T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI BÖLGELERDEN ALINAN DUT VE SUMAK ÜRÜNLERİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN İNCELENMESİ

ELİF IRMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. EMEK MÖRÖYDOR DERUN

İSTANBUL, 2019

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI BÖLGELERDEN ALINAN DUT VE SUMAK ÜRÜNLERİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN İNCELENMESİ

Elif IRMAK tarafından hazırlanan tez çalışması 03.01.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Nurcan TUĞRUL

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Tülin Banu İYİM

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün FYL-2018-3310 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin yönetimini üstlenen, bu çalışmada bana yer veren, tez çalışmalarım boyunca bana her türlü imkan ve desteği sağlayan, tecrübe ve yardımlarını benimle paylaşan kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Emek Möröydor DERUN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bana her konuda yol gösteren yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen hocam Arş. Gör. Dr. Özgül Dere ÖZDEMİR'e sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Bu günlere gelmem için büyük emek veren, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, bana her konuda destek olan, varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim annem Sevda IRMAK ve babam İlhan IRMAK'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca her zaman beni sabırla dinleyen, kahrımı çeken, üstümde büyük emeği olan teyzem Cemile AKAY ve eniştem Şerafettin AKAY'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Ocak, 2019

Elif IRMAK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ ix

KISALTMA LİSTESİ x

ŞEKİL LİSTESİ xi

ÇİZELGE LİSTESİ xiii

ÖZET xiv

ABSTRACT xv

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 2

BÖLÜM 2

FONKSİYONEL GIDALAR 4

2.1 Fonksiyonel Gıdaların Tarihçesi ve Gelişimi 4
2.2 Fonksiyonel Gıdaların Tanımı 5
2.3 Fonksiyonel Gıdaların Özellikleri 6

BÖLÜM 3

SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR 10

3.1 Serbest Radikaller 10
3.1.1 Serbest Radikal Kaynakları 11
3.1.2 Serbest Radikallerin Etkileri 12
3.2 Antioksidanlar 15

3.2.1 Antioksidanların Etki Mekanizması 15
3.2.2 Antioksidanların Sınıflandırılması 16
3.2.2.1 Endojenler (Enzimatik Antioksidanlar) 19
3.2.2.2 Eksojenler (Enzimatik Olmayan Antioksidanlar) 20
3.2.3 Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri 28
3.2.3.1 ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) 30
3.2.3.2 TRAP (Toplam Radikal Yakalama Antioksidan Parametresi) 31
3.2.3.3 TOCS (Toplam Oksidan Yakalama Aktivitesi) 31
3.2.3.4 CL (Kemiluminesans) 32
3.2.3.5 PCL (Fotokemiluminesans) 32
3.2.3.6 Krosin Ağartma Yöntemi 33
3.2.3.7 LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu) 33
3.2.3.8 FRAP (Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Parametresi) 34
3.2.3.9 TEAC veya ABTS Metodu 35
3.2.3.10 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Yöntemi 36
3.2.3.11 CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi) 37
3.2.3.12 Folin Ciocalteu (FC) Metodu (Toplam Fenol Metodu) 38

BÖLÜM 4

TÜRKİYE'DE YETİŞEN FONKSİYONEL GIDALARDAN SUMAK VE DUT 40

4.1 Sumak (Rhus coriaria, Sumach, Sumac) 40
4.2 Dut (Morus alba, Mulberry, Murier, Maulbeere) 44

BÖLÜM 5

LİTERATÜRDE YAPILAN ÇALIŞMALAR 48

BÖLÜM 6

DENEYSEL ÇALIŞMALAR 55

6.1 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Hammadeler 55
6.1.1 Dut-Sumak 55
6.1.2 Etil Alkol (C_2H_5OH) 56
6.1.3 Metil Alkol (CH_3OH) 56
6.1.4 DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil) 56
6.1.5 Gallik Asit ($C_7H_6O_5$) 56
6.1.6 Folin-Ciocalteu Ayracı (FCR) 56
6.1.7 Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) 56
6.2 Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik Madde Miktarını Belirlemede Kullanılan Analizler 56
6.2.1 UV-Vis Analizi 57
6.2.2 LCMS – QTOF 58
6.3 Deneysel Yöntemler 59
6.3.1 Dut ve Sumak Örneklerinin Hazırlanması 60
6.3.1.1 Kurutma 60
6.3.1.2 Öğütme 60

6.3.2 Ekstraksiyon 60
6.3.2.1 Ultrasonik Yöntem 61
6.3.2.2 Geleneksel Yöntem 61
6.3.3 Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi 63
6.3.4 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi 63

BÖLÜM 7

DENEYSEL SONUÇLAR 64

7.1 Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları 64
7.1.1 Dut Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları 64
7.1.2 Sumak Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları 67
7.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları 68
7.2.1 Dut Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları .. 68
7.2.2 Sumak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları 71
7.3 LCMS-QTOF Analizi Sonuçları 72

BÖLÜM 8

SONUÇ VE ÖNERİLER 74

KAYNAKLAR 78

EK-A

KALİBRASYON DOĞRULARI 84

A-1 Antioksidan Kapasitesi Kalibrasyon Doğruları 84
A-2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kalibrasyon Doğruları 85

EK-B

ANALİZ SONUÇLARI 87

B-1 Antioksidan Kapasitesi Sonuçları 87
B-1.1 Dut Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Sonuçları 87
B-1.2 Sumak Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Sonuçları 88
B-2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları Sonuçları 88
B-2.1 Dut Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları 88
B-2.2 Sumak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları 89

ÖZGEÇMİŞ 91

SİMGE LİSTESİ

C	Karbon
°C	Santigrat derece
Cu	Bakır
dk	Dakika
Fe	Demir
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
µg	Mikrogram
µmol	Mikromol
N	Normalite
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
O_2	Oksijen
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

DPPH	2,2 Difenil 1,pikril hidrazil
FOSHU	Gıdanın Sağlıklı Yaşam İçin Kullanımı
FW	Taze Ağırlık
GAE	Gallik asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LCMS-QTOF	Sıvı Kromatografisi ve Kütle Spektrumu
ROT	Reaktif Okisjen Türleri
TE	Troloks eşdeğeri
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık
VCE	Vitamin C eşdeğeri
QE	Quersetin-3-O-rutinosit eşdeğeri

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 FOSHU onay mührü 5
Şekil 3.1 Serbest radikal kaynakları ve DNA hasarı 12
Şekil 3.2 Serbest radikallerin yol açtığı etkiler 13
Şekil 3.3 Antioksidan bileşiklerin sınıflandırılması 18
Şekil 3.4 Sinnamik asitler: p-kumarik asit (a) kafeik asit (b) ferulik asit (c) 5-hidroksiferulik asit (d) sinapik asit (e) 22
Şekil 3.5 Şikimik asit (a) ve tartarik asit (b) 22
Şekil 3.6 Benzoik asitler: Gallik asit (a) Protokateşik asit (b) Vanilik asit (c) 23
Şekil 3.7 Flavanoidler: flavanol (a) flavonol (b) antosiyanin (c) 24
Şekil 3.8 Kateşin (a) ve Epikateşin (b) 25
Şekil 3.9 3-tersiyerbütil-4-hidroksianisol ile 2-tersiyerbütil-4-hidroksianisol izomerlerinin kimyasal yapıları ve oranları 26
Şekil 3.10 BHA' nın kimyasal yapısı 26
Şekil 3.11 BHT' nin kimyasal yapısı 26
Şekil 3.12 PG'ın kimyasal yapısı 27
Şekil 3.13 TBHQ' nin kimyasal yapısı 27
Şekil 3.14 NDGA' in kimyasal yapısı 27
Şekil 3.15 ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması 30
Şekil 3.16 ORAC metodunun prensibinin şematik gösterimi 30
Şekil 3.17 Fe(III)- TPTZ ve indirgen antioksidan Fe(II) – TPTZ 34
Şekil 3.18 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin persülfatla oksidasyonu 35
Şekil 3.19 DPPH radikalinin kimyasal yapısı 36
Şekil 3.20 Cu(II)' nin antioksidan madde ile Cu (I)' e indirgemesi 37
Şekil 4.1 Sumak baharatı 41
Şekil 4.2 Sumağın ithalat ve ihracat miktarı 41
Şekil 4.3 ORAC yöntemine göre 9 bitki ve baharatın antioksidan kapasitesi 42
Şekil 4.4 Dut meyvesi (a.Morus alba, b. Morus nigra, c.Morus rubra) 44
Şekil 4.5 Yıllara göre ülkemizde üretilen dut miktarı 45
Şekil 6.1 (a) Ulukale, (b) Elazığ, (c) Malatya bölgelerinden alınan dut örnekleri 55
Şekil 6.2 Mardin, Midyat'tan alınan sumak örneği 55
Şekil 6.3 UV-Vis spektrofotometresi 57
Şekil 6.4 UV-Vis spektrofotometresinin çalışma diyagramı 58
Şekil 6.5 LCMS – QTOF cihazı 58

Şekil 6.6 Kütle spektrometresinin şematik diyagramı 59
Şekil 6.7 Kütle spektrometresi blok diyagramı 59
Şekil 6.8 Etüv 60
Şekil 6.9 Öğütücü 60
Şekil 6.10 Ultrasonik banyo 61
Şekil 6.11 Manyetik karıştırıcı 61
Şekil 6.12 Süzme işlemi 61
Şekil 7.1 GD1 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları 65
Şekil 7.2 GD2 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları 65
Şekil 7.3 GD3 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları 66
Şekil 7.4 GS örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları 67
Şekil 7.5 GD1 örneği için toplam fenolik madde miktarları 69
Şekil 7.6 GD2 örneği için toplam fenolik madde miktarları 69
Şekil 7.7 GD3 örneği için toplam fenolik madde miktarları 70
Şekil 7.8 GS örneği için toplam fenolik madde miktarları 71
Şekil 7.9 Gallik asit – Pik aralığı grafiği 73
Şekil A.1 Dut DPPH kalibrasyon doğrusu 84
Şekil A.2 Sumak DPPH kalibrasyon doğrusu 85
Şekil A.3 Dut gallik asit kalibrasyon doğrusu 85
Şekil A.4 Sumak gallik asit kalibrasyon doğrusu 86

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Biyolojik aktif bileşenleri içeren gıdalar ve sağlığa etkileri 5
Çizelge 3.1 Reaktif Oksijen ve Azot Türleri 14
Çizelge 3.2 Başlıca antioksidan kapasite tayin yöntemleri 29
Çizelge 4.1 100 g sumağın içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller 42
Çizelge 4.2 100 g dutun içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller 45
Çizelge 6.1 Dut numunelerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar 62
Çizelge 6.2 Sumak numunelerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar 63
Çizelge 7.1 Dut örneğinde DPPH kalibrasyonu için Derişim-Absorbans 64
Çizelge 7.2 Sumak örneğinde DPPH kalibrasyonu için Derişim-Absorbans 67
Çizelge 7.3 Dut örneğinde gallik asit kalibrasyonu için Derişim-Absorbans 68
Çizelge 7.4 Sumak örneğinde gallik asit kalibrasyonu için Derişim-Absorbans 71
Çizelge 7.5 Analizde kullanılan gallik asit miktarları 72
Çizelge 7.6 Numunelerin içerdikleri gallik asit miktarları 73
Çizelge B.1 Dut ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%) 87
Çizelge B.2 Sumak ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%) 88
Çizelge B.3 Dut ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı 89
Çizelge B.4 Sumak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı 90

ÖZET

FARKLI BÖLGELERDEN ALINAN DUT VE SUMAK ÜRÜNLERİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN İNCELENMESİ

Elif IRMAK

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN

Yapılan araştırmalar, antioksidan içeren doğal gıdaların ilaçlar gibi hastalıkları engellediğini ve tedavi ettiğini göstermiştir. Bu gelişmeler ile birlikte ‘’fonksiyonel gıdalar‟ kavramı ortaya çıkmış ve son yıllarda çok önemli bir konu haline gelmiştir. Türkiye’de fazla miktarda yetiştirilen fonksiyonel gıdalardan olan dut ve sumak, yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir. Bu konu ile ilgili çalışmaların arttırılması ülkemize ekonomik olarak büyük katkı sağlayacaktır.

Tez kapsamında, Tunceli, Elazığ ve Malatya’dan alınan dut ile Mardin’den alınan sumak ürünlerinin antioksidan kapasiteleri DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) metodu ile toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu ve fenolik madde miktarı (gallik asit) LCMS-QTOF (Sıvı Kramatografisi ve Kütle Spektrumu) metotları ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon yöntemi (ultrasonik ve geleneksel), çözücü türü (saf su, etanol, metanol), süre (15, 30 ve 60 dk) parametrelerinin etkisi incelenmiştir. Farklı bölgelerden alınan dut ve sumak ürünleri arasında kıyaslama yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dut, sumak, antioksidan, fenolik madde, fonksiyonel gıda

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY OF MULBERRY AND SUMAC PRODUCTS FROM DIFFERENT REGIONS

Elif IRMAK

Department of Chemical Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Doç. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN

Research has shown that natural foods containing antioxidant prevent and treat diseases such as drugs. With these developments, the concept of ‘’functional foods‟ has emerged and has become a very important issue in recent years. Mulberry and sumac are functional foods grown in large quantities in Turkey they have high antioxidant capacity. Increasing the number of studies on this subject will contribute to the country economically.

Within the scope of the thesis, the antioxidant capacities of the mulberry products obtained from Tunceli, Elazığ and Malatya and sumac from Mardin were determined by DPPH (2.2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, total phenolic substance amounts were determined by Folin- Ciocalteu and the phenolic substance amounts (gallic acid) were determined by LCMS-QTOF (Liquid Chromatography and Mass Spectrometry) methods. The extraction method (ultrasonic and traditional), solvent type (pure water, ethanol, methanol), time (15, 30 and 60 mins) parameters were investigated. The mulberry and sumac products from different regions were compared.

Keywords: Mulberry, sumac, antioxidant, phenolic compound, functional food

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Hipokrat'ın 2500 yıl önce söylediği ''Besinler ilacınız, ilacınız besininiz olsun'' kavramını son yıllarda keşfetmeye başlayan batı dünyası, besinlerin iyileştirici özelliğini kullanabilmek için büyük bir ilgi göstermektedir [1].

Yapılan araştırmalar, toplum sağlığında beslenmenin önemli etkisinin olduğunu ayrıca ilaçların hastalıkları engelleme ve tedavi etme özelliklerini, doğal gıdaların da sağladığını göstermiştir. Bu gelişmeler ''fonksiyonel gıdalar" kavramını meydana getirmiştir. Fonksiyonel gıdalar, vücudun ihtiyaç duyduğu besin unsurlarını içermesinin yanında insan metabolik faaliyetleri ve fizyolojisi için yararlı olan, hastalıklardan korunup sağlıklı bir hayata sahip olmada etkili gıdalar veya gıda bileşenleridir. Fonksiyonel gıdaların, gelecek yıllarda gıda sanayinin en hızlı gelişim gösteren dalı olacağı düşünülüp dünyada gıda ticaretine yön vereceği öngörülmektedir [2].

10 Mart 2005 tarihinde yapılan Bilimsel Teknoloji Yüksek Kurulu'nun toplantısında "Gıda işleme, yöntem ve süreçlerinin geliştirilmesi ile işlenmiş ürün çeşitliliğinin arttırılması ve hastalıklara karşı direnci arttıran, form koruyucu, metabolik faaliyetleri düzenleyici, tedaviye yardımcı, bağışıklık kazandırıcı vb. özel işlevleri olan fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi" kararları alınarak sağlığı koruyan ve geliştiren gıdaların üretimi ülke öncelikleri arasında gösterilmiştir [3].

Türkiye'deki fonksiyonel gıda pazarına bakıldığında henüz gelişim aşamasında olduğu görülmektedir. Gelişime açık ve hareketli yapısıyla uluslararası şirketler tarafından büyük ilgi görmektedir. Gelecek yıllarda bu pazarın daha da büyüyeceği

öngörülmektedir. Bu konu ile ilgili çalışmaların arttırılması ülkemize ekonomik olarak büyük katkı sağlayacaktır [4], [5].

İçerdikleri zengin besin değerinin yanında vitamin, mineral ve antioksidan içeriği ile Türkiye'de yetişen önemli fonksiyonel gıdaların başında dut ve sumak gelmektedir. Antioksidanlar vücudumuzda mevcut olup bağışıklık sistemini oluşturmasına karşın, yıllar geçtikçe doğal antioksidan üretimi yavaşlamaktadır. Bu sebeple, hastalıklardan korunmak ve nitelikli bir hayata sahip olabilmek için antioksidanlar içeren gıdalar ile beslenmek büyük önem taşımaktadır. Antioksidanlar; diyabet, obezite, katarakt, kardiovasküler hastalıklar ve özellikle bazı kanser türleri, akciğer hastalığı, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi oksidatif stres ile ilgili hastalıkları önleyebildiklerinden, son yıllarda dikkat çeken bir konu olmuştur [6], [7].

1.2 Tezin Amacı

Dut ve sumak, antioksidan kapasitelerinin yüksekliği nedeniyle Türkiye'de yetişen önemli fonksiyonel gıdaların başında gelmektedir. Fakat farklı yörelerde yetişen bu gıdaların özelliklerinin belirlenmesi ve doğru üretim yöntemleri ile tüketiciye sunulması gerekmektedir. Kendi kaynaklarımızdan faydalanabilmemiz ve dünya piyasasına sunabilmemiz için gerekli bilimsel araştırmanın yapılması elzemdir.

Bu tez çalışmasında amaç, ülkemizde farklı bölgelerde yetişen dut ve sumak ürünlerinin fenolik madde miktarlarını ve antioksidan kapasitelerini belirleyerek bu gıdaların insan sağlığına yaptığı katkının bilimsel olarak belirlenmesi ve fonksiyonel gıda pazarında yer almalarını sağlamaktır.

1.3 Hipotez

Gıdaların tedavi edici özelliklerinin bilimsel metotlarla belirlenmesi çok önemlidir. Bu araştırmaların yapılması bu gıdaların bilinçli kullanılması konusunda yol gösterici olacaktır. Daha önce Türkiye'de yapılan çalışmalar detaylı olarak incelendiğinde, ülkemizde fazla miktarda dut ve sumak yetiştirilmesine rağmen yapılan çalışmaların sınırlı olduğu görülmüştür. Bunun yanında antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarı hiç incelenmemiş bölgeler bulunmaktadır.

Bu tez çalışması literatürde yer alan boşluğu doldurarak, farklı bölgelerde yetişen ürünler arasında kıyaslama yapılabilmesine olanak sunmaktadır. Dünyada fonksiyonel gıdalara talebin artışı büyük bir pazar yaratmıştır. Benzer şekilde ülkemizde de yetiştirilen gıdalar arasında fonksiyonel gıdalar mevcuttur. Yapılan tez çalışmasıyla bu gıdalar ile ilgili gerekli bilimsel verilerin elde edilmesi ülkemizi de bu pazara dahil edip ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır.

BÖLÜM 2

FONKSİYONEL GIDALAR

2.1 Fonksiyonel Gıdaların Tarihçesi ve Gelişimi

Tarih boyunca yapılan biyomedikal araştırmalar doğrultusunda; tüketilen gıdaların toplum sağlığında önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır. İlerleyen zamanlarda modern tıp, doğal gıdaların ilaçlar gibi hastalıkları engellediğini ve tedavi ettiğini göstermiştir. Bu gelişmeler ile birlikte ‘’fonksiyonel gıdalar’’ kavramı ortaya çıkmıştır [8].

Japon Hükümeti, 1980’li yılların başında üç geniş içerikli proje desteklemişir. Bu projeler; fonksiyonel gıdaların moleküler tasarımı ve analizi, gıda fonksiyonlarının sistematik analizi ve geliştirilmesi, gıdanın fizyolojik düzenleme fonksiyonunun analizi şeklindedir.

Alerjik bileşenlerin gıdadan çıkarılmasıyla, bileşen içeriği sebebiyle veya sağlığa pozitif etkileri olan gıdaları adlandırmada, FOSHU (Japanese Foods for Specified Health Use – Gıdanın Sağlıklı Yaşam İçin Kullanımı) kavramı 1991 yılında kullanılmıştır. FOSHU, bu özelliklere sahip olmayan diyet destekleri ve mineral-vitamin takviye edilmiş gıdalardan özel bir yasal onay sistemi ile ayrılmaktadır. FOSHU onay mühürü Şekil 2.1’ de verilmektedir [9].



Şekil 2.1 FOSHU onay mührü [9]

Peptitler ve proteinler, glukozitler, oligosakkaritler, izoprenoitler, kolinler, diyetle alınan lifler, şeker alkolleri, vitaminler, mineraller, alkoller, laktik asit bakterileri ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi sağlık için yararlı bileşenler fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabilir. Lifli gıdalar, piyasada bulunan ilk ticari fonksiyonel gıda bileşenleridir. Lif içeriği yüksek içeceklere olan alakanın 1980'li yılların sonlarında artması dünyada fonksiyonel gıda pazarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. İlk fonksiyonel gıda Fibe-Mini isminde yumuşak bir içecektir ve 1988 yılında Japonya'da üretilmiştir. Mide-bağırsak düzenleyicisi olarak satılan bu içeceğin içerisinde suda çözünebilen polidekstroz bulunmaktadır [10].

2.2 Fonksiyonel Gıdaların Tanımı

1980'li yılların başında ilk olarak Japonya'da özel tasarlanmış fizyolojik etkili gıdalar (FOSHU) olarak; besleyici olması ile birlikte kişinin, fiziksel performansı, sağlığı ve ruhsal durumu üzerine faydaları olan gıdalar olarak tanımlanan fonksiyonel gıda terimi, 1988 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Birliği (FDA) tarafından;

- Kanserlere ve koroner kalp hastalıklarına: düşük oranlarda yağ, doymuş yağ ve kolesterol içeren gıdaların, meyvelerin ve sebzelerin, lif içeren hububat ürünlerinin,
- Doğumsal bel açıklığına (NTD): folik asidin,
- Diş çürüklerine: şeker alkollerinin,

- Osteoporoza: kalsiyumun,
- Yüksek tansiyona: düşük sodyum içeriğinin,

olumlu etkilerinin olduğunu kabul ettiği duyrulmuştur.

Türk Gıda Kanunu (5179) ise "besleyici etkilerinin yanı sıra bir ya da daha fazla etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyucu, düzeltici ve/veya hastalık riskini azaltıcı etkiye sahip olup, bu etkileri bilimsel ve klinik olarak ispatlanmış gıdalar" olarak fonksiyonel gıdaların tanımını yapmaktadır.

Zararlı bir bileşiği çıkartılan gıdalar (sodyumu azaltılmış tuz), doğal bir gıda (domates-likopen) veya fonksiyonel etken eklenen gıdalar (iyotlu tuz, omega-3 yağ asitli yumurta) fonksiyonel gıda olabilir.

Fonksiyonel gıdalar; gıdanın içeriğinde bulunan bazı bileşikler değiştirilerek (yoğurt-protein-biyoaktif peptit), gıdanın kullanılma oranı arttırılarak (işlenmiş domates-likopen) ve bu yöntemler birlikte değerlendirilerek üretilmektedir [11].

Gıdalara eklenerek onlara fonksiyonel özellik kazandırabilen maddeler; çoklu doymamış yağ asitleri, sülfür içeren bileşenler, besinsel lifler, oligosakkaritler, probiyotikler, vitaminler, fitoöstrojenler, fenolik maddeler, antioksidanlar ve bitki sterolleri şeklinde sıralanabilir [12].

2.3 Fonksiyonel Gıdaların Özellikleri

Son yıllarda tüketiciler bilinçli hale gelerek, gıdaları besin olarak kullanmanın yanında onların sağlığa da yararlı etkilerde bulunmalarını istemektedirler. Tüketicilerin yeni ürünlerden istekleri sonucunda fonksiyonel gıdalar, gıda endüstrisinin en hızlı gelişim gösteren dallarından biri haline gelmiştir.

Fonksiyonel besinler, vücudun ihtiyaç duyduğu besin unsurlarını içermesi ile birlikte insan metabolik faaliyetleri ve fizyolojisi için yararlı olan, hastalıklardan korunup sağlıklı bir hayata sahip olmada etkili gıdalar veya gıda bileşenleridir [13].

1991’ de doğrulanan Sağlıklı Gıda Tüzüğü’ ne (Foods for Specified Health Use-FOSHU) göre, 300’den fazla ürün Japonya’da fonksiyonel gıda izni almıştır. FOSHU izni

alabilmek için ürünlerin sahip olması gereken özellikler vardır. Bu özellikler aşağıda açıklanmıştır.

1. Beslenme niteliğinin arttırılmasına, sağlığın korunmasına ve devamlılığının sağlamasına ürünün yardımcı olması gerekmektedir.
2. Tıbbi veya beslenme bilimi açısından ürün ve bileşenlerin, sağlık üzerinde meydana getirdiği faydalar sağlam temellere dayandırılmalıdır.
3. Ürün veya bileşenlerin günlük tüketilmesi gereken miktarları belirlenerek, tıp ve beslenme bilgilerine dayandırılmalıdır.
4. Ürün ve bileşenlerin güvenle tüketilebileceği, bilimsel veriler ve deneyimler yardımı ile kanıtlanmış olmalıdır.
5. Bileşenin, nicel ve nitel analitik belirleme metotları ile fizikokimyasal özellikleri iyi belirlenmelidir.
6. Ürünün bileşimi, benzer özellikteki gıdaların normal şartlarda içerdiği besin madde içerikleri açısından farklılık göstermemelidir.
7. Ürün, günlük diyetlerde fazla tüketilen bir gıda olmalıdır.
8. Ürün doğal olarak kullanılabileceği gıda biçiminde olmalıdır.
9. Ürün veya bileşenler, tıpta kullanılan ilaç veya etken madde olmamalıdır.

Günlük olarak alınan kapsül, tablet veya toz biçiminda olmayan fonksiyonel gıdalar;

- ✓ Gebelik ve emzirme boyunca büyüme ve gelişmenin düzenlenmesine yardımcı olur (sinir ve bağışıklık sisteminin geliştirir).
- ✓ Temel metabolik faaliyetleri düzenlemeye katkı sağlar (şeker hastalığını ve obeziteyi önler).
- ✓ Antioksidan savunma sisteminin oksidatif strese karşı desteklenmesini sağlar (kanser, kalp, katarakt, Parkinson ve Alzeimer gibi hastalıkları engelleyerek, yaşlanmayı geciktirir).
- ✓ Kan basıncını ve kolesterolü düşürerek kalp-damar hastalıklarını önler.
- ✓ Mide-bağırsak fonksiyonlarının düzenlemesine yardımcı olur.
- ✓ Zihinsel ve fiziksel gelişmeye olumlu etkiler sağlar.

Biyolojik aktif bileşenler gıdalara fonksiyonellik özelliğini kazandırır, bitkisel kaynaklı fitokimyasallar ve hayvansal kaynaklı zookimyasallar olarak iki gruba ayrılırlar. Bu bileşenler Çizelge 2.1'de verilmiştir [14].

Çizelge 2.1 Biyolojik aktif bileşenleri içeren gıdalar ve sağlığa etkileri [14]

GIDALAR	BİLEŞEN	ETKİLERİ
KARATENOİDLER		
Birçok meyve ve havuç	Beta-karoten	- Hücresel antioksidan savunma sisteminin desteklenmesini zararlı serbest radikalleri temizleyerek sağlar
Yumurta, lahana, ıspanak, mısır ve turunçgiller	Lutein	-Görme işlevine olumlu katkılar sağlar
Domatesler ve domates içeren ürünler	Likopen	-Prostat sağlığını korumada etkilidir
DİYET LİFİ		
Yulaf unu, yulaf kepeği	Beta glukan	-Koroner kalp hastalık riskini azaltmaya yardımcı olur
Buğday kepeği	Çözünmez lifler	-Sindirim sisteminin sağlığına katkı sağlar
Psilliyum tohum kabuğu	Çözünür lifler	-Koroner kalp hastalık riskini azaltmada etkilidir
Tüm tahıllar	Tahıl	-Kanser ve koroner kalp hastalık riskini azaltmada ve kan glikoz düzeyini korumada yararlıdır
YAĞ ASİTLERİ		
Fındık	Tekli doymamış yağ asitleri	-Koroner kalp hastalık riskini azaltmada etkilidir
Keten tohumu ve ceviz	Omega 3 yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri	-Zihin ve görme fonksiyonunun etkili çalışmasına katkı sağlar
FLAVONOİDLER		
Kırmızı üzüm, çilek ve kiraz	Antosiyaninler	- Antioksidan savunma sistemini destekler ve beyin fonksiyonlarının çalışmasını iyileştirir
Elma, üzüm, çay, kakao ve çikolata	Flavonol, kateşin	-Kalp sağlığı korumada etkilidir
Turunçgiller	Flavon	- Hücresel antioksidan savunma sisteminin desteklenmesini zararlı serbest radikalleri temizleyerek sağlar
Brokoli, soğan, elma ve çay	Flavonol	- Hücresel antioksidan savunma sisteminin desteklenmesini zararlı serbest radikalleri temizleyerek sağlar

Çizelge 2.1 Biyolojik aktif bileşenleri içeren gıdalar ve sağlığa etkileri [14] (devamı)

GIDALAR	BİLEŞEN	ETKİLERİ
Yerfıstığı, tarçın yaban mersini, elma, çilek, üzüm ve kakao	Proantosiyaninler	-Üriner sistem ve kalp sağlığını korumada etkilidir
İZOSİYANATLAR		
Yabani turp, brokoli, karnabahar ve lahana	Sülforafan	- Antioksidan savunma sistemine katkı sağlar
FENOLLER		
Armut, elma, turunçgiller ve bazı sebzeler	Kafeik asit ve ferulik asit	-Hücresel antioksidan savunma sistemini destekleyerek görme fonksiyonuna ve kalp sağlığına olumlu etkiler meydana getirir
BİTKİ STANOLLERİ/STEROLLER		
Buğday, mısır ve soya	Serbest stanoller/steroller	-Koroner kalp hastalık riskini azaltmada etkilidir
POLYOLLER		
Bazı sakızlar	Şeker alkolleri	-Ağız ve diş sağlığını korumaya yardımcı olur
PREBİYOTİKLER		
Tüm tahıllar, soğan, sarımsak, pırasa, bal ve bazı meyveler	Frukto- oligosakkaridler, inulin ve polidekstroz	-Mide-bağırsak sağlığını iyileştirir ve kalsiyum emilimini arttırır
Yoğurt ve diğer süt ürünleri	Laktobasilli	-Mide-bağırsak sağlığını iyileştiri ve bağışıklığı güçlendirir
FİTOÖSTROJENLER		
Soya fasulyesi ve soya içeren gıdalar	İzoflavonlar	-Kemik ve beyin sağlığının, bağışıklık sistemi fonksiyonlarının iyileşmesini sağlar ve kadınlarda menopozal sağlığı korumaya yardımcı olur
Çavdar, keten tohumu ve bazı sebzeler	Lignanlar	-Kalp sağlığına ve bağışıklık sistemi fonksiyonuna olumlu etkiler meydana getirir
SOYA PROTEİNİ		
Soya fasulyesi ve soyalı yiyecekler	Soya proteini	-Koroner kalp hastalık riskini azaltmada etkilidir
SULFİTLER/TİYOLLER		
Sarımsak, soğan, pırasa ve yeşil soğan	Dialil sülfit, alil metill trisülfit	-Kalp sağlığını ve bağışıklık sistemi fonksiyonunu iyileştirir
Turpgillerden sebzeler	Ditiyoller	-Bağışıklık sistemi fonksiyonlarını güçlendirir

BÖLÜM 3

SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

3.1 Serbest Radikaller

İnsan vücudunda meydana gelen metabolik olaylar sırasında veya çevresel ajanlar (pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, toksinler, çözücüler vb.), stres, radyasyon gibi çeşitli dış faktörlerin etkisi ile serbest radikaller meydana gelmektedir [15].

Serbest radikaller; dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunan pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilen atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektronlarını eşleştirmek için başka moleküllerle kolayca tepkimeye giren serbest radikaller düşük molekül ağırlıklı, kısa ömürlü ve kararsız yapılardır. Birçok enzimatik tepkime ve biyolojik fonksiyon için gerekli olan serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümüne yol açmaktadır [16].

Serbest radikaller 3 temel mekanizma ile oluşurlar:

1. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması: Kovalent bağ yapısındaki iki elektronun her birinin kırılma sonrasında ayrı ayrı atomlar üzerinde kalması ile oluşan serbest radikaldir (3.1).

$$X{:}Y \rightarrow X\cdot + Y\cdot \qquad (3.1)$$

3.1 eşitliğinde; X:Y kovalent bağ yapılı bir molekülü, X· ve Y· ise serbest radikalleri göstermektedir.

2. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Radikal olmayan bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalması ile oluşan serbest radikaldir (3.2).

$$X \rightarrow X\cdot + e^{-} \quad (3.2)$$

3.2 eşitliğinde; X radikal olmayan bir molekülü, e^{-} elektronu, $X\cdot$ ise serbest radikali göstermektedir.

3. Normal Bir Moleküle Elektron Transferi: Tek elektron transferi ile radikal olmayan bir molekülün dış orbitalinde ortaklanmamış elektron meydana gelmesi ile oluşan serbest radikaldir (3.3).

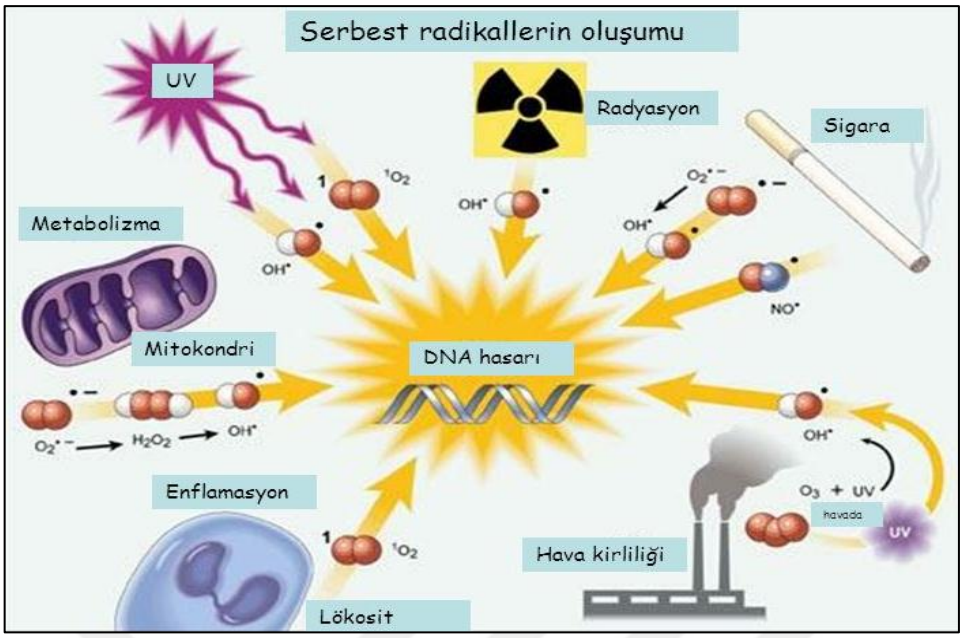
$$X + e^{-} \rightarrow X\cdot \quad (3.3)$$

3.3 eşitliğinde; X radikal olmayan bir molekülü, e^{-} elektronu, $X\cdot$ ise serbest radikali göstermektedir [15].

3.1.1 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikallerin meydana gelmesine neden olan hücre içi kaynaklar; mitokondriyal elektron taşıma zinciri, mikrozomal elektron taşıma zinciri, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron aktarım sistemleri, küçük moleküllerin otooksidasyonu, yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları, peroksizomlar, çözünür enzimler ve proteinler, plazma membranı ve solununum patlamasıdır [16].

Serbest radikallerin meydana gelmesine neden olan hücre dışı kaynaklar ise; hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisitler, sigara dumanı, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, toksik maddeler, aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, alışkanlık yapan maddeler, kinolon grubu antibiyotikler, ısı, ağır egzersiz ve strestir. Serbest radikal kaynakları Şekil 3.1’ de gösterilmektedir [17].



Şekil 3.1 Serbest radikal kaynakları ve DNA hasarı [15]

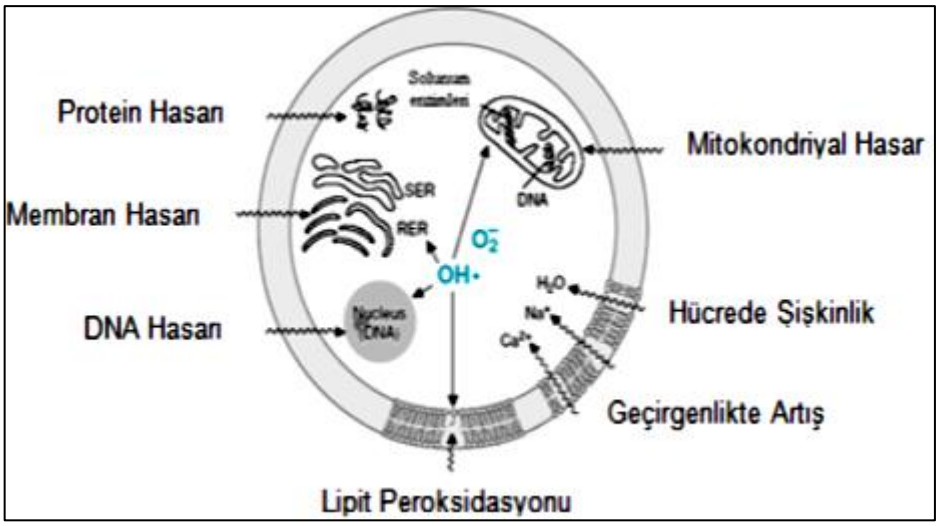
3.1.2 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin hücrede yol açtığı etkiler;

i. DNA hasarı
ii. Nükleotit yapıdaki enzimlerin yıkımı
iii. Protein ve lipitlerle kovalent bağlanma
iv. Karbonhidratlar üzerinde polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle monosakkarit otooksidasyonu
v. Enzim inaktivasyonu
vi. Proteinlerin oksidatif hasara uğraması
vii. Lipit peroksidasyonu
viii. Zar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi
ix. Yaşlılık pigmentlerinin birikimi
x. Kolajen ve elastin gibi uzun ömürlü yapılardaki yükseltgenme ve indirgenme olaylarının bozularak damarlarda aterofibrotik değişikliklerin oluşumu
xi. Zar proteinlerinin hasarı ve taşıma sistemlerinin bozulması

şeklinde sıralanabilir [15] , [18].

Serbest radikalalerin hücrede yol açtığı etkiler Şekil 3.2'de gösterilmektedir [18].



Şekil 3.2 Serbest radikallerin yol açtığı etkiler [18]

Organizmaların enerji ihtiyaçlarını karşılamak için gerekli ve hayati öneme sahip oksijen elementi, aynı zamanda bu organizmalar için toksik, zararlı, mutajenik ve hatta ölümcül olabilir. Oksijen havanın % 21' ini oluşturup, solunum olayı sonucunda mitokontrilerde bulunan elektron taşıma sistemlerinde birtakım enzimsel olaylar ve indirgenme reaksiyonları ile suya çevrilmekte ve zararsız hale getirilmektedir. Ancak bazı durumlarda oksijen suya kadar indirgenmeden ortamdan ayrılır [16].

O_2 molekülü 3.4 eşitliği ile tam indirgenme sonucu;

$$O_2 + 4H^+ + 4e^- \longrightarrow 2H_2O \qquad (3.4)$$

suya dönüşür. Ancak diğer durumlarda;

3.5 eşitliği ile tek elektronlu indirgenme sonucu;

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{-\cdot} \qquad (3.5)$$

süperoksit radikaline veya 3.6 eşitliği ile iki elektronlu indirgenme sonucu;

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O_2 \qquad (3.6)$$

hidrojen peroksite dönüşür. Tam indirgenme ürünü olan su hücre için toksik etki göstermemesine karşın süperoksit radikali, hidroksil radikali ve H_2O_2 hücre için toksik etki gösterirler. Bunlar arasında en toksik özelliğe sahip olanı ise hidroksil radikalidir [17].

Ortamda bulunan moleküler oksijen ile hücrede meydana gelen enzimatik reaksiyonlarda, ara ürünler olarak devamlı şekilde oluşan serbest radikaller etkileşip serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikallerinden;

süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$), hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$), singlet oksijen ($^1O_2$), radikalik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2), serbest radikallerin en önemlileri olup, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) olarak adlandırılırlar. Bunlara ek olarak hücrede azottan oluşan ve isimleri Reaktif Azot Türleri (RNS) olan serbest radikaller de bulunmaktadır. Bu radikallerin listesi Çizelge 3.1'de gösterilmiştir [17], [18], [19].

Çizelge 3.1 Reaktif oksijen ve azot türleri [17]

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	
Radikaller	**Nonradikaller**
Süperoksit, $O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $OH^{\bullet}$	Hipokloröz Asit, HOCl
Peroksil, $RO_2^{\bullet}$	Hipobromöz Asit, HOBr
Alkoksil, $RO^{\bullet}$	Ozon, O_3
Hidroperoksil, $HO_2^{\bullet}$	Singlet Oksijen, $^1O_2$
Reaktif Azot Türleri (RNS)	
Radikaller	**Nonradikaller**
Nitrik oksit, $NO^{\bullet}$	Nitröz asit, HNO_2
Azot dioksit, $NO_2^{\bullet}$	Nitrozil katyonu, NO^+
	Nitroksil anyonu, NO^-
	Diazot tetroksit, N_2O_4
	Diazot trioksit, N_2O_3
	Peroksi nitrit, $ONOO^-$
	Peroksi nitröz asit, ONOOH
	Nitronyum katyonu, NO_2^-
	Alkil peroksinitritler, ROONO

Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir, bu olaya oksidatif denge denir. Organizmada hücresel savunma mekanizması ile ortadan kaldırılandan daha fazla ROT' ların meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır.

ROT'lar organizmada lipitler, nükleik asitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi biyolojik moleküllerle kolaylıkla tepkimeye girebilirler. Bu yüzden yaşlanmaya bağlı maküler hastalıklar ve katarakt, çeşitli kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, felç, hipertansiyon, romatoit artrit ve multiple sklerosis gibi bağışıklık sistemi hastalıkları, diyabet, böbrek ve karaciğer hastalıkları, akciğer hastalıkları (KOAH), alerji, astım, inflamasyon, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi birçok hastalığa yol açarlar [18], [19].

3.2 Antioksidanlar

Canlı vücudunun, ürettiği serbest radikallere (oksidanlara) karşı savunma mekanizması olarak bir enzim sistemi vardır. Bu enzim sisteminin etkinliğini arttıran maddelere antioksidan denir. Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırarak ya da azaltarak, neden oldukları hastalıkları önler veya etkilerini azaltırlar. Vücut hücreleri tarafından üretilen antioksidanlar gıdalarla da alınabilen bir grup kimyasal maddelerdir. Antioksidanlar vücudumuzda bulunmasına ve bağışıklık sistemini oluşturmasına rağmen, doğal antioksidan üretimi yaş ilerledikçe yavaşlamaktadır. Bu nedenle, hastalıklardan korunmanın yanı sıra, daha kaliteli bir yaşam için antioksidanlar yönünden zengin beslenmenin önemi büyüktür [20].

3.2.1 Antioksidanların Etki Mekanizması

Antioksidanlar, oksidatif zincir reaksiyonlarının başlama veya gelişmesini engelleyerek, lipitlerin veya diğer moleküllerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir. Oksidatif zincir reaksiyonlarının; başlamasını önleyen primer antioksidanlar ve gelişimini önleyen ikincil veya koruyucu antioksidanlar, olmak üzere 2 ana grup altında toplanmaktadırlar.

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi
    a) Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki.
    b) Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki.
    c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

a) Toplayıcı etki: ROT'u etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif olan enzim gibi başka bir moleküle çevirme.
b) Bastırıcı etki: ROT ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma.
c) Onarıcı etki.
d) Zincir kırıcı etki: ROT'u ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki.

Zincirleme reaksiyon teorisine göre enerji alımı ile aktive edilen madde, oksijenle birleşerek okside olup aktiflenmiş peroksit moleküllerini meydana getirmektedir. Bu moleküller de enerjilerini maddenin okside olabilen başka moleküllerine aktararak otooksidasyona devam etmektedir. Antioksidan molekülü araya girerek aktivasyon enerjisini kullanıp diğer moleküllere aktarmamakta böylece otookside olabilen maddenin birçok molekülünü okside olmaktan kurtarmaktadır.

Antioksidanın etki mekanizması reaksiyonları 3.7, 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11' de verilmiştir:

$$R\bullet + AH \longrightarrow RH + A\bullet \quad (3.7)$$

$$RO\bullet + AH \longrightarrow ROH + A\bullet \quad (3.8)$$

$$HO\bullet + AH \longrightarrow H_2O + A\bullet \quad (3.9)$$

$$ROO\bullet + AH \longrightarrow ROOH + A\bullet \quad (3.10)$$

$$A\bullet + O \longrightarrow AO \quad (3.11)$$

3.7, 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11 eşitliklerinde; A• antioksidan aktif molekülünü, AH antioksidan molekülünü, A aktif antioksidan molekülünü, AO inaktif antioksidan molekülünü, R • lipit radikalini, RO• alkoksi radikalini, ROO• peroksi radikalini göstermektedir [21], [22].

3.2.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (endojen ve eksojen) olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Bu antioksidanların bazıları düşük molekül ağırlıklı olanlar ile enzimatik kofaktörler gibi enzimleri içerirler. Yaygın enzimatik olmayan antioksidanlar,

birçok besinsel kaynaktan elde edilebilmekte olup besinlerde en yaygın bulunanları polifenol bileşenlerdir, besinlerde bulunan diğer antioksidanlar ise vitaminler, karotenoidler, organosülfür bileşenleri ve mineraller şeklinde sıralanabilir. Şekil 3.3'te antioksidanların ayrıntılı olarak sınıflandırılması verilmiştir [23].

Şekil 3.3 Antioksidan bileşiklerin sınıflandırılması [23]

3.2.2.1 Endojenler (Enzimatik Antioksidanlar)

Hücre içinde çeşitli mekanizmalarla oluşan radikalleri giderme mekanizmasına katkıda bulunan enzimlerdir. Bunların içinde en önemlileri aşağıda açıklanmıştır.

a)Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, 3.12 reaksiyonu ile süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene tek elektronlu ters değişimini katalizler.

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \qquad (3.12)$$

İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan Cu-Zn-SOD ile Mn-SOD olarak adlandırılan SOD'un iki izoenzimi bulunur.

b) Katalaz (CAT)

Her aerobik hücre katalaz enzimini bulundurur. Karaciğer, böbrek, miyokart, çizgili kaslar ve eritrositler bu enzimin en fazla aktivite gösterdiği yerlerdir. % 80 oranında peroksizomlarda ve % 20 oranında sitozolde bulunan bir enzimdir. Katalaz enzimi hidrojen peroksiti, su ve oksijene dönüştürerek etkisiz hale getirir.

SOD sonucu meydana gelen H_2O_2 bir radikal olmamasına rağmen en reaktif tür olan $OH^{\cdot}$ radikalinin öncüsü olduğu için oksidatif hasara neden olabilir. Bu yüzden katalaz, 3.13 reaksiyonu ile hidrojen peroksitin iki elektronunun su ve oksijene ters değişimini katalizleyerek hidrojen peroksit derişimini azaltır.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2 \qquad (3.13)$$

Bunlara ek olarak düşük hidrojen peroksit derişiminde, 3.14 reaksiyonu ile askorbat ve fenol gibi indirgeyici kosubstratları kullanarak peroksidaz olarak davranır.

$$RHXH + H_2O \xrightarrow{CAT} RX + 2H_2O \qquad (3.14)$$

c) Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Selenoenzimler sınıfından olan glutatyon peroksidaz H_2O_2 varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesi ile görevlidir. 3.15 ve 3.16 eşitlikleri sonucunda hidrojen peroksit suya, organik hidroperoksitler ise alkole indirgenirken, glutatyon (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenir.

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O \quad (3.15)$$

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GPx} ROH + H_2O + GSSG \quad (3.16)$$

d) Glutatyon Redüktaz (GR)

3.17 reaksiyonu ile GPx vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder.

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+ \quad (3.17)$$

e) Glutatyon-S-Transferaz (GST)

3.18 reaksiyonu ile araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri başta olmak üzere lipit peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluşturur. Katalitik ve katalitik olmayan birçok fonksiyona sahiptirler. Zehirli etkiyi giderici, hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır [22].

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} ROH + H_2O + GSSG \quad (3.18)$$

3.2.2.2 Eksojenler (Enzimatik Olmayan) Antioksidanlar

Sağlık ve gıda alanlarında son derece önemli olan bu bileşikler; sentetik ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadırlar.

A) Doğal Antioksidanlar

Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar, hemen hemen tüm bitkilerde, mikroorganizmalarda ve bazı hayvansal dokularda bulunurlar.

Doğal antioksidanların çoğu fenolik bileşiklerdir ve en önemlileri arasında bulunan askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidler aşağıda açıklanmıştır.

a) Askorbik Asit (C Vitamini)

Düşük molekül ağırlıklı ve suda çözünebilen bu antioksidan kollajen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin indirgenmiş durumunun korunması için gereklidir. C vitamini, suda çözünen bir vitamin olduğundan idrarla atılır ve vücutta depolanmaz. Bu yüzden her gün dışarıdan alınması gereken vitaminlerdendir.

b) Tokoferoller (E Vitamini)

α, β, γ, δ olmak üzere doğada dört farklı formda bulunur. d-α-tokoferol, biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini şeklidir. Suda çözünmeyen ancak yağda çözünen bu bileşikler oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklıdır. Tokoferoller, eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve indirgeyebilen hidroksil grubu içerir ve radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etkiye sahiptir.

c) Karotenoidler

Bitkisel ve hayvansal dokularda bulunan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Karotenoidlerin bitkilerde; fotosenteze yardımcı olma ile çiçek ve meyvelere rengini verme olmak üzere iki ana fonksiyonu vardır. Karotenoidler oldukça karmaşık yapılı moleküllerdir, sekiz tane beş karbonlu izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşan 40 karbonlu polienlerdir. Doğada karotenoidlerin çoğu antioksidan aktivite göstermektedir.

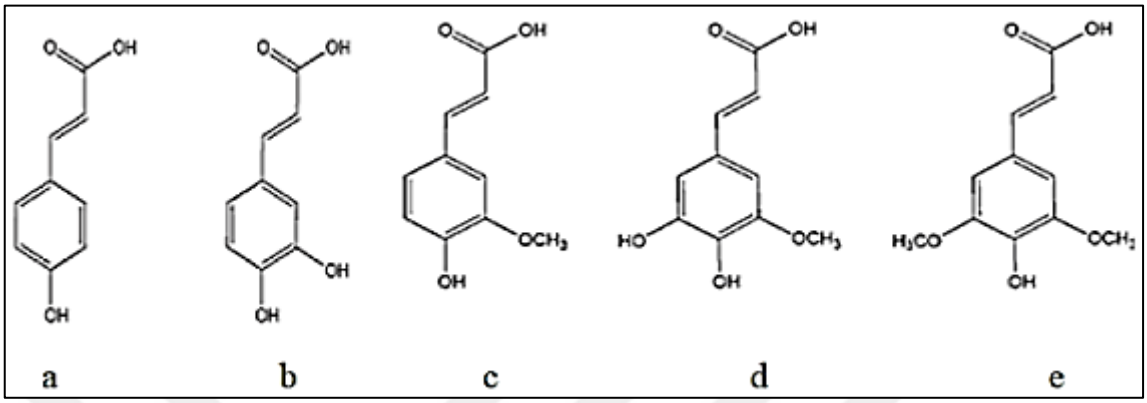
d) Polifenoller

İnsan beslenmesinde ve bitkilerde yer alan en geniş fitokimyasal kategorileri arasında yer alır. Diyetle alınan fenolik bileşikler fenolik asitler, fenolik polimerler (taninler) ve flavonoidleri içerir [24].

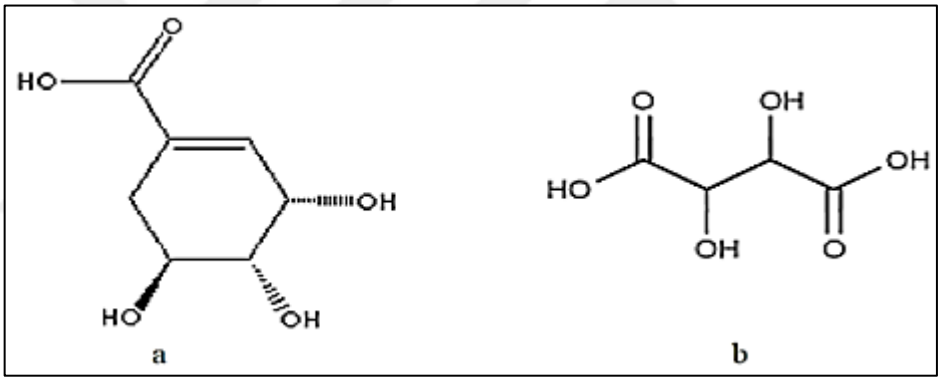
1) Fenolik Asitler: Gıdalardaki fenolik asitler bitkisel yaşamlarda çok önemli bir yere sahiptir. Bu bileşiklerin bitkileri dış etkenlerden koruyucu etkileri vardır. Fenolik asitler; çay, kırmızı şarap, meyve ve çeşitli tıbbi bitkilerde büyük oranda bulunmaktadır. Meyvelerde bulunan; gallik, klorogenik, kafeik, ellajik ve ferulik asit gibi fenolik asitler antimutajenik, antioksidan, antikanserojen ve antitümör etkiye sahiptirler.

Fenolik asitler; sinnamik asitler ve benzoik asitler olmak üzere iki grupta toplanırlar. Bunlardan sinnamik asitler C6-C3 karbon yapısına sahiptirler. Bitkilerde en fazla

bulunan sinnamik asitlere; p-kumarik asit, 5-hidroksiferulik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit örnek verilebilir (Şekil 3.4). Sinnamik asitler, bitkilerde serbest durumda görülmeyip genellikle şeker esteri veya tartarik asit, kuinik asit ve şikimik asitin esterleri halinde bulunurlar (Şekil 3.5).

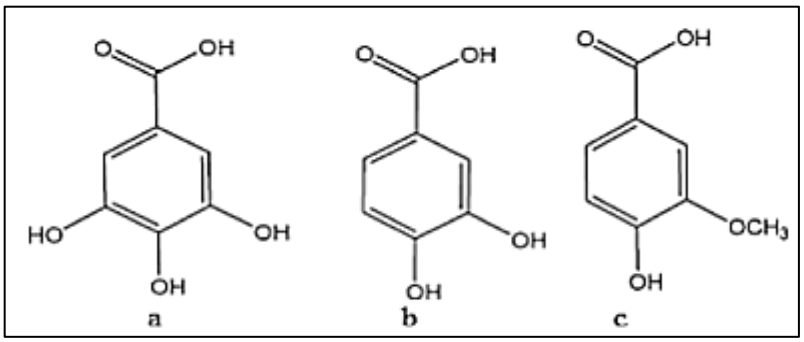


Şekil 3.4 Sinnamik asitler: p-kumarik asit (a) kafeik asit (b) ferulik asit (c) 5-hidroksiferulik asit (d) sinapik asit (e) [25]



Şekil 3.5 Şikimik asit (a) ve tartarik asit (b) [25]

Sinnamik asit türevlerine oranla daha nadir bulunan benzoik asitler ise; renksiz bileşikler olup C6-C1 karbon yapısına sahiptirler. En yaygın olanları p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit, siringik asit ve gallik asittir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Benzoik asitler: Gallik asit (a) Protokateşik asit (b) Vanilik asit (c) [25]

i) Gallik Asit: Hidroksibenzoik asit türevi olan bir fenolik asittir. Hidroksibenzoik asitler C6-C1 yapısında, benzoik asitten türemiş, fonksiyonel karboksilik asite sahip, serbest ve esterleşmiş yapılarda bulunabilen fenolik bileşiklerdir.

Gallik asit bir organik asit olup bitkilerde şikimik asit yolu ile üretilen biyolojik olarak aktif bir bileşiktir. Biyolojik ve kimyasal özellikleri nedeni ile kuvvetli, doğal bir antioksidandır. Beyin fosfolipitlerinde peroksidasyonu indirgediği tespit edilen etkilerinden biridir. Bitkisel gıdalarda, yeşil çayda, şarap ve birada bulunan antikanserojenik bir bileşiktir. Önemli uygulama alanları; farmasotik sanayinde sülfonamidlerle beraber kullanılan antibakteriyel bir ajan olan trimetoprim üretimi, antioksidan bir ajan olarak kullanılan propil gallat gibi gallik asit esterlerinin üretimi, deri, kozmetik ve fotoğraf boyalarında kullanılan pirogallol bileşiklerinin oluşturulması şeklinde sayılabilir.

ii) Ferulik Asit (3-metoksi, 4-hidroksi sinnamik asit): Hidroksisinnamik asit ailesine ait allelopatik bir kimyasal olup, sarı renkli tozdur.

Özellikle tohumlarda ve yapraklarda serbest formda veya lignin ve diğer biyopolimerlere bağlı olarak bulunur. Kahve, elma, yer fıstığı, portakal, ananas, enginar gibi birçok bitkinin yaprak ve tohumlarında, özellikle kahverengi pirinç, buğday ve yulafta bulunur.

Ferulik asit etkili bir serbest radikal süpürücüdür ve lipit peroksidasyonunu engellemek amacı ile gıda katkısı olarak da kullanılmaktadır. Güçlü bir membran antioksidanı olarak etki ettiği ve deri kanseri, yaşlanma, yorgunluk, soğuk algınlığı, grip ve influenzaya karşı koruyucu etkili olduğu bilinen faydaları arasındadır.

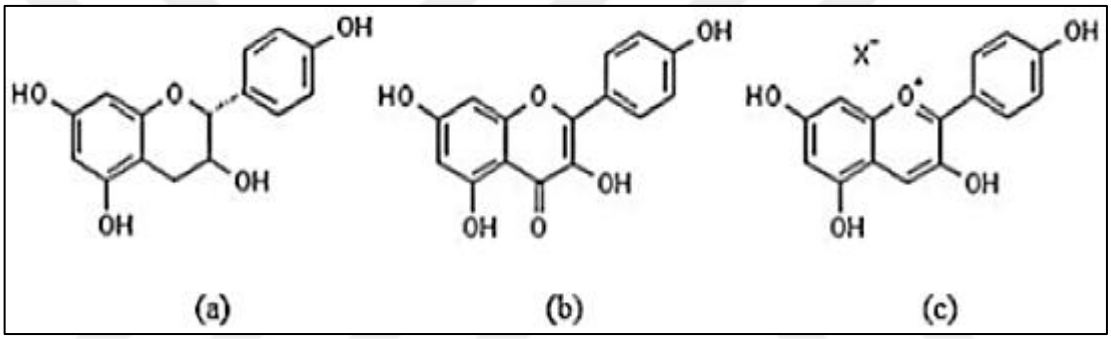
iii) Kafeik Asit (3,4-dihidroksi sinnamik asit): Molekül formülü $C_9H_8O_4$, molekül ağırlığı 180,16 $g.mol^{-1}$, erime noktası 223–225 °C olan sarı kristalize şeklinde bulunan en yaygın sinnamik asit türevidir. Sıcak suda ve alkolde çözünürlüğü oldukça iyidir, doğal bir fenolik asittir, bu nedenle pek çok bitkide bulunmaktadır. Elma, üzüm, erik, yulaf gibi çeşitli meyvelerde bulunur.

iv) p-Kumarik Asit: Molekül formülü $C_9H_8O_3$ olup sinnamik asitten türemiş organik bileşiktir. Orto, para ve meta olmak üzere üç tane izomeri vardır. Yüksek miktarda alındığı zaman toksik etki göstermektedir. Tümör hücrelerini öldürme yeteneğinin

yanında DNA'da oksidatif hasara neden olmaktadır. p-kumarik asit özellikle mide kanserine karşı oldukça yararlıdır [24].

2) Flavonoidler: Bu grup bileşikler; ortak olarak C6-C3-C6 temel yapısında bulunmakta ve suda çözünebilmektedirler. Diğer gruplardan farklı olarak en geniş ve en çeşitli bitki fenolik bileşiklerini kapsamaktadır.

Flavonoidler (Şekil 3.7) büyük çoğunluğu bitkiler tarafından üretilen 4000'den fazla bileşiği içerir. Bu bileşikler bitkinin büyüme ve gelişmesine yardımcı oldukları gibi hastalık etmenlerine karşı savunma sisteminin de bir parçasını oluştururlar. Ayrıca farmokolojik, antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen özellikleri de bulunmaktadır. Önemli flavonollere; kamferol, kuarsetin, rutin, resveratrol, isorhamnetin ve mirisetin örnek verilebilir.



Şekil 3.7 Flavanoidler: flavanol (a) flavonol (b) antosiyanin (c) [25]

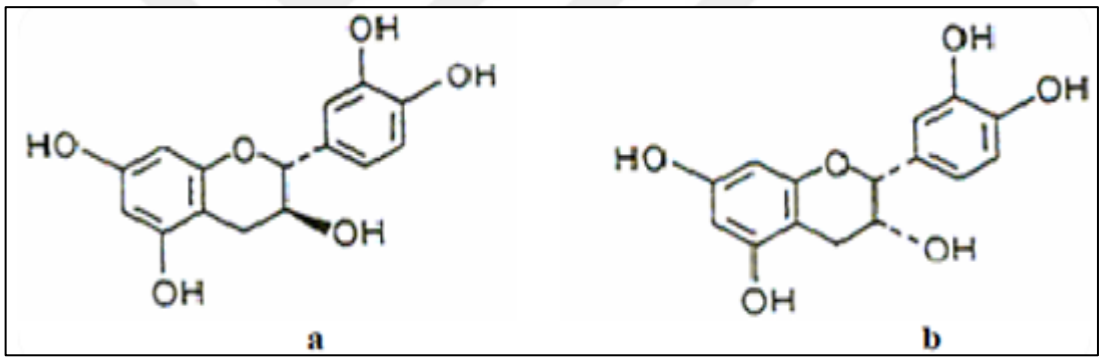
Flavanoller; flavonoidlerin C halkasında bulunan C-4'teki karbonil grubunun bulunmaması halinde oluşur. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir (Şekil 3.8). Flavonların indirgenmiş türevleri ise flavanollerdir. Flavanoller; kateşin, epikateşin ile bunların polimerleri ve glikozla esterformlarını içermektedir.

Antosiyaninler ise flavonoidler içinde yer alan son gruptur, şekerlere glikozit olarak bağlanmış halde bulunurlar. Antosiyaninlerin de kendi içinde siyanidin (kırmızı), paenodin (açık kırmızı), delfinidin (koyu mavi), petunidin (mavi-mor), malvidin (mor) ve pelargonidin (turuncu) olmak üzere farklı renkler içeren çeşitleri vardır.

i) Kateşin: En yaygın olarak bulunan flavonoidlerdir, renksizdirler ve çoğunlukla serbest halde bulunurlar. En sık bulunanları, kateşin, epikateşin, gallokateşin ve epigallokateşindir. Meyve etinin üç katı kadar meyve kabuğunda bulunabilmektedirler. Kateşinler havadaki oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girerler, kimyasal ve enzimatik olarak oligomer ve polimerlere kondense olarak proantosiyanidinleri oluştururlar.

Kateşin; şarap, elma kabuğu ve farklı çay türlerinde, özellikle yeşil çayda bulunan bir polifenoldür. Kateşinler, hidroksil, peroksi, alkoksil ve süperoksit anyon radikallerini toplama ve lipit peroksidasyonu önlemede, ksantin / ksantin oksidaz sistemi ile süperoksit anyon radikali oluşumunu inhibisyona uğratmada etkilidirler. Böylece serbest oksijen radikalleri toplamakla kalmaz, aynı zamanda oluşumlarını engeller.

ii) Epikateşin: Monomerik forma sahip olup, vitamin P olarak da bilinen flavanoidlerin flavanol grubundandır. Yeşil çay, kırmızı şarap, kakao ürünleri ve çeşitli meyvelerde bulunur. Epikateşin, organizmada bağırsaklar yoluyla soğrularak, karaciğere gelir. Karaciğerden, glukuronid, sülfat ve metil konjugatlar şeklinde kana verilir. Konjuge formların antioksidan yeteneğinin, serbest epikateşinin antioksidan yeteneğinden çok daha az olduğu görülür. Konjuge formları, yüksek polariteye sahip olduklarından kandan hızlı bir şekilde safra ve böbreklere taşınıp, vücuttan hızla uzaklaştırılırlar [24], [25].



Şekil 3.8 Kateşin (a) ve Epikateşin (b) [25]

B) Sentetik Antioksidanlar

Gıda sanayinde en yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlara; PG (Propil gallat), BHA (Bütil hidroksianisol), BHT (Bütil hidroksitoluen), TBHQ (Tersiyer bütilhidrokinon) ve NDGA (Nordihidroguairatik asit) örnek verilebilir.

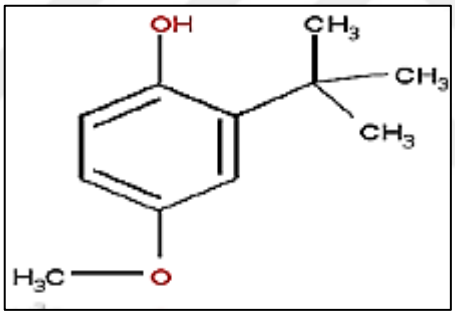
a) BHA (Bütil hidroksianisol)

Ticari olarak 3-tersiyerbütil-4-hidroksianisol (% 85) ile 2-tersiyerbütil-4-hidroksianisol (% 15) izomerlerinin birleşimi halinde bulunmaktadır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 3-tersiyerbütil-4-hidroksianisol ile 2-tersiyerbütil-4-hidroksianisol izomerlerinin kimyasal yapıları ve oranları [22]

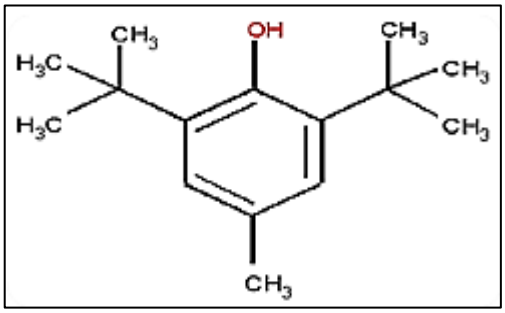
Bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılan, beyaz mumsu katı bir yapıya sahiptir. Suda çözünememesine karşın yağda çözünebilmektedir. Hayvansal yağlardaki antioksidatif etkisi, bitkisel yağlardakine göre daha fazladır. BHA (Şekil 3.10) uçucu yağların renk ve tatlarının korunmasında, özellikle de kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun kontrol edilmesinde etkilidir. Genellikle tahıllarda ve içeriğinde şeker bulunan ürünlerde kullanılmaktadır.



Şekil 3.10 BHA' nın kimyasal yapısı [22]

b) BHT (Bütil hidroksitoluen)

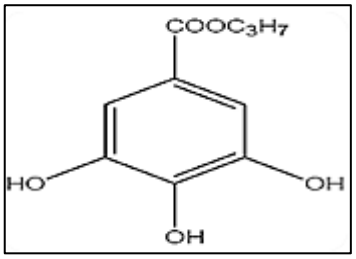
2,6-ditersiyer bütil-4-metil fenol olarak da bilinen beyaz renkli kristaldir. BHT (Şekil 3.11) BHA gibi ısıya oldukça dayanıklı bir antioksidandır. Bu özelliği ile fırında pişirme ve kızartma gibi işlemlerde daha fazla ortamda kalarak gıdaya dayanıklılık kazandırır.



Şekil 3.11 BHT' nin kimyasal yapısı [22]

c) PG (Propil gallat)

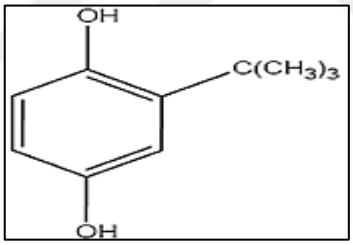
Hayvansal ve bitkisel yaglarda en çok kullanılan sentetik antioksidan olan propil gallat, gallik asitin esteri olarak bilinir ve beyaz renkte katı kristaller halindedir. Sitrik asit, demir ve bakır iyonlarının kataliz ettiği prooksidatif reaksiyonları engelleyebildiğinden, PG (Şekil 3.12) daima sitrik asit ile birlikte kullanılmaktadır [22].



Şekil 3.12 PG'ın kimyasal yapısı [17]

d) TBHQ (Tersiyer bütilhidrokinon)

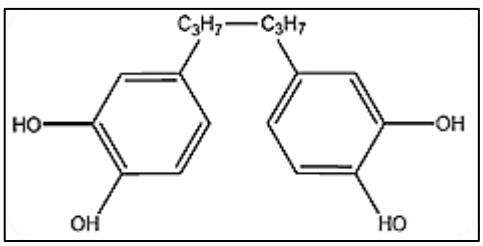
Bitkisel yağlar için çok etkili bir antioksidan olup, beyaz ile açık kahverengi arası renkte kristal yapıdadır. Birçok uygulamada diğer antioksidanlara göre en iyi etkiyi göstermektedir. Tek başına veya BHA ve/veya BHT ile birlikte kullanılabilir. TBHQ (Şekil 3.13) sitrik asit ile birlikte stabilize edici özellik kazanmaktadır [22].



Şekil 3.13 TBHQ' nin kimyasal yapısı [17]

e) NDGA (Nordihidroguairatik asit)

Bir çöl bitkisi olan Larrea divaricata'dan doğal olarak ekstrakte edilebildiği gibi sentetik olarak da elde edilebilen, gri-beyaz kristalimsi bir maddedir. Yağlardaki çözünürlügü sınırlı (% 0.5-1) olup gıdalarda kullanımı ülkemiz de dahil olmak üzere diğer birçok ülkede yasaklanmıştır [15].



Şekil 3.14 NDGA' in kimyasal yapısı [17]

Sentetik oksidanlar gıdalara eklenerek, gıdaların kalitesi korunmakta ve raf ömrü uzamaktadır. Gıdalarda kullanılacak antioksidanların sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Bu özellikler şunlardır:

- İnsan sağlığı için zararsız olmalı,
- Çok küçük miktarlarda kullanılmalı, böylece maliyeti arttırmamalı,
- Gıdanın doğal koku, görünüş ve tadını bozmamalı,
- Koruyacağı madde içinde çözünmeli veya iyice karışmalı,
- Normal üretim sırasında etkisini kaybetmemelidir.

Ancak, son yıllarda elde edilen veriler sentetik antioksidanların toksisite gösterebileceğini, yüksek maliyet gerektirdiğini ve doğal antioksidanlara göre daha az etkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle özellikle besinlerle alınabilecek doğal antioksidanlar ekonomik oluşu ve daha fazla antioksidan aktivite gösterişi ile daha çok tercih edilmektedir.

Ayrıca sentetik antioksidanların karaciğer, akciğer ve bağırsak hasarlarına neden olması ve karsinojenik etkiye sahip olması nedeniyle doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır. Sentetik bileşikler yerine doğal ürünlerin kullanılmasına yönelik ilginin giderek artması bitkiler üzerindeki çalışma sayısının artmasında etkili olmuştur [24].

3.2.3 Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidanlar, oksidatif stres ile ilgili hastalıkları önleyebildiklerinden, son yıllarda çok önemli bir konu haline gelmiştir. Gıdalardaki antioksidanlar karmaşık bir yapıya sahip olduğu için bu bileşiklerin ayrılması, çalışılması pahalı ve zordur. Buna rağmen in vitro koşullarda (laboratuvar ortamında) antioksidan kapasiteyi ölçmeyi amaçlayan birçok metot bulunmaktadır [18].

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

1. Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
2. Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (TET)

HAT-esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantitasyon kinetik eğrilerden türetilir. Bu yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur. TET esaslı

yöntemler ise reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zamanda reaksiyonu takip etmek için prob) ile redoks reaksiyonunu içerir.

HAT reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğu azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi esasına dayanır.

TET esaslı analiz yöntemleri ise, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümü esasına dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimine bağlıdır [26].

Çizelge 3.2'de antioksidan etkinliğinin belirlenmesi amacı ile kullanılan başlıca antioksidan kapasite tayin yöntemleri gösterilmiştir.

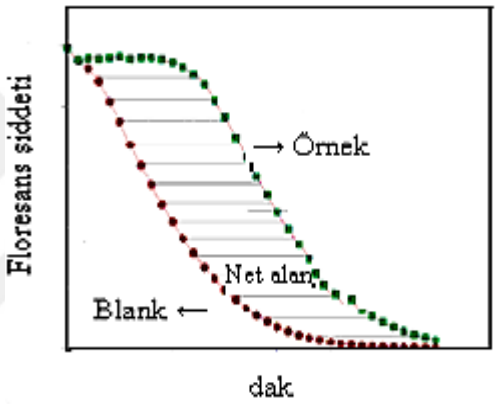
Çizelge 3.2 Başlıca antioksidan kapasite tayin yöntemleri [26]

Hidrojen Atomu Transferi Reaksiyonuna Dayanan Yöntemler (HAT)	-ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) -TRAP (Toplam Radikal Yakalama Antioksidan Parametresi) - TOCS (Toplam Oksidan Yakalama Aktivitesi) - CL (Kemiluminesans) - PCL (Fotokemiluminesans) -Krosin Ağartma Yöntemi - LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu)
Tek Elektron Transferi Reaksiyonlarına Dayanan Yöntemler (TET)	- FRAP (Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Parametresi) -ABTS veya TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) -DPPH (2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Yöntemi -CUPRAC (Bakır (II) İndirgeme Kapasitesi) - Folin Ciocalteu (FC) Metodu

3.2.3.1 ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi)

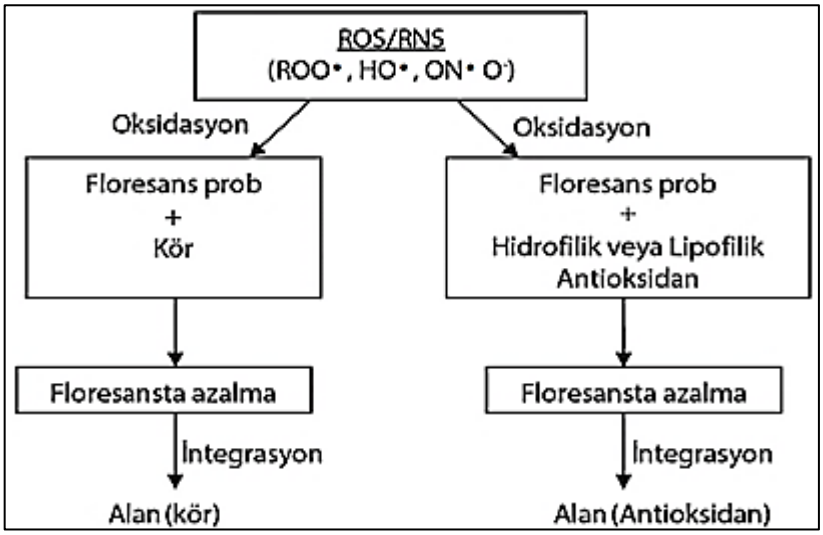
ORAC yönteminde; oksidasyon sonucu oluşan peroksil radikallerinin, antioksidan madde tarafından engellenmesi ölçülür. Klasik radikal zincir kırma reaksiyonlarından oluşur ve hidrojen atomu antioksidan madde tarafından radikale transfer edilir.

Bu yöntemde; peroksil radikalleri floresans bir madde (prob) ile reaksiyon vererek floresans özellikte olmayan bir ürün oluşturur ve floresans spektrofotometre ile miktar tayini yaplır. Zamanla bu oluşan ürünün oranında ve miktarında meydana gelen azalma ile antioksidan kapasitesi belirlenir. ORAC yönteminde antioksidan kapasitesi blank ve örnek arasındaki floresans şiddeti farkı (net alan) ile hesaplanmaktadır. Şekil 3.15'te antioksidan aktivitesinin nasıl hesaplandığı gösterilmiştir [27].



Şekil 3.15 ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması [27]

ORAC metodunun prensibinin şematik gösterimi Şekil 3.16'da verilmektedir.



Şekil 3.16 ORAC metodunun prensibinin şematik gösterimi [28]

ORAC yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: Hidrofilik ve lipofilik ekstrelerin antioksidan kapasitesini ölçebilir. Kolayca otomatikleştirilen bir yöntemdir ve doğru sonuçlar elde edilmektedir.

Dezavantajları: Sıcaklığa duyarlı bir reaksiyon olduğundan küçük sıcaklık farklılıkları tekrar üretilebilirliği azaltmaktadır. Uzun analiz zamanı (~1 saat) önemli bir sorun yaratmaktadır [28].

3.2.3.2 TRAP (Toplam Radikal Yakalama Antioksidan Parametresi)

TRAP metodu; antioksidan maddenin, peroksil radikalleri ile prob madde arasındaki reaksiyona engel olmasına dayanır. Reaksiyon gözlemlenerek bileşenin antioksidan aktivitesi belirlenir. Oksijen kaynağı olarak farklı metotlar kullanılırken, reaksiyon prob maddesi olarak; R-phycoerythin floresansı kullanılabilir. Antioksidan aktivitesi; okside olmuş prob maddenin görülme süresinin uzaması veya reaksiyon yüzdesinin azalması (zamanla antioksidanların tükenmesi) ile belirlenir. Bu yöntem genellikle Troloksa eşdeğer antioksidan aktivitesi süre ile karşılaştırılarak verilir [27].

TRAP yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: Glutatyon, bilirubin, ürik asit ve askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanların aktivitesini ölçtüğünden serum veya plazma gibi biyolojik materyallerde antioksidan kapasite ölçümleri için kullanılır.

Dezavantajları: Yüksek derecede uzmanlık ve deneyim gerektirmesinin yanında karışık ve zaman alıcı bir yöntemdir [28].

3.2.3.3 TOCS (Toplam Oksidan Yakalama Aktivitesi)

TOCS metodu; hidroksil-peroksil ve peroksinitril radikallerine karşı antioksidan reaksiyonunun absorbans ölçümüne dayanır. Antioksidan kapasitesi ise; keto-&-methiobütrik asit (KMBA) substratının okside olarak oluşturduğu etilenin, antioksidan madde tarafından inhibe edilmesi ile ölçülür. Bu yöntemde; kontrol reaksiyonuna karşı antioksidan maddenin etilen oluşumunu inhibe etmesine bakılır [27].

TOCS yöntemi birçok avantaj ve dezavantaja sahiptir. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajlar: TOCS yöntemi, üç oksitleyiciye karşı (hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ve peroksinitrit) antioksidan kapasiteyi ölçmeye imkan sağlamaktadır.

Dezavantajları: Kalite kontrol için birden fazla enjeksiyon gerektirdiğinden yüksek verimli analizler için kolayca uygulanamayan bir yöntemdir. Ayrıca çoklu son nokta parametreleri içerdiğinden gıdalar arasındaki karşılaştırmayı zorlaştırır [29].

3.2.3.4 CL (Kemiluminesans)

CL metodu; radikal oksidanların işaretleyici bileşenlerle reaksiyon vererek uyarılmış duruma geçmesi ve böylelikle kemiluminesans ışığı yayması esasına dayanır. Başlatıcı radikallerle reaksiyona giren herhangi bir molekül ışık oluşumunu engeller. Antioksidan kapasite de ışık emisyonunun zamanla azalmasına dayanılarak ölçülür. Kemiluminesans çok düşük emisyon şiddeti ile karakterize edilebilirken işaretleyici olarak ise en yaygın olarak kullanılan bileşik luminoldür [27].

CL yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: Kemilüminesans reaksiyonları otomasyona uyarlanabilir ve mikro raflar ile çalıştırılabilir. Luminol radikal reaksiyonları incelemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Dezavantajları: Vericinin seçimi çok kritiktir. Bazı antioksidan uygulamalar için tercih edilmemektedir. Emisyonların yoğunluğu önemli ölçüde değiştiği için karışık oksidanlı sistemlerde luminol kullanımı basit değildir [29].

3.2.3.5 PCL (Fotokemiluminesans)

PCL metodu; fotokimyasal süperoksit oluşumunu içerir. CL metoduna kombine edilmiş $O_2^{\cdot -}$ serbest radikallerini içerir. PCL ölçümünde luminal radikaller ve $O_2^{\cdot -}$ olmak üzere mevcut iki temel radikal türü vardır. Serbest radikaller bir CL reaktifi olan luminol ile tespit edilir. Oksijen ise radikal tespiti yanı sıra bir foto hassaslaştırıcı gibi davranır.

PCL yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: PCL yöntemi belirli bir pH değeri veya sıcaklık aralığı ile sınırlı olmayan bir yöntemdir. Süperoksit radikali kullanılarak verilerin elde edilmesini sağlamaktadır.

Dezavantajları: PCL sisteminin planlanması zaman ve maliyet gerektirmektedir. Ölçüm sırasında sadece bir numune ölçülebilir [29].

3.2.3.6 Krosin Ağartma Yöntemi

Krosin ağartma yöntemi; linoleik asitin ısı etkisi ile otooksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitlerin meydana getirdiği bir serbest radikal reaksiyonudur. Linoleik asit, β karoten ve antioksidan kullanılarak ısı ya da ışık etkisi ile oksidasyon veya otooksidasyona uğrayan karotenoidlerin renginde ağarma gözlenir. Karotenodilerdeki bu renk açılması antioksidan maddenin hidrojeninin, radikali yakalaması ile azalabilir ya da önlenebilir [27].

Krosin ağartma yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: Krosin ağartma tekniği, mikroplakalar gibi yüksek işlem hacimli yöntemlere kolaylıkla uyarlanabilir ancak sıcaklık kontrolü kritiktir.

Dezavantajları: Gıda örneklerinde uygulamaları sınırlıdır. Bazı fitokimyasalların reaksiyon hızları krosine benzerdir dolayısıyla inhibe edilmiş ağartma hızları çok küçüktür ve metot antioksidanlardaki konsantrasyon değişimine duyarlı değildir. Krosin 450 nm'de absorbans yapar ve karotenoid gibi pek çok meyve pigmenti ışığı aynı dalgaboyunda absorplar. Her bir örneğe girişimi önlemek için, yalnızca gıda örneği ve bir karışım aynı zamanda denenmelidir. Krosin safrandan ekstrakte edilen bir doğal pigment karışımıdır, çok çeşitlilik ve farklılık gösterir. Bu nedenler metodun güvenirliğini ve kantitatif endüstriyel uygulamalarda kullanımını kısıtlar [28].

3.2.3.7 LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu)

LDL metodu, lionelik asit veya LDL otooksidasyonunu Cu (II) veya azo bir başlatıcı ile yapay olarak azaltılmasını ölçer. Aynı zamanda LDL oksidasyonu uygulamaları ile

fizyolojik sistemlerdeki antioksidan kapasitesi hakkında bilgi edinilebilir. Metodun içerdiği oksidatif reaksiyonlar canlıda görülen oksidatif reaksiyonlarla ilişkilidir [27].

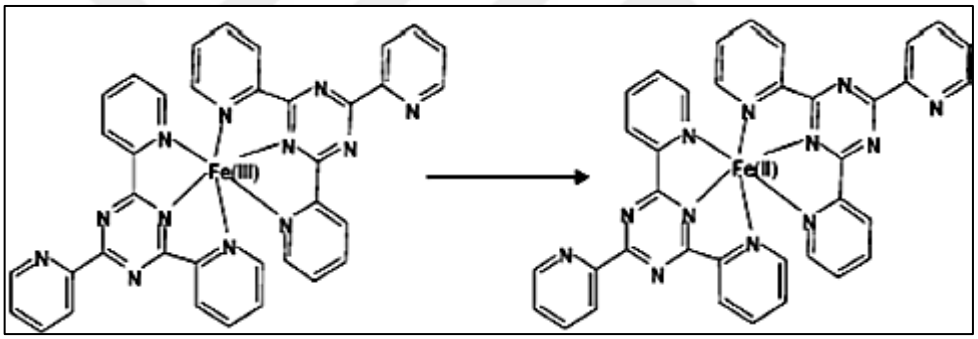
LDL yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: LDL yöntemi ile oksidatif reaksiyonlar ile antioksidan arasında iyi bir ilişki gözlenebilmektedir.

Dezavantajları: LDL yöntemi; düzenli, tekrarlanabilir ve yüksek performanslı bir yöntem değildir [29].

3.2.3.8 FRAP (Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Parametresi)

FRAP metodunda; Fe (III) tripiridiltriazin (TPTZ) kompleksinin antioksidanlar varlığında renkli Fe (II) şelatına indirgenmesinden yararlanılmaktadır (Şekil 3.17).



Şekil 3.17 Fe (III)- TPTZ ve indirgen antioksidan Fe (II) – TPTZ [27]

FRAP sadece ferrik iyonları indirgeyebilen maddeleri ölçmektedir. Reaksiyon süresi yaklaşık 4 dakikadır ancak bazı polifenoller daha yavaş reaksiyon verebilir [27].

FRAP yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

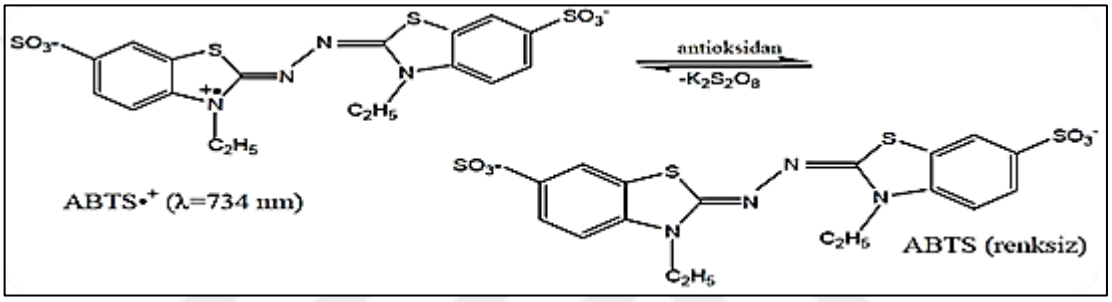
Avantajları: FRAP yönteminin en önemli avantajı; basit, hızlı, ucuz ve sağlam olmasıdır. Hidrofilik ve lipofilik antioksidanların tayini için uygulanabilir. Özel bir ekipman gerektirmez, otomatik, yarı-otomatik ve manuel metotlarla gerçekleştirilebilir.

Dezavantajları: Karışım diğer Fe (III) türlerini içeriyorsa, bu kompleksler antioksidanlarla reaksiyona girebilir ve potansiyel problemler meydana gelir. Glutatyon gibi tiyol antioksidanlarda FRAP yöntemi ile fizyolik olmayan pH'da çalışıldığından bu yöntem ile

ölçülemezler. FRAP sonuçları analizin zaman ölçeğine bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir [28].

3.2.3.9 TEAC veya ABTS Metodu

TEAC veya ABTS metodunda; ABTS [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)] peroksil veya diğer oksidanlara okside olur bunun sonucunda oldukça şiddetli bir renge sahip olan $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu oluşur. Antioksidan kapasite, test bileşeninin $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu ile reaksiyona girmesi ile renk şiddetindeki azalma ölçülerek belirlenir (Şekil 3.18) .



Şekil 3.18 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin persülfatla oksidasyonu [28]

Örneğin absorbansta yaptığı değişim kadar değişim yapan Troloks konsantrasyonu TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri olarak tanımlanmaktadır. $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonundaki azalma eşitlik 3.19'da verilmiştir.

$$\%\ ABTS^{\bullet+}\ \text{azalması} = [(Abs_{başlangıç} - Abs_{son})/ Abs_{başlangıç}] \times 100 \qquad (3.19)$$

3.19 eşitliğinde; $Abs_{başlangıç}$ başlangıç konsantrasyonunu, Abs_{son} ise son konsantrasyonu temsil etmektedir.

415 nm ve 734 nm tarafından $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu ve antioksidan arasındaki reaksiyonu spektrofotometrik olarak gözlemlemek için kullanılmaktadır [27].

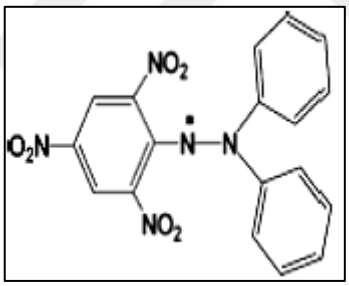
TEAC veya ABTS yöntemi birçok avantaj ve dezavantaja sahiptir. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: Uygulaması kolay bir yöntemdir. ABTS radikali geniş bir pH aralığında kararlıdır böylelikle antioksidan mekanizma üzerine pH etkisini çalışmak için kullanılabilir. ABTS radikali hem sulu hem de organik çözücülerde çözünebildiğinden lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılabilir. TEAC reaksiyonları otomatikleştirilebilir ve mikroplakalara, sürekli akış sistemine uyum sağlayabilir.

Dezavantajları: TEAC reaksiyonunun bitiş noktasına ulaşması uzun bir zaman alabilir, bu yüzden kısa süreli bir bitiş noktasının kullanılması (4-6 dakika), reaksiyon tamamlanmadan önce okuma yapılmasına ve daha düşük TEAC değerleri bulunmasına neden olabilir [28].

3.2.3.10 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Yöntemi

DPPH metodunda; kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH (Şekil 3.19) kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite belirlenir.



Şekil 3.19 DPPH radikalinin kimyasal yapısı [27]

Koyu mor renkte bir radikal olan DPPH'ın, antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır. 515-517 nm'de DPPH'in antioksidan madde ile reaksiyonunun absorbansı ölçülmektedir. DPPH analizinde genellikle belirli miktarda DPPH çözeltisi ve örnek çözeltisi karıştırıldıktan 30 dakika veya absorbans sabit oluncaya kadar geçen süre sonra absorbans okunur. İndirgenme reaksiyonu boyunca çözeltinin rengi solmaya devam eder. Kalan DPPH'in hesaplanması eşitlik 3.20'de verilmiştir.

$$\% \text{ DPPH kalan} = 100 \text{ X } [DPPH^{\cdot}]_{kalan} / [DPPH^{\cdot}]_{to} \quad (3.20)$$

3.20 eşitliğinde; $DPPH^{\cdot}_{kalan}$ kalan konsantrasyonu, $DPPH^{\cdot}_{to}$ ise başlangıç konsantrasyonunu temsil etmektedir.

Kalan $DPPH^{\cdot}$ antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır ve başlangıç $DPPH^{\cdot}$ konsantrasyonunun yarıya indiği durumdaki antioksidan konsantrasyonu EC50 olarak tanımlanır. DPPH metodu basit ve hızlı olduğundan antioksidan aktivitesi belirlemede sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [27].

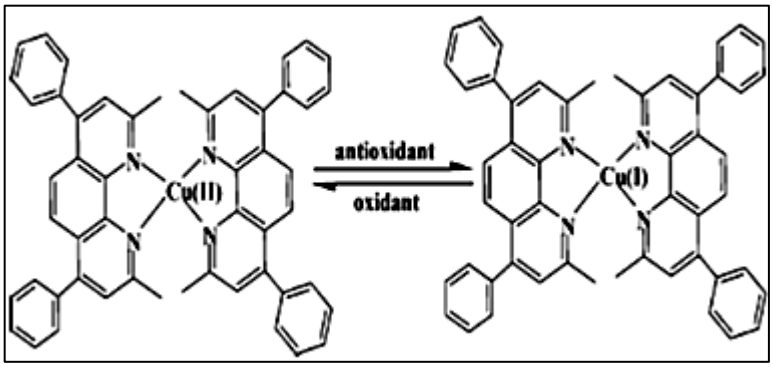
DPPH yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: DPPH; basit ve hızlı bir yöntemdir. Doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Yalnızca UV spektrofotometresine ihtiyaç duyar. Çok sayıda örneğin analizine mikroplaka kullanılarak yapılabilme imkanı sunar.

Dezavantajları: DPPH yalnızca organik ortamda çözülebilir (özellikle alkol ortamında), sulu ortamda çözünmez bu durum hidrofilik antioksidanların rolünün yorumlanmasında önemli bir sorun yaratmaktadır. Peroksil radikalleriyle hızlı reaksiyon veren çoğu antioksidan DPPH ile yavaş reaksiyona girebilir veya sterik engel nedeniyle DPPH'a karşı inert olabilir [28].

3.2.3.11 CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi)

CUPRAC metodu; antioksidan maddenin Cu (II)'yi Cu (I)'e indirgemesine dayanır (Şekil 3.20).



Şekil 3.20 Cu (II)' nin antioksidan madde ile Cu (I)' e indirgemesi [27]

Neokuproin (2,9-dimetil-1,10- fenantrolin)'in Cu (II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin (Cu (II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır (I) neokuproin [Cu (I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır.

Fenantrolin kompleksleri suda çok düşük çözünürlüğe sahiptirler ve % 95'lik etanol gibi organik çözücülerde çözünüp seyreltilmelidirler. Polifenoller için FRAP değerleri oldukça düşük iken, CUPRAC değerleri TEAC değerleri ile benzerdir [28].

CUPRAC yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: FRAP yönteminde girişime neden olan basit şekerler ve sitrik asit, CUPRAC reaktifi ile okside olmaz. CUPRAC reaktifi, tiyol tipi antioksidanları okside etmek için yeterince hızlıdır ve Cu (II)'nin elektronik yapısı, hızlı kinetiğe imkan vermektedir. Renkli Cu (I)-Nc şelatı veren redoks reaksiyonu, hava, güneş ışığı, nem ve pH gibi parametrelerden etkilenmez.

Dezavantajları: CUPRAC yöntemi kompleks antioksidan karışımında uygun reaksiyon zamanını seçme açısından problem yaratmaktadır. Askorbik asit, ürik asit, gallik asit ve kersetin için birkaç dakika içinde tamamlanırken daha kompleks moleküller için 30-60 dakika gereklidir [28].

3.2.3.12 Folin Ciocalteu (FC) Metodu (Toplam Fenol Metodu)

Gıdaların içinde bulunan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında bilgi edinilmesi açısından önemlidir. FC metodu doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü için kullanılmasının yanında temel mekanizma oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarına dayandığı için antioksidan tayini metotlarından biri olarak kullanılabilir. Genellikle toplam fenol içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında oldukça iyi bir lineer korelasyon görülür.

FCR, fenolik bileşenler ile bazik şartlar altında reaksiyon verirler bu nedenle sodyum karbonat ile pH yaklaşık 10'a ayarlanır. Fenolik protonların disosiyasyonu ile FCR'yi indirgeyebilme özelliğine sahip fenolat anyonu oluşur. Fenolat anyonu ve FCR reaksiyonundan oluşan mavi renkli bileşen fenolik maddenin yapısından bağımsızdır. FC reaktantı ile fenolik maddelerin okside olması sonucu 745-765 nm de gözlenebilen renkli bir ürün oluşur.

FC yönteminin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

Avantajları: FC; basit, duyarlı ve kesinliği yüksek bir yöntemdir.

Dezavantajları: Metodun en önemli dezavantajı, ortamda bulunan proteinleri de ekstrakte etmesidir. Bu nedenle spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca analiz sırasında ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramaktadır [27].

Burada bahsedilen yöntemlerden farklı olarak indirgeme potansiyeli metodu, demir-tiyosiyanat metodu, metal şelatlama aktivitesi, hidrojen peroksit yakalama, hidroksil radikali yakalama, süper oksit anyon yakalama, gibi yöntemlerde mevcuttur.

Antioksidan aktivitesi ölçüm metotlarını standartlaştırmak anlamlı karşılaştırmalar yapabilmek açısından oldukça önemlidir. Standartlaştırılmış bir metot;

1. Potansiyel uygulamalardaki kimyasal olayları önlemelidir.
2. Biyolojik olarak alakalı bir radikal kaynağı içermelidir.
3. Basit ve tekrarlanabilir olmalıdır.
4. Metot belirli bir son nokta ve kimyasal mekanizmaya sahip olmalıdır.
5. Enstrümanlar kolaylıkla temin edilebilmelidir.
6. Metot farklı radikal kaynağı kullanılarak lipofilik ve hidrofilik antioksidanlara uyarlanabilmelidir [27].

BÖLÜM 4

TÜRKİYE'DE YETİŞEN FONKSİYONEL GIDALARDAN SUMAK VE DUT

Türkiye coğrafi konumu, iklimi, tarımsal potansiyeli, geniş yüzölçümü gibi özelliklerinden dolayı fonksiyonel gıda yetiştiriciliğine oldukça elverişli bir yapıya sahip olup, bitkisel ilaç, bitki kimyasalları, gıda ve katkı maddeleri, kozmetik ve parfümeri gibi pek çok sanayi dalında hammadde olarak kullanılan zengin bir çeşitliliğe sahiptir. Türkiye'de fonksiyonel gıdalar yoğun olarak Ege, Marmara, Akdeniz, Doğu Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde yetişmektedir [30].

Ülkemizde yetişen fonksiyonel gıdalar; nar, susam, likapa (yaban mersini), kırmızı pancar kökü, kızılcık, üryani eriği (ala erik), keçiboynuzu, dut ve sumak şeklinde sıralanabilir [31].

Bu fonksiyonel gıdalardan sumak ve dut; yüksek besin değerlerinin yanında içerdikleri çeşitli vitamin, mineraller, fenolik bileşenler ve antioksidan kapasitesi ile çalışmada kullanılmak üzere tercih edilmiştir.

4.1 Sumak (Rhus coriaria, Sumach, Sumac)

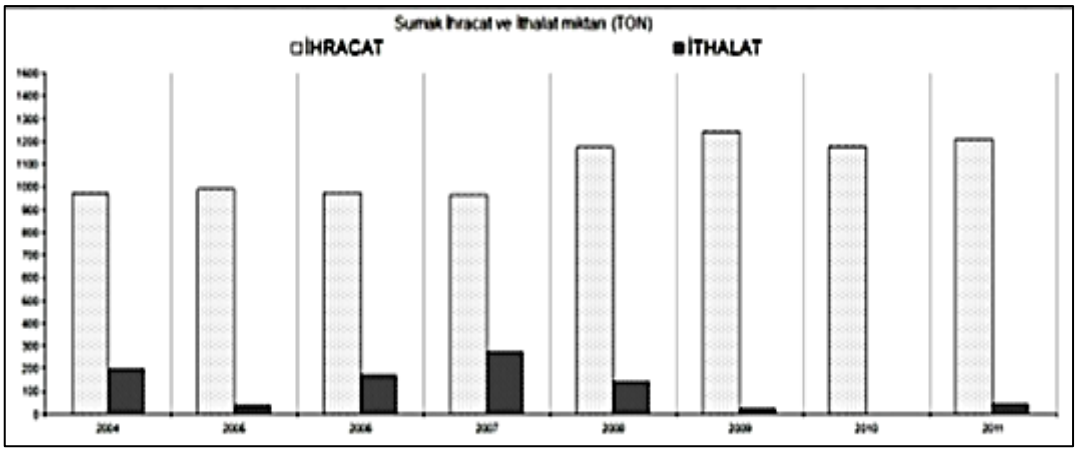
Sumak (Rhus coriaria L.), Anacardiaceae familyasından Rhus cinsi, 150 civarında türü ile dünyanın değişik bölgelerinde yetişmekte olup, Türkiye'de R. coriaria cinsi yaygın olarak bulunmaktadır [32]. Sumak, besin değerleri ve bileşenleri açısından tam bir

fonksiyonel gıda olan çok değerli bir baharattır (Şekil 4.1). Sumağın dünyada çok fazla bilinmemesinin nedeni İslam dünyasında yetiştirilmesi ve işlenmesidir [31].



Şekil 4.1 Sumak baharatı [31]

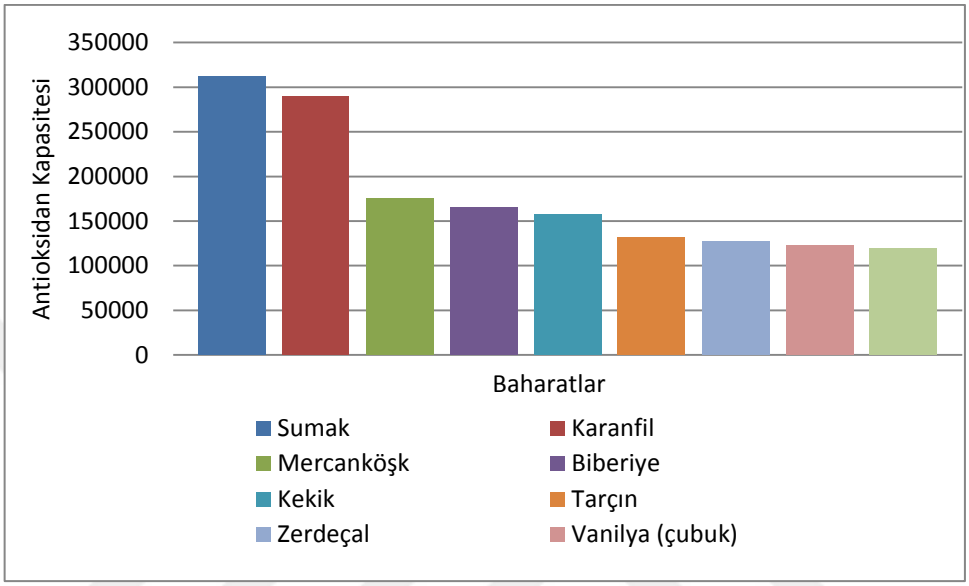
Sumak; ülkemizde, Akdeniz ülkelerinde ve Ortadoğu'da yaygın olmakta olup, ülkemizde yabani ortamda yetişen, ihracatını yaptığımız baharatların en değerlilerindendir. Sumağın sekiz yıllık ihracat toplamı 8,712 ton olup elde edilen gelir tutarı 12,588 bin dolardır (Şekil 4.2). İsrail, Ürdün, Lübnan gibi Ortadoğu ülkelerinin yanı sıra ABD, Belçika ve Almanya başlıca ithalatçı ülkeler arasında yer almaktadır. 884 ton dış alımı yapılan sumak için 396000 dolar gelir elde edilmiştir [33].



Şekil 4.2 Sumağın ithalat ve ihracat miktarı [33]

Sumak ihracat miktarı yıllar itibari ile sürekli bir artış göstermiştir. İthalat miktarı ise yurtiçindeki talebe göre bazı yıllarda artarken bazı yıllarda ise azalmıştır [33]. Ülkemizde sumak genellikle; Çanakkale, Hakkari, Hatay, İskenderun, Kahramanmaraş, Kastamonu, Manisa, Mut, Siirt, Silifke ve Mardin illerinde yetiştirilmektedir [34].

Sumak, baharatlar içerisinde dünyadaki en yüksek antioksidan içeriği ile sağlıklı baharatların en başında yer almaktadır [35]. Sumağın diğer baharatlar ile ORAC metoduna göre antioksidan bakımından karşılaştırılması Şekil 4.3' te gösterilmiştir. Şekil 4.3'e göre bir çay kaşığı sumak günlük antioksidan ihtiyacının 2 kat fazlasını karşılamaktadır.



Şekil 4.3 ORAC yöntemine göre 9 bitki ve baharatın antioksidan kapasitesi [31]

100 g sumağın içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 100 g sumağın içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller [31]

Besin değeri	**Vitaminler**	**Mineraller**
Enerji (349 kalori)	C vitamini	Magnezyum
Karbonhidrat (36,7 g)	Tiamin (B1 vitamini)	Fosfor
Diyet lifi (39,9 g)	Riboflavin (B2 vitamini)	Sodyum
Toplam yağ (12,9 g)	Piridoksin (B6 vitamini)	Demir
Protein (12,3 g)		Potasyum
		Çinko
		Bakır
		Selenyum

Sumağın sağlık üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Ürtiker (kurdeşen), isilik: Ciltte kabarcıklar ve kızarıklıklar olarak görünen kaşıntılı alerjik bir hastalıktır. Yaşam kalitesini oldukça düşüren bu hastalığı önlemektedir.

2. İştah açıcı: Özellikle iştahsız çocuklar üzerinde etkilidir.

3. İshal önleyici: Sumak, özellikle yaz ishallerine karşı oldukça etkilidir. İshal sebebiyle bağırsaklarda yaşayan faydalı bakterilerden bazıları zarar görebilir. Baharatların içinde en fazla diyet lifi içeren baharatlardan biri olan sumak bu lifli yapısı sayesinde bağırsaklardaki probiyotikleri destekler, yeniden çoğalmasına zemin hazırlar.

4. Diyabet: Sumak, kandaki şeker miktarını kontrol etmeye yarayan bitkilerin başında gelmektedir. Yapılan denemelerde sumağın açlık ve tokluk kan şekerini düşürücü etkisi kanıtlanmıştır.

5. Antioksidan aktivite: Sumak, antioksidanlar bakımından çok zengin bir bileşene sahiptir. Bu antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek hücrelere zarar vermelerini önlerler. Yeterli antioksidan alınmaması halinde başta bağışıklık sistemi olmak üzere damarlar ve organlar daha erken yaşlanır. Sumakta bulunan bol miktardaki antioksidanlar başlıca kalp, damar hastalıkları, kolesterol gibi birçok hastalığa karşı vücudu korur.

6. Antimikrobiyal ve antifungal aktivite: Sumak, antimikrobiyal bileşenleri sayesinde mikrobiyal organizmalarla mücadele için kullanılabilir. Antiviral aktivitesinin güçlü olması sayesinde özellikle bulaşıcı kış hastalıklarına karşı koruyuculuğu çok yüksektir.

Sumağın içerisinde bol miktarda bulunan gallik asit güçlü bir antioksidan olmasının yanı sıra antiviral ve antifungal özelliklere sahiptir.

7. Genel sağlık: Sumak, sıkılaştırıcı, idrar söktürücü, kanamayı durdurucu, anne sütü arttırıcı, öksürük, mesane ağrıları, akciğer enfeksiyonu gibi durumlarda kullanılır.

Sumak, 250 türü olan bir bitkidir ve zehirli türleri olduğundan dikkatli alınmalıdır [31].

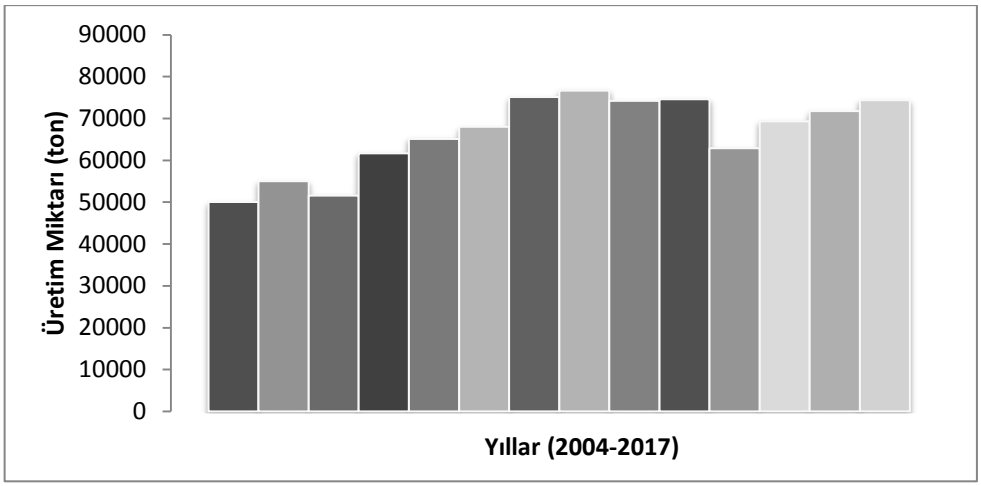
4.2 Dut (Morus alba, Mulberry, Murier, Maulbeere)

Dut, farklı iklim ve toprak şartlarına uyum kabiliyetinin yüksek olması nedeniyle, ılıman, tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir meyve türüdür. Dut, Urticales takımının Moraceae familyasının Morus cinsine girmektedir. Genellikle kireçli-killi ve güney yönündeki topraklarda yetişmekte ve kuraklıktan fazla etkilenmemektedir. Şekil 4.4'te meyvesinden faydalanılan ve yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan dut türleri M. alba, M. nigra, ve M. rubra gösterilmiştir [36]. Dutun, anavatanı Asya olup ülkemizde oldukça fazla kullanım alanı bulunan, besleyici değeri yüksek fonksiyonel bir gıdadır (Şekil 4.4). Pekmezden pestile, kurutulmuş meyveye kadar geniş bir kullanım alanı bulunan dut ülkemizde oldukça fazla yetişen bir bitkidir [31].



Şekil 4.4 Dut meyvesi (a.Morus alba, b. Morus nigra, c.Morus rubra) [37]

Dut ülkemizde; Erzurum, Erzincan, Bayburt, Malatya, Elazığ, Bingöl, Tunceli, Van, Muş, Bitlis, Hakkari, Gaziantep, Adıyaman, Kilis, Şanlıurfa, Diyarbakır Mardin, Batman, Şırnak, Siirt, İstanbul, Tekirdağ, Edirne, Kırklareli, Balıkesir, Çanakkale, İzmir Aydın, Denizli, Muğla, Manisa, Afyon, Kütahya, Uşak, Bursa, Eskişehir, Bilecik Kocaeli, Sakarya, Düzce, Bolu, Yalova, Ankara, Konya, Karaman, Antalya, Isparta, Burdur, Adana, Mersin Hatay, Kahramanmaraş, Osmaniye, Kırıkkale, Aksaray, Niğde, Nevşehir, Kırşehir Kayseri, Sivas, Yozgat, Zonguldak, Kastamonu, Çankırı, Sinop Samsun, Tokat, Çorum, Amasya, Trabzon, Ordu, Giresun, Rize, Artvin, Gümüşhane illerinde yetiştirilmektedir [38]. Yıllara göre ülkemizde üretilen dut miktarı Şekil 4.5'te verilmektedir.



Şekil 4.5 Yıllara göre ülkemizde üretilen dut miktarı [39]

Dut, besin değeri ve yüksek antioksidan içeriği ile gerek iç gerekse dış pazarda önemli potansiyele sahip bir fonksiyonel gıdadır [40].

100 g dutun içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 100 g dutun içerdiği besin değeri, vitamin ve mineraller [31]

Besin değeri	**Vitaminler**	**Mineraller**
Enerji (220 kalori)	C vitamini (146 mg)	Kalsiyum (198 mg)
Karbonhidrat (55 g)	Tiamin (B1 vitamini) (0,12 mg)	Magnezyum (96 mg)
Diyet lifi (8,5 g)	Riboflavin (B2 vitamini) (0,4 mg)	Potasyum (945 mg)
Şeker (40,5 g)	Niasin (B3 vitamini) (2,12 mg)	Demir (8,8 mg)
Toplam yağ (2,2 g)	B6 vitamini (0,25 mg)	Fosfor (187 mg)
Protein (8,2 g)	Folik asit (30 mg)	Çinko (1,2 mg)
	A vitamini (5 mg)	
	E vitamini (2,7 mg)	
	K vitamini (40 mg)	

Dutun sağlık üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Yaşlanma: Dutun içeriğinde lutein, zeaksantine, karoten gibi antioksidanlar bulunmaktadır. Bu antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek yaşlanmayı

yavaşlatmaktadır. Ayrıca kansere karşı koruyup tümör hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını durdurmakta oldukça etkilidirler.

2. Diyabet: Dut içerisinde bol miktarda diyet lifi bulundurması ile diyabet hastaları için önemlidir. Ayrıca dutta bulunan flavonoidlerin diyabetli hastalarda kan şekerinin ani dalgalanmalarını önlediği bilimsel olarak kanıtlanmıştır.

3. Protein ve mineral kaynağı: Dut yüksek miktarda protein içermektedir. Spor sonrası tüketilen 1 porsiyon dut 4 gram protein içerir ve kasları koruyup gelişmesine yardımcı olur. Ayrıca 1 porsiyon kuru dut günlük demir ihtiyacının % 30'unu, kalsiyum ihtiyacının % 10'unu karşılamaktadır. Dut potasyum yönünden de çok zengin bir gıdadır. Potasyum, düzenli kalp ritmi, yüksek tansiyonun önlenmesi, böbrek sağlığı ve kemik sağlığı için çok önemli bir mineraldir.

4. Vitamin deposu: Dut, portakaldan 3 kat daha fazla C vitamini içerir. 1 porsiyon dut, günlük C vitamini ihtiyacını % 60 oranında karşılar. B grubu vitaminler bakımından oldukça zengin bir kaynak olup içerdiği K vitamini sayesinde kemik dokusu gelişimine katkıda bulunur ve kanın pıhtılaşmasını destekleyerek yaraların çabuk kapanmasına yardımcı olur.

5. Saç rengi ve saç sağlığı: Saçlara ve cilde rengini veren melaninlerin azalması durumunda saçlar yaşa bakılmaksızın beyazlamaya başlar. Dut, melanin üretimini arttırarak saçların beyazlamasını yavaşlatabileceği gibi, oluşan beyazların giderilmesine de yardımcı olabilir. Ayrıca dut vitiligo hastalığında, hastalığı yavaşlatıcı etki gösterebilir. Dutun bilişiminde bol miktarda bulunan B grubu vitaminler ve antioksidan maddeler dıştan uygulandığında saçları besler, saç telini kalınlaştırır ve hızlı uzamasını destekler.

6. Beyin sağlığı: Dutun bileşiminde bulunan B grubu vitaminler özellikle unutkanlık için çok etkilidir. Ayrıca, yüksek antioksidan içeriği beyin hücrelerini korur, yaşlılığa bağlı hücre hasarlarını önlediği gibi yeni hücre oluşumunu destekler. Bu özellikler dutu beyin dostu fonksiyonel gıda yapmaktadır.

7. Göz sağlığı: Dut bileşiminde bulunan antioksidanlar görme kaybı ve retina dejenerasyonuna neden olan serbest radikallere karşı savaşarak gözleri korur. Dutun görme kalitesini iyileştirme özelliği de vardır.

8. Bağışıklık sistemi: Dutta makrofajları aktive eden alkoloidler bulunmaktadır. Makrofajlar bağışıklık sistemini uyarmakla görevli beyaz kan hücreleridir. Bu beyaz kan hücreleri, bağışıklık sisteminin sağlıklı çalışmasını sağladığı gibi kanser gibi birçok hastalığa karşı vücudu korur [31].

BÖLÜM 5

LİTERATÜRDE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Baştürk vd., çalışmasına göre 6 bitkisel özün (ısırgan tohumu, keten tohumu, adaçayı, nane, sumak ve kekik) DPPH metodu ile antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Kullanılan bitkiler Manisa'dan temin edilmiştir. Bitki özlerinin antioksidan kapasiteleri 29,8 -231,66 µg/ml değerleri arasında elde edilmiştir. En yüksek antioksidan kapasitesi sumakta (Suriye sumağı 38 µg/ml - Türk sumağı 50 µg/ml) bulunmuştur. Ayrıca sumağın su ekstraktının etanol ekstraktından daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir [41].

Zou vd., bu çalışmada depolama sırasında dut suyundaki fenolik içerikte meydana gelen değişiklikleri incelemeyi amaçlamışlardır. Bu değişiklikler HPLC ile incelenmiştir. Çalışma süresince tortu miktarında artış gözlenmiştir, ekstrakttaki fenolik içerik azalırken tortuya bağlı fenolik içerikte artma gözlenmiştir. Sonuç olarak fenolik bileşiklerin, özellikle antosiyaninlerin, depolama sırasında dut suyundaki çökeltilerin oluşumunda rol oynadıkları belirlenmiştir [42].

Mahmood vd., yaptıkları çalışmada; olgunlaşmanın (olgunlaşmamış, yarı olgunlaşmış, tam olgunlaşmış) ve kurutmanın (taze, ortamda kurutulmuş ve güneş ışığında kurutulmuş) farklı dut çeşitlerinin (beyaz dut, karadut, himalaya dutu) toplam fenolik ve flavonoid içeriğine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, olgunlaşmanın ve kurutma koşullarının fenol ve antioksidan kapasitelerine büyük ölçüde etki ettiği gözlenmiştir. Antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi ile belirlenmiş olup tam olgunlaşmış ve ortamda

kurutulmuş örneklerinin antioksidan kapasitelerinin değeri en yüksek bulunmuştur [43].

Chon vd., çalışmasına göre; dutun farklı bölümlerinin toplam fenolik içerik, fenolik asit, antioksidan aktivitesi ve antiproliferatif özellikleri incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteau metodu, antioksidan kapasitesi DPPH metodu, fenolik asit ise HPLC metodu ile belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı sırası ile dut kökünde (117,7 ± 2,0 mg GAE/g), yapraklarında (71,4 ± 2,4 mg GAE/g), dallarında (49,0 ± 1,5 mg GAE/g) ve meyvesinde (11,2 ± 0,3 mg GAE/g) bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasitesinin orantılı olduğu gözlenmiştir [44].

Meral ve Doğan, yaptıkları çalışmada karadut, ekmek formülüne eklenmiş ve karadutun ekmeğin toplam fenolik madde konsantrasyonu ve antioksidan kapasitesine etkisi incelenmiştir. Fenolik madde konsantrasyonu HPLC metodu ile ölçülmüştür. Antioksidan kapasitesi TEAK ve DPPH metotları ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, karadut ekmeğin toplam fenolik madde konsantrasyonunu arttırmıştır (0,4-0,8 mg GAE /100 g). Ekmeğe ilave edilen karadutun antioksidan kapasitesi üzeride olumlu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (1,1-3,7 µmol Troloks) [45].

Turan vd., tarafından yapılan çalışmada karadut ekstraktının prostat kanseri hücrelerinin büyümesinin engellenmesine etkisi incelenmiştir. Gümüşhane'den temin edilen karadutun dimetil sülfoksit ekstraktının (DEM) antioksidan kapasitesi, fenolik içeriği ve prostat adeno kanser (PC-3) hücreleri üzerindeki stotoksik etkisi (hücre öldürücü) incelenmiştir. Antioksidan kapasitesi FRAP metodu, fenolik içerik HPLC metodu, stotoksik etki ise MTT metodu ile belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda karadut ekstaktının (DEM) fenolik içeriği 20,7 ± 0,3 mg gallik asit, antioksidan kapasitesi 48,8 ± 1,6 mg troloks olarak bulunmuştur. Prostat kanseri hücreleri (PC-3) üzerine stotoksik etki gösterdiği saptanmıştır [46].

Akın vd., çalışmasına göre böğürtlen, karadut ve beyaz dutun şeker, organik asit, C vitamini, fenolik bileşik ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Karadut ve bayaz dutta baskın asit olarak malik asit bulunmuştur. Malik asit ve sitrik asidin en yüksek içeriği böğürtlende bulunmuştur. En yüksek fruktoz içeriği (16,187 g/100 g) ve antioksidan

kapasitesi (4,490 mmol TE/g) karaduttadır. Çalışma sonucunda incelenen meyvelerin fitokimyasal profillerinin, tıbbi endüstriye katkıda bulunabileceği saptanmıştır [47].

Geçer vd., çalışmalarında karadut ve beyaz dut C vitamini, organik asit, şeker, fenolik asit ve antioksidan kapasitesi özelliklerine göre karşılaştırmıştır. Kullanılan dutlar Iğdır'dan temin edilmiştir. Antioksidan kapasitesi TEAC metodu ile belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda; karadutun beyaz duta göre daha yüksek gluktoz ve fruktoz, tartarik asit, malik asit içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Buna karşın beyaz dut karaduta göre daha yüksek sukkinik asit, C vitamini ve gallik asit içeriğine sahiptir. Antioksidan kapasitesi, karadutun (9,1667 ± 0,043 µmol TE/g) beyaz duttan (6,1667 ± 0,030 µmol TE/g) daha yüksek olduğu bulunmuştur [48].

Celep vd., tarafından yapılan çalışmada karadut, yaban mersini ve kiraz şaraplarının antioksidan potansiyelleri ve fenolik içerikleri incelenmiştir. Antioksidan kapasitesi DPPH, H_2O_2 süpürme aktivitesi, CUPRAC ve TOAC metotları ile belirlenmiştir. Fenolik içerik için HPLC-DAD analizi kullanılmıştır. Karadut için fenolik içerik 1,60 ± 0,070 - 1,67 ± 0,090 mg GAE/g ve antioksidan potansiyeli; DPPH (188,19 ± 4,24 – 371,53 ± 9,18 mg BHTE (bütillenmiş hidroksitoluen) /g), H_2O_2 süpürme aktivitesi (41,56 ± 1,34 – 79,28 ± 1,30 mg AAE (askorbik)/g), CUPRAC (81,34 ± 3,57 – 157,34 ± 4,21 mg AAE (askorbik)/g), TOAC (126,31 ± 5,29 – 299,7 ± 7,33 mg AAE (askorbik)/g) şeklinde bulunmuştur [49].

Boranbayeva vd., çalışmasına göre 5 °C, 20 °C, 30 °C ve 40 °C'lerde 8 ay depolanan karadut suyunun antioksidan kapasitesi her ay 2 kez analiz edilmiştir. TEAC ve ABTS metotları kullanılarak incelenen antioksidan kapasitesi başlangıçta 336,24, 337,12, 337,27 ve 336,64 µmol TE/100 ml depolama sonunda 3,099, 3,094, 3,086 ve 3,101 µmol TE/100 ml bulunmuştur. Depolama sürecinde antioksidan kapasitesinde % 4,47 – 33,57 oranında kayıp gözlenmiştir [50].

Güngör ve Şengül, yaptıkları çalışmada beyaz dutun toplam fenolik madde miktarını, antioksidan kapasitesini ve mineral içeriğini incelemiştir. Kullanılan dutlar Çoruh'tan temin edilmiştir. Antioksidan aktivitesi β-karotenin ağartma, toplam fenolik madde miktarı ise Folin-Ciocalteu metotları ile ölçülmüştür. Sonuç olarak, toplam fenolik madde miktarı 18,16 – 19,24 µg GAE/mg değerleri arasında bulunmuştur. Antioksidan

kapasitesi ise örneğin % 33,955 ve % 38,925 değerleri arasındadır. Bu çalışma dutun önemli miktarda fenolik madde ve antioksidan içerdiğini doğrulamaktadır [51].

Sıvacı ve Sökmen, tarafından yapılan çalışmada karadut ve beyaz dutun antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı ve antosiyanin içeriği incelenmiştir. Antioksidan kapasitesi DPPH, toplam fenolik madde miktarı ise Folin-Ciocalteu metotları ile ölçülmüştür. Sonuç olarak, karadutun antoksidan kapasitesi ve antosiyanin içeriği beyaz duttan yüksek olduğu, iki dutun da fenolik bileşenlerinin neredeyse aynı olduğu gözlenmiştir [52].

Sıvacı ve Sökmen, yaptıkları çalışmada mevsim değişikliklerinin karadut ve beyaz dutun antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı ve antosiyanin içeriğine etkisi incelenmiştir. Kullanılan dutlar Malatya'dan temin edilmiştir. Antioksidan kapasitesi DPPH, toplam fenolik madde miktarı ise Folin-Ciocalteu metodu ile Şubat, Mart, Haziran ve Kasım aylarında ölçülmüştür. Antioksidan kapasitesi ve antosiyanin içeriği en düşük Şubat'ta en yüksek ise Kasım'da gözlenmiştir. Karadutun antioksidan kapasitesinin (52,05 µg /ml), beyaz duttan (23,25 µg /ml) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı en düşük Haziranda en yüksek ise Kasımda gözlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarının beyaz dutta kara duta göre daha yüksek olduğu bulunmuştur [53].

Altıok vd., çalışmasına göre kırmızı biber (Capsicum frutescens), kara biber (Piper nigrum), kekik (Thymus vulgaris), nane (Mentha spicata) ve sumak (Rhus coriaria) baharatlarının toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteau metodu ile, antioksidan kapasiteleri ise ABTS metodu ile belirlenmiştir. En yüksek toplam fenol miktarı gallik asit eşdeğeri cinsinden 235,3 mg GA/ g baharat, antioksidan kapasitesi ise troloks eşdeğeri cinsinden 10,5 TEAK olarak sumakta bulunmuştur [54].

Bursal ve Köksal, çalışmalarında sumağın su ve etanol ekstraktının DPPH, FRAP, CUPRAC, metal şelatlama metotları ile antioksidan kapasitesini ayrıca fenolik ve flovonid içeriğini karşılaştırmışlardır. Kullanılan sumak Erzurum'dan temin edilmiştir. Antioksidan kapasitesi DPPH ile 36,4 µg/ml bulunmuştur. Sonuç olarak, su ekstraktının etanol ekstraktına göre daha yüksek antioksidan kapasitesi, fenolik ve flovonoid içeriğine sahip olduğu bulunmuştur [55].

Koşar vd., çalışmasına göre; sumağın metanol ekstraktının DPPH metodu ile antioksidan kapasitesi ve HPLC–MS analizi ile fenolik içeriği incelenmiştir. Kullanılan sumak Eskişehir'den temin edilmiştir. Toplam fenolik içerik 540,65 mg GAE/g, antioksidan kapasitesi 30 µg /ml bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışma, sumağın doğal bir antioksidan olduğunu göstermektedir [56].

Li vd., tarafından yapılan çalışmada karadut ve beyaz dutun sitotoksisite ve oksidatif stres ile uyarılmış etil karbamat (EC)'ın üzerindeki etkisi incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi ABTS ve DPPH metotları ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, karadutun fenolik madde miktarının (6585 mg GAE/kg FW) beyaz duttan (879 mg GAE/kg FW) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Toplam flavonoid içeriği de karadutun (1292 mg QE/kg FW) beyaz duttan (663 mg QE/kg FW) daha yüksektir. Ayrıca antioksidan kapasitesi karadutun (6,43 mg VCE/g FW) beyaz duttan (0,52 mg VCE/g FW) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Çalışmada, karadutun EC- stotoksik etkisine karşı beyaz duttan daha iyi koruma sağladığı gözlenmiştir [57].

Mahmood vd., yaptıkları çalışmada farklı türlerdeki (Morus alba, M. nigra, M. macroura ve M. laevigata) dutların fenolik ve flovonoid içeriklerine, olgunlaşmanın ve kurutmanın etkisini incelemişlerdir. Kullanılan dutlar Pakistan'dan temin edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi DPPH metodu ile belirlenmiştir. En yüksek flovonoid içeriği M. nigra (karadut) da bulunmuştur, bunu M. laevigata, M. alba ve M. macroura takip etmektedir. Antioksidan kapasitesi; meyvelerin olgunlaşma derecelerine göre, olgunlaşmamış (% 31-74), yarı olgunlaşmış (% 43-76), olgunlaşmış (% 49-83) olarak bulunmuştur. M. nigranın antioksidan kapasitesi en yüksektir, bunu M. alba takip etmektedir. Toplam fenolik madde miktarı oda sıcaklığında kurutulan meyvelerde % 5-8 daha fazla ve olgunlaşmış meyvelerde olgunlaşmayanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur [58].

Kim ve Lee, çalışmasına göre farklı ekstraksiyon çözücüleri (etanol, metanol, asidik metanol, asidik etanol) ve sonikasyon sürelerinin (0-60 dakika) beyaz dutun antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarına etkisi incelenmiştir. Kullanılan dutlar Güney Kore'den temin edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi ise DPPH metodu ile belirlenmiştir. Sonuç

olarak, en yüksek toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi 60 dakika sonikasyon süresinde ve asidik metanolün ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldığında gözlenmiştir [59].

Li vd., tarafından yapılan çalışmada dutun fenol, antioksidan ve antiproliferasyon (hücre büyümesini engelleme) aktivitesine farklı çözücülerin (asetik asit-su, metanol-asetik asit-su, etanol-asetik asit-su ve aseton-asetik asit-su) etkisi incelenmiştir. Kullanılan dutlar Grand Island, USA'dan temin edilmiştir. Toplam fenolik made miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi ise DPPH metodu ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, % 4,98 ile etanol-asetik asit-su çözücüsü en yüksek toplam fenolik madde miktarı (49,81 mg GAE/g), aseton-asetik asit-su çözücüsü en yüksek antioksidan kapasitesine (38 μmolQE/100 g) ve hücre büyümesini engelleme (EC50 = 28,2 mg/ml) özelliğine sahiptir. Bu çalışma dutun doğal antioksidan ve antitümör ajanı olarak kullanılabileceğini göstermiştir [60].

Zhang vd., çalışmalarında Rhus chinensis Mill (Çin sumağı)'in farklı çözücülerdeki (% 80 metanol, % 80 etanol, % 80 aseton) ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve pankreatik lipaz inhibitörü aktivitesi incelenmiştir. Kullanılan sumak Kunming, Çin'den temin edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi ise DPPH ve ABTS metodları ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, % 80 etanol (374,27 ± 12,28 GAE/g) ve % 80 aseton (359,62 ± 8.27 GAE/g) % 80 metanolden (278,09 ± 6,11 GAE/g) daha yüksek toplam fenolik madde miktarına sahiptir. Antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarına paralel bulunmuştur ve toksik etkisi daha az olduğu için % 80 etanol daha uygun görülmüştür. Ayrıca Rhus chinensis Mill'in iyi bir inhibitör olduğu gözlenmiştir [61].

Peng vd., yaptıkları çalışmada Rhus hirta L. (Amerikan sumağı)'nın Caco-2 hücreleri üzerindeki antioksidan ve iltihap önleme aktivitesini incelemişlerdir. Antioksidan kapasitesi H_2O_2 süpürme metodu ile ölçülmüştür. Sonuç olarak, sumağın antioksidan kapasitesinin yanında hücreleri koruma ve zararlı maddeleri engelleme özelliğinin bulunduğu gözlenmiştir. Sumağın antioksidan etkisi, içinde bulunan fenollerden kaynaklanmaktadır. Özellikle içerdiği antosiyaninler iltihap önleyici etki göstermektedir.

Sumak gibi fenolik içerik bakımından zengin fonksiyonel yiyecek veya içeceklerin kullanılmasının iltihap önleyici etkisinin olduğu belirlenmiştir [62].

Bashash vd., tarafından yapılan çalışmada R. coriaria L. (İran sumağı)'nın üç çeşidinin (kahverengi sumak meyvesi, kahverengi sumak tozu, kırmızı sumak tozu) antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarı araştırılmıştır. Kullanılan sumak çeşitleri Shahreza, İran'dan temin edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi ise DPPH metodu ile belirlenmiştir. Çözücü sistemi olarak; metanol, etanol, saf su ve metanol-etanol (1:1) karışımı kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı; kahverengi sumak tozu (2,906-2,997 GAE/100 g), kahverengi sumak meyvesi (2,438–2,529 GAE/100 g) ve kırmızı sumak tozu (2,172–2,263 GAE/100 g) bulunmuştur. Sumağın su ekstraktının antioksidan kapasitesinin diğer çözücülere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kahverengi sumak meyvesinin (82,851 ± 1,107) ve kırmızı sumak tozunun (86,709 ± 1,107) antioksidan kapasitesi diğer örneklere göre daha yüksek bulunmuştur [63].

Sernikli tarafından yapılan çalışmada; Gümüşhane' den temin edilen karadutun toplam fenolik madde miktarına ısıl işlemin etkisi belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarını hesaplamada Folin-Ciocalteu metodunu kullanmıştır. Çalışma sonucunda; karadut suyunda ısıl işlem öncesinde toplam fenolik madde miktarı 1430,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Isıl işlem sonucunda toplam fenolik maddedeki kayıplar 70 °C'de % 29,5, 80 °C'de % 49,7, 90 °C'de % 55 ve 95 °C'de % 6,95 oranında bulunmuştur [64].

Özgen vd., çalışmasında karadut ve kırmızı dutun fotokimyasal ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Antioksidan kapasitesini belirlemede TEAC ve FRAP metotları kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarını hesaplamada ise Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda; karadut ve kırmızı dutun toplam fenolik madde miktarı 2737 ve 1603 µg gallik asit bulunmuştur. Antioksidan kapasitesi ise 10,5 ve 12 mmol/l bulunmuştur. Sonuç olarak; karadutun toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesinin kırmızı duttan daha yüksek olduğu gözlenmiştir [65].

BÖLÜM 6

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

6.1 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Hammadeler

6.1.1 Dut-Sumak

Deneysel çalışmalarda Tunceli (Ulukale), Elazığ ve Malatya'dan alınan dut örnekleri kullanılmıştır (Şekil 6.1).



Şekil 6.1 (a) Ulukale, (b) Elazığ, (c) Malatya bölgelerinden alınan dut örnekleri

Deneysel çalışmalarda Mardin (Midyat)'den alınan sumak örneği kullanılmıştır (Şekil 6.2).



Şekil 6.2 Mardin, Midyat'tan alınan sumak örneği

6.1.2 Etil Alkol (C_2H_5OH)

Dut ve sumak örneklerinin ekstraksiyon deneylerinde kullanılan etil alkol (etanol) Merck'ten temin edilmiştir.

6.1.3 Metil Alkol (CH_3OH)

Dut ve sumak örneklerinin ekstraksiyon deneylerinde kullanılan metil alkol (metanol) Merck'ten temin edilmiştir.

6.1.4 DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Dut ve sumak örneklerinin antioksidan kapasitesi tayin yönteminde kullanılan DPPH Sigma'dan temin edilmiştir.

6.1.5 Gallik Asit ($C_7H_6O_5$)

Dut ve sumak örneklerinin fenolik madde miktarını belirlemede Sigma'dan temin edilen gallik asit kullanılmıştır.

6.1.6 Folin-Ciocalteu Ayracı (FCR)

Dut ve sumak örneklerinin fenolik madde miktarını belirlemede Merck marka Folin-Ciocalteu ayracı kullanılmıştır.

6.1.7 Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)

Dut ve sumak örneklerinin fenolik madde miktarını belirlemede kullanılan sodyum karbonat Isolab'tan temin edilmiştir.

6.2 Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik Madde Miktarını Belirlemede Kullanılan Analizler

Dut ve sumak örneklerinin karakterizasyonunda Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) Spektrofotometresi ve LCMS-QTOF cihazları kullanılmıştır.

6.2.1 UV-Vis Analizi

Deneysel çalışmalarda elde edilen dut ve sumak ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde; Perkin Elmer, Lambda 35 marka UV-Vis Spektrofotometre (Şekil 6.3) cihazı kullanılmıştır. Cihazda; antioksidan yüzdesinin belirlenmsei için 517 nm, toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için 765 nm dalga boyları kullanılmıştır.



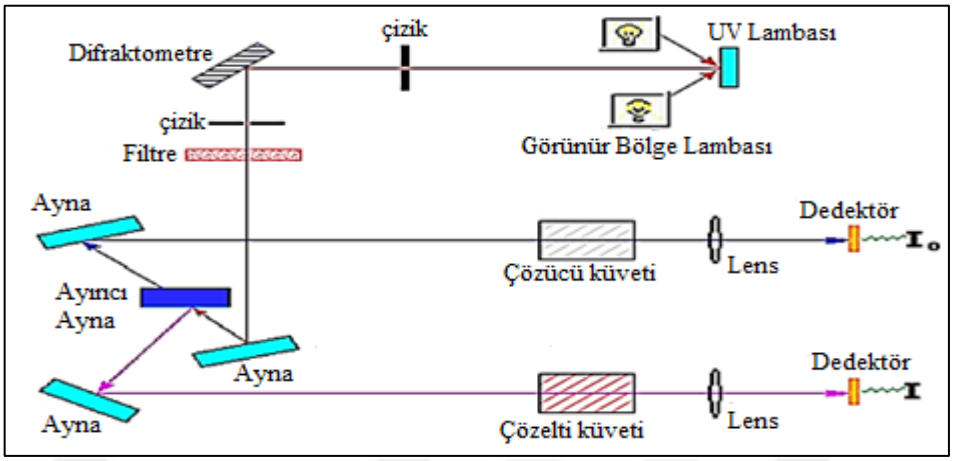
Şekil 6.3 UV-Vis spektrofotometresi

UV-Vis spektrofotometresi; görünür, ultraviyole (UV) ve yakın kızılötesi (NIR) aralıklarda fotonların spektroskopisini içerir. Elektromanyetik spektrumun görünür bölgesinde moleküller elektronik geçişlere uğrar ve bu aralıktaki absorpsiyon, doğrudan kimyasalların rengini etkiler [66].

UV-Vis spektrofotometresi çözeltideki moleküller veya inorganik iyon ve komplekslerin ölçümünde kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu cihaz ile, ışın demetinin bir örnekten geçirildikten veya bir örnek yüzeyinden yansıtıldıktan sonraki azalması ölçülmektedir. Işığın şiddetinin azalması absorplamanın arttığını gösterir. Belirli bir dalgaboyundaki absorpsiyonu ölçülerek, örneğin derişimi bulunur [67].

Spektrofotometre hem UV (200-400 nm) hemde görünür (400-800 nm) bölgede çalıştığından iki farklı ışık kaynağı kullanılmaktadır. İlk olarak ışıkdemetleri bir prizmadan geçirilerek içerdiği dalga boylarına ayrılır ve her bir monokromatik (tek dalgaboyu) ışın bir ayna ile eşit iki parçaya ayrılır. Daha sonra bu demetlerden biri sadece çözücü içeren küvetten (kör) geçirilir. Diğer demet ise eşdeğer küvette, aynı çözücüde örnek madde ile oluşturulmuş çözeltiden geçirilir, böylece küvet ve çözücüden gelen etkileşmeler fark alarak ortadan kaldırılır ve sadece numunenin

etkileşimleri ortaya çıkarılmaktadır. Şekil 6.4'te UV-Vis spektrofotometresinin çalışma diyagramı verilmiştir [68].



Şekil 6.4 UV-Vis spektrofotometresinin çalışma diyagramı [68]

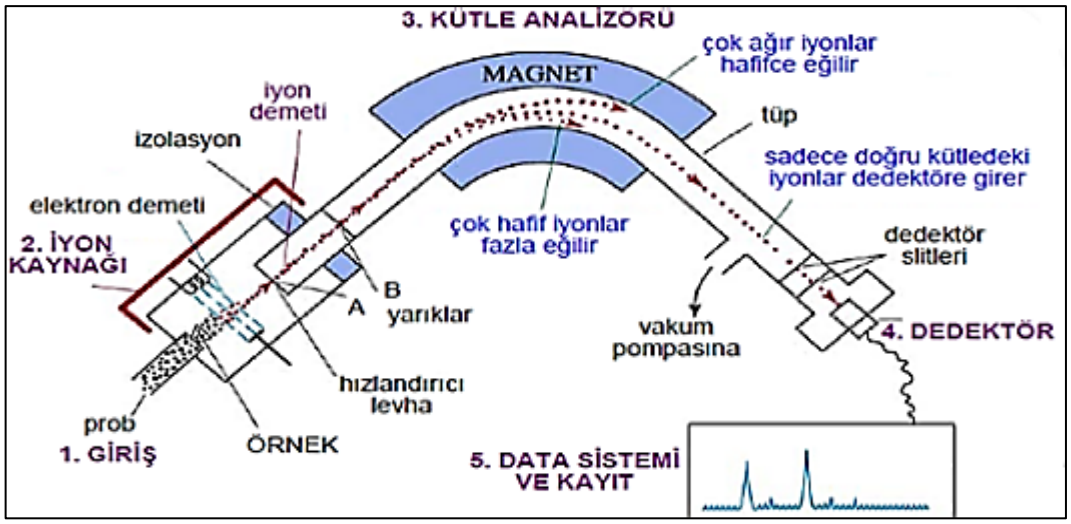
6.2.2 LCMS – QTOF

Deneysel çalışmalarda elde edilen dut ve sumak ekstraktlarının fenolik madde miktarının (gallik asit) belirlenmesinde; Agilent 6530, marka LCMS-QTOF cihazı (Şekil 6.5) kullanılmıştır.



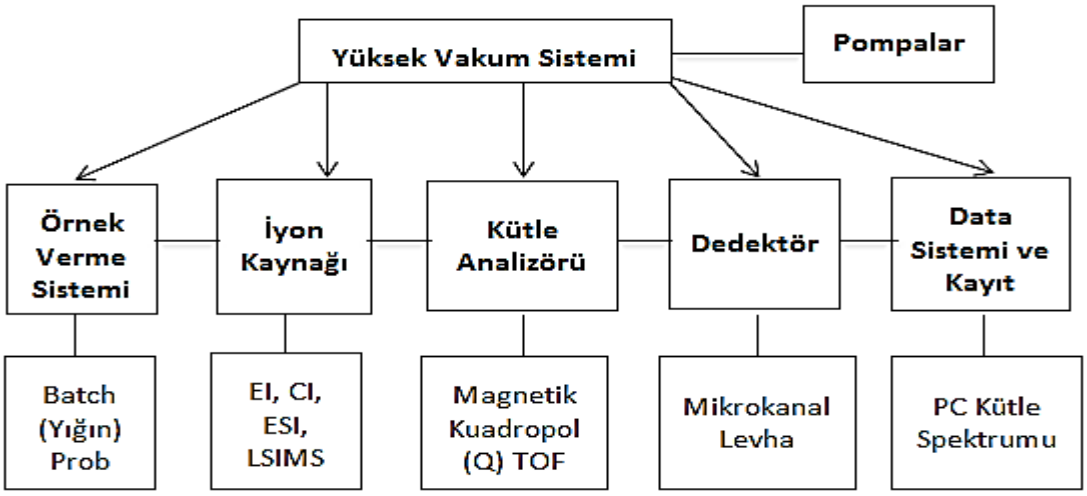
Şekil 6.5 LCMS – QTOF cihazı [69]

QTOF-MS ünitesi bileşimlerin elementel formlarını yüksek seçicilik özelliği ile aydınlatır. Bu yöntem ile pestisitler, karbonhidratlar, ilaçlar, nükleik asitler gibi kompleks yapılar kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilebilir [69]. Kütle spektrumu, örnekteki bileşiklerin kolaylıkla hareket edebilen iyonlara dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilir. Şekil 6.6'da kütle spektrometresinin şematik diyagramı verilmiştir. Bu diyagramda; kütle analizörü, bir optik spektrometresindeki elektromagnetik ışını ayıran prizma görevini yapıp örnekten tanecikleri ayıran bir sistemi oluşturmaktadır.



Şekil 6.6 Kütle spektrometresinin şematik diyagramı [70]

Kütle spektrometresinin optik yöntemlerin çoğundan farklı bir özelliği, dedektöre kadar olan tüm sistemlerin düşük basınç altında bulunmasıdır. Hassas vakum sistemleri ise kütle spektrometrelerinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Kütle spektrometresi blok diyagramı Şekil 6.7'de verilmiştir [70].



Şekil 6.7 Kütle spektrometresi blok diyagramı [70]

6.3 Deneysel Yöntemler

Dut ve sumak örneklerinin antioksidan kapasitelerini ve toplam fenolik madde miktarını belirlemek amacı ile örneklerin ultrasonik ve geleneksel yöntem ile ekstraktları elde edilmiştir. Dut ve sumak numunelerinin ekstraksiyon işleminde; çözücü cinsi, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon türü parametreleri incelenmiştir.

Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için; DPPH radikali giderme yöntemi kullanılarak ekstraktların UV-Vis spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesinde ise; Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak ekstraktların UV-Vis spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçülmüştür.

6.3.1 Dut ve Sumak Örneklerinin Hazırlanması

6.3.1.1 Kurutma

Dut ve sumak örnekleri nemlerinin giderilmesi için Ecocell marka etüv (Şekil 6.8) kullanılarak 50 °C'de 2 saat kurutulmuştur [63].



Şekil 6.8 Etüv

6.3.1.2 Öğütme

Dut ve sumak örneklerinin nemi giderildikten sonra Renas marka RBT-500 tipi öğütücü (Şekil 6.9) ile 25000 devirde 12 dakika öğütülmüştür.



Şekil 6.9 Öğütücü

6.3.2 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi ultrasonik ve geleneksel yöntem olmak üzere iki şekilde yapılmıştır.

6.3.2.1 Ultrasonik Yöntem

Ultrasonik yöntemde, 0,25 g dut ve 2,5 g sumak örneklerinin ekstraksiyon işlemi, 25 ml çözücü (saf su, etanol, metanol) ile Isolab marka ultrasonik banyoda (Şekil 6.10) belirlenen sürelerde (15, 30 ve 60 dk) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.10 Ultrasonik banyo

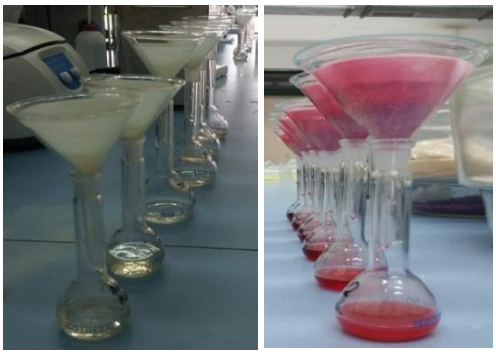
6.3.2.2 Geleneksel Yöntem

Geleneksel yöntemde, 0,25 g dut ve 2,5 g sumak örneklerinin ekstraksiyon işlemi, 25 ml çözücü (saf su, etanol, metanol) ile WiseStir marka manyetik karıştırıcıda (Şekil 6.11) belirlenen sürelerde (15, 30 ve 60 dk) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.11 Manyetik karıştırıcı

Ekstraksiyon işleminden sonra 0,45 µm membran filtre ile süzme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.12).



Şekil 6.12 Süzme işlemi

Süzme işleminden sonra filtre kağıdında kalan katı kısım bir kez daha çözücü eklenerek 2. kez ekstrakte edilmiş ve elde edilen ilk ekstraksiyon filtratına eklenmiştir. Elde edilen filtratlar analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

Dut örneklerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar Çizelge 6.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1 Dut örneklerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)
U1	SAF SU	15
E1		
M1		
U2		30
E2		
M2		
U3		60
E3		
M3		
U4	ETANOL	15
E4		
M4		
U5		30
E5		
M5		
U6		60
E6		
M6		
U7	METANOL	15
E7		
M7		
U8		30
E8		
M8		
U9		60
E9		
M9		

U: Ulukale, E:Elazığ, M:Malatya

Sumak örneklerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar Çizelge 6.2'de verilmiştir.

Çizelge 6.2 Sumak örneklerinin ekstraksiyon işleminde kullanılan deneysel koşullar

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)
SM1	SAF SU	15
SM2		30
SM3		60
SM4	ETANOL	15
SM5		30
SM6		60
SM7	METANOL	15
SM8		30
SM9		60

SM: Sumak Midyat

6.3.3 Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

İlk olarak uygun konsantrasyonlardaki DPPH çözeltileri ile kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. Daha sonra 0,5 ml ekstrakt ve 2 ml 0,1 mmol DPPH çözeltisi karıştırılarak karanlıkta 30 dk bekletilmiştir. UV-Vis cihazı ile 517 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür [61].

6.3.4 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Öncelikle uygun konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. Daha sonra 0,3 ml ekstrakt ve 1,5 ml (1N) Folin Ciocalteu ayracı karıştırılarak 5 dakika bekletilmiştir. 1,2 ml Na_2CO_3 (% 7,5 w/w) eklenmiş ve karanlıkta 90 dk bekletilmiştir. UV-Vis cihazı ile 765 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür [61].

Belirlenen numuneler, gallik asit standart çözeltisi eşliğinde LCMS-QTOF cihazı ile kantitatif analizleri yapılmıştır. Bu analizde mobil faz olarak A (Amonyum format suda pH:3 ve B (% 0,1 Formik asit suda) kullanılmıştır. Program olarak ise; 1. dakikada % 60 A ve % 40 B, 1,01. dakikada % 5 A ve % 95 B, 4. dakikada % 5 A ve % 95 B, 4,01. dakikada % 60 A ve % 40 B, 8. dakikada % 60 A ve % 40 B kullanılmıştır.

BÖLÜM 7

DENEYSEL SONUÇLAR

7.1 Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları

7.1.1 Dut Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları

Belirlenen konsantrasyonlardaki DPPH çözeltileri UV-Vis cihazı ile 517 nm'de ölçülerek absorbans değerleri belirlenmiş ve kalibrasyon doğrusu çizilmiştir (Çizelge 7.1).

Çizelge 7.1 Dut örneğinde DPPH kalibrasyonu için Derişim-Absorbans

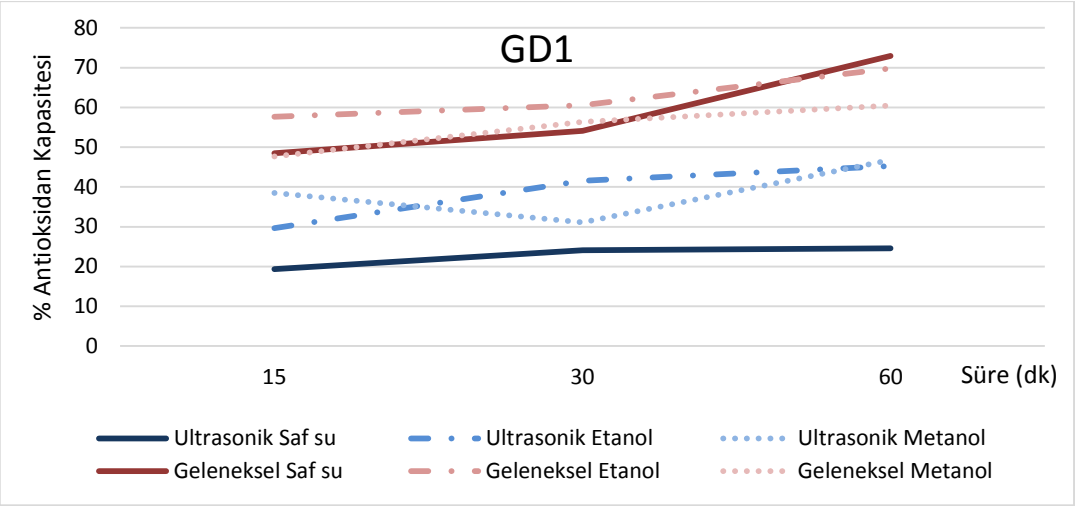
KONSANTRASYON (mg/ml)	ABSORBANS
0,01	0,1304
0,02	0,2087
0,03	0,3260
0,04	0,4114

7.1 eşitliği yardımı ile dut örneğindeki antioksidan kapasitesi değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH kalan} = 100 \text{ X } [DPPH^{\cdot}]_{kalan} / [DPPH^{\cdot}]_{to} \quad (7.1)$$

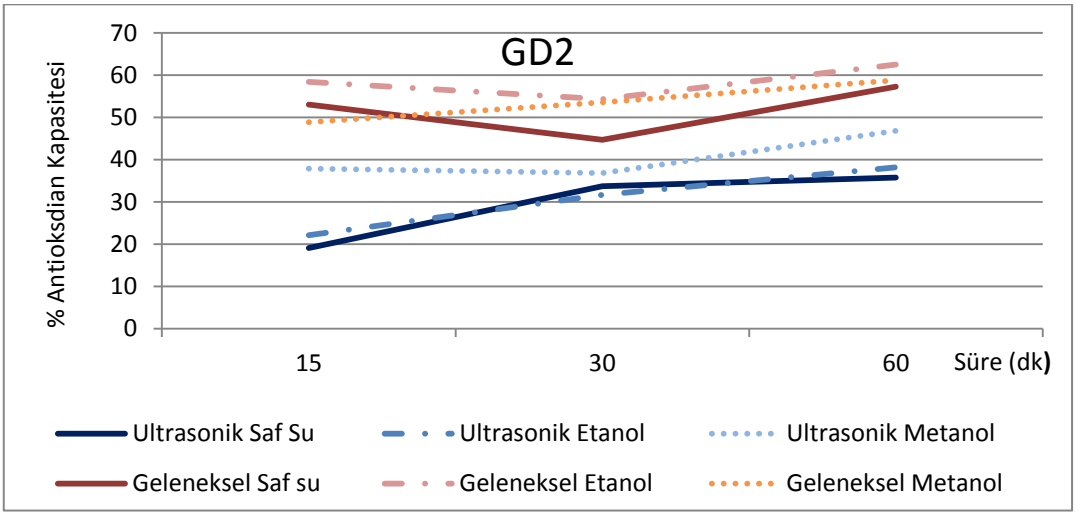
7.1 eşitliğinde; $DPPH^{\cdot}_{kalan}$ kalan konsantrasyonu, $DPPH^{\cdot}_{to}$ ise başlangıç konsantrasyonunu temsil etmektedir [20].

Ekstraksiyon süresi, çözücü cinsi, ekstraksiyon yöntemi parametrelerinin optimum koşullarının belirlenmesi için dut örneklerinin antioksidan kapasiteleri hesaplanarak grafik olarak verilmiştir (Şekil 7.1, 7.2, 7.3).



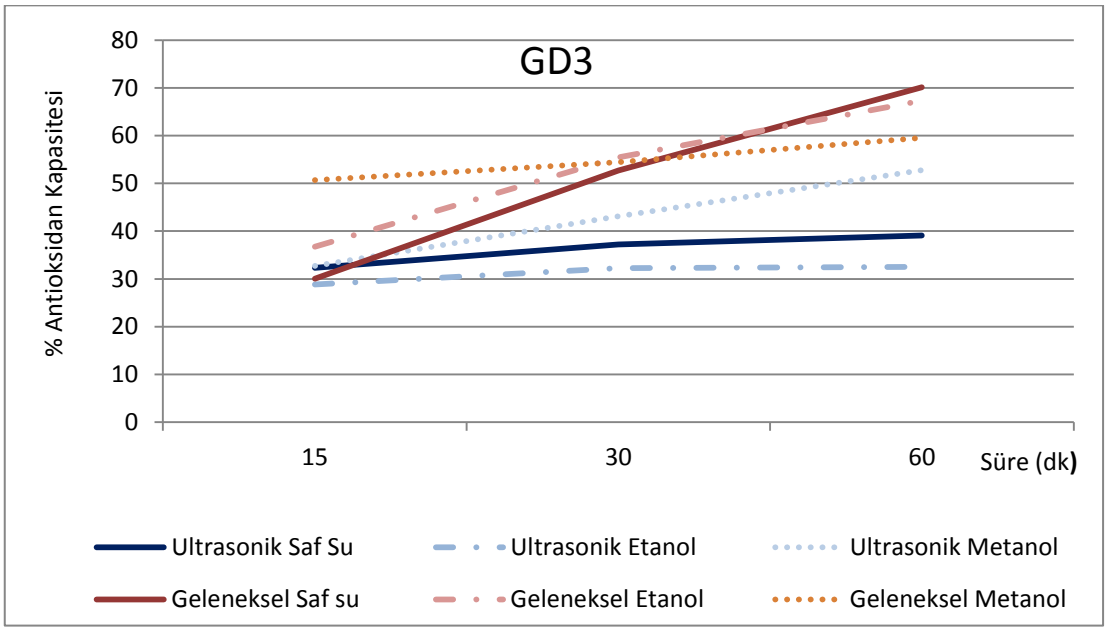
Şekil 7.1 GD1 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları

Tunceli, Ulukale'den alınan dut örneği (GD1) ekstrakte edilmiş, DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi miktarları hesaplanmış ve Şekil 7.1'de gösterilmiştir. Şekil 7.1'de geleneksel yöntemin kullanıldığı ekstraktların % antioksidan kapasitesinin, ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Geleneksel yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde, % antioksidan kapasitesi, ilk 30 dk etanol ile daha yüksek görünürken, 60. dk'da saf su için % 72,96, etonol için % 69,84, metanol için ise % 60,50 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde ise, 60. dk'da etanolün ve metanolün sırasıyla, % 45,27 ve % 46,80 oranlarıyla birbirine çok yakın olduğu, saf suyun ise % 24,58 ile en az orana sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 7.2 GD2 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları

Elazığ'dan alınan dut örneği (GD2) ekstrakte edilmiş, DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi miktarları hesaplanmış ve Şekil 7.2'de gösterilmiştir. Şekil 7.2'de geleneksel yöntemin kullanıldığı ekstraktların % antioksidan kapasitesinin, ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Geleneksel yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde, % antioksidan kapasitesi, 60. dk'da % 62,48 ile etanolün daha yüksek değerde olduğu, onu % 58,78 ile metanolün ve % 57,24 ile saf suyun izlediği belirlenmiştir. Ultrasonik yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde ise, 60. dk'da yüksekten düşüğe doğru; metanol % 46,79, etanol % 38,18 ve saf su % 35,78 şeklinde sıralandığı görülmüştür.



Şekil 7.3 GD3 örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları

Malatya'dan alınan dut örneği (GD3) ekstrakte edilmiş, DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi miktarları hesaplanmış ve Şekil 7.3'te gösterilmiştir. Şekil 7.3'te geleneksel yöntemin kullanıldığı ekstraktların % antioksidan kapasitesinin, ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Geleneksel yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde, % antioksidan kapasitesi, ilk 30 dk metanol ile daha yüksek görünürken, 60. dk'da saf su için % 70,14, etonol için % 67,31, metanol için ise % 59,52 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik yöntemin kullanıldığı deneylerde çözücü etkisi incelendiğinde ise, 60. dk'da yüksekten düşüğe doğru; metanol % 52,75, saf su % 39,12 ve etanol % 32,51 şeklinde sıralandığı görülmüştür.

7.1.2 Sumak Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Analiz Sonuçları

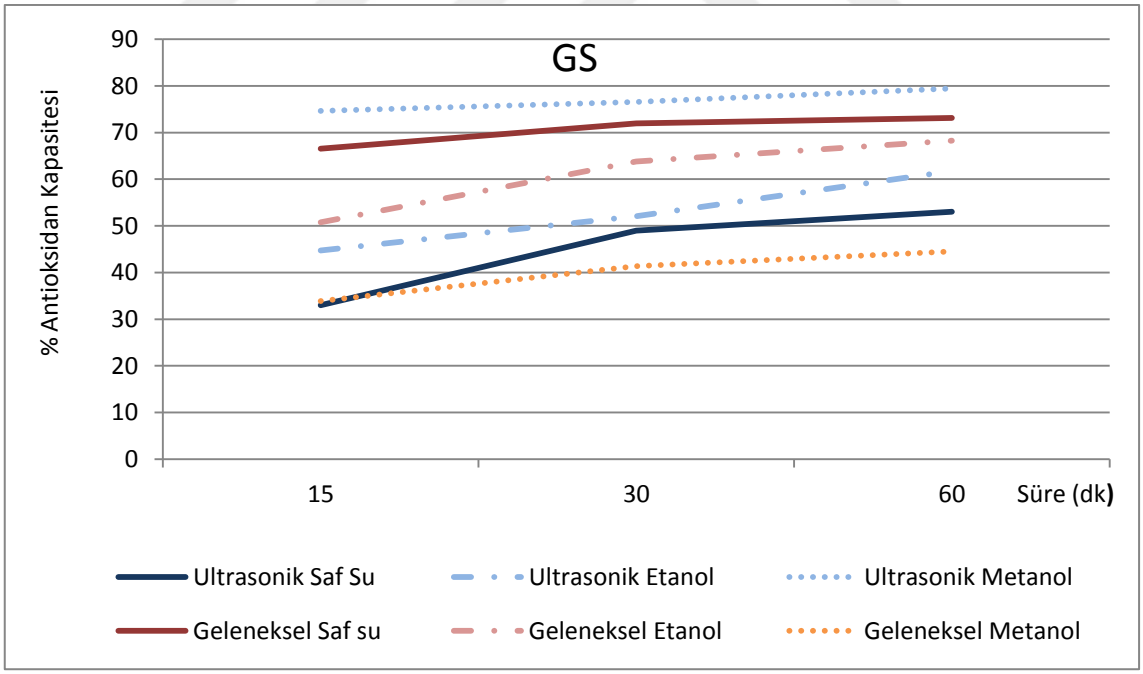
Belirlenen konsantrasyonlardaki DPPH çözeltileri UV-Vis cihazı ile 517 nm'de ölçülerek absorbans değerleri belirlenmiş ve kalibrasyon doğrusu çizilmiştir (Çizelge 7.2).

Çizelge 7.2 Sumak örneğinde DPPH kalibrasyonu için Derişim-Absorbans

KONSANTRASYON (mg/ml)	ABSORBANS
0,01	0,1287
0,02	0,2320
0,03	0,3749
0,04	0,4478
0,05	0,5645
0,06	0,6449

7.1 eşitliği yardımı ile sumak örneğindeki antioksidan kapasitesi değerleri hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon süresi, çözücü cinsi, ekstraksiyon yöntemi parametrelerinin optimum koşullarının belirlenmesi için sumak örneklerinin antioksidan kapasiteleri hesaplanarak grafik olarak verilmiştir (Şekil 7.4).



Şekil 7.4 GS örneği için % antioksidan kapasitesi miktarları

Mardin, Midyat'tan alınan sumak örneği (GS) ekstrakte edilmiş, DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi miktarları hesaplanmış ve Şekil 7.4'te en yüksek % antioksidan kapasitesi ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte

edilen numunede % 79,47 ile gözlenmiştir. Çözücü olarak saf su kullanılan ve geleneksel yöntem ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda % 73,15 ile diğer çözücülere kıyasla daha yüksek % antioksidan kapasitesi elde edilmiştir. Etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde; 60. dk'da ultrasonik yöntem ile % 61,76, geleneksel yöntemle ise % 63,81 olarak belirlenmiştir. En düşük sonuçlar; % 53,03 ile ultrasonik yöntem ile gerçekleştirilen ve çözücü olarak su kullanılan deneylerde ve % 44,55 ile geleneksel yöntem ile gerçekleştirilen ve çözücü olarak metanol kullanılan deneylerde elde edilmiştir.

7.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları

7.2.1 Dut Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları

Belirlenen konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri UV-Vis cihazı ile 765 nm'de ölçülerek absorbans değerleri belirlenmiş ve kalibrasyon doğrusu çizilmiştir (Çizelge 7.3).

Çizelge 7.3 Dut örneğinde gallik asit kalibrasyonu için Derişim-Absorbans

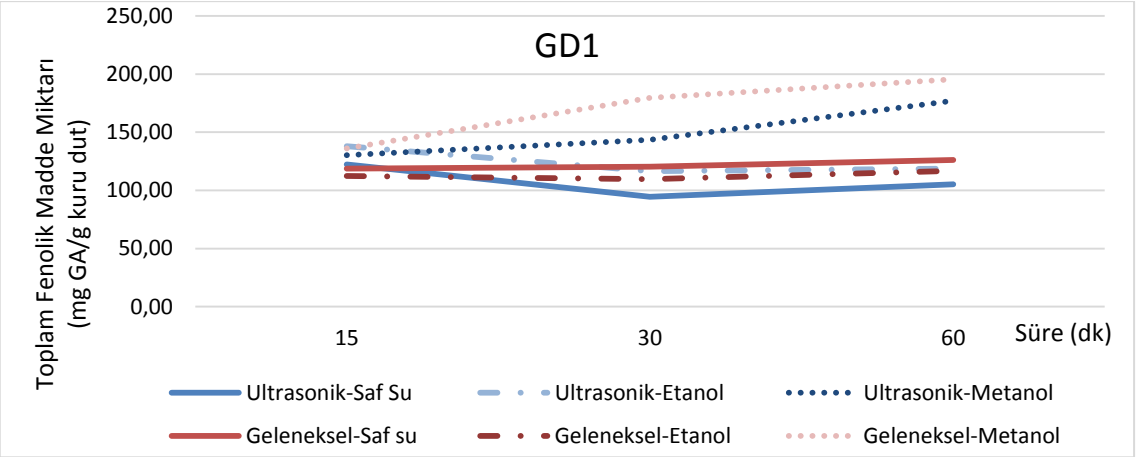
KONSANTRASYON (mg/ml)	ABSORBANS
0,05	0,1868
0,1	0,4582
0,2	0,8366

7.2 eşitliği yardımı ile dut örneğindeki toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

$$TPC = \frac{c * V}{m} \tag{7.2}$$

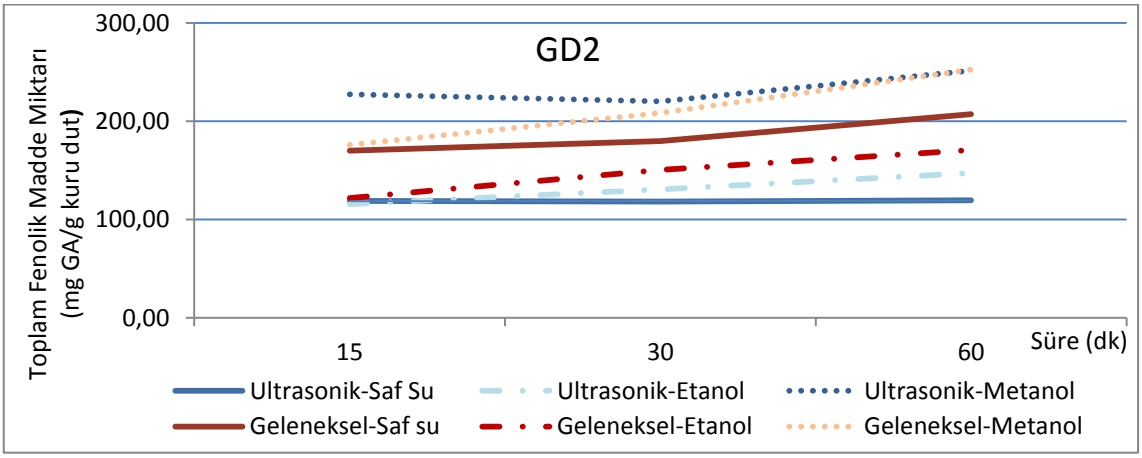
7.2 eşitliğinde; gallik asit kalibrasyon doğrusundaki örnek konsantrasyonu (c), ekstraksiyonda kullanılan çözücünün hacmi (V), kullanılan numunenin kuru ağırlığı (m) kullanılmıştır [71].

Ekstraksiyon süresi, çözücü cinsi, ekstraksiyon yöntemi parametrelerinin optimum koşullarının belirlenmesi için dut örneklerinin toplam fenolik madde miktarları hesaplanarak grafik olarak verilmiştir (Şekil 7.5, 7.6, 7.7).



Şekil 7.5 GD1 örneği için toplam fenolik madde miktarları

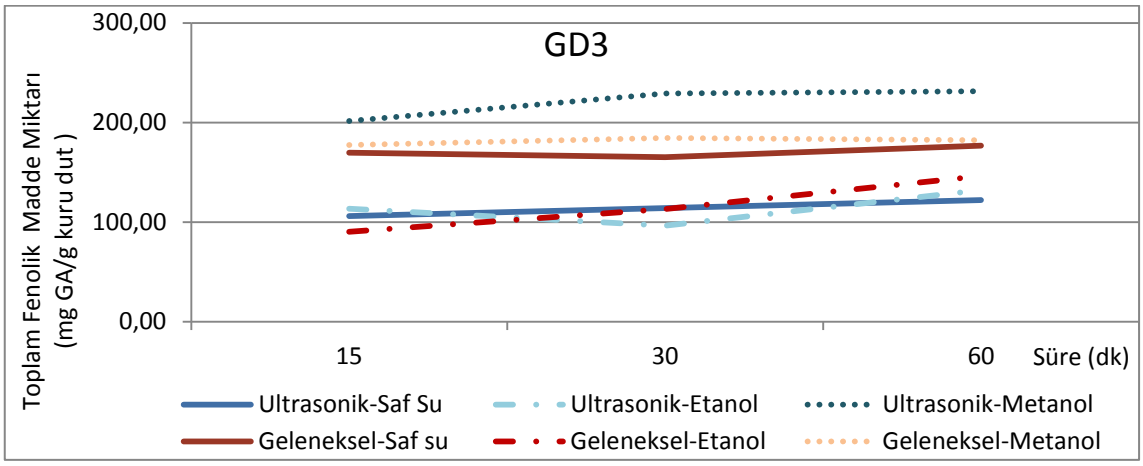
Şekil 7.5'te verilen grafiğe göre; Ulukale'den alınan dut örneği (GD1) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı geleneksel yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede 195,43 mg GA/g kuru dut ile gözlenmiştir. Yine çözücü olarak metanol kullanılan ve ultrasonik yöntem ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda 176,93 mg GA/g kuru dut ile diğer çözücülere kıyasla daha yüksek fenolik madde miktarı elde edilmiştir. Etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde her iki yöntemde de benzer sonuçlar elde edilmiş, süreyle önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. En düşük sonuçlar ultrasonik yöntem ile gerçekleştirilen ve çözücü olarak saf su kullanılan deneylerde elde edilmiştir.



Şekil 7.6 GD2 örneği için toplam fenolik madde miktarları

Şekil 7.6'da verilen grafiğe göre; Elazığ'dan alınan dut örneği (GD2) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı 251,22 mg GA/g kuru dut ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede gözlenmiştir. 30. dk'dan

sonra çözücü olarak metanolün kullanıldığı, geleneksel yöntem ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneyleri ile ultrasonik yöntem ile elde edilen sonuçların birbirine çok yaklaştığı görünmektedir. 60. dk'da çözücünün saf su olduğu ve geleneksel yöntemin kullanıldığı deneyde elde edilen toplam fenolik madde miktarı 207,18 mg GA/g kuru dut, çözücünün etanol olduğu sırası ile geleneksel yöntemin ve ultrasonik yöntemin kullanıldığı deneylerden elde edilen 170,51 mg GA/g kuru dut ve 147,19 mg GA/g kuru dut değerlerinin üzerinde yer almaktadır. 60. dk'da ultrasonik yöntemin kullanılığı ve çözücünün saf su olduğu deneyde ise 119,47 mg GA/g kuru dut ile en düşük sonuç elde edilmiştir.



Şekil 7.7 GD3 örneği için toplam fenolik madde miktarları

Şekil 7.7'de verilen grafiğe göre; Malatya'dan alınan dut örneği (GD3) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede 231,35 mg GA/g kuru dut ile gözlenmiştir. 60. dk'da çözücünün metanol olduğu geleneksel yöntem kullanılarak elde edilen ekstraksiyonda 182,19 mg GA/g kuru dut ile diğer çözücülere göre daha yüksek sonuç elde edilmiştir. Bu değere en yakın sonuç 176,69 mg GA/g kuru dut çözücü olarak saf suyun kullanıldığı geleneksel yöntem ile elde edilen ekstraksiyon deneyinde olmuştur. Etanolün kullanıldığı ultrasonik ve geleneksel yöntem ile sırası ile 132,03 mg GA/g kuru dut ve 146,34 mg GA/g kuru dut sonuçları ile her iki yöntemde de yakın değerler elde edilmiştir. Ultrasonik yöntemin kullanıldığı ve çözücünün saf su olduğu deneyde 122,22 mg GA/g kuru dut ile aynı yöntemin kullanıldığı ve etanol ile elde edilen toplam fenolik madde miktarına 132,03 yaklaşılmıştır.

7.2.2 Sumak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları

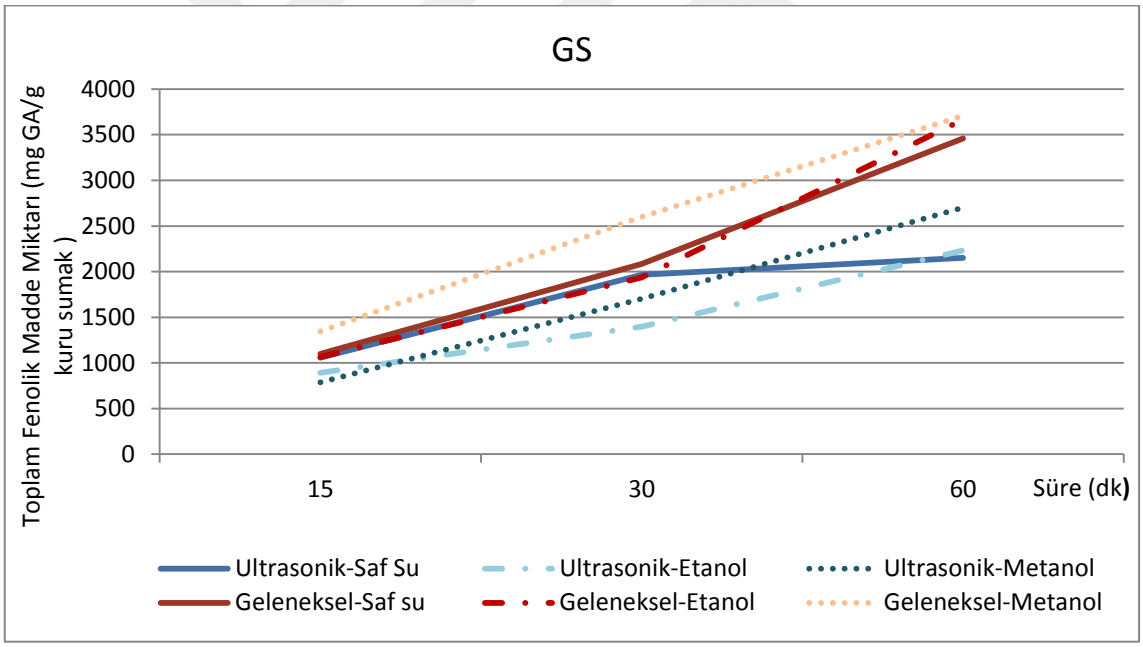
Belirlenen konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri UV-Vis cihazı ile 765 nm'de ölçülerek absorbans değerleri belirlenmiş ve kalibrasyon doğrusu çizilmiştir (Çizelge 7.4).

Çizelge 7.4 Sumak örneğinde gallik asit kalibrasyonu için Derişim-Absorbans

KONSANTRASYON (mg/ml)	ABSORBANS
0,5	1,7526
1	2,5893
2	4,6083

7.2 eşitliği yardımı ile sumak örneğindeki toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon süresi, çözücü cinsi, ekstraksiyon yöntemi parametrelerinin optimum koşullarının belirlenmesi için sumak örneklerinin toplam fenolik madde miktarları hesaplanarak grafik olarak verilmiştir (Şekil 7.8).



Şekil 7.8 GS örneği için toplam fenolik madde miktarları

Şekil 7.8'de verilen grafiğe göre; Mardin (Midyat)'den alınan sumak örneği (GS) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı geleneksel yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede 3709,06 mg GA/g kuru sumak ile gözlenmiştir. Sumak için elde edilen toplam fenolik madde miktarı değerlerine bakıldığında, dut örneklerinden farklı olarak üç çözücünün de kullanıldığı geleneksel

yöntemle, ultrasonik yönteme kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiştir. 60 dk sonunda geleneksel yöntem ile etanol kullanılarak gerçekleştirilen deneyde 3665,10 mg GA/g kuru sumak ile metanolün değerleri yakalanmıştır. Bu değerleri geleneksel yöntemle, çözücü olarak saf suyun kullanıldığı deney sonucu 3459,56 mg GA/g kuru sumak ile izlemektedir. Ultrasonik yöntemin kullanıldığı deneylerde ise en yüksek sonuçlar, metanolün çözücü olarak kullanıldığı deneylerde elde edilmiştir. 60 dk sonunda saf su ve etanol de benzer değerlerle en düşük toplam fenolik madde miktarına sahip çözücüler olmuşlardır.

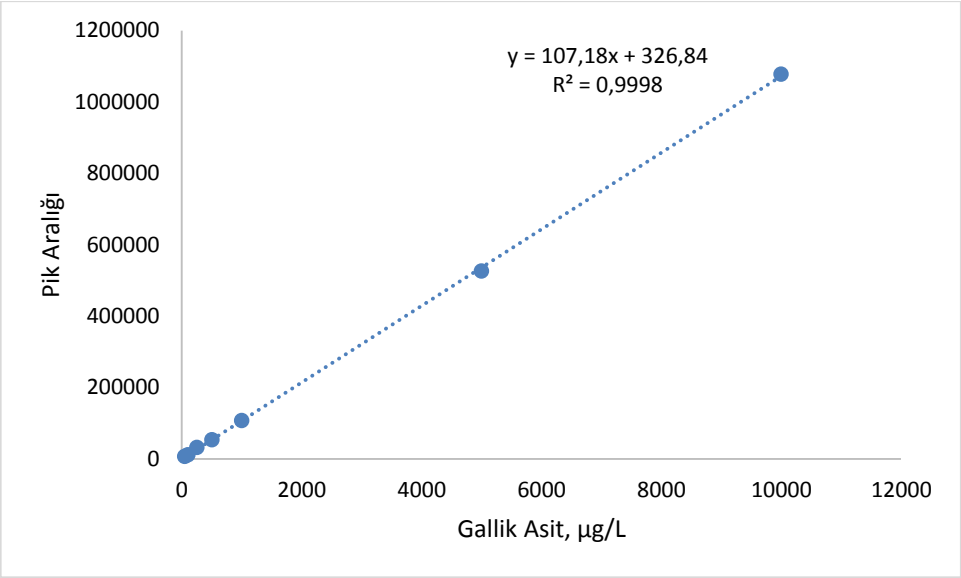
7.3 LCMS-QTOF Analiz Sonuçları

Grafiklerin karşılaştırılması sonucu en yüksek fenolik madde miktarına sahip olan numunelerin; GDM1 (60), D2M (60), D3M (60) ve GSM (60) fenolik madde içeriğinin kantitatif tayini için LCMS-QTOF analizi yapılmıştır. Bu analiz için standart çözelti olarak gallik asit kullanılmıştır (Çizelge 7.5).

Çizelge 7.5 Analizde kullanılan gallik asit miktarları

GALLİK ASİT (µg/L)	PİK ARALIĞI
50	6779
100	11095
250	32081
500	53112
1000	107382
5000	526066
10000	1077177

Çizelge 7.5'te verilen değerleri içeren grafik oluşturulmuştur (Şekil 7.9).



Şekil 7.9 Gallik asit – Pik aralığı grafiği

Şekil 7.9'da verilen grafiğe göre; numunelerinin içerdikleri gallik asit miktarları Çizelge 7.6'da verilmiştir.

Çizelge 7.6 Numunelerin içerdikleri gallik asit miktarları

ÖRNEK ADI	SONUÇ (GALLİK ASİT, mg/L)
GDM1 (60)	0,227 ± 0,013
D2M (60)	0,332 ± 0,016
D3M (60)	0,326 ± 0,013
GSM (60)	333,3 ± 16,0

Bu çizelgeye göre; sumağın gallik asit miktarının duta göre oldukça yüksek değerde olduğu görülmektedir. Dut türlerinde ise gallik asit içeriği yüksekten düşüğe doğru; D2 (Elazığ), D3 (Malatya) ve D1 (Ulukale) şeklinde sıralanabilir.

BÖLÜM 8

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında; ülkemizde farklı bölgelerde yetişen dut ve sumak ürünlerinin toplam fenolik madde miktarlarını ve antioksidan kapasitelerini belirleyerek bu gıdaların insan sağlığına yaptığı katkının bilimsel olarak belirlenmesi ve fonksiyonel gıda pazarında yer almalarının sağlanması hedeflenmiştir. Dut ve sumak, antioksidan kapasitelerinin yüksekliği nedeniyle Türkiye'de yetişen önemli fonksiyonel gıdaların başında gelmektedir. Fakat farklı bölgelerde yetişen bu gıdaların özelliklerinin belirlenmesi ve doğru üretim yöntemleri ile tüketiciye sunulması gerekmektedir. Kendi kaynaklarımızdan faydalanabilmemiz ve dünya piyasasına sunabilmemiz için gerekli bilimsel araştırmanın yapılması gerekliliği üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Gıdaların tedavi edici özelliklerinin bilimsel metotlarla belirlenmesi çok önemlidir. Bu araştırmaların yapılması bu gıdaların bilinçli kullanılması konusunda yol gösterici olacaktır. Daha önce Türkiye'de yapılan çalışmalar detaylı olarak incelendiğinde, ülkemizde fazla miktarda dut ve sumak yetiştirilmesine rağmen yapılan çalışmaların sınırlı olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi hiç incelenmemiş bölgeler bulunmaktadır.

Bu tez çalışması literatürde yer alan boşluğu doldurarak, farklı bölgelerde yetişen ürünler arasında kıyaslama yapılabilmesine olanak sunmaktadır. Dünyada fonksiyonel gıdalara talebin artışı büyük bir pazar yaratmıştır. Benzer şekilde ülkemizde de yetiştirilen gıdalar arasında fonksiyonel gıdalar mevcuttur. Yapılan tez çalışmasıyla bu gıdalar ile ilgili gerekli bilimsel verilerin elde edilmesi ülkemizi de bu pazara dahil edip ülke ekonomisine katkı sağlanacaktır.

Tez çalışmasında; Tunceli (Ulukale), Elazığ ve Malatya'dan alınan dut ile Mardin (Midyat)'den alınan sumak örneklerinin antioksidan kapasiteleri DPPH metodu, toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metodu ve fenolik içerik (gallik asit) miktarı ise LCMS-QTOF metodu ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon yöntemi (ultrasonik ve geleneksel), çözücü türü (saf su, etanol, metanol), süre (15, 30 ve 60 dk) parametrelerinin etkisi incelenmiştir. Literatürden farklı olarak, farklı bölgelere ait dut ve sumak örnekleri arasında kıyaslama yapılmıştır.

Gerçekleştirilen deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Dut ve sumağın DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi incelendiğinde en yüksek antioksidan kapasitesinin (% 79,47) sumakta bulunduğu görülmüştür.
- Mardin (Midyat)'den alınan sumak örneğinin % antioksidan kapasitesi için optimum koşullar, ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numune olarak belirlenmiştir.
- Tunceli (Ulukale)'den alınan dut örneği (GD1) için DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi incelendiğinde, en yüksek değer %72,96 ile geleneksel yöntem ve saf su kullanılarak 60 dk sürede elde edilmiştir.
- Elazığ'dan alınan dut örneği (GD2) için DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi incelendiğinde, en yüksek değer % 58,39 ile geleneksel yöntem ve etanol kullanılarak 60 dk sürede elde edilmiştir.
- Malatya'dan alınan dut örneği (GD3) için DPPH yöntemi ile % antioksidan kapasitesi incelendiğinde, en yüksek değer % 70,14 ile geleneksel yöntem ve saf su kullanılarak 60 dk sürede elde edilmiştir.
- Dut örneklerinin (GD1, GD2, GD3), % antioksidan kapasitesini belirlemede geleneksel yöntemin ultrasonik yönteme göre daha tercih edilebilir bir yöntem olduğu görülmektedir.
- Dut ve sumak örneklerinin % antioksidan kapasitesine ekstraksiyon süresinin etkisi bakıldığında 15, 30 ve 60 dk olarak alınan koşullardan 60 dk optimum süre olarak belirlenmiştir.

- Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi incelendiğinde sumağın toplam fenolik madde miktarının duttan yüksek olduğu görülmüştür.
- Mardin (Midyat)'den alınan sumak örneği (GS) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı geleneksel yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede (GSM) 3709,06 mg GA/g kuru sumak ile gözlenmiştir.
- Tunceli (Ulukale)'den alınan dut örneği (GD1) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı geleneksel yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede (GDM1) 195,43 mg GA/g kuru dut ile gözlenmiştir.
- Elazığ'dan alınan dut örneği (GD2) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı 251,22 mg GA/g kuru dut ile ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede (D2M) gözlenmiştir.
- Malatya'dan alınan dut örneği (GD3) için en yüksek toplam fenolik madde miktarı ultrasonik yöntem kullanılarak metanol çözücüsü ile 60 dk sürede ekstrakte edilen numunede (D3M) 231,35 mg GA/g kuru dut ile gözlenmiştir.
- Dut ve sumak örneklerinin toplam fenolik madde miktarına ekstraksiyon süresinin etkisi bakıldığında 15, 30 ve 60 dk olarak alınan koşullardan 60 dk optimum süre olarak belirlenmiştir.
- Dut ve sumak örneklerinin toplam fenolik madde miktarı için ekstraksiyon verimine çözücülerin etkisi incelendiğinde, kullanılan saf su, etanol ve metanol çözücülerinden metanolün saf su ve etanole göre daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.
- Dut numunelerinin alındığı Tunceli (Ulukale), Elazığ ve Malatya bölgeleri için Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarı incelendiğinde, Elazığ'ın en yüksek değere sahip olduğu bunu sırası ile Malatya ve Tunceli (Ulukale)'nin izlediği görülmektedir

- Örneklerin karşılaştırılması sonucu en yüksek fenolik madde miktarına sahip olan GDM1, D2M, D3M ve GSM numunelerinin LCMS-QTOF analizi ile fenolik madde miktarı (gallik asit) incelendiğinde sumağın duta göre fenolik madde miktarının yüksek olduğu görülmüştür.
- Farklı bölgelerden (Ulukale, Elazığ ve Malatya) alınan dut numunelerinin LCMS-QTOF analizi ile toplam fenolik madde miktarı (gallik asit) incelendiğinde, Elazığ'ın en yüksek değere sahip olduğu bunu sırası ile Malatya ve Ulukale'nin izlediği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Türkiye'de farklı bölgelerde yetişen dut ve sumağın yüksek antioksidan kapasitesine ve toplam fenolik madde miktarlarına sahip birer fonksiyonel gıda olduğu görülmüştür. Literatürde yer alan boşluk doldurularak farklı bölgelerde yetişen dut ve sumak numuneleri arasında kıyaslama yapılabilmesine olanak sağlanmıştır. Bu gıdalar ile ilgili gerekli bilimsel verilerin elde edilmesinin bu gıdaların tedavi edici özellikleri ile ilgili yol gösterici olacağı ve ülkemizi de son yıllarda önemli hale gelen fonksiyonel gıda pazarına dahil edeceği ve ülke ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Hacıoğlu, G. ve Kurt, G., (2012). ''Tüketicilerin Fonksiyonel Gıdalara Yönelik Farkındalığı, Kabulü ve Tutumları: İzmir İli Örneği'', Business and Economics Research Journal, 3 (1): 161-171.

[2] Koç, L., (2012). Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkileriyle, Kanserli Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[3] TÜBİTAK, 2005. Bilim ve Teknoloji Yüksek Kurulu Onbirinci Toplantısı, 10 Mart 2005, Gelişmelere İlişkin Değerlendirmeler ve Kararlar, Ankara.

[4] Çağlar, M. ve Demirci, M., (2017). ''Üzümsü Meyvelerde Bulunan Fenolik Bileşikler ve Beslenmedeki Önemi'', Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 7 (11): 18-26.

[5] Sağbasan, B., (2015). Türkiye'de Yaygın Olarak Tüketilen Kuru Kırmızı Meyvelerin İçerdiği Antioksidan Maddelerin Biyoerişilebilirliğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[6] Karataş, N. ve Şengül, M., (2018). ''Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi'', Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5 (1): 34-43.

[7] Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., (2010). ''Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler'', Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26 (4): 401-409.

[8] Andlauer, W. ve Fürst, P., (2002). ''Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook'', 35: 171-176.

[9] Sevilmiş, G., (2013). ''Yükselen Trend: Fonksiyonel Gıdalar'', Ar&Ge Bülten 2013 Haziran-Sektörel, 42-45.

[10] Vural, A., (2004). ''Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlık Üzerine Etkileri'', Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi, (6): 52.

[11] Erbaş, M., (2006). ''Yeni Bir Gıda Grubu Olarak Fonksiyonel Gıdalar'', Türkiye 9.Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

[12] Meral, R., Doğan, İ. ve Kanberoğlu, G., (2012). ‘’Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar’’, 2 (2): 45-50.

[13] Kıyak, S., Dağlı, Y., Zeren, Ü., Arıburnu, M., Gülbandılar, A., Dönmez, M. ve Okur, M., (2014). ‘’Fonksiyonel Bir Gıda: ‘Şifalı Top’ ‘’, Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2 (6): 277-279.

[14] Açıkgöz, Z. ve Önenç, S., (2006). ‘’Fonksiyonel Yumurta Üretimi’’, Hayvansal Üretim, 47 (1): 36-46.

[15] Çorbacıoğlu, F., (2013). Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Elektrokimyasal Yöntemle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[16] Yıldız, G., (2013). Pıstacıa Terebınthus (Menengiç) Meyve Ekstrelerinin ve Menengiç Kahvesinin Total Fenolik ve Flavonoit Madde Kompozisyonlarının ve Antioksidan Etkilerinin Karşılaştırılması, Bitirme Tezi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri.

[17] Ardağ, A., (2008). Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.

[18] Aydın, H., (2011). Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

[19] İşbilir, Ş., (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

[20] Güvenç, A., Gül, H. ve Uzun, E., (2012). Yaban Mersini Posasının Antioksidan Kapasitesi ve Trans-Resveratrol Derişimi Üzerine Ses Ötesi Dalgaların Etkisinin İncelenmesi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.

[21] Apaydın, E., (2008). Nar Suyu Konsantresi Üretim ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[22] Özenç, B., (2011). Fumaria Officinalis’un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi’’ , Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

[23] Okan, O., Varlıbaş, H., Öz, M. ve Deniz, İ., (2013). ‘’Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler’’, Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi, 13 (1): 48-59.

[24] Yavaşer, R., (2011). Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

[25] Aydınlık, Z., (2012). Niğde İlinde Üretilen Üzüm Pekmezi Örneklerinin Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.

[26] Selçuk, A., (2012). Galvinoksil Radikali Bazlı Spektrofotometrik Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi ve Yaygın Olarak Kullanılan Diğer Yöntemlerle Kıyaslanması, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

[27] Öztan, T., (2006). Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[28] Büyüktuncel, E., (2013). ''Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler'', Marmara Pharmaceutical Journal, 17: 93-103.

[29] Prior, R., Wu, X. ve Schaich, K., (2005). ''Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements'', Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53: 4290-4302.

[30] Erkaleli, Z. ve Dalkılıç, Z., (2016). ''Uşak İli Ulubey İlçesinde Yetişen Karadutların (Morus Nigra L.) Morfolojik, Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi'', Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 13 (1): 89-106.

[31] Ercan, A., (2016). Doğal Süper Gıdalar, Birinci Baskı, Hayykitap, İstanbul.

[32] Ünver, A., (2006). ''Sumak (Rhus Coriaria L.) Meyvelerinden Oleorezin Üretimi Üzerine Araştırma'', Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

[33] Metin, İ., Güngör, H. ve Çolak, Ö., (2012). ''Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İhracatı ve İthalatı, Tıbbı ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu'', 13-15 Eylül 2012, Tokat.

[34] Ünver, A. ve Özcan, M., (2006). ''Türkiye'de Yabani Olarak Yetişen Bazı Sumak (Rhus Coriaria L.) Meyvelerinin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi'', Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (40): 111-116.

[35] Ferk, F., Chakraborty, A., Simic, T., Kundi, M. ve Knasmüller, S., (2007). ''Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Sumac (Rhus Coriaria) and İdentification of Gallic Acid as İts Active Principle'', 13th Scientific Symposium of the Austrian Pharmacological Society, 22-24 Kasım 2007, Avusturya.

[36] Hepsağ, F., Hayoğlu, İ. ve Hepsağ, B., (2012). ''Karadut Meyvesinin Antosiyanin İçeriği ve Antosiyaninlerin Gıda Sanayinde Renk Maddesi Olarak Kullanım Olanakları'', Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7 (1): 9-19.

[37] Hal, A., (2014). ''Erzurum'da Açıkta Satılan Bazı Kurutulmuş Meyveler Üzerinde Gelişen Aflatoksin Üretici Mikrofungusların Araştırılması'', Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

[38] Türkiye İstatistik Kurumu, Türkiye'de Dut Üretilen İller, http://www.tuik.gov.tr, 18.08.2018.

[39] Türkiye İstatistik Kurumu, Yıllara Göre Ülkemizde Üretilen Dut Miktarı, http://www.tuik.gov.tr, 20.09.2018.

[40] Ağca, İ. ve Ilgın, M., (2017). ''Türkiye'nin Değişik Yerlerinden Selekte Edilen Bazı Dut (Morus spp.) Türlerinin Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Performanslarının Belirlenmesi'', Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences, 7 (2): 45-57.

[41] Baştürk, A., Ceylan, M., Çavuş, M., Boran, G. ve Javidipour, I., (2018). ''Effects of some herbal extracts on oxidative stability of corn oil under accelerated oxidation conditions in comparison with some commonly used antioxidants'', LWT-Food Science and Technology, 89: 358-364.

[42] Zou, B., Xu, Y., Wu, J., Yu, Y. ve Xiao, G., (2017). ''Phenolic compounds participating in mulberry juice sediment formation during storage'', Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology), 1862-1783.

[43] Mahmood, T., Anwar, F., Afzal, N., Kausar, R., Ilyas, S. ve Shoaib M., (2017). ''Influence of ripening stages and drying methods on polyphenolic content and antioxidant activities of mulberry fruits'', Food Measure, 11: 2171-2179.

[44] Chon, S., Kim, Y., Park, Y., Heo, B., Park, Y. ve Gorinstein, S., (2009). ''Antioxidant and antiproliferative effects of methanol extracts from raw and fermented parts of mulberry plant (Morus alba L.)'', European Food Research and Technology, 230: 231-237.

[45] Meral, R. ve Doğan, İ., (2012). ''Karadut (Morus nigra) Katkılı Ekmeğin Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Kompozisyonu'', Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2 (4): 43-48.

[46] Turan, İ., Demir, S., Kılınç, K., Burnaz, N., Yaman, S., Akbulut, K., Menteşe, A., Yazıcıoğlu, Y. ve Değer, O., (2017). ''Antiproliferative and apoptotic effect of Morus nigraextract on human prostate cancer cells'', Saudi Pharmaceutical Journal, 25: 241-248.

[47] Akın, M., Eyduran, S., Ercişli, S., Toteva, V. ve Eyduran, E., (2016). ''Phytochemical profiles of wild blackberries, black and white mulberries from southern Bulgaria'', Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30 (5): 899-906.

[48] Geçer, M., Akın, M., Gündoğdu, M., Eyduran, Ş., Ercişli, S. ve Eyduran, E., (2015). ''Organic acids, sugars, phenolic compounds, and some horticultural characteristics of black and white mulberry accessions from Eastern Anatolia'', Canadian Journal of Plant Science, 96 (1): 27-33.

[49] Celep, E., Charehsaz, M., Akyüz, S., Acar, E. ve Yeşilada, E., (2015). ''Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines'', Food Research International, 78: 209-215.

[50] Boranbayeva, T., Karadeniz, F. ve Yılmaz, E., (2014). ''Effect of Storage on Anthocyanin Degradation in Black Mulberry Juice and Concentrates'', Food Bioprocess Technol, 7: 1894-1902.

[51] Güngör, N. ve Şengül, M., (2008). ''Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Selected Physicochemical Properties of White Mulberry (Morus Alba L.) Fruits'', Food Properties, 11 (1): 44-52.

[52] Sıvacı, A. ve Sökmen, M., (2006). ''Effects of Exogenous Indole Butyric Acid and Callus Formation on the Anti-oxidant Activity, Total Phenolic, and Anthocyanin Constituents of Mulberry Cuttings'', Integrative Plant Biology, 48 (7): 832-837.

[53] Sıvacı, A. ve Sökmen, M., (2004). ''Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two Morus species (Morus alba L. And Morus nigra L.)'', Plant Growth Regulation, 44: 251-256.

[54] Altıok, D., Altıok, E. ve Bayraktar, O., (2006). ''Fonksiyonel Gıda Üretiminde Kullanılan Bazı Baharatın Antioksidan Kapasiteleri'', Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

[55] Bursal, E. ve Köksal, E., (2011). ''Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (Rhus coriaria L.'', Food Research International, 44: 2217-2221.

[56] Koşar, M., Bozan, B., Temelli, F. ve Baser, K., (2007). ''Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (Rhus coriaria L.) extracts'', Food Chemistry, 103: 952-959.

[57] Li, Y., Bao, T. ve Chen, W., (2018). ''Comparison of the protective effect of black and White mulberry against ethyl carbamate-induced cytotoxicity and oxidative damage'', Food Chemistry, 243: 65-73.

[58] Mahmood, T., Anwar, F., Afzal, N., Kausar, R., Ilyas, S. ve Shoaib, M., (2017). ''Influence of ripening stages and drying methods on polyphenolic content and antioxidant activities of mulberry fruits'', Food Measure, 11: 2171-2179.

[59] Kim, I. ve Lee, J., (2017). ''Comparison of different extraction solvents and sonication times for characterization of antioxidant activity and polyphenol composition in mulberry (Morus alba L.)'', Applied Biological Chemistry, 60 (5): 509-517.

[60] Li, F., Zhang, B., Chen, G. Ve Fu, X., (2017). ''Analysis of solvent effects on polyphenols profile, antiproliferative and antioxidant activities of mulberry (Morus alba L.) extracts'', International Journal of Food Science and Technology, 52: 1690-1698.

[61] Zhang, C., Ma, Y., Zhao, Y., Hong, Y., Cai, S. ve Pang, M., (2017). ''Phenolic composition, antioxidant and pancreatic lipase inhibitory activities of Chinese sumac (Rhus chinensis Mill.) fruits extracted by different solvents and interaction between myricetin-3-Orhamnoside and quercetin-3-O-rhamnoside'', International Journal of Food Science and Technology.

[62] Peng, Y., Zhang, H., Liu, R., Mine, Y., McCallum, J., Kirby, C. ve Tsao, R., (2016). ''Antioxidant and anti-inflammatory activities of pyranoanthocyanins and other polyphenols from staghorn sumac (Rhus hirta L.) in Caco-2 cell models'', Journal of Functional Foods, 20: 139-147.

[63] Bashash, M., Zamindar, N. ve Bolandi, M., (2014). ''Evaluation of antioxidant activities of Iranian sumac (R. coriaria L.) fruit and spice extracts with different solvent'', Food Measure, 8: 213-217.

[64] Sernikli, C., (2015). ''Karadut (Morus Nigra) Suyunda Toplam Fenolik Madde ve Suda Çözünen Vitaminlerin Isıl Parçalanma Kinetiği'', Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

[65] Özgen, M., Serçe, S. ve Kaya, C., (2009). ''Phytochemical and Antioxidant Properties of Anthocyanin-Rich Morus Nigra and Morus Rubra Fruits'', Scientia Horticulturae 119: 275-279.

[66] UV-Vis Spektrofotometresi, https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-products.html?TablePage=8660854, 21.09.2018.

[67] UV-Vis Spektrofotometresi, http://merlab.metu.edu.tr/tr/uv-vis-spektrofotometresi, 21.09.2018.

[68] UV-Vis Spektrofotometresinin Çalışma Diyagramı, https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_with_a_Biological_Emphasis_(Soderberg)/Chapter_04%3A_Structure_Determination_I/4.4%3A_Ultraviolet_and_visible_spectroscopy, 21.09.2018.

[69] LCMS-QTOF Cihazı, http://www.merklab.yildiz.edu.tr/index.php/labaratuvarlarimiz/kutle-spektroskopisi-lab, 21.09.2018.

[70] Kütle Spekroskopisi, http://www.bayar.edu.tr/besergil/kutle_1.pdf, 22.09.2018.

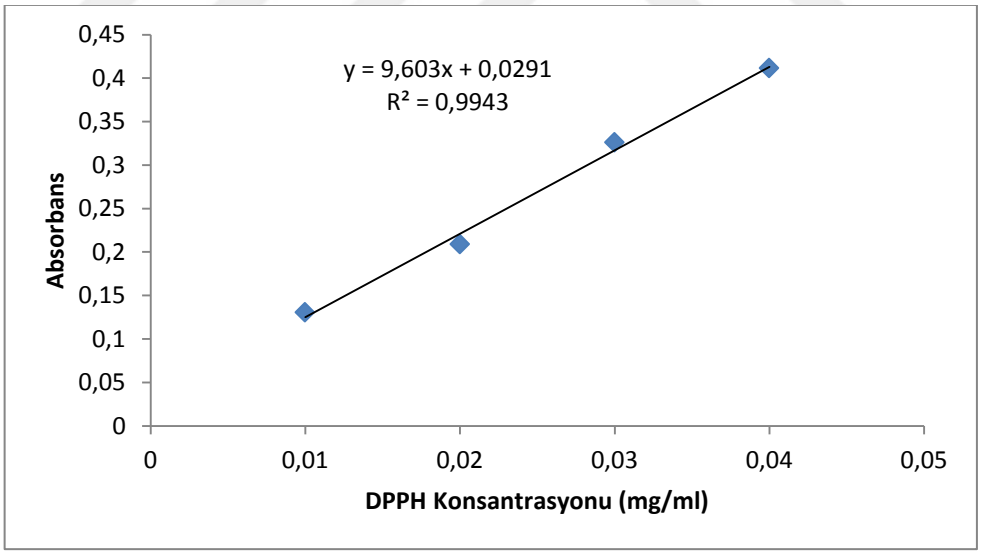
[71] Olalere, O., Abdurahman, N., Yunus, R., Alara, O. ve Ahmad, M., (2018). ''Mineral Element Determination and Phenolic Compounds Profiling of Oleoresin Extracts Using an Accurate Mass LC-MS-QTOF and ICP-MS'', Journal of King Saud University.

EK-A

KALİBRASYON DOĞRULARI

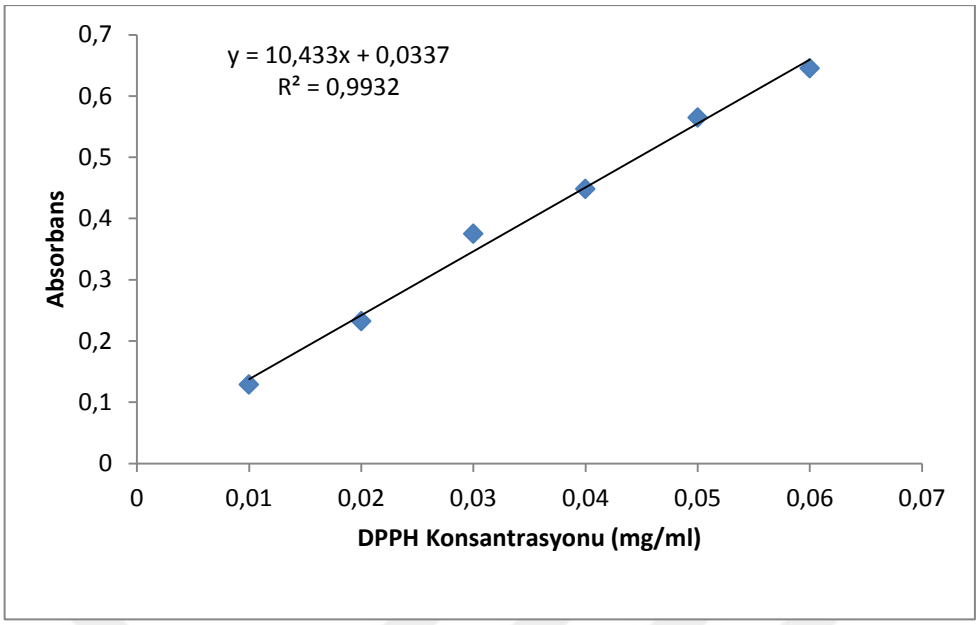
A-1 Antioksidan Kapasitesi Kalibrasyon Doğruları

Belirlenen absorbans değerleri ile ölçülen dut ekstraktlarının içinde kaldığı bir kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil A.1).



Şekil A.1 Dut DPPH kalibrasyon doğrusu

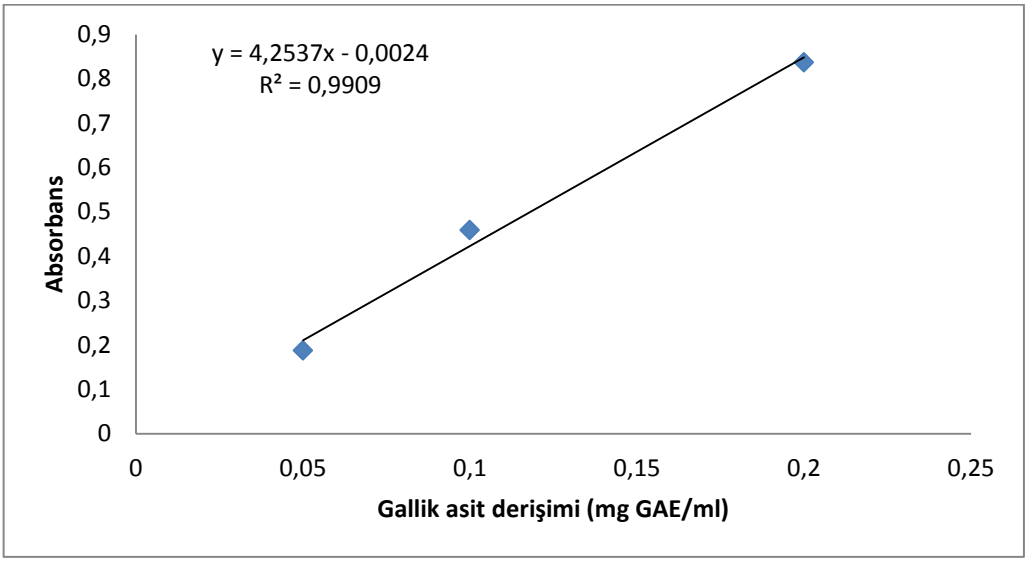
Belirlenen absorbans değerleri ile ölçülen sumak ekstraktlarının içinde kaldığı bir kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil A.2).



Şekil A.2 Sumak DPPH kalibrasyon doğrusu

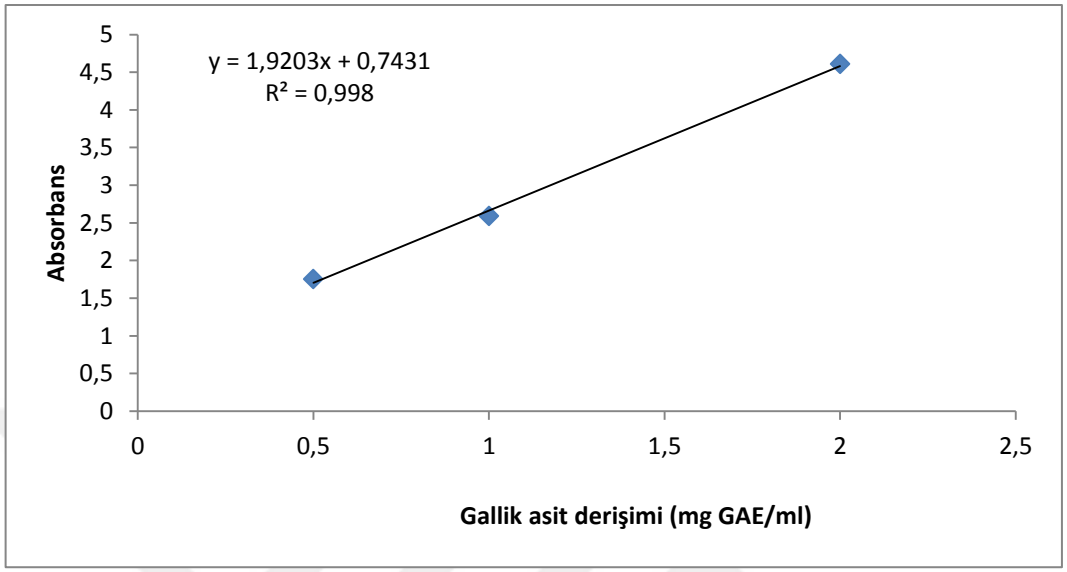
A-2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Kalibrasyon Doğruları

Belirlenen absorbans değerleri ile ölçülen dut ekstraktlarının içinde kaldığı bir kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil A.3).



Şekil A.3 Dut gallik asit kalibrasyon doğrusu

Belirlenen absorbans değerleri ile ölçülen sumak ekstraktlarının içinde kaldığı bir kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil A.4).



Şekil A.4 Sumak gallik asit kalibrasyon doğrusu

EK-B

ANALİZ SONUÇLARI

B-1 Antioksidan Kapasitesi Sonuçları

B-1.1 Dut Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Sonuçları

Dut ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%) Çizelge B.1'de verilmiştir.

Çizelge B.1 Dut ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%)

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (ULTRASONİK YÖNTEM)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (GELENEKSEL YÖNTEM)
U1	SAF SU	15	19,35	48,46
E1			19,11	52,99
M1			32,31	30,05
U2		30	24,12	54,09
E2			33,71	44,68
M2			37,24	52,69
U3		60	24,59	72,96
E3			35,78	57,24
M3			39,12	70,14
U4	ETANOL	15	29,62	57,64
E4			22,13	58,39
M4			28,81	36,76
U5		30	41,58	60,59
E5			31,64	54,33
M5			32,27	55,47
U6		60	45,27	69,84
E6			38,18	62,48
M6			32,51	67,31

Çizelge B.1 Dut ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%) (devamı)

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (ULTRASONİK YÖNTEM)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (GELENEKSEL YÖNTEM)
U7	METANOL	15	38,52	47,66
E7			37,85	48,84
M7			32,72	50,70
U8		30	31,10	56,38
E8			36,78	53,56
M8			43,13	54,42
U9		60	46,80	60,50
E9			46,79	58,78
M9			52,75	59,52

U: Ulukale, E: Elazığ, M: Malatya

B-1.2 Sumak Örneklerinin Antioksidan Kapasitesi Sonuçları

Sumak ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%) Çizelge B.2'de verilmiştir.

Çizelge B.2 Sumak ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri (%)

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (ULTRASONİK YÖNTEM)	ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ (%) (GELENEKSEL YÖNTEM)
SM1	SAF SU	15	32,96	66,57
SM2		30	48,96	71,97
SM3		60	53,03	73,15
SM4	ETANOL	15	44,74	50,75
SM5		30	52,07	63,81
SM6		60	61,76	68,28
SM7	METANOL	15	74,66	33,86
SM8		30	76,55	41,34
SM9		60	79,47	44,55

SM: Sumak, Midyat

B-2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

B-2.1 Dut Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

Dut ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Çizelge B.3'te verilmiştir.

Çizelge B.3 Dut ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)	TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI (mg GA/g kuru dut) (ULTRASONİK YÖNTEM)	TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI (mg GA/g kuru dut) (GELENEKSEL YÖNTEM)
U1	SAF SU	15	122,27	118,58
E1			118,91	170,09
M1			106,14	169,64
U2		30	94,41	120,41
E2			118,13	179,70
M2			114,09	165,20
U3		60	105,23	126,05
E3			119,47	207,18
M3			122,22	176,69
U4	ETANOL	15	137,83	112,33
E4			115,45	121,85
M4			113,31	90,16
U5		30	116,49	109,58
E5			130,50	150,29
M5			96,53	113,08
U6		60	118,81	116,89
E6			147,19	170,51
M6			132,03	146,34
U7	METANOL	15	130,29	136,09
E7			227,14	175,78
M7			201,66	177,56
U8		30	143,40	179,37
E8			220,04	208,34
M8			229,12	184,40
U9		60	176,93	195,43
E9			251,22	252,44
M9			231,35	182,19

U: Ulukale, E: Elazığ, M: Malatya

B-2.2 Sumak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

Sumak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Çizelge B.4'te verilmiştir.

Çizelge B.4 Sumak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı

DENEY NO	ÇÖZÜCÜ CİNSİ	SÜRE (dk)	TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI (mg GA/g kuru sumak) (ULTRASONİK YÖNTEM)	TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI (mg GA/g kuru sumak) (GELENEKSEL YÖNTEM)
SM1	SAF SU	15	1057,65	1100,04
SM2		30	1964,07	2084,47
SM3		60	2152,53	3459,56
SM4	ETANOL	15	893,97	1064,36
SM5		30	1396,92	1936,57
SM6		60	2231,01	3665,99
SM7	METANOL	15	788,52	1346,35
SM8		30	1703,07	2600,32
SM9		60	2701,97	3709,06

SM: Sumak, Midyat

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif IRMAK

Doğum Tarihi ve Yeri : 14.07.1994, Çorlu

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : elif_7856@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Fen Bilimleri	Mehmet Akif Anadolu Lisesi	2012