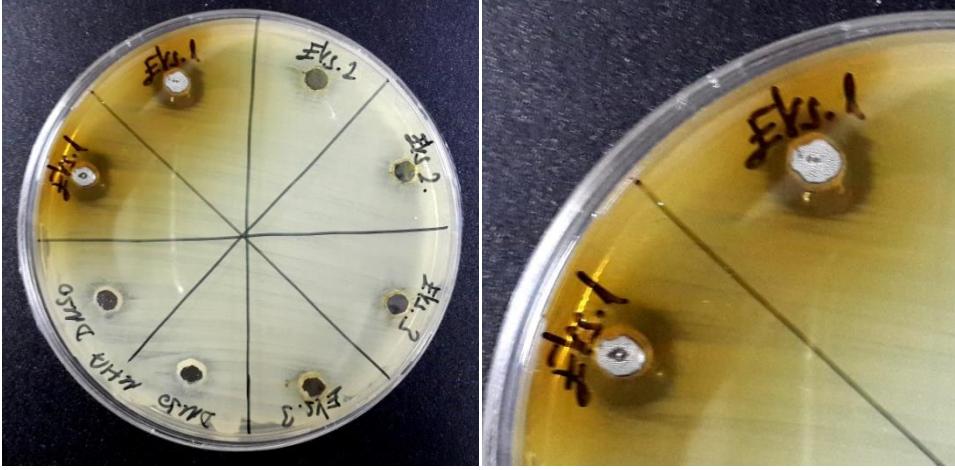
Şekil 4.41. *M. Luteus* bakterilerine karşı *S. Perennis* L. liyofilize edilerek kurutulmuş metanol ekstraktının (10 mg/mL) inhibisyon zon çapı (14 mm).



Şekil 4.42. *S. aureus* bakterilerine karşı *S. perennis* L. açıkta kurutulmuş etanol ekstraktı (10 mg/mL) (Eks. 1, soldaki), ve gallik asitin (10 mg/mL) (Eks. 3, sağdaki) inhibisyon zon çapları (sırası ile 10 ve 8 mm).



Şekil 4.43. *S. marcescens* bakterilerine karşı *S. Perennis* L. liyofilize edilerek kurutulmuş demleme su ekstraktının (1 mg/mL) inhibisyon zon çapı (10 mm).



Şekil 4.44. *S. marcescens* bakterilerine karşı gallik asitin (10 mg/mL) inhibisyon zon çapı (10 mm).

Yukarıdaki şekillerde (Şekil 4.40, 4.41, 4.42, 4.43, 4.44) *S. perennis* L. ekstraktlarının ve gallik asitin inhibisyon zon çapları görülmektedir.

S. perennis L.'in hem açıkta hem de liyofilizatörde kurutulmuş ekstraktlarının büyük bir kısmı olmamakla birlikte, Gram (+) veya Gram (-) bakterilerin üremesini inhibe ettiği görülmüştür.

Standart olarak kullanılan gallik asitin hem Gram (+) (*S. aureus*) hem de Gram (-) (*S. marcescens*) bakterilere karşı etkili olduğu, fakat bakterilerin hepsine karşı etkili olmadığı görülmektedir. Üstelik Gram (+) bakteriler olan *S. aureus* bakterisine karşı A. Et ekstraktı kadar etkili olmadığı belirlenmiştir.

S. perennis L. ekstraktlarını gallik asit ile kıyaslayacak olursak, gallik asitin antimikrobiyal etki göstermediği *M. luteus* ve *E. coli* bakterilerine *S. perennis* L. ekstraktlarının antimikrobiyal etki gösterdiği Çizelge 4.11'de görülmektedir.

S. perennis L.'nin kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi iyi olmamakla birlikte, gallik asit ile kıyaslanabilecek ve hatta gallik asitten daha yüksek düzeydedir.

İncelenen mevcut çalışmalarda *S. perennis* L. bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile incelenmiş olup, bizim uyguladığımız agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılmış çalışmaya rastlanılmamıştır.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları ve antioksidan literatürüne katkıları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Halofit bitkilerden “deniz börülcesi” olarak tüketilen fazla sayıda tür ve cins bulunmaktadır. Bu çalışmaya konu olan *Sarcocornia perennis* L. antioksidan özellikleri açısından çok az incelenmiş bir bitki olup 2 farklı şekilde kurutulmuş (açıkta, liyofilizatörde) ve bu kurutulmuş örnekler 3 farklı çözügen (etanol, metanol, su ve demleme su) ile ekstrakte edilmiştir. Toplamda elde edilen 8 farklı ekstraktın 10 farklı antioksidan tayin yöntemi ile antioksidan parametreleri ve agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile de antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Bu bakımdan bu çalışmanın *S. perennis*'in antioksidan parametreleri ve antimikrobiyal özelliklerinin ilk kez incelenmiş olması ile ilgili literatüre katkısı vardır.

Antioksidan parametrelerin incelenmesi için yapılan çalışmalar genel olarak yorumlanacak olursa sentetik radikallerin kullanıldığı antioksidan aktivite yöntemlerinde (DPPH, CUPRAC, ORAC) ekstraktların antioksidan aktiviteleri düşük bulunurken, biyolojik sistemlerde bulunan gerçek radikallere (hidroksil ve süperoksit) karşı koruyucu etkileri standart antioksidanlarla kıyaslanacak oranda yüksek düzeyde bulunmuştur.

Ayrıca, ekstraktların lipid peroksidasyonunu önleme kapasitesinin bir ölçüsü olarak total antioksidan kapasitesi tayin sonuçlarına göre de antioksidan kapasiteleri oldukça yüksek bulunmuştur.

Deniz börülcesinin hem *Salicornia* ve hem de *Sarcocornia* cinslerine ait türlerin fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olduğu bilinmektedir. bu çalışmanın sonuçları da incelenen *S. Perennis* L.'nin fenolik bileşik içeriğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Flavonoid ve flavonol içerikleri de antioksidan özelliğın büyük ölçüde bu bileşiklerden kaynaklandığını göstermektedir. *S. perennis* ekstraktlarının bazılarının Gram (+) (*M. luteus* ve *S. aureus*) veya Gram (-) (*E.coli*) bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterme kapasitesinin olduğu saptanmıştır. Hatta *S. perennis* ekstraktlarının bazı bakterilere karşı standart olarak kullanılan gallik aside yakın ya da daha yüksek aktivite gösterdiği de görülmüştür.

Deniz börölcesinin yüksek fenolik madde içeriği nedeni ile bazı besinlerde katkı olarak katılması için çalışmalar vardır. Bu çalışmanın bir uzantısı olarak *S. perennis* L. için besin katkı maddesi özelliğinin araştırılması sonraki çalışmalar için planlanabilir.

Halofit bitkilerin güneşin ışınlarını absorblama özellikleri vardır. Bu özellikteki bitkiler genellikle “güneş koruyucu faktör” (SPF) özelliği açısından incelenmektedir. Mevcut Biyokimya Laboratuarı’nda bu özelliğin ölçülmesi için řu anda bir deney düzeneği ve uygun aygıt yoktur. Ancak, SPF faktörünün belirlenmesinin önemli olduğu kanaatindeyiz. Bu nedenle bitkinin SPF değerini ölçmek için uygun bir analitik yöntem araştırılmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma bulgularına göre ilk kez bu kadar detaylı çalışılan *S. perennis* L.’nin antioksidan özellikleri yüksek olan bir bitki olduğu ifade edilebilir.

Çizelge 4.12. Liyofilizatörde kurutulmuş *S. perennis* ekstraktları ve standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite antimikrobiyal özellik tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri.

Ölçülen parametreler	L. Et	L. Met	L. Su	L. Dem. Su	BHT	Gallik asit	Rutin	Troloks
DPPH (IC ₅₀)	54,16 ± 2,10	50,97 ± 0,76	147,00 ± 10,38	62,38 ± 2,38	11,91 ± 2,80	2,33 ± 0,01	2,51 ± 0,06	2,40 ± 0,02
Total fenolik bileşik (µg GAE/mg ekstrakt)	19,55 ± 2,71	22,02 ± 1,63	3,84 ± 0,79	10,19 ± 0,97	-	-	-	-
Total fenolik bileşik (µg RE/mg ekstrakt)	34,22 ± 4,75	38,54 ± 2,85	6,73 ± 1,38	17,84 ± 1,71	-	-	-	-
Total flavonoid (µg RE/mg ekstrakt)	24,49 ± 0,26	14,97 ± 0,13	6,34 ± 0,07	9,89 ± 0,43	-	-	-	-
Total flavonol (µg RE/mg ekstrakt)	8,94 ± 0,85	8,46 ± 0,17	5,82 ± 0,08	10,82 ± 1,16	-	-	-	-
İndirgeme gücü (%askorbik asit)	2,29 ± 0,70	3,37 ± 0,15	0,75 ± 0,12	2,27 ± 0,08	93,64 ± 7,31	200,53 ± 14,91	75,67 ± 4,14	75,73 ± 4,80
Total antioksidan aktivite (% inhibisyon)	93,19 ± 2,77	74,90 ± 3,61	15,37 ± 0,13	42,43 ± 6,08	92,81 ± 0,71	13,21 ± 6,23	59,86 ± 9,13	98,74 ± 1,03
Süperoksit radikali süpürücü aktivite (560 nm)	0,21 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,08 ± 0,00
TEAC _{CUPRAC}	0,15 ± 0,01	0,27 ± 0,07	0,04 ± 0,00	0,07 ± 0,00	2,42 ± 0,03	4,65 ± 0,09	1,69 ± 0,02	1,00
TEAC _{ORAC}	0,13 ± 0,00	0,10 ± 0,03	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	1,06 ± 0,20	1,55 ± 0,32	0,10 ± 0,03	1,00
Hidroksil radikali süpürücü aktivite (IC ₅₀)	-	-	1,24 ± 0,11	1,01 ± 0,00	-	1,14 ± 0,01	-	1,11 ± 0,01

Çizelge 4.13. Açıkta kurutulmuş *S. perennis* ekstraktları ve standart antioksidanların çalışılan antioksidan aktivite antimikrobiyal özellik tayin yöntemleri ile ölçülen antioksidan aktiviteleri.

Ölçülen parametreler	A. Et	A. Met	A. Su	A. Dem. Su	BHT	Gallik asit	Rutin	Troloks
DPPH (IC ₅₀)	92,54 ± 12,14	97,03 ± 4,47	140,36 ± 13,62	87,08 ± 6,11	11,91 ± 2,80	2,33 ± 0,01	2,51 ± 0,06	2,40 ± 0,02
Total fenolik bileşik (µg GAE/mg ekstrakt)	18,25 ± 1,77	9,32 ± 0,41	5,22 ± 0,68	9,47 ± 1,36	-	-	-	-
Total fenolik bileşik (µg RE/mg ekstrakt)	31,94 ± 3,10	16,32 ± 0,72	9,14 ± 1,19	16,57 ± 2,39	-	-	-	-
Total flavonoid (µg RE/mg ekstrakt)	26,22 ± 0,15	7,17 ± 0,19	7,15 ± 0,14	8,98 ± 0,04	-	-	-	-
Total flavonol (µg RE/mg ekstrakt)	9,43 ± 0,34	3,42 ± 0,12	6,10 ± 0,06	9,17 ± 0,10	-	-	-	-
İndirgeme gücü (%askorbik asit)	2,47 ± 0,15	1,33 ± 0,03	0,67 ± 0,05	2,18 ± 0,06	93,64 ± 7,31	200,53 ± 14,91	75,67 ± 4,14	75,73 ± 4,80
Total antioksidan aktivite (% inhibisyon)	92,18 ± 1,33	78,71 ± 0,48	3,26 ± 2,35	27,65 ± 9,23	92,81 ± 0,71	13,21 ± 6,23	59,86 ± 9,13	98,74 ± 1,03
Süperoksit radikali süpürücü aktivite (560 nm)	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,08 ± 0,00
TEAC _{CUPRAC}	0,15 ± 0,00	0,23 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,00	2,42 ± 0,03	4,65 ± 0,09	1,69 ± 0,02	1,00
TEAC _{ORAC}	0,32 ± 0,07	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,04	1,06 ± 0,20	1,55 ± 0,32	0,10 ± 0,03	1,00
Hidroksil radikali süpürücü aktivite (IC ₅₀)	-	-	1,05 ± 0,10	1,16 ± 0,08	-	1,14 ± 0,01	-	1,11 ± 0,01

KAYNAKLAR

- Agbor, G. A., Vinson, J. A., Donnelly, P. E. 2014. Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. **International Journal of Food Sciences and Nutrition Dietetics**, 3 (8): 147-156.
- Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H., Razavi, K. 2011. Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of *Salicornia* (*S. persica* and *S. europaea*). **Acta Physiol Plant**, 33: 1261-1270.
- Alarcón, E., Campos, A. M., Edwards; A. M., Lissi, E., López-Alarcón, C. 2008. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies. **Food Chemistry**, 107: 1114-1119.
- Alpınar, K., Özyürek, M., Kolak, U., Güçlü, K., Aras, Ç., Altun, M., Çelik, S. E., Berker, K. I., Bektaşoğlu, B., Apak, R. 2009. Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in Ayvalık of Turkey. **Food Science Technology Research**, 15 (1): 59-64.
- Anonim. 2005. Vitamin E. **Recommended Nutrient Intakes for Malaysia**, [http://www2.moh.gov.my/images/gallery/rni/13_chat.pdf], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Anonim. 2012. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Oksidatif stres parametreleri ve oksantest. [http://www.oksante.com.tr/oksantest.pdf], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Anonim. 2013. Antimikrobiyal madde testleri. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Laboratuvar Hizmetleri, [http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Antimikrobiyal%20Madde%20Testleri.pdf], Erişim Tarihi: 20.04.2015.
- Anonim 1 (14.02.2010). Carotenoid. [http://en.citizendium.org/wiki/Carotenoid], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Anonim 2 (25.11.2013). E vitamini. [http://tr.wikipedia.org/wiki/E_vitamini], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Anonim 3 (24.04.2015). Butylated hydroxytoluene. [http://en.wikipedia.org/wiki/Butylated_hydroxytoluene], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 4 (26.04.2015). Antimicrobial.

[<http://en.wikipedia.org/wiki/Antimicrobial>], Erişim Tarihi: 26.04.2015.

Anonim 5. Antimikrobiyal duyarlılık testleri. [<http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 6. Catalase. [http://www.saylor.org/site/wp-content/uploads/2012/12/CHEM203_Wikipedia_Catalase_12.20.12.pdf], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 7. Free radical reactions.

[<http://nptel.ac.in/courses/104103022/download/module9.pdf>],

Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 8. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi.

[<http://www.hasanunal.net/images/dosyalar/Katalaz%20Aktivitesinin%20Belirlenmesi.pdf>], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 9. Kimya'da temel kavramlar.

[[http://home.anadolu.edu.tr/~americ/T%C3%BCrk%C3%A7e%20Linkler/DERS%20NOTLARI/GENEL%20K%C4%B0MYA-I/\(1-4.B%C3%B6l%C3%BCmler\)%20\(1-31.sayfalar\).pdf](http://home.anadolu.edu.tr/~americ/T%C3%BCrk%C3%A7e%20Linkler/DERS%20NOTLARI/GENEL%20K%C4%B0MYA-I/(1-4.B%C3%B6l%C3%BCmler)%20(1-31.sayfalar).pdf)],

Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 10. Nutrients involved in antioxidant function. [http://www.aw-bc.com/info/thompson_majors/assets/pdf/chapter_10.pdf], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Anonim 11. Superoxide dismutase. [http://www.saylor.org/site/wp-content/uploads/2012/12/CHEM203_Wikipedia_Superoxide-Dismutase_12.20.12.pdf], Erişim Tarihi: 29.04.2015.

Antmen, Ş. E. 2005. Beta talasemide oksidatif stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S. E. 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. **Microchimica Acta**, 160: 413-419.

- Ardağ, A. 2008. Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Arnao, M., Cano, A., Acosta, M. 1999. Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. **Free Radical Research**, 32: 89-96.
- Arts, M. J. T. J., Haenen, G. R. M. M., Voss, H. P., Bast, A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. **Food and Chemical Toxicology**, 42: 45-49.
- Atalay, M., Lappalainen, J. Protection against oxidative stress. [<http://www.eolss.net/sample-chapters/c03/e6-54-02-06.pdf>], Erişim Tarihi: 29.04.2015.
- Auroma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 75: 199-212.
- Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. **Kocatepe Veteriner Dergisi**, 2 (2): 56-60.
- Aydın, H. 2011. Bazı baharatların farklı ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- Bektaşoğlu, B. 2007. Hidroksil radikal süpürülmesine dayalı antioksidan ölçümünde yeni bir yöntem geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Benbrook, C. M. 2005. Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing. **The Organic Center** [Electronic Journal], Erişim [<https://www.organic-center.org/publications/elevating-antioxidant-levels-in-food-through-organic-farming-and-food-processing/>]
- Bertin, R. L., Gonzaga, L. V., Borges, G. S. C., Azevedo, M. S., Maltez, H. F., Heller, M., Micke, G. A., Tavares, L. B. B., Fett, R. 2014. Nutrient composition and, identification/quantification of major phenolic compounds in *Sarcocornia ambigua* (Amaranthaceae) using HPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, 55: 404-411.

- Bhatt, P., Negi, P. S. 2012. Antioxidant and antibacterial activities in the leaf extracts of Indian Borage. **Food and Nutrition Sciences**, 3: 146-152.
- Bouayed, J., Bohn, T. 2010. Exogenous antioxidants- Double edged swords in cellular redox state. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 3 (4): 228-237.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, 30: 609-615.
- Büyüktuncel, E. 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca yöntemler. **Marmara Pharmaceurical Journal**, 17: 93-103.
- Christopher, M., Marlin, D. and D. J. 2003. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Techniques in Equine Practice**, 2 (3): 278-291.
- Cihaner, S. S. 2009. İndol-amino asit türevi yeni ilaç etken maddelerinin sentezleri ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Çakatay, U., Kayalı, R. 2006. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. **Cerrahpaşa Tıp Dergisi**, 37: 162-167.
- Çakmakçı, S., Gökalp, H. Y. 1992. Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 23 (2): 174-192.
- Çetinyürek, F. 2012. Buğday ruşeymi ve buğday ruşeym yağının antioksidan parametrelerinin incelenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Dai, J., Mumper R. J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, 15: 7313-7352.
- Davy, A. J., Bishop, G. F., Costa, C. S. B. 2001. *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* I., *S. obsura* P. W. Ball & Tutin, *S. nitens* P. W. Ball & Tutin, *S. fragilis* P. W. Ball & Tutin, and *S. dolichostachua* Moss). *J. Ecol.* 89: 681-707.
- Deaton, C. M., Marlin, D. J. 2003. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Techniques in Equine Practice**, 2 (3): 278-291.

- Del Giudice, T., Pascucci, S. 2010. The role of consumer acceptance in the food innovation process: Young consumer perception of functional foods in Italy. **International Journal of Food System Dynamics**, 2: 111-122.
- Delibaş, N., Özçankaya, R. 1995. Serbest radikaller. **SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi**, 2 (3): 11-17.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., Lele, R. D. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. **Journal of The Association Physicians of India**, 52: 794-804.
- Dündar, Y., Aslan, R. 1999. Bir antioksidan olarak vitamin E. **Genel Tıp Dergisi**, 9 (3): 109-116.
- Elsebaie, E. M., Elsanat, S. Y. A., Gouda, M. S., Elnemr, K. M. 2013. Studies on antimicrobial and antioxidant efficiency of glasswort (*Salicornia fruticosa*) herb juice and methanolic extract minced beef. **International Journal of Modern Agriculture**, 2 (2): 72-80.
- Ercan, P., El, S. N. 2010. Koenzim Q10'un beslenme ve sağlık açısından önemi. **TÜBAV Bilim Dergisi**, 3 (2): 192-200.
- Erdoğan, A. E., Everest, A. 2013. Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**, 6 (29): 27-32.
- Erenel, G., Erbaş, D., Arıçioğlu, A. 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. **Gazi Tıp Dergisi**, 3: 243-250.
- Essaisi, I., Brahmi, Z., Snoussi, A., Koubaier, H. B. H., Casabianca, H., Abe, N., El Omri, A., Chaabouni, M. M., Bouzouita, N. 2013. Phytochemical investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract. **Food Control**, 32: 125-133.
- Fiedor, J., Burda, K. 2014. Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. **Nutrients**, 6: 466-488.
- Foti, M. C. 2007. Antioxidant properties as phenols. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, (Electronic Journal), 59: 1673-1685, DOI 10.1211/jpp.59.12.0010, Erişim

- [<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1211/jpp.59.12.0010/pdf>], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Gargouri, M., Magné, C., Dauvergne, X., Ksouri, R., El Feki, A., Metges, M. A. G., Talarmin H. 2013. Cytoprotective and antioxidant effects of the edible halophyte *Sarcocornia perennis* L. (swampfire) against lead-induced toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 95: 44-51.
- Glenn, E. P., Brown, J. J., O'Leary, J. W. 1998. Irrigating crops with seawater. **Scientific American** [Electronic Journal], pp. 76-81, Erişim [<http://www.desertcorp.com/documents/Potential-of-Salt-Agriculture-in-Scientific-America.pdf>], Erişim Tarihi: 23.04.2015.
- Gruzdienė, D., Venskutonis, P. R., Tirezite, D., Tirezitis, G. 2005. Assessment of antioxidant activity of plant extracts by different methods. **Perspectives in Natural Product Chemistry**, 3: 99-107.
- Guo, L., Zhang, Y., Li, Q. M. 2009. A Novel Spectrophotometric Method for the Determination of Levodopa with the detection system of potassium ferricyanide-Fe(III). **Journal of the Chinese Chemical Society**, 56: 568-574.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E., Apak, R. 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. **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.
- Gümüştaş, K., Atukeren, P. 2008. Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. **İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri**, Sempozyum dizisi No:62, pp. 329-340, İstanbul.
- Hall, C. 2001. Sources of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. Antioxidants in food: practical applications (Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.), North Dakota University, North Dakota, USA.

- 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.*, 165 (1): 215-219.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Grootveld, M. 1988. Method for the Measurements of Hydroxyl Radicals in Biochemical System: Deoxyribose Degradation and Aromatic Hydroxylation. *Methods of Biochemical Analysis* (Wiley, J.), , 33: 59-90, Canada.
- Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review Nutrition**, 16: 33-50. London.
- Halliwell, B. 2007. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, 35 (5): 1147-1150.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., B., Ingrid, H., Erlend, Remberg, S. F., Wold, A. B., Haffner, K., Baugerød, H., Andersen, L. F., Moskaug, J. Ø., Jacobs, D. R., Blomhoff, Jr. and R. 2002. A Systematic screening of total antioxidants in dietary plants. **Journal of Nutrition**, 132: 461-471.
- Ha Na, S., Jeon, B. Y., Yun, A., Park, D. H. 2010. Effect of glasswort (*Salicornia herbacea* L.) on microbial community variations in the vinegar-making process and vinegar characteristics. **Journal Microbiology and Biotechnology**, 20 (9): 1322-1330.
- Huang; D., Ou, B., Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , 53: 1841-1856.
- Huang, W., Cai, Y., Zhang; Y. 2009. Natural Phenolic Compounds From Medicinal Herbs and Dietary Plants: Potential Use for Cancer Prevention. **Nutrition and Cancer**, 62 (1): 1-20.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollard, C. A., Sasner, J. J. 2003. Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 1811-1815.
- Iqbal, K., Khan, A., Khattak, M. M. A. K. 2004. Biological significance of ascorbic acid in human health. **Pakistan Journal of Nutrition**, 3 (1): 5-13.
- Isca, V. M. S., Seca, A. M. L., Pinto, D. C. G. A., Silva, A. M. S. 2014. An overview of salicornia genus: the phytochemical and pharmacological profile. **Natural Product: Research Reviews**, 2 (7): 145-176.

- Işık, F. E. 2005. Edirne bölgesinde yetişen *Trifolium resupinatum* L. var. *microcephalum* bitkisinin fitokimyasal incelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne.
- İsmail, A., Zamaliah, M., Marjan, M., Foong, C. W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, 87: 581-586.
- İşbilir Selen, Ş. 2008. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne.
- Jeon, B. Y., Joo, D. H., Park, D. H. 2012. Chemical and biochemical characterization of doenjang supplemented with glasswort and rice. **Journal of Food and Engineering**, 2: 283-292.
- Júnior, F., NCC, S. 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **International Standard Serial Number 1678-9199**, 16 (3): 402-413.
- Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T. 2002. Flavonoidler. **Kocatepe Tıp Dergisi**, 3: 01-08.
- Kang, S., Kim, D., Lee, B. H., Kim, M. R., Chiang, M., Hong, J. 2011. Antioxidant properties and cytotoxic effects of fractions from glasswort (*Salicornia herbacea*) seed extracts on human intestinal cells. **Food Science and Biotechnology**, 20 (1): 115-122.
- Karaca, E. 2011. Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Karou, D., Mamoudou, H. D., Simporé, J., S. T., Alfred. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. **African Journal of Biotechnology**, 4 (8): 823-828.
- Kavas, G., Kımık, Ö. 2011. Önemli bir antioksidan: koenzim Q10 (KoQ10). **Dünya Gıda**, [<http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=734>], Erişim Tarihi: 19.04.2015.

- Kayış, T. 2010. Diazinon'un subletal konsantrasyonlarının *pimpla turionella* el.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kim, J. Y., Cho, J. Y., Ma, Y. K., Park, K. Y., Lee, S. H., Ham, K. S., Lee, H. J., Park, K. H., Moon, J. H. 2011. Dicafeoylquinic acid derivatives and flavonoid glucosides from glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and their antioxidative activity. **Food Chemistry**, 125: 55-62.
- Knapen, M. F. C. M., Zusterzeel, P. L. M., Peters, W. H. M., Steegers E. A. P. 1999. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction a review. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, 82: 171-184.
- Koca, N., Karadeniz, F. 2013. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. **Gıda Mühendisliği Dergisi**, (Electronic Journal), Aralık, Erişim [http://www.gidamo.org.tr/yayinlar/dergi_goster.php?kodu=16&dergi=1], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- Kedare, S. B., Singh, R. P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal Food Science Technology**, 48(4):412-422.
- Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yılmaz, Ö., Turkoglu, I. 2012. Hydrogen peroxide radical scavenging and total antioxidant activity of Hawthorn. **Chemistry Journal**, 2: 9-12.
- Kumar, S. 2011. Free radicals and antioxidants: Human and food system. **Advances in Applied Science Research**, 2 (1): 129-135.
- Kumar, S. R., Ramanathan, G., Subhakaran, M., Inbaneson, S. J. 2009. Antimicrobial compounds from marine halophytes for silkworm disease treatment. **International Journal of Medicine and Medical Sciences**, 1 (5): 184-191.
- Lee, H. Y., Eum, W. S., Kim, D. W., Lee, B. R., Yoon, C. S., Choi, S. H. H. S., Choi, S. H., Baek, N., Kang, J. H., Kang, T., Won, M. H., Cho, S., Lee, K. S., Par, J., Choi, S. Y. 2003. Isolation and Identification of an Antioxidant Enzyme Catalase Stimulatory Compound from *Ganoderma lucidum*. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, 36 (5): 450-455.

- Lieth, H., Moschenko, M., Menzel, U. 1997. Concerted act, on project sustainable utilisation in the mediterranean and subtropical dry recognions. University of Osnabrück, Germany, 1: 40.
- Liu, F., Ooi, V. E. C., Chang, S. T. 1997. Free radical scavenging mushroom polysaccharide extracts. **Life Science**, 60: 763-736.
- Lourdes Reis Giada, M. 2013. Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. **Intech**, (Electronic Journal), DOI: 10.5772/51687, Erişim [<http://dx.doi.org/10.5772/51687>], Erişim Tarihi: 19.04.2015.
- López-Alarcón, C., Lissi, E. 2005. Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. **Taylor & Francis Group**, 39 (7): 729-736.
- López-Alarcón, C., Lissi, E. 2006. A novel and simple ORAC methodology based on the interaction. **Informa Healthcare**, 40 (9): 979-985.
- Lu, Z., Hodges, R. M., Mota-Urbina, C. J., Gllawa, P. L., Chaturvedi, R., DeCianne, D. M., Glenn, E. P., Hodges, C.N. 2001. *Salicornia bigelovii* (Chenopodiaceae) seawater irrigated crop with versatile commercial products. The Fifth New Crops Symposium, Atlanta, GA.
- Manikandan, T., Neelakandan, T., Usha Rani, G. 2009. Antibacterial activity of *Salicornia brachiata*, a halophyte. **Journal of Phytology**, 1(6): 441- 443.
- Mary, N. K., Shylesh, B. S., Babu, B. H., Padikkala, J. 2002. Antioxidant and hypolipidaemic activity of a herbal formulation-Liposem. **Indian Journal of Experimental Biology**, 40: 901-904.
- Masoud, M. S., Hagagg, S. S., Ali, A. E., Nasr, N. M. 2011. Synthesis and spectroscopic characterization of gallic acid and some of its azo complexes. **Journal of Molecular Structure**, 1014: 17-25.
- Mates, J. M., Perez-Gomez, C., Nunez De Castro, I. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clinical Biochemistry**, 32 (8): 595-603.
- Medina, M. B. 2011. Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59: 1565-1571.

- Menchaca, M. C. V., Morales, C. R., Star, J. V., Cárdenas, A. O. , Morales, M. E. R., González, M. A. N., Gallardo, L. B. S. 2013. Antimicrobial activity of five plants from Northern Mexico on medically important bacteria. **Academic Journals**, ISSN 1996-088, 7 (43): 5011-5017.
- Meral, R., Doğan, İ. S., Kanberoğlu, G. S. 2012. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar. **Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 2 (2): 45-50.
- Mestres, G., Santos, C. F., Engman, L., Persson, C., Ott, M. K. 2014. Scavenging effect of Trolox released from brushite cements. **Acta Biomaterialia**, 11: 459-466.
- Molyneux, P. 2004. The use of Stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal Science and Technology**, 26 (2): 211-219.
- Nazlıcan, Ö. 2005. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında çeşitli kinolon grubu antibiyotiklerin duyarlılıklarının araştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., Okoh, A. I. 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, 7 (12): 1797-1806.
- Nimse, S. B., Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **The Royal Society of Chemistry**, 5: 27986-28006.
- Nuutila, A. M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M., Oksman-Caldentey, K. M. 2003. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, 81: 485-493.
- Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hølmer, Mortensen, S. A., Stender, S. 1999. Coenzyme Q₁₀ in health and disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, 53: 764-770.

- 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.
- Öğüt, S., Atay, E. 2012. Yaşlılık ve oksidatif stres. **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi**, 19 (2): 68-74.
- Özdemir, Ç. 2011. Süperoksit dismutaz enziminin nardan (*Punica granatum L.*) saflaştırılması ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S., Levine, M. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, 22 (1):18-35.
- Pai, E. F., Schulz, G. E. 1983. The catalytic mechanism of GR as derived from X-ray diffraction analyses of reaction intermediates. **The Journal of Biological Chemistry**, 258 (3): 1752-1757.
- Pallab, K., Tapan, B. K., Tapas, P. K., Ramen, K. 2013. Estimation of total flavonoids content (TFC) and antioxidant activities of methanolic whole plant extract of biophytum sensitivum linn. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, 3 (4): 33-37.
- Panchawat, S., Rathore, K.S., Sisodia, S.S. 2010. A review on herbal antioxidants. **International Journal of PharmTech Research**, 2 (1): 232-239.
- Peason, D., Shaw, S. 2009. Surprise Discovery: BHT Is a Natural Antioxidant. [<http://www.life-enhancement.com/magazine/article/2178-surprise-discovery-bht-is-a-natural-antioxidant>], Erişim Tarihi: 20.04.2015.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio D. D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. 2003. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. **Journal of Nutrition**, 133: 2812-2819.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. **Clinical Nutrition Insights**, 31: 01-04.
- Pontiki, E., Hadjipavlou-Litina, D., Litinas, K., Geromichalos, G. 2014. Novel Cinnamic Acid Derivatives as Antioxidant and Anticancer Agents: Design, Synthesis and Modeling Studies. **Molecules**, 19: 9655-9674.

- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, 5 (11): 1142-1145.
- Poyrazoğlu Çoban, E., Bıyık, H. 2009. Investigation of antimicrobial activity of some natural plants which are not-cultivated and are sold at bazaars in Aydın vicinity. **International of Natural and Engineering Sciences**, 3 (2): 59-62.
- Pradedova, E. V., Isheeva, O. D., Salyaev, R. K. 2010. Classification of the Antioxidant Defense System as the Ground for Reasonable Organization of Experimental Studies of the Oxidative Stress in Plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, 58 (2): 210-217.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 4290-4302.
- Procházková, D., Boušová, I, Wilhelmová, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, 82: 513-523.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J. C., Bailleul, F., Trotin, F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. **Journal of Ethnopharmacology**, 72: 35-42.
- Rao, A. V., Rao, L. G. 2007. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, 55: 207-216.
- Rhee, M. H., Park H. J., Cho, J. Y. 2009. Salicornia herbacea: Botanical, chemical and pharmacological review of halophyte marsh plant. **Journal of Medicinal Plants Research**, 3 (8): 548-555.
- 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.

- Santhanakrishnan, D., Perumal, R. K., Kanth, S. V., Rao, J. R., Chandrasekaran, B. 2013. Antioxidant and cytotoxic effects of methanolic extract of *Salicornia brachiata* L. in HepG2 cells. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, 4 (4): 512-517.
- Saran, B., Karahan, Z. C. 2010. Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. **Türk Üroloji Seminerleri**, 1: 216-220, Ankara.
- Shaidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. **Nahrung**, 3: 158-163.
- Shaidi, F., Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: Measurement methods. Bailey's Industrial Oil and Fat Products (Shaidi, F.), Memorial University of Newfoundland, 6: 357-385, Canada.
- Selvamohan, T., Ramadas, V., Shibila Selva Kishore, S. 2012. Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria. **Advances in Applied Science Research**, 3 (5):3374-3381
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., De, B. 2010. Free radicals antioxidants diseases and phytomedicines: Current status and future project. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 3: 91-100.
- Seriner, R., Bilgin, R. 2012. Katalaz enziminin hıyardan (*Cucumis sativus*) saflaştırılması. **Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi**, Cilt:28-4.
- Shaver, L. A., Leung, S. H., Puderbaugh, A., Angel, S. A. 2011. Two Methods of Determining Total Phenolic Content of Foods and Juices in a General, Organic, and Biological (GOB) Chemistry Lab. **Journal of Chemical Education**, 88 (4): 492-495.
- Singhal, M., Paul, A., Singh, H. P., Dubey, S. K., Gaur, K. 2011. Evaluation of Reducing Power Assay of Chalcone Semicarbazones. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 3 (3): 639-645.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Society for Enology and Viticulture, 16: 144-158.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Roventós, 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.
- Surget, G., Stiger-Pouvreau, V., Lann, K. L., Kervarec, N., Couteau, C., Coiffard, L. J. M., Gaillard, F., Cahier, K., Guérard, F., Poupart, N. 2015. Structural elucidation, *in vitro* antioxidant and photoprotective capacities of a purified polyphenolic-enriched fraction from a saltmarsh plant. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 143: 52-60.
- Škerget, M., Majhenič, L., Bezjak, M., Knez, Ž. 2009. Antioxidant, radical scavenging and antimicrobial activities of red onion (*Allium cepa* L) skin and edible part extracts. **Chemical Biochemical Engineering Quarterly**, 23 (4): 435-444.
- Şen, C. 2011. *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Şengül, M., Yıldız, H., Güngör, N., Çetin, B., Eser, Z., Ercişli, S. 2009. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 22 (1): 102-106
- Takım, K. 2010. Kiraz yaprağı ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin ve oksidatif dna hasarı üzerine etkisinin belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Umamaheswari, M., Chatterjee, T. K. 2008. In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. **African Journal Traditional**, 5 (1): 61-73.
- Valgas, C., Souza, S. M., Smânia, E. F. A., Smânia A. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. **Brazilian Journal of Microbiology**, 38: 369-380.
- Ventura, Y., Wuddineh, W. A., Myrzabayeva, M., Alikulov, Z., Khozin-Goldberg, I., Shpigel, M., Samocha, T. M., Sagi, M. 2011. Effect of seawater concentration on the productivity and nutritional value of annual *Salicornia* and perennial *Sarcocornia* halophytes as leafy vegetable crops. **Scientia Horticulturae**. 128: 189-196.

- Ventura, Y., Sagi, M. 2013. Halophyte crop cultivation: The case for *Salicornia* and *Sarcocornia*. **Environmental and Experimental Botany**, 92: 144-153.
- Vermeris, W., Nicholson, R. 2009. Families of phenolic compounds. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science, Business Media, pp. 1-34, USA.
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Štefan, M. B., Alegro, A., Kószegi, T., Petrik, J. 2011. Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. **Molecules**, 16: 1454-1470.
- Yang, J., Guo, J., Yuan, J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, 41: 1060-1066.
- Yaprak, A. E. 2008. *Salicornia*, *Sarcocornia* ve *Arthrocnemum* cinslerinin (Chenopodiaceae) Türkiye taksonomik revizyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Yavaşer, R. 2011. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Yermakov, A. I., Arasimov, V. V., Yarosh, N. P., 1987. Methods of biochemical analysis of plants, **Leningrad: Agropromizdat**, Russia.
- Yılmaz, İ. 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. **İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 17 (2): 143-153.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Merve TÜNEK
Doğum Yeri ve Tarihi : AYVALIK/1989

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
-Ulusal

1. “Deniz Börülcesinin (*Sarcocornia perennis*) Antioksidan Parametrelerinin ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi”. 5. Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi, 17-19 Mayıs, İstanbul.

c) Katıldığı Projeler

1. “Deniz Börülcesinin (*Sarcocornia perennis*) Antioksidan Parametrelerinin ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi”. ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu. Proje No: 14025 Proje araştırmacısı.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : -

İLETİŞİM

E-posta Adresi : mervetunek8@hotmail.com
Tarih : 09.07.2015