ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZİNCAN KİRAZI (*Cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı) SAP VE TOHUM KISIMLARININ ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Fatih TOZOĞLU

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

KİMYA
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
2011

Her Hakkı Saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında, Fatih TOZOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 01/08/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. İlhami GÜLÇİN imza :

Üye : Doç. Dr. Taha Abdülkadir ÇOBAN imza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL imza :

Yukardaki sonucu onaylarım.

.....

Doç.Dr. Çetin DOĞAR

Enstitü Müdür V.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ERZİNCAN KİRAZI (*Cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı) SAP VE TOHUM KISIMLARININ ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Fatih TOZOĞLU

Erzincan Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

Bu çalışma Erzincan Kirazı'nın (*Cerasus Erzincanica;* Ş.Yıldırımlı) sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktivitesini incelemek amacı ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bitki Erzincan ili Kemah ilçesinin Doğanbeyli köyünden toplandı, kurutuldu ve etanol ekstreleri hazırlandı. Hazırlanan etanol ekstreleri üzerinde ferrik tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite, kuprak metodu ile Cu^{2+} ve potasyum ferriksiyanat indirgeme metodu ile Fe^{3+} iyonları indirgeme kapasitesi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) giderme aktivitesi tayinleri ve toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktar tayinleri yapıldı. Erzincan Kirazı'nın (*Cerasus Erzincanica;* Ş.Yıldırımlı) sap ve tohum kısımlarından elde edilen 30 µg/mL konsantrasyonluk etanol ekstrelerinin linoleik asit emülsiyonunun lipit peroksidasyonunu sırasıyla %38,4 ve %10,2 inhibe ettiği gözlendi. Aynı konsantrasyonda bütüllenmiş hidroksi toluen (BHT) %72,8 ve troloks %25,9' luk bir inhibisyona sebep oldu. Toplam fenolik ve flavonoit içeriği tohum kısımlarından daha fazla olduğu tesbit edilen bitkinin sap kısımları yine daha yüksek DPPH giderme ve metal indirgeme aktivitesi sergiledi. Etanol ekstiresi çıkarılan Erzincan Kirazı (Cerasus Erzincanica*;* Ş.Yıldırımlı) sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktiviteleri araştırılırken, butillenmiş hidroksi toluen (BHT), etilenediamin tetraasetik asit(EDTA), α-tocopherol ve onun suda çözünen bir analoğu olan troloks referans antioksidan bileşikleri olarak kullanıldı.

2011, 51 sayfa

Anahtar Kelimeler: Erzincan Kirazı, *Cerasus erzincanica,* Antioksidan aktivite, Metal indirgeme.

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF THE ANTIOKSIDANT ACTIVITIES OF STEM AND SEED PARTS OF ERZINCAN CHERRY (C*erasus erzincanica*, Ş.YILDIRIMLI)

Fatih TOZOĞLU

Erzincan University
Faculty of Sciences and Arts
Department of Chemistry

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

This study is aimed at examine the antioxidant activities of stem and seed parts of Erzincan Cherry (*Cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı). For this purpose, the plants were collected in Doğanbeyli which is the village of Kemah, a town of Erzincan province, and they were dried and ethanol extractions were prepared. On prepared ethanol extraction total antioxidant activity was determined by ferroccyanate reduction method; Cu^{2+} and potassium ferric thiocyanate were determined by Cuprac method; was determined by reduction method capacity of Fe^{3+} ions; the activitiy of scavenging of 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) was determined; the total amont of the compounds of phenolic and flavonoid was determined. It was observed that 30 µg/mL concentrated of ethanol extracts obtained from stem and seed parts of Erzincan Cherry (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) inhibited the lipid peroxidation of linoleic acid emulsion as 38, 4 % and 10, 2 % respectively. In the same concentration, butylated hydroxy toluen and trolox caused inhibitions of 72, 8 % and 25, 9 %, respectively. Stem parts of the plant in which it was detected that the content of total phenolic and flavonoid were much more than those in seed parts still displayed higher DPPH scavenging and metal reduction activity. Butylated hydroxy toluen(BHT), ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA), α-tocopherol and an analoge of its which is the solved in water, nomely Trolox were used as reference antioxidant compounds, while the antioxidant activity of stem and seed parts of Erzincan Cherry(*Cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı) plant whose ethanol extractions were taken out were being examined.

2011, 51 pages

Keywords: Erzincan Cherry, *Cerasus Erzincanica*, Antioxidant activity, Metal reduction.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımda her türlü desteği sağlayan, maddi manevi ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL'a, maddi manevi yardımlarını esirgemeyen Kimya Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR' a, Kimya bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr Osman ÇUBUK'a, Biyoloji bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa KORKMAZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca kimyasal malzeme temininde bizlere göstermiş olduğu yardımlardan dolayı. Sayın Doç. Dr. İlhami GÜLÇİN'e, bitki hakkındaki calışmalarından ve bize yardımlarından dolayı Sayın Prf. Dr. Şinasi YILDIRIMLI' ya şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Mesut IŞIK, Emrah DİKİCİ ve Kimya Bölümü araştırma görevlisi Sayın Ekrem ADIGÜZEL'e minnettarım.

Her aşamada yanımda olan ailemin her türlü desteğinden dolayı kendilerine şükranlarımı sunarım.

Fatih TOZOĞLU
Ağustos, 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ vi
ŞEKİLLER LİSTESİ viii
TABLOLAR LİSTESİ iv
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 17
3. MATERYAL ve YÖNTEM 19
3.1. Materyal 19
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler 19
3.1.2. Yararlanılan malzeme, alet ve cihazlar 19
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması 20
3.1.3.a. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler 20
3.1.3.b. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler 20
3.1.3.c. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler 20
3.1.3.d. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti tayini ile iligili çözeltiler 21
3.1.3.e. Kuprak metoduna göre idirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler ..21
3.1.3.f. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler 22
3.2. Yöntem 23
3.2.1. Erzincan Kirazı (*cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı*)* bitkisini sap ve tohum kısımlarının toplanması ve kurutulması 23
3.2.2. Erzincan Kirazı (*cerasus erzincanica;* Ş.Yıldırımlı*)* bitkisini sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin hazırlanması 23
3.2.3. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini 23
3.2.4. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini 24
3.2.5. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini 25
3.2.6. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti tayini 26

3.2.7. Kuprak metoduna göre idirgeme kapasitesi tayini 26
3.2.8. DPPH• serbest radikallerini giderme aktivitesi tayini 27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....28
4.1. Antioksidan Araştırma Bulguları.....28
4.1.1. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini bulguları 28
4.1.2. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayini bulguları.....29
4.1.3. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini bulguları 31
4.1.4. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti bulguları 32
4.1.5. Kuprak metodu ile ilgili bulgular 33
4.1.6. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi bulguları 34
4.2.Tartışma. 36
5. SONUÇ.....40
6. KAYNAKLAR 41
7. ÖZGEÇMİŞ 51

Simgeler

%	Yüzde Değer
^{o}C	Santigrat derece
α	Alfa

Kısaltmalar

BDE	Bağ Disosiyasyon Enerjisi
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH•	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türleri
R•	Organik Radikali
ROO•	Peroksit Radikali
RO•	Alkoksi Radikali
RS•	Tiyil Radikali
RSO•	Sülfenil Radikali
RSO_2 •	Tiyil Peroksit Radikali
OH•	Hidroksi Radikali
IP	İyonizasyon Potansiyeli
TBHQ	Tersiyerbütilhidrokinon
PG	Propil Galat
POD	Peroksidaz
GSSG-Rx	Glutatyon Redüktaz
GAE	Gallik Asit Ekivalent
SO	Süperoksit Dismutaz
$O_2^{\cdot -}$	Süperoksit Radikali

QE	Kuarsetin Ekivalent
L	Lipit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması (Gülçin, 2002). 10
Şekil 2. α-Tokoferolün lipit serbest radikallerini söndürdükten sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi (Gülçin, 2002). 12
Şekil 3. Önemli bir antioksidan olan β-karotenin yapısı (Köksal, 2007)..... 13
Şekil 4. Doğal bir antioksidan olan α-tokoferol ve onun suda çözünen analoğu olan troloksun kimyasal yapıları (Köksal, 2007). 14
Şekil 5. . Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı)..... 10
Şekil 6. Standart bir fenolik bileşik olan ve aynı zamanda kuvvetli antioksidan olan galik asitin açık yapısı (Köksal, 2007). 28
Şekil 7. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için galik asit ile hazırlanan standart grafik 29
Şekil 8. Standart ve kuvvetli bir antioksidan olan kuersetinin açık yapısı (Köksal, 2007). 29
Şekil 9. 10-50 µg arasında kuarsetin kullanılarak toplam flavonoit bileşik miktarı tayini için hazırlanan kuersetinin standart grafiği 30
Şekil 10. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin 10 µg/mL deki konsantrasyonda toplam antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT ve troloks ile karşılaştırması..... 31
Şekil 11. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması..... 32
Şekil 12. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10–30 µg/mL) kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması 33
Şekil 13. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi (Gülçin, 2002) 34

Şekil 14. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarda (10–30 μg/mL) DPPH radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması 35

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Bazı önemli reaktif oksijen türleri 4
Tablo 2. Bazı önemli reaktif azot türleri 5
Tablo 3. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin 1 mg'ında bulunan toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarının ekivalent olarak miktarları 40

1. GİRİŞ

Metabolizmada endojen kaynaklı birçok reaktif oksijen türü ve serbest radikaller oluşmaktadır. Bu reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller aynı zamanda hücrelerarası iletişim görevi de yaparlar. Fakat bunların aşırı miktarda oluşması oksidadif stres, erken yaşlanma, hücre fonksiyonlarının ve biyokimyasal moleküllerin yapılarının bozulması ile beraber pekçok patolojik rahatsızlıkların oluşmasına sebep olur (Nordberg and Arner, 2001). Bu olumsuzlukların başlıca sebebi serbest radikaller ve onların olumsuz etkileridir.

Serbest radikaller ile ilgili çalışmalar Gomberg'in 1900'lü yıllarda trifenilmetil radikalinin ($Ph_3C^{\cdot}$) varlığını ispatlamasıyla başladı. Radikallerin aktiviteleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle radikal olmayan türlerden daha az kararlıdırlar. En basit serbest radikal, bir proton ve bir elektron ihtiva eden hidrojen atomudur. Hemen her radikal türü diğer bir radikali veya molekülü farklı bir mekanizma ile etkileyebilir. Bu tür etkileşimlerin seçiciliği, radikallerin konsantrasyonuna, radikalde bulunan ortaklanmamış elektronların delokalizasyonuna ve radikallerin etkileştiği moleküllerin zayıf bağlar içermesine bağlıdır (Uğuzlar, 2009; Weiss, 1935; Waters, 1943; Hey, 1973; Cadogan, 1973; Moad, 1995; Perkins, 1996).

Ortaklanmamış tek elektronlu atomik ya da moleküler yapılar olarak tanımlanan serbest radikaller başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilirler. Serbest radikaller eşleşmemiş elektronlarından dolayı kimyasal olarak çok aktiftirler ve ortamdaki diğer biyomoleküllere saldırarak onların biyolojik yapılarını bozarlar (Fantel, 1996; Temple, 2000). Serbest radikaller yaşam için gereklidirler, elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde görev alırlar. Bununla beraber eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Ayrıca 1954'lerde serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğunu tesbit etmişlerdir. Çoğu elektronlar çift halde bulunurken, serbest radikal bu elektronları birbirinden ayırır. Sonuçta serbest radikal etki ettiği atom ya da molekülü serbest radikal yapar (Nelson and Cox, 2004; Gülçin,

2007). Bu etkileşimler sonucunda oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri oluşabilmektedir (Çavdar vd., 1997). Reaktif oksijen türleri ve diğer türevleri reaktivitesi yüksek moleküllerdir. Proteinler, lipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerek fonksiyon azalmasına ya da bu maddelerin yok olmasına sebep olabilirler. Bu etkilerinden dolayı bunlara reaktif oksijen türleri (ROS, Reactive Oxygen Species) denmektedir (Halliwell, 1996).

Metabolizmadaki serbest radikallerin en büyük kaynağı reaktif oksijen türleridir. Reaktif oksijen türlerinin oluşma kaynakları iç kaynaklı olarak elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reasiyonları gibi metabolik proseslerken, UV ışınları, radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, yanlış beslenme, kanserojen maddeler en önemli dış kaynaklarıdır. Bunlar serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları olarak bilinir (Aksoy, 2002). Oksijen insanların hayatlarını devam ettirebilmeleri için çok önemli bir moleküldür. Fakat oksijenin eksik indirgenmesi sonucu hücreye zarar veren ROS'lar oluşmaktadır (Davies, 2000).

ROS, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\Delta g\ ^1O_2$) ve hidroksil radikali (OH•) gibi yapılardır. ROS, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R•), peroksit radikalleri (ROO•), alkoksi radikalleri (RO•), tiyil radikalleri (RS•), sülfenil radikalleri (RSO•), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2•) gibi çesitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Dawn vd., 1996; Akkus, 1995; Tietz, 1995; Burtis and Ashwood, 1999).

ROS insan vücudunda normal metabolik prosesler sonucunda sürekli olarak üretilmektedir (Langseth, 1995). Birçok fizyolojik proseste önemli bir rol oynayan ROS, vücuttaki birçok oksidatif biyokimyasal reaksiyonun başlıca yan ürünü olduğu ve biyolojik moleküllere etki ederek çeşitli hastalıklara neden olan hücre ya da doku

hasarına yol açtığı bilinmektedir (Whitehead vd., 1992; Hoffmann and Garewal, 1995; Yen and Chen, 1995).

Yüksek indirgeme potansiyeline sahip elektronlar, mitokondri iç membranında elektron transport sistemi ile moleküler oksijene (O_2) transfer edilir. Mitokondrial elektron transport sisteminde, elektronların O_2'ye transferi sırasında oksijenin kısmi indirgenmiş ürünleri oluşur. Bu ürünler çok reaktif yapıdadır ve biyomoleküllerin yapılarına girerek geri dönüşümsüz hasarlara sebep olurlar (Keha and Küfrevioğlu 2000). Bu reaktif oksijen türlerinden $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2, $OH^{\bullet}$ oluşum reaksiyonları aşağıda verilmiştir.

$$O_2 \xrightarrow{e^-} O_2^{\bullet -} \xrightarrow{e^-} H_2O_2 \xrightarrow{e^-} OH^{\bullet} \xrightarrow{e^-} H_2O$$

$$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Süperoksit dismutaz}} H_2O_2 + O_2$$

Ayrıca H_2O_2 reaktif bir ürün olan hipokloröz asiti (HOCl) oluşturmaktadır (Keha and Küfrevioğlu, 2000; Asad vd., 2004).

$$H^+ + Cl^- + H_2O_2 \longrightarrow HOCl + H_2O$$

Hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$); lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere çok güçlü bir şekilde saldırarak oksitleyip yapılarında kalıcı hasarlar bırakan ve yarı ömrü 10^{-9} saniye gibi çok kısa olan bir reaktif oksijen türüdür. $OH^{\bullet}$, H_2O_2 indirgenmesi sonucunda açığa çıkar. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak adlandırılan bu tepkimeler aşağıda gösterilmiştir (Fantel, 1996; Halliwell, 2000; Nordberg and Arner, 2001).

Fenton reaksiyonları:

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{3+}$$

$$H_2O_2 + Cu^{+} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Cu^{2+}$$

Haber-Weiss reaksiyonu:

$$H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \xrightarrow{H^+} OH^{\bullet} + O_2 + H_2O$$

Ayrıca hidrojen peroksitin UV ışınlarının etkisiyle $OH^{\bullet}$ dönüştüğü bilinmektedir.

$$H_2O_2 \xrightarrow{UV} 2OH^{\bullet}$$

Metabolizmada $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2 ve $OH^{\bullet}$'den başka ROS ile RNS de vardır. Bu radikal ve reaktif türlerden bazıları Tablo 1 ve Tablo 2 de gösterilmiştir (Aruoma and Cuppett 1997).

Tablo 1. Bazı önemli reaktif oksijen türleri

Radikaller	**Formülü**	**Nonradikaller**	**Formülü**
Süperoksit	$O_2^{\bullet -}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksi	OH•	Hipokloröz asit	HOCl
Peroksi	ROO•	Hipobromöz asit	HOBr
Alkoksi	RO•	Ozon	O_3
Hidroperoksi	HOO•	Singlet oksijen	$^1\Delta g\ ^1O_2$

Tablo 2. Bazı önemli reaktif azot türleri

Radikaller	**Formülü**	**Nonradikaller**	**Formülü**
Nitrik oksit	NO•	Nitröz asit	HNO_2
Azot dioksit	NOO•	Nitrozil katyonu	NO^+
		Nitroksi anyonu	NO^-
		Diazot tetraoksit	N_2O_4
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitröz asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Alkilperoksi nitritler	ROONO

ROS tarafından en fazla etkilenen molekülün, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Organizmada yeterli miktarda reaktif atom ya da molekül varlığında lipit peroksidasyonu kolaylıkla başlar. Oksijenin sebep olduğu lipit oksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur (Aruoma and Cuppett, 1997). Lipit peroksidasyonu, hücrenin hayati fonksiyonları için de önemlidir (Davies, 2000). Ayrıca zamanla arterlerde yağ birikmesi sonucu bu kısımların daralması ve sertleşmesi olayı olarak bilinen aterosklerozisin gelişmesinde lipit peroksidasyonunun katkısı oldukça büyüktür (Devaraj and Jialal, 1998; Kaul vd., 2001; Heinecke, 2002).

ROS lipidler üzerindeki etkileri lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Serbest radikallerin etkileri üzerindeki araştırrmaların en kapsamlısı ve en iyi tanımlanmış etkileri lipitler üzerinedir. Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve membranda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Çünkü yağ asitleri radikallerden hızlıca etkilenebilen, kolay ulaşılan bir hedef durumundadır. Lipitlerde ki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu radikal zincir reaksiyonuna sebep olur. Lipitlerin peroksidasyonu

sonucu karbonil ve alken gibi hücrelere zararlı birçok bileşiğin oluşmasına yol açar. $O_2^{\bullet -}$, OH•, ROO• lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerdir. (Kneepkens, 1994; Loecke, 1999).

Yağ asitlerinin oksidasyonu metilen karbonundan hidrojen atomunun çıkarılması ile başlar ve yağ asidi radikali ($L^{\bullet}$) oluşur. İlerleme aşamasında yağ asidi radikaline hızlı bir sekilde oksijen eklenerek peroksil radikali ($LOO^{\bullet}$) oluşur. Lipit peroksil radikalleri zincir reaksiyonlarının başlatıcılarıdır. Bunlar diğer çoklu doymamış yağ asidi moleküllerinden hidrojen atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar. Sonlanma aşamasında ise lipit hidroperoksitleri yıkılarak daha reaktif radikal türleri oluşturur. Peroksi radikaller ayrıca siklo endoperoksitleri de oluşturabilmektedir. Ortamda bulunan demir ve bakır tuzları lipid hidroperoksitlerinin yıkılımını hızlandırır ve oluşan peroksi ve alkoksi radikalleri ise lipit peroksidasyonlarını uyarırlar (Kneepkens, 1994; Loecke, 1999).

Proteinler de lipitler gibi oksidatif hasardan etkilenirler. Proteinlerin oksidasyonu genellikle $OH^{\bullet}$ tarafından başlatılır ve sürecin seyri oksijen, süperoksit ya da onun protonlanmış hali olan $HO_2^{\bullet}$ tarafından belirlenir (Berlett and Stadtman, 1997). Diğer reaktif türler de protein oksidasyonunda yer alabilirler (Dalle-Donne vd., 2003). Reaktif oksijen türleri amino asit rezidülerinin yan zincirlerini de oksitleyebilir. Bu şekilde istenmeyen protein-protein etkileşimleri oluşabilir ve proteini parçalayabilecek şekilde protein iskeletini oksitleyebilirler. Benzer oksidatif hasarlar serbest geçiş metal iyonlarının varlığında da meydana gelmektedir (Berlett and Stadtman, 1997; Stadtman, 2002). Özellikle protein yan zincirlerinde bulunan prolin, arginin, lisin ve treonin amino asitleri oksitlendiği zaman aldehitler ve ketonlarda olduğu gibi karbonil grupları oluşur ve bu gruplar kimyasal olarak kararlıdırlar (Dalle-Donne vd., 2003). Ayrıca kanser çeşitleri, parkinson ve alzheimer gibi birçok dejeneratif hastalığın DNA'nın oksidatif hasarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Evans vd., 2004).

Serbest radikallerin aşırı oluşumu metabolizma için tehlike oluşturur. Ancak vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için de gereklidirler. Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini, vücudu saran organizmaları yok ederek arttırır. Buna karşın fazla üretildiğinde metabolik hasara neden olarak birçok hastalığa yol açar. Serbest radikallerin hücrelerde protein, lipit, karbonhidrat ve nükleik asitler üzerinde önemli etkileri vardır. Proteinlerin karbonil türevleri ve oksidasyon ürünleri amino asit yan zincirlerinin modifikasyonuna sebebiyet vermektedir. Proteindeki karbonil gurupları serbest radikallerin açık hedefi durumundadır. Serbest radikaller peptit bağlarını koparabilir, hücre membranında bulunan proteinleri yıkarak hücrenin ölümüne sebep olabilirler. Enzimler de protein yapısında olduğu için serbest radikallerden etkilenerek fonksiyonları bozulabilir. Örneğin hücredeki iyon transportunu bozarak hücrenin membran potansiyeline hasar verebilirler (Loecke, 1999).

Hücrede ROS ve RNS'nin aşırı miktarda oluşmaları "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu olay, tüm hücre bileşenleri (karbonhidratlar, proteinler, yağlar) üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Aynı zamanda OH• başta olmak üzere birçok serbest radikal, genetik materyal olan DNA'daki nükleik asit bazlarının değişimine ve DNA zincirinde kırılmalara neden olarak kanser oluşumu, hücresel yaşlanma ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatabilirler (Boğa, 2007). Olumsuz etkilenen bu sistemler, diğer periferik sistemleri de etkiler. Bu durum antioksidan sistem tarafından sonlandırılıncaya kadar zincirleme olarak devam eder. Aksi durumda bu reaktif türler hücrenin doğrudan ya da dolaylı olarak ölümüne sebep olur (Moldovan, 2004).

Serbest radikallerin zararlarının engellenmesinde antioksidanların rolü; aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek oksidasyonun tetiklediği hasarları hücresel bazda engellemek, dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktır. Antioksidanlar, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerini gidererek onların zararlı etkilerini engelleyen moleküllerdir (Halliwell, 1996; Stadtman, 2002).

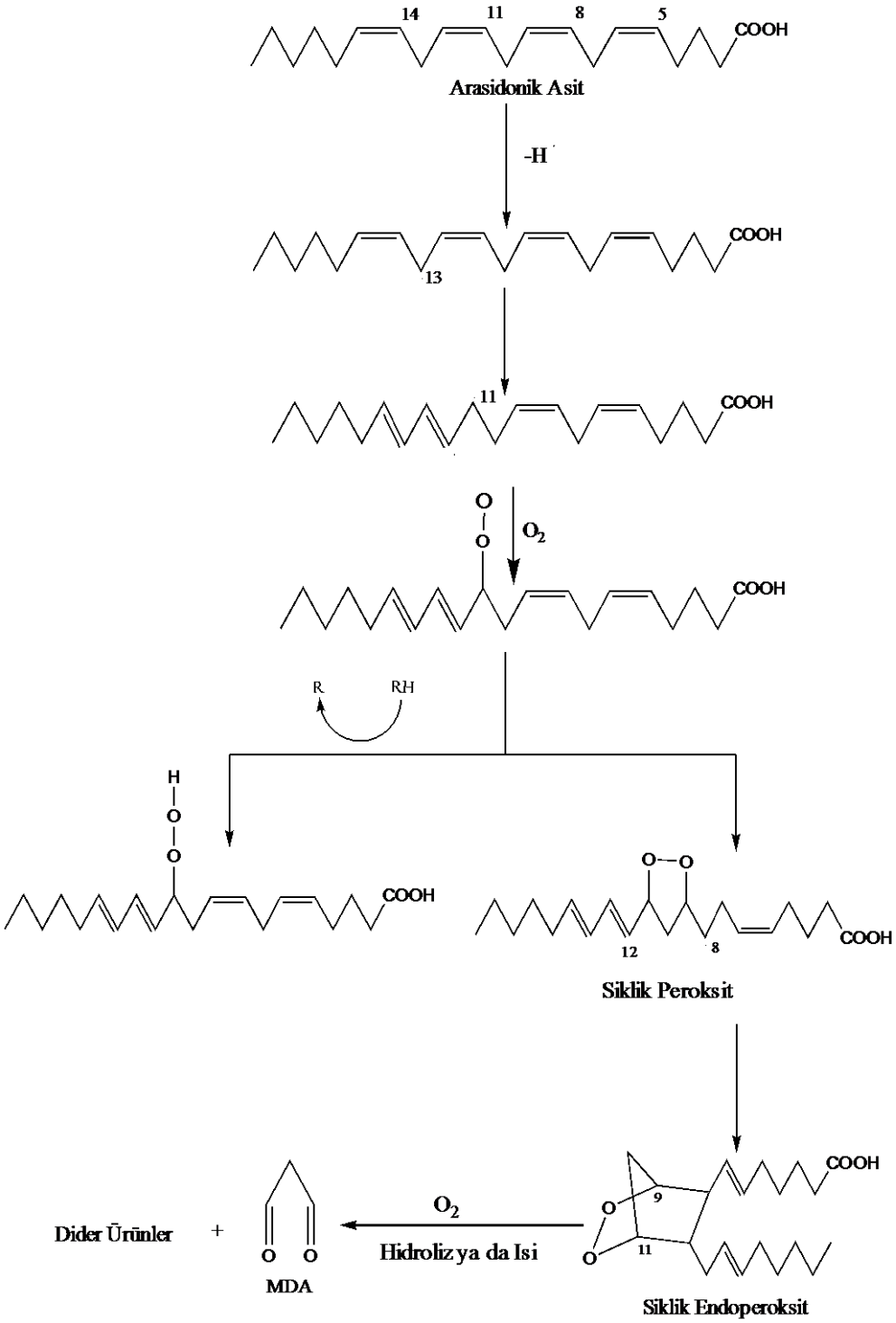
Antioksidanlar; vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıda yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar, vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoitler, karotenoitler ve polifenollerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır (Miller and Paganga, 1997).

Dış kaynaklı antioksidan maddeler doğal ve sentetik antioksidanlardan oluşmaktadır. Sentetik antioksidanlar genellikle gıda sektöründe, gıdaların raf ömrünün uzatılması amacı ile kullanılır. Gıda maddelerinde, peroksidasyon prosesini geciktirmek veya önlemek ancak antioksidan bileşiklerin ilavesiyle mümkün olmaktadır. Bu ise pahalı bir metottur. Gıda maddelerinin bozulmalarını engellemek için yıllardan beri sentetik antioksidan olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve *tersiyer*-bütilhidrokinon (TBHQ) kullanılmaktadır. Fenolik bileşik olmaları, onların etkili birer antioksidan olmalarını sağlar. Maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlar yirminci yüzyılın başlarından beri kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına dair ciddi sınırlama veya yasaklar getirilmiştir (Haigh, 1986; Van, 1986). Sentetik antioksidanlar hakkındaki bu şüpheler, doğal antioksidanlara olan eğilimi artırmış ve bu alandaki çalışmalar ise bitki kaynaklı antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Doğal kaynaklı E ve C vitamini uzun yıllardır besinlerde ayrı ayrı veya sinerjist etkiden dolayı birlikte antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak tokoferol ve askorbik asidin antioksidan aktivitesi nispeten sentetik antioksidanlardan daha düşüktür (Nishina, 1991). Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıl ve baklagillerde, meyvelerde, şifalı bitkilerde ve bitki kaynaklı içeceklerde bol miktarlarda bulunur (Foo and Porter, 1981; Namiki, 1990).

Antioksidan yapılar gıdalarda doğal olarak bulundukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla da kullanılır. Bu yapılar besinlerin acılaşmasını, çürümesini geciktirici özelliğe sahip bir

grup kimyasaldır. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların, tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır. Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen bitkisel maddelerdir (Keskin and Erkmen, 1987). Bu bileşikler oksidatif düzende farklı şekillerde davranırlar. Örneğin oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri giderici özelliğini kullanarak zincir reaksiyonların başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar (Shahıdı, 1996).

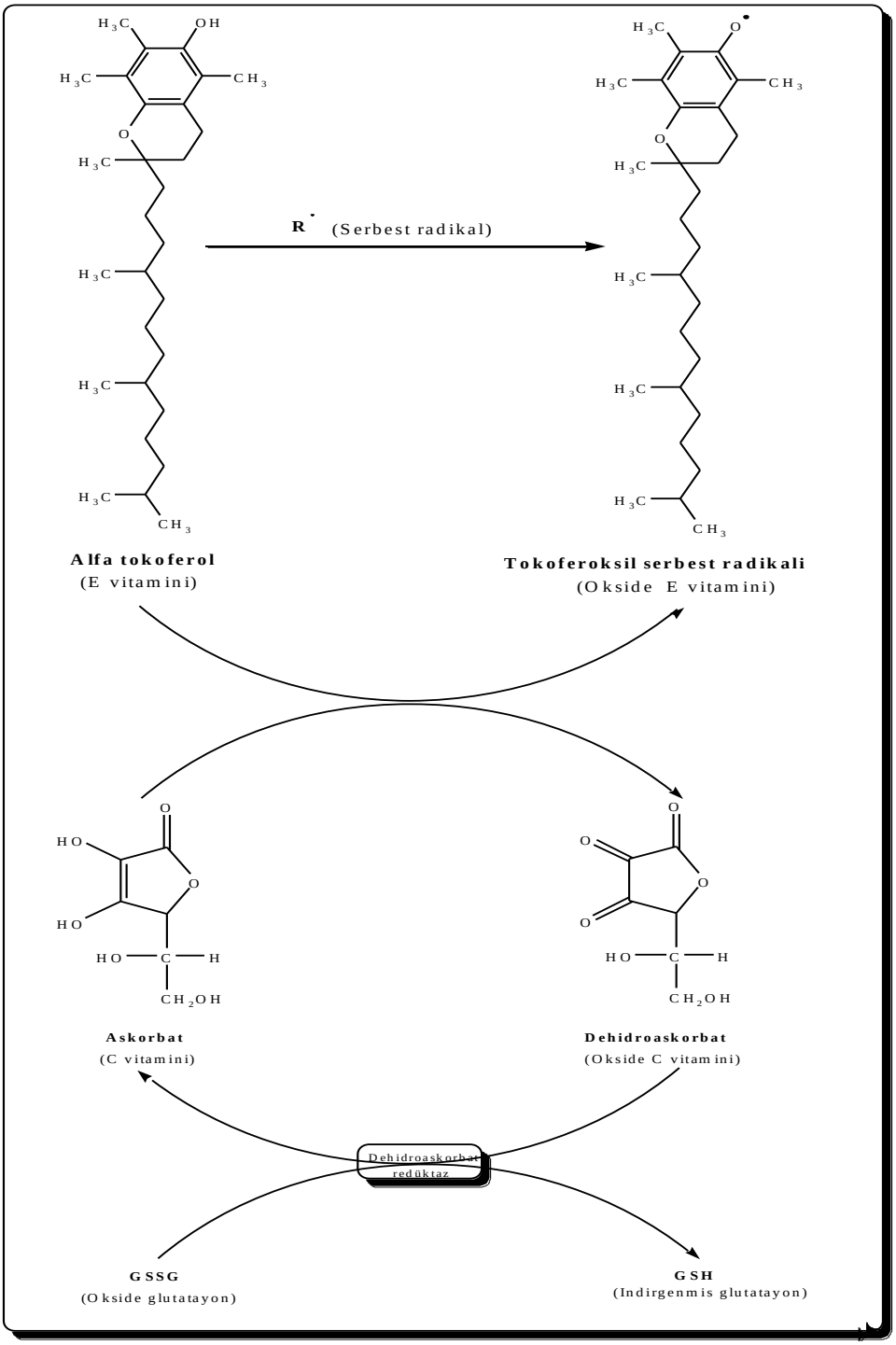
Zincirleme reaksiyon teorisine göre, oksijen ile otookside olabilen madde, oksijenle birleşmektedir. Bu şekilde meydana gelen etkinleşmiş peroksit radikal ve molekülleri, enerjilerini maddenin yükseltgenebilen diğer molekülerine aktarmaktadır. Böylelikle besinlerdeki otooksidasyon devam etmektedir. Antioksidanlar bu zincir reaksiyonunu koparıcı rolü oynarlar. Yani bu bileşikler aktivasyon enerjisini kabul ederler, ancak bu enerjiyi başka moleküllere aktaramazlar. Bu şekilde, bir antioksidan molekülünün araya girmesiyle otookside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulur (Keskin and Erkmen, 1987).



Şekil 1. Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması (Gülçin, 2002).

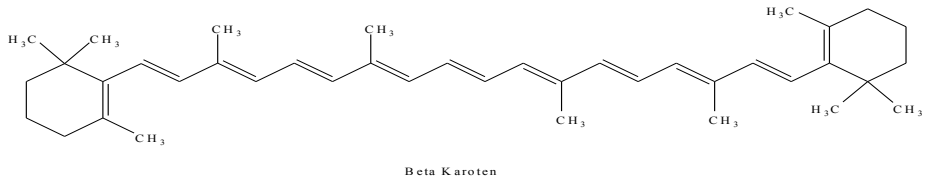
Antioksidanlar yükseltgenebilen maddeler olduğundan zincirleme reaksiyonu koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri onların serbest radikal yutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir. Bir antioksidanın aktivitesi radikal süpürme yeteneği, hidrojen veya elektron donör aracı olarak göstermiş olduğu reaktivite (redüksiyon potansiyeline bağlı olan), metal şelatlama potansiyeli, diğer antioksidanlarla olan etkileşime bağlıdır (Miller and Paganga, 1997).

Antioksidanların en önemlileri fenol grubu içerenler ve bunların dihidroksi türevleridir. Bu yapıların temel örneği hidrokinon olup tersinir olarak kinona yükseltgenir. Yalnız *orto* ve *para* polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değilken yerdeğişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları *orto* ve *para* hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler. Örneğin, susam yağında bulunan sesamol bir tek OH grubuna sahip olduğu halde, bu grup oksijenlerden birine göre para pozisyonunda olduğundan, antioksidandır. Bazı flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanlardan bir diğer grubu, tokoferoller yani E vitaminleri oluşturur. Antioksidan özelliği en fazla olan ise α-tokoferoldür. Sentetik antioksidanlardan fenolik yapıda olanlar propil gallat, oktil gallat, dodesil gallat, nordihidroguayaretik asid (NDGA), (BHA), (BHT), (TBHQ) dur (Keskin and Erkmen, 1987).



Şekil 2. α-Tokoferolün lipit serbest radikallerini söndürdükten sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi (Gülçin, 2002).

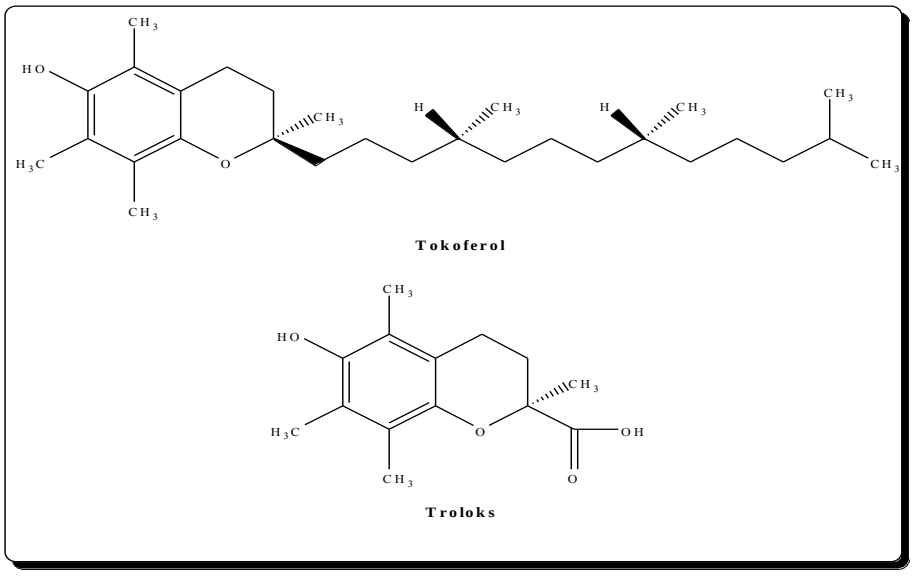
Aromatik amino antioksidanlar da genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino gruplar ile yer degiştirmiştir. Bunlardan biri para izo butil amino fenol dur (Keskin and Erkmen, 1987). Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlar; elektron vererek serbest radikal zincir reaksiyonunu kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksit oluşumunu engellerler.



Şekil 3. Önemli bir antioksidan olan β-karotenin yapısı (Köksal, 2007).

Tokoferoller, flavonoitler, alkali gallatlar, BHA, BHT ve TBHQ antioksidanların en önemlileridir (Keskin and Erkmen, 1987). Bunlar oksidasyon hızını azaltabilen bileşiklerdir. Etki mekanizmaları metal iyonlarını şelatlamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, UV ışınlarını absorblamak veya oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklindedir. Bu antioksidanlar 'antioksidan sinerjistler'dir. Tek başlarına bulundukları ortamlarda antioksidan etkileri çok düşüktür veya hiç göstermezler. Ancak ortamda başka antioksidan madde bulunursa yalnız olarak gösterdikleri etkiden daha çok etkili olurlar. Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran maddelere *sinerjist* denir. Askorbik asid, birçok aminoasit, polifosfatlar ve tartarik asit gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırırlar (Keskin and Erkmen, 1987). Besin fenolikleri; flavonoitleri, fenolik asitleri ve fenolik polimerleri içerir. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Bitki polifenolleri multifonksiyonel bileşikler olup, indirgeme aracı, hidrojen atom-donör antioksidanlar ve singlet oksijen söndürücü olarak, bazıları metal iyonu şelatlama özelliklerine sahip antioksidanlar olarak davranırlar (Miller and Paganga, 1997).

Bir polifenolün antioksidan olarak tarif edilebilmesi için şart, okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulunduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya önleyebilmesidir (Halliwell, 1990).



Şekil 4. Doğal bir antioksidan olan α-tokoferol ve onun suda çözünen analoğu olan troloksun kimyasal yapıları (Köksal, 2007).

Antioksidan maddelerin işleyiş mekanizmaları radikalik zincir reaksiyon mekanizmasına göre enerji emilimi ile aktive edilen madde, oksijenle birleşerek okside olmakta ve bu şekilde meydana gelen aktiflenmiş peroksit molekülleri, enerjilerini maddenin okside olabilen başka moleküllerine aktararak otoksidasyona devam etmektedir. Antioksidanların kullanımı ile aktivasyon enerjisini antioksidan molekülü kullanmakta, bu enerjiyi başka moleküllere aktaramamaktadır. Antioksidan molekülünün araya girmesiyle otooksidasyona uğrayan maddenin birçok molekülü oksidasyondan kurtulmaktadır. Aşağıda antioksidan maddenin çalışma mekanızması görülmektedir.

$$R + \text{enerji} \rightarrow R\cdot (\ R\cdot : \text{Radikal})$$

$$R\cdot + O_2 \rightarrow RO_2\cdot$$

$$RO_2\cdot + AH \rightarrow ROOH + A\cdot \text{ veya } RO\cdot + AH \rightarrow ROH + A\cdot$$

$$RO_2 + A\cdot \rightarrow ROOA$$

Aktif antioksidanın molekülü (A•) enerjisini radikal moleküllerine aktarmamakta, genellikle inaktif moleküllere okside olmaktadır

(AH: Antioksidan molekül, A· : Aktif antioksidan molekülü, AO: İnaktif antioksidan molekülü).

Antioksidan maddelerin bu önemli görevlerinden yola çıkarak Erzincan yöresine has bir meyve çeşidi olan Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) nın sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktiviteleri araştırıldı.

1981 yılında yapılan bir gezi çalışmasında Prof. Dr. Şinasi YILDIRIMLI, Doğuanadolu bölgesinde Erzincan yöresinde yetişen bir kiraz türü bulmuştur. Önceleri bu türün diğer kiraz türleri ile aynı olduğu düşünülmüş fakat daha sonra yapılan çalışmalar ve verilerin değerlendirilmesi ile bu kiraz türünün farklı olduğu tesbit edilmiştir. Farklılıkları fiziksel özellikleri ile tesbit edildiği gibi genetik özellikleri ilede tesbit edilmiştir. Dış görünüşü itibariyle şeftali ve kaysı renk tonuna yakın bir kiraz türüdür. Bu kiraz türü bu bölgeye has olmakla beraber dünyada tektir. Bu türün dünyada tek olmasından dolayıda ismi literatüre *Cerasus erzincanica* diye geçmiştir (Yıldırımlı, 1993).



Şekil 5. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı).

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Kirazın antioksidan aktivitesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan, NaCl ve $CaCl_2$ tuzlarının antioksidan aktiviteye etkilerinin incelendiği çalışmalar dikkat çekmiştir (Chatzissavvidis vd., 2008). Kiraz ve kiraz aromalarındaki terpenoit alkoller, glikozitler ve diğer aromatik yapılar incelenmiştir (Daenen, 2008). Antioksidan aktivite çalışamaları kiraz yetiştirticiliğinde bilimsel çalışmaları artırmıştır. Ayrıca kiraz fidesi yetiştirici konusunda önemli çalışmalar yapılmıştır (Magyar and Hrotko, 2008).

Kiraz hakkında yapılan yetiştiricilik çalışmalarına ek olarak, kirazın genetik yapısı hakkında çalışmalar yapılmışdır. Bu çalışmalar daha çok Avrupa kıtasındaki kiraz çeşitleri üzerinde yoğunlaşmıştır (Horvath vd., 2008). Ayrıca yapılan bu çalışmalarla birlikte antioksidan aktivite gösteren kirazların yeşil ve kırmızı durumlarındaki hücre duvarı yapıları da incelenmiş, sağlamlıkları test edilmiştir (Kovacs vd., 2008). Ayrıca kiraz bitkisi bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Kiraz bitkiside bu tedavilerde kullanmak için deneysel olarak test edilmiştir (Dianiskova vd., 2008).

Japonyada farklı adalarda kiraz türlerinin farklı yapısal özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Tsuda vd., 2009). Bununla beraber Hırvatistan'ın Adriyatik Denizi kıyısında yer alan bölgenin kuzeyinde önemli bir Hırvat kültür bitkisi olan kirazın dondurulduktan sonraki antioksidan aktivitesine bakılmış ve aktivitede fazla bir kaybın olmadığı bulunmuştur (Pedisic vd., 2008).

Kiraz sapı üzerinde farklı bir diğer çalışmada on üç gönüllü insan üzerinde yapılmış, toz kiraz sapı, bu gönüllülere içirilmiş ve uygulamadan sonra, idrardaki NaCl ve idrar potansiyeli ölçülmüştür. Her iki parametrede de artış gözlenmiş, ancak idrardaki potasyum ve idrar osmolalitesi miktarı değişmemiştir. Hiçbir yan etki gözlenmemiştir. Böylece kiraz sapı tozunun idrardaki diüretik etkisi ve idrar artırıcı özelliği doğrulanmıştır (Hooman vd., 2009).

Antioksidan özelliğe sahip olan kirazın, yetişme ve hasat zamanlarında içerdiği fenolik bileşen miktarında değişiklikler olduğu tesbit edilmiştir (Liegiute vd., 2009). Meyve suyu işletmeciğinde, antioksidan aktiviteye sahip olan kiraz kullanılmakta ve kirazın bu özelliği ile ilgili çalışmalar önem arz etmektedir (Kosmala vd., 2009).

Hırvatistanın kıyı bölgelerinde yetişen bir tür kirazın antioksidan potansiyeli fareler üzerinde test edilmiş ve faydalı sonuçlara ulaşılmıştır (Saric vd., 2009).Hırvatistanda farklı bölgelerde ve farklı renklerdeki kirazın, gösterdiği antioksidan aktivite potansiyelinin farklı olduğu tesbit edilmiştir (Pedisic vd., 2010). Kiraz için farklı kurutma teknikleri kullanılmış ve bu yöntemlerin hangisinin daha sağlıklı olduğu konusunda araştırmalar yapılmıştır (Aghbashlo vd., 2010). Bitki temelli diyet, bitkilerde bulunan doğal bileşikler sayesinde kalp hastalığı ya da kanser gibi birçok kronik hastalıkların gelişme riskini azaltığı tesbit edilmiştir (Lekli vd.,2010).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızı Munzur Florasından olan Erzincan kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) üzerinde yoğunlaştırıldı. Bu bitkinin antioksidan aktivitesi çeşitli yöntemlerle tesbit edildi ve referanslarla mukayesesi yapıldı.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), 1,1-difenyl-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (Ferrozin), linoleik asit, α-tokoferol, polioksietilensorbitan monolaurat (Tween-20) ve trikloroasetik asit (TCA) Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany'den satın alındı. Amonyum tiyosiyanat Merck'ten satın alındı**.**

3.1.2. Yararlanılan malzeme, alet ve cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1208
Derin dondurucu	: Sanyo, Japan
pH-metre	: Hanna Instrument
Hassas terazi	: Scaltec SBA 41
İnkübatör	: Elektro-Mag (0-300°C)
Otomatik pipetler	: Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
Vorteks	: Fisons, Whirlimixer
Evaporatör	: Heidolph 94200, Bioblock Scientific
Saf su cihazı	: Firstreem Calypso MK 1 Glass Still
Magnetik karıştırıcı	: Stuart Scientific
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm^{3}'lük Kuartz Küvet

3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

3.1.3.a. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini ile ilgili çözeltiler

1. % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisi: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jojede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

3.1.3.b. Toplam flavonoit miktarı tayini ile ilgili çözeltiler

1. 1 M'lık CH_3COONa çözeltisi: 8,2 g CH_3COONa alınıp bir miktar safsuda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2. %10'luk $Al(NO_3)_3$ çözeltisi: 10 mL $Al(NO_3)_3$ alınıp hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.c. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,04 M pH: 7,4 fosfat tamponu hazırlanması: 1,135 g Na_2HPO_4 alındı 180 mL destile suda çözüldü ve pH-metre kullanılarak pH'sı 7,4'e ayarlandı. Destile su ile toplam hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

2. Linoleik asit emülsiyonunun hazırlanması: 0,017 M'lık linoleik asit emülsiyonu hazırlamak için 265 μL linoleik asit 50 mL ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.

3. %3,5'luk HCl çözeltisinin hazırlanması: %37'lik HCl'den 9,46 mL alınarak 100 mL'ye destile suyla tamamlandı.

4. 20 mM $FeCl_2$ çözeltisi hazırlanması: 281 mg $FeCl_2.3/4H_2O$, %3,5'luk HCl ile çözülerek hacim aynı çözeltiyle 100 mL'ye tamamlandı.

5. %30'luk NH_4SCN çözeltisinin hazırlanması: 15 g NH_4SCN saf suda çözüldü, hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.d. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti tayini ile iligili çözeltiler

1. 0,2 M pH: 6,6 fosfat tamponunun hazırlanması: 6,24 g Na_2HPO_4 yaklaşık 180 mL destile suda çözüldü ve pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlandı. Toplam hacim 200 mL olacak şekilde destile su ile tamamlandı.

2. %1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin hazırlanması: 1,5 g $K_3Fe(CN)_6$ destile suda çözündü ve toplam hacim 150 mL'ye destile su ile tamamlandı.

3. %10'luk TCA çözeltisinin hazırlanması: 15 g TCA destile suda çözündü ve toplam hacmi 150 mL'ye destile suyla tamamlandı.

4. %0,1'lik $FeCl_3$ çözeltisinin hazırlanması: 165 mg $FeCl_3.6H_2O$ destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.e. Kuprak metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,01 M'lık $CuCl_2$ çözeltisinin hazırlanması: 47 mg $CuCl_2$ alındı ve 50 mL destile suda çözüldü.

2. $7,5x10^{-3}$ M'lık etanolik neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 78 mg Neokuprin alındı ve 50 mL etanolde çözüldü.

3. 1 M'lık CH_3COONH_4 tamponunun hazırlanması (pH: 6,5): 7,7 g CH_3COONH_4 alındı ve 80 mL saf suda çözüldü, pH-metre ile pH'sı 6,5'e ayarlandı ve toplam hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.

3.1.3.f. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili çözeltiler

1. 10^{-3} M'lık DPPH• çözeltisinin hazırlanması: 39 mg DPPH• etanolda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca etanolda manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 200 mL'ye tamamlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının toplanması ve kurutulması

Deneylerde kullanılan Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı*)* bitkisini sap ve tohum kısımları Munzur dağı etekleride Erzincanın Kemah ilçesine bağlı Doğanbeyli nahiyesinden temin edildi. Erzincan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Korkmaz tarafından teşhis edildi. Toplanan numuneler daha sonra küçük parçalara ayrıldı ve oda sıcaklığında gölgede kurutuldu. Kurutulan nümuneler antioksidan ile ilgili çalışmalarda kullanılıncaya kadar da karanlıkta ve buzdolabında muhafaza edildi.

3.2.2. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin hazırlanması

Etanol ekstresinin hazırlanması literatürde belirtildiği gibi yapıldı (Gülçin, 2005). Etanol ekstresi için blenderde öğütülmüş ve toz haline getirilmiş Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisininin sap ve tohum kısımları 20 g numuneler 1 litrelik ağzı kapalı erlenlerde numunelerin yirmi katı etanol ile (400 mL) manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen etanol ekstreleri süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzülmüş ekstreler birleştirilerek evaporatörde 40 ^{o}C'de etanol uzaklaştırıldı.

3.2.3. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı FCR ile belirlendi (Singleton vd., 1999). Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Bunun için önce bir standart grafik çizildi. Bu amaçla 25 mg gallik asit 25 mL destile

suda çözüldü ve 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden 100-600 µg gallik asit içeren çözelti erlenlere aktarıldı ve hacim destile suyla 23 mL'ye tamamlandı. Erlenlere sırasıyla 0,5 mL FCR ve 3 dakika sonra da %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 1,5 mL ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra numunelerin absorbansı 760 nm'de destile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol için numune yerine destile su kullanıldı.

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Gülçin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre değerlendirildi. Daha önce hazırlanan her bir stok çözeltiden 1 mg alındı ve vezin kaplarına aktarıldı ve hacim 23 mL'ye destile suyla tamamlandı. Karışıma 0,5 mL FCR ve 3 dakika sonra da 1,5 mL %2'lik Na_2CO_3 ilave edildi. Numuneler iki saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu süre sonunda numunelerin absorbansı saf sudan oluşan köre karşı 750 nm'de okundu. Bu işlemler üçer defa tekrarlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit ekivalent miktarı standart grafikten elde edilen aşağıdaki denklem yardımıyla bulundu. Bulgular gallik asit ekivalent (GAE) ve mikrogram olarak verildi (r^2:0,9884).

$$Absorbans_{(\lambda 760nm)} = 0{,}002 \times [Gallik\ asit] + 0{,}0025$$

3.2.4. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde bulunan toplam flavonoit bileşik miktarı Park ve arkadaşlarının yapmış olduğu metoda göre belirlendi (Park vd., 1997). Standart flavonoit bileşik olarak kuarsetin kullanıldı. Bunun için önce standart grafik çizildi. Bu amaçla 25 mg kuarsetin 25 mL destile suda çözülerek 1 mg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden 10-50 µg kuarsetin içeren çözelti deney tüplerine aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 0,1 mL (1 M) suda

hazırlanmış CH_3COOK ve 0,1 mL (%10) $Al(NO_3)_3$ çözeltilerini içeren 4,3 mL etanol çözeltisi ilave edilerek vorteksde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbansları etanolden oluşan köre karşı kaydedildi. Toplam flavonoit konsantrasyonu kuarsetinin standart olarak kullanıldığı aşağıda verilen standart grafik denkleminden mikrogram kuarsetin ekivalent (QE) olarak hesaplandı (r^2: 0,9785).

$$Absorbans_{(\lambda 415nm)} = 0{,}0147 \times [Kuersetin]$$

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde bulunan toplam flavonoit bileşik miktarını belirlemek için toplam fenolik bileşik miktarı tayininde kullanılan stok çözeltilerden deney tüplerine sırasıyla 1000 µg ekstre ihtiva eden stok çözelti aktarıldı. Daha sonra ise deney tüplerine aktarılan farklı miktarlardaki ekstreler 0,1 mL (1 M) suda hazırlanmış potasyum asetat ve 0,1 mL (%10) alüminyum nitrat çözeltilerini içeren 4,3 mL etanol çözeltisi ile seyreltildi ve vorteksde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübe edildikten sonra 415 nm'de absorbansları aynı şekilde kaydedildi.

3.2.5. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini

Toplam antioksidan aktivite tayini ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Mitsuda vd. 1966). Öncelikle stok çözeltiler hazırlandı. Bu amaçla 20 mg etanol ekstreleri 20 mL etanolde çözünerek hazırlandı. İstenilen miktarlara karşılık gelen konsantrasyonlarda stok çözeltilerden vezin kaplarına otomatik pipetlerle pipetlendi ve hacim tampon çözeltiyle 2,5 mL'ye tamamlandı. Daha sonra her bir vezin kabına 2,5 mL linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak 2,5 mL tampon çözelti ve 2,5 mL linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. İnkübasyon 37^oC'de gerçekleştirildi. Her altı saatte bir vezin kaplarından 100'er µL alındı 4,7 mL etanol bulunan deney tüplerine konuldu 100 µL Fe^{2+} çözeltisi daha sonra da 100 µL SCN^- çözeltisi ilave edildi. Kör olarak 4,8 mL etanol bulunan deney tüpüne 100 µL Fe^{2+} ve 100 µL SCN^-

çözeltilerinin ilavesiyle hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbansları köre karşı okundu.

3.2.6. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti tayini

Toplam indirgeme kuvveti tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı (Oyaizu, 1986). Taze hazırlanan stok çözeltilerden 10, 20 ve 30 µg/mL olacak şekilde alındı ve deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 1 mL'ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2,5 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH: 6,6) ve 2,5 mL %1'lik potasyum ferrisiyanür [$K_3Fe(CN)_6$] ilave edildikten sonra karışım 50 ^oC'de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 mL %10'luk TCA ilave edildi.

Çözeltinin üst fazından 2,5 mL alındı ve bunun üzerinede 2,5 mL destile su ve %0,1'lik 0,5 mL $FeCl_3$ ilave edildikten sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okundu. Kör olarak destile su kullanıldı. Kontrol için ise numune yerine su kullanıldı.

3.2.7. Kuprak metoduna göre idirgeme kuvveti tayini

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin kuprik iyonu (Cu^{2+}) indirgeme kapasiteleri Apak ve arkadaşlarının (2006) kullandığı Cuprak metodunun hafif bir modifikasyonuna göre yapıldı. Bunu için deney tüplerine 0,01 M'lık 0,25 mL $CuCl_2$ çözeltisi ilave edildi.

Bunun üzerine 0,25 mL $7,5x10^{-3}$ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi ve 0,25 mL 1M'lık amonyum asetat tamponu aktarıldı. Çözelti karıştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlarda (10–30 µg/mL) Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstreleri ve standartlar ilave edildi. Yarım saatlik bir inkübasyondan sonra 450 nm'de absorbansları kaydedildi.

Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesini göstermektedir.

3.2.8. DPPH• Serbest radikallerini giderme aktivitesi tayini

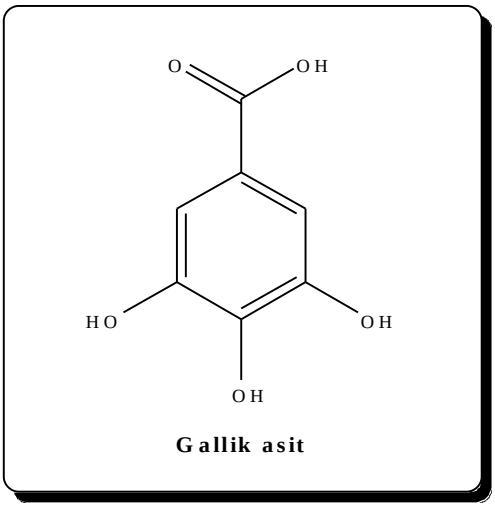
DPPH serbest radikal giderme Blois metoduna göre yapıldı (1958). Serbest radikal olarak DPPH·'ın 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 10, 20 ve 30 µg/µL konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH• çözeltisinden 1 mL ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedildi. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH·çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Antioksidan Araştırma Bulguları

4.1.1. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini bulguları

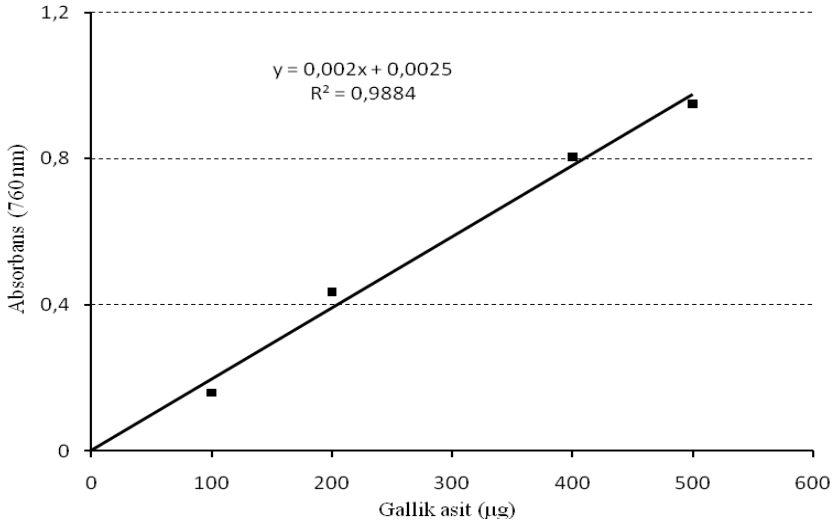
Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarını tepit için standart fenolik bileşik olarak kullanılan galik asitin açık yapısı Şekil 6.' da görülmektedir.



Şekil 6. Standart bir fenolik bileşik olan ve aynı zamanda kuvvetli antioksidan olan gallik asitin açık yapısı (Köksal, 2007).

Bunun için öncelikle gallik asitten standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrede bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit ekivalent (GAE) olarak hesaplandı (r^2: 0,9884). Bu amaçla hazırlanan standart gallik asit grafiği Şekil 7.' de verilmiştir.

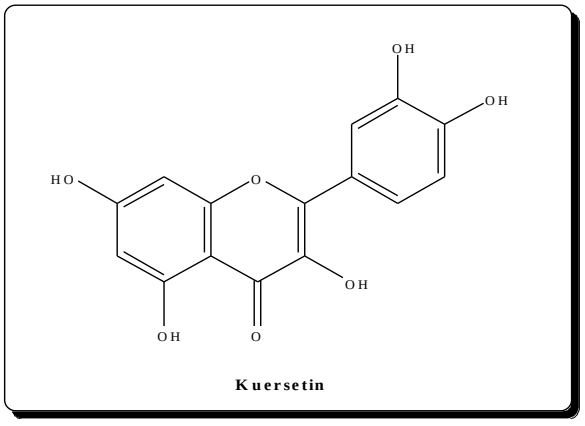
$$Absorbans_{(\lambda 760nm)} = 0{,}002 \text{ x } [\text{Gallik asit}] + 0{,}0025$$



Şekil 7. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

4.1.2. Toplam flavonoit bileşik miktarı tayini bulgular

Şekil 8.' de açık yapısı verilen ve birçok çalışmada standart antioksidan olarak kullanılan kuersetin (Büyükokuroğlu vd., 2001; Gülçin, 2002; Gülçin vd., 2004) çalışmamızda standart flavonoit olarak kullanıldı (Türkoğlu vd., 2006). Flavonoidler iki fenil halaksının propan zinciri ile birleşmesinden meydana gelen difenil propan yapısındaki fenolik bileşiklerdir.

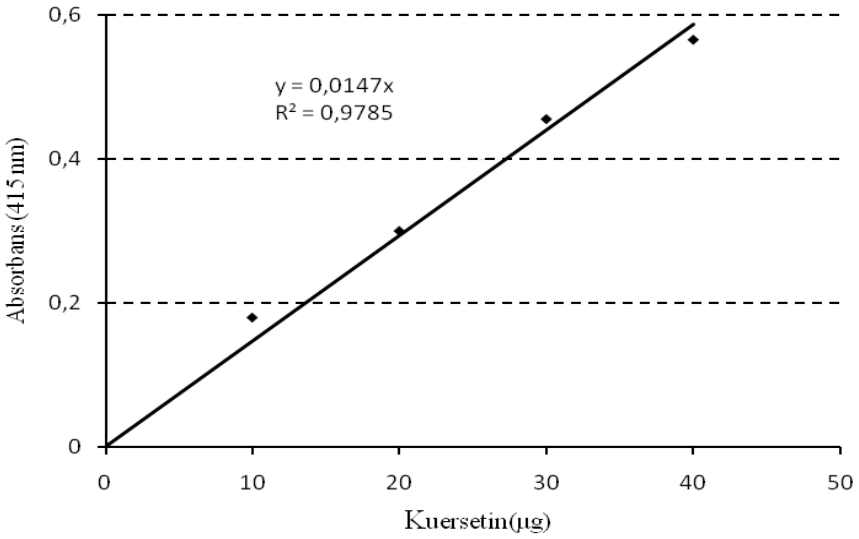


Şekil 8. Standart ve iyi bir antioksidan olan kuersetinin açık yapısı (Köksal, 2007).

Flavonoitler antioksidan özelliğe sahip olup, kroner kalp hastalıkları gibi birçok hastalığı önleyen önemli bir doğal bileşik gurubudur. Bitkilerden elde edilen flavonoitlerin UV ışınlarını absorblayan özellikleri ve antioksidan aktivitelerinden dolayı kanser tedavisinde kemoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Hertog vd., 1995). Ayrıca flavonoitlerin lösemi (Larocca vd., 1990; Hirano vd., 1994) ve yumurtalık kanseri (Benavente-Garcia vd., 1997) gibi kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı)'dan elde edilen su ve etanol ekstrelerinde bulunan toplam flavonoit bileşik miktarı için öncelikle kuersetin standart olarak kullanılarak bir standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formül yardımıyla her iki ekstrede bulunan toplam flavonoit miktarı kuersetin ekivalent (QE) olarak hesaplandı (r^2: 0,9785). Bu amaçla hazırlanan standart galik asit grafiği Şekil 9.' da verilmiştir.

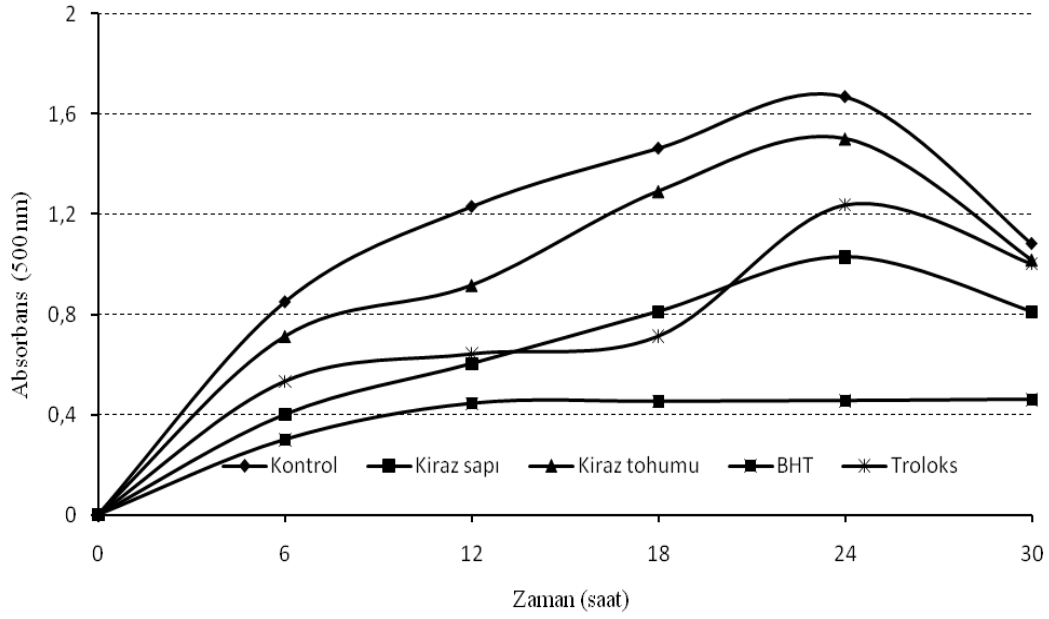
$$Absorbans_{(\lambda 415nm)} = 0{,}0147 \times [Kuersetin]$$



Şekil 9.10-50 µg arasında kuarsetin kullanılarak toplam flavonoit miktarı tayini için hazırlanan kuersetinin standart grafiği

4.1.3. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite bulguları

Çalışmada kullanılan Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinden antioksidan aktivitesi ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi. Toplam antioksidan aktivite tayini için 10 µg/mL konsantrasyonları kullanıldı. Şekil 10.' da görüldüğü gibi Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde antioksidan aktivitesi, sap kısımlarının standart bileşiklere yakın olduğu görülürken, tohum kısımlarının antioksidan aktivitelerinin çok az olduğu belirlenmiştir.

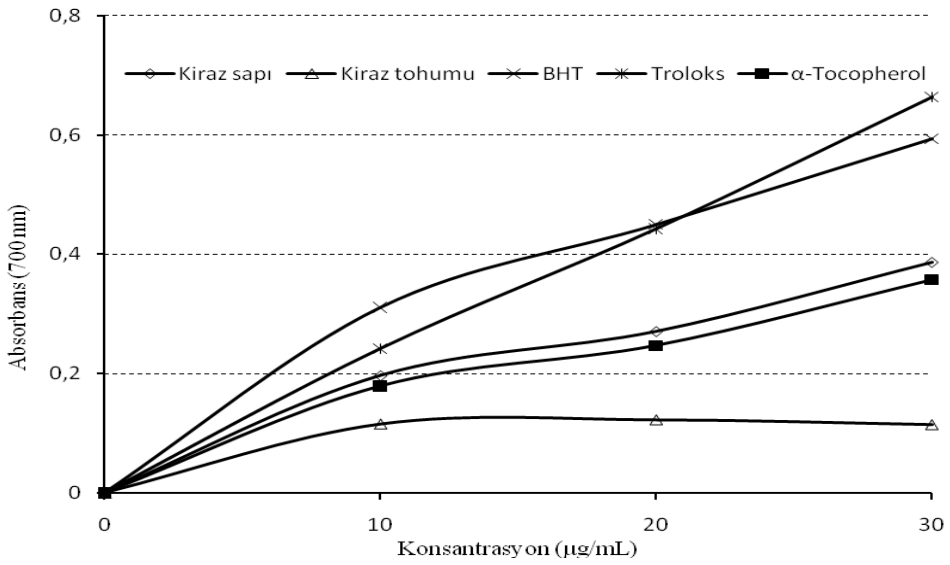


Şekil 10. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin 10 µg/mL deki konsantrasyonda toplam antioksidan aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHT ve troloks ile karşılaştırması

4.1.4. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti ile ilgili bulgular

Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin vd., 2006). Çalışmada kullanılan Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinde indirgeme kapasitesi artan konsantrasyon ile sap kısımlarının doğru orantılı olarak arttığı görülürken, tohum kısımlarının demir indirgeme aktivitesinin sap kısımlarına göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstrenin indirgeme potansiyeli, farklı konsantrasyonlardaki (10–30 µg/mL) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. Şekil 11.'den görülebileceği gibi kiraz tohumu, kiraz sapı ve kullanılan standartlardan daha az indirgeme potansiyeli göstermiştir. Kiraz sapı, BHT ve trolokstan az α-tokoferolden fazla indirgeme kapasitesi göstermiştir.

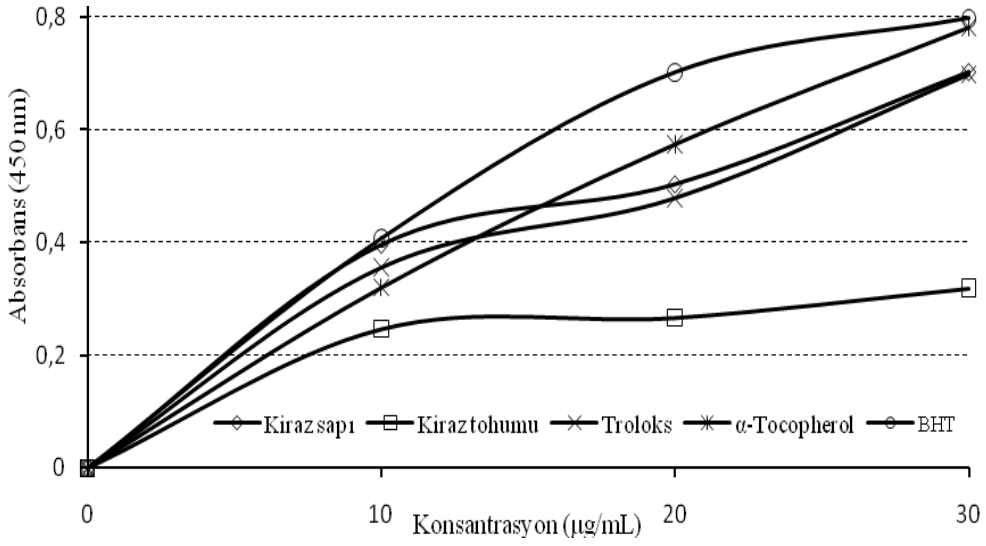


Şekil 11. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

4.1.5. Kuprak metoduna göre indirgeme kuvveti bulguları

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi ekstrelerin artan konsantrasyonu ile artmıştır. Sap kısımlarının indirgeme gücü standart antioksidan bileşiklere yakın olmakla beraber tohum kısımlarının indirgeme gücünün çok az ve dolayısıyla antioksidan özelliğinin düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir

Her iki ekstrenin kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30 µg/mL) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 12).

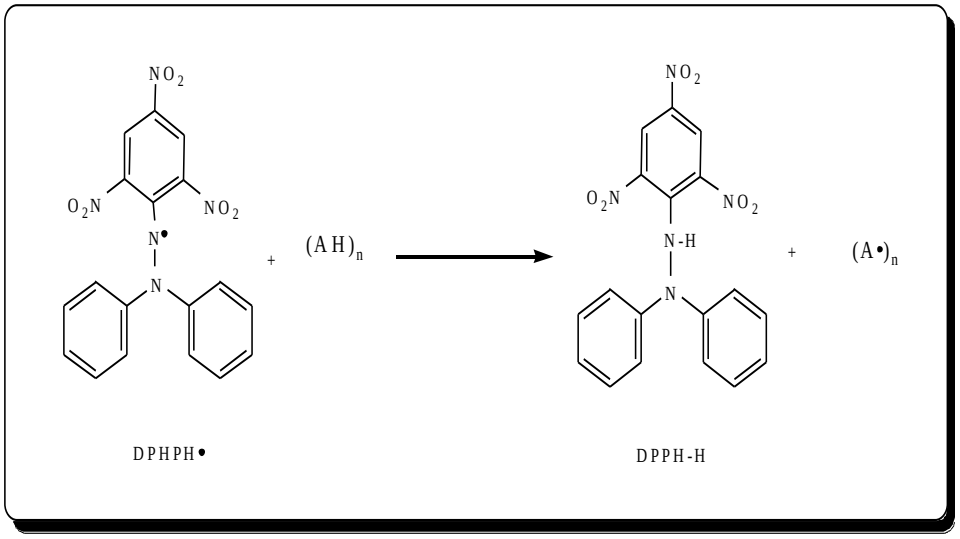


Şekil 12. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10–30 µg/mL) kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

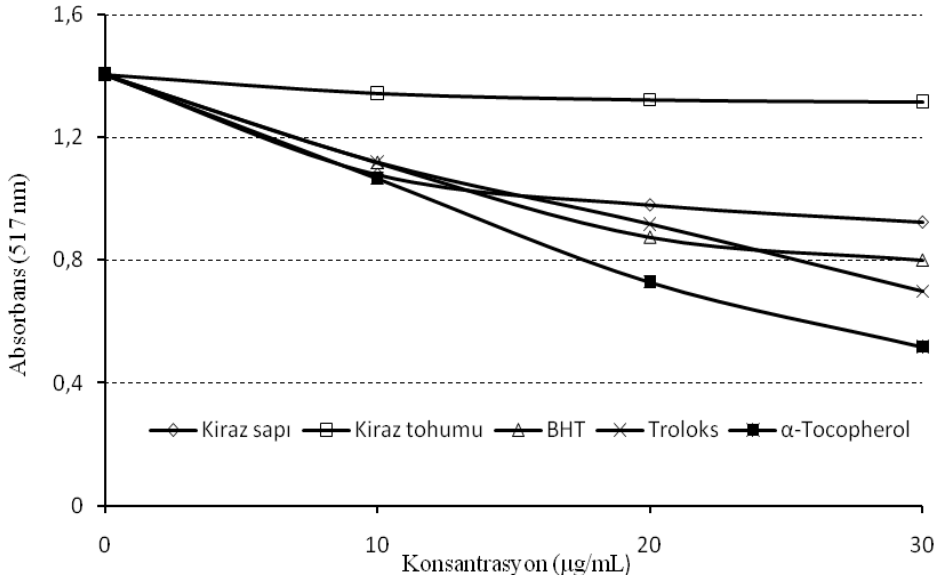
4.1.6. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi bulguları

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının, DPPH• serbest radikalini giderme aktivitesini tesbiti için yapılan çalışmada BHT, α-tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşikleri kullanılmıştır.

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımları, DPPH serbest radikalinin giderilmesinde (Şekil 13) farklı etki göstermişlerdir. DPPH serbest radikalini kiraz sapı etanol ekstresi α-tokoferol hariç diğer standartlara yakın miktarda giderirken kiraz tohumunun radikal giderme aktivitesinin çok az olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 14).



Şekil 13. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi (Gülçin, 2002).



Şekil 14. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisini sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarda (10–30 µg/mL) DPPH serbest radikallerini giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, troloks ve BHT ile karşılaştırması

4.2. Tartışma

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin antioksidan ve antiradikal özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite, Fe^{3+}-Fe^{2+} transformasyonu metoduna göre indirgeme kapasitesi, kuprak metoduna göre kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) küpröz iyonlarına (Cu^{+}) indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, farklı biyoanalitik metotlar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı belirlendi. Kullanılan antioksidan ve antiradikal yöntemlerde bulunan aktiviteler kozmetik ve gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan α-tokoferol ve onun suda çözünen bir analogu olan troloks ile mukayese edildi. Doğal antioksidanların aktiviteleri, onların biyofonksiyonlarıyla yakından ilgilidir. Kronik hastalıkların, DNA hasarlarının, mutasyonların, karsinogenezin azaltılması, patojenik bakteriyel gelişiminin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde serbest radiakal gelişiminin sonlandırılmasıyla yakından ilgili olduğu bilinmektedir (Zhu vd., 2002).

Fenolik bileşikler özellikle flavonoitler hidroksil guruplarında bulunan hidrojenlerini kolaylıkla verebilirler. Çünkü fenolik bileşiklerdeki oksijen ile hidrojen arasındaki bağ, oluşacak fenol radikalinin rezonans kararlılığından dolayı kolaylıkla homolitik olarak parçalanabilir ve böylece üzerinde bir tane elektron bulunduran hidrojen kolaylıkla verilebilir. Lipit peroksidasyonu, gıda maddelerinin işlenmesinde ve muhafazasında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Yağlarda ve yağlı yiyeceklerde sadece yiyecekleri bozmakla kalmaz, aynı zamanda kansere, mutasyonlara ve yaşlanmaya sebep olan peroksi (ROO•) ve hidroksi (OH•) radikalleri ile reaktif oksijen türleri ve serbest radikalleri de meydana getirir (Yagi 1987).

Lipitlerin oksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur. Çoklu doymamış yağ asitleri, doymuş yağ asitlerine göre hidrojen koparmasıyla oluşan radikalin çift bağın konjugasyonuyla kararlı hale getirmesi ve böylece de hidrojenin daha kolay koparılmasına sebep olmasından dolayı, otooksidasyona daha yatkındırlar (Halliwell and Gutteridge, 1989).

Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan kapasite biyoaktif bileşenleri için en çok kullanılan antioksidan parameterlerden biridir. Ferrik tiyosiyonat metodu, lipit peroksidasyonu boyunca meydana gelen peroksitin miktarını ölçer. Bu analizde, hava oksijeni tarafından oksitlenen ve emülsiyonda linoleik asitin peroksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler dolaylı olarak ölçülür. Bu metodun esası, linoleik asit emülsiyonunun oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitin spektrofotometrik olarak 500 nm'de ölçülmesine dayanır. Yüksek absorbans, peroksidasiyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Oluşan hidroperoksit ise Fe^{2+}'yi Fe^{3+}'e yükseltger. Daha sonra Fe^{3+}, ilave edilen tiyosiyanat ile kompleks oluşturarak 500 nm'de maksimum absorbans verir.

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesinde olduğu gibi indirgeme kapasitesinde de artan konsantrasyona bağlı olarak sap kısımlarında gözlenirken tohum kısımlarının hiçbir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. İlk bakışta oksidasyonun indirgeme gücü yüksek olan ekstrelerce daha kuvvetli bir şekilde bastırılacağı düşünülebilir. İndirgeme gücü bir bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesinde önemli bir faktördür (Meir vd., 1995). Ancak herhangi bir saf maddenin antioksidan özelliği farklı mekanizmalar üzerinden gidebilir. Örneğin, oksidasyonun geçiş metalleri tarafından hızlandırıldığı bir sistemde, antioksidan bileşiğin indirgeme gücü antioksidan özellik yönünden önemli değildir. *In vivo* olarak serbest demir ve bakırın varlığı kontrol edilebilmektedir.

Demir iyonları barsaklar tarafından emilir ve transferin proteinleri tarafından ferrik iyonları (Fe^{3+}) formunda demir ihtiyacı olan hücrelere taşınır ve ferröz iyonları (Fe^{2+}) şeklinde ferritin ve hemosiferin proteinlerinde depolanır. Spesifik olarak transferine bağlı olan demir iyonları serbest radikal reaksiyonlarına katılmazlar. Fazla olan demir iyonları ise birer "demir havuzu" olan ferritin ve hemosiferinde depolanırlar. İnsan plazmasında bulunan bakırın büyük bir kısmı serbest radikal reaksiyonlarını uyarmayan bir formda olup, seruplazmin proteinine bağlı haldedir (Halliwell 1994). Bazı hemostatik durumlar değiştiğinde hidroksil radikali oluşur (Chevion vd., 1993).

Doku hasarları sonucu fagositlerin aktivasyonu veya lizis olmuş hücrelerden geçiş metal iyonlarının yayılması sonucu serbest oksijen türleri oluşabilmektedir. Bu durum hücre ve dolayısıyla doku hasarını daha da hızlandırır. Örneğin travmatik beyin hasarı sonucu demir iyonlarına bağlı serbest radikalik reaksiyonlar meydana gelebilir. Parkinson hastalığı, substantia nigrada mevcut hücrelerin ölümü sonucu meydana gelmektedir. Demir iyonları ölü hücrelerin parçalanması sonucu açığa çıkmaktadır. Böylece Parkinson hastalığına yakalanan hastalar oksidatif strese maruz kalır. Bu durumda serbest radikalik reaksiyonlar muhtemelen substantia nigranın dejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır. Bunun yanısıra serbest oksijen radikalleri, enzim ve proteinlerin yapılarında bulunan amino asitlerin tiyol guruplarını da oksitleyerek deaktive ederler. Ayrıca hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini de oksitleyerek hücre hasarlarına da sebep olmaktadır (Köksal, 2007).

Son zamanlarda antioksidan aktivite gösteren bitkilerin gıda ve beslenme alanlarındaki kullanımları hakkında oldukça fazla sayıda çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalar halen yoğun bir şekilde devam etmektedir. Bunun sebebi ise bitkilerin birer antioksidan olan karotenoit, flavonoit ve fenolik bileşik içeriği bakımdan zengin olmaları ve bu bileşiklerin herhangi bir yan etkiye sahip olmamalarıdır (Kulkarni vd.,2006). Sıklıkla kullanılan BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanların bazı yan etkilerinin bulunmasından sonra araştırmalar tamamen bitkisel orijinli antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Gülçin vd., 2006a). Antioksidan aktivite tayin metodları, gıda, farmasötik veya tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme kapasitesinin araştırılması, DPPH• radikal gidermesi gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Gülçin, 2005; Gülçin, 2006).

Mevcut çalışmada da bu metotlar kullanıldı ve bulgular birer doğal ve standart antioksidan olan α-tokoferol ve troloks, BHT gibi antioksidan aktiviteleri bilinen standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktivitesini belirlemek için kullanılan metodların hepsinde bitkinin sap kısımlarının standart antioksidan olarak kullanılan bileşiklere yakın aktivite gösterdiği fakat tohum kısımlarının ise standart bileşiklere göre çok düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca bitkinin (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) yapısında sap ve tohum kısımlarında bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerinin miktarları total olarak tespit edilmiş ve elde edilen sonuçların antioksidan aktivite tayin sonuçları ile önemli bir korelasyon içerisinde olduğu görülmüştür.

Bitkinin (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) sap kısımları tohum kısımlarına oranla yaklaşık olarak 6 kat fenolik ve flavonoid bileşik içermekte ve bunun bir sonucu olarakda tohum kısımlarına oranla çok daha fazla ve standart bileşiklere yakın değerlerde antioksidan aktivite göstermektedir.

Bu çalışmamızın antioksidan aktivite çalışmalarında yararlanılacak bir çalışma olduğu muhtemeldir

5. SONUÇ

Sonuç olarak Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmamızda iyon indirgeme kapasitesi, toplam antioksidan aktivite kapasitesi, DPPH serbest radikali giderme kapasitesi, toplama fenolik ve flavonoit miktarı gibi tesbitler yapılmıştır.

Elde edilen bulgulardan Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının farklı antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap kısımlarının yüksek antioksidan aktivite gösterirken tohum kısımlarının az antioksidan aktivite gösterdiği yapılan ölçümler sonucu ortaya konmuştur.

	Toplam fenolik bileşik (µg GAE /mg ekstre)	**Toplam flavonoid bileşik (µg QE /mg ekstre)**
Kiraz sapı	180,5	19,23
Kiraz tohumu	28,94	3,21

Tablo 3. Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica;* Ş. Yıldırımlı) bitkisinin sap ve tohum kısımlarının etanol ekstrelerinin 1 mg'ında bulunan toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarının ekivalent olarak miktarları

6. KAYNAKLAR

Akkuş, ‘’Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri’’, ***Mimoza Yayınları***. Konya (1995).

Aksoy, Y., “Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü”, ***Klinik Tıp Bilimleri***, 22, 442-448, (2002).

Balog, T., Sobocanec, S., Saric, A., “Improved Antioxidant and Anti-inflammatory Potential in Mice Consuming Sour Cherry Juice (Prunus Cerasus cv. Maraska)”, ***Plant Foods for Human Nutrıtıon***, 231-237, (2009).

Benavente-Garcia, O., Casillo, O., Marin, F., Ortuno, A. and Del-Rio, J., “Uses and properties of citrus flavonoids”, ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 45, 4505– 4515, (1997).

Boğa, M. “Türkiye’de yetişen *vinca* türlerinin antioksidan aktivitelerinin tayini”, ***İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi***, İstanbul, (2007).

Burtis, C., Ashwood, E., ‘’Tietz Textbook of Clinical Chemistry’’, ***Saunders Company,*** Philadelphia, Pennsylvania (1999).

Büyükokuroğlu, M.E., Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., “In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium”, ***Pharmacological Research***, 44, 491–495, (2001).

Berlett, B.S., Stadtman, E.R., “Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stres”, ***The Journal of Biological Chemistry***, 272,33, 20313–20316, (1997).

Chatzissavvidis, C., Veneti, G., Papadakis, I., "Effect of NaCl and $CaCl_2$ on the antioxidant mechanism of leaves and stems of the rootstock CAB-6P (Prunus cerasus L.) under in vitro conditions", ***Plant Cell Tissue and Organ Culture***, 37-45, (2008).

Chevion, M., Liang, Y., Harel, R., Berenhstein, E., Uretzky, G., Kitrossky, N., "Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible productive criteria for tissue injury", ***Proceedings of the National Academy of Sciences*** USA, 90, 1102–1106, (1993)

Davies, K.J.A., "Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems***", International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life***, 50, 279-289, (2000).

Dawn, Bm, Allan, Dm, Colleen, Ms., ''Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach'', ***Lippincott Williams & Wilkins Baltimore***, Maryland (1996).

Devaraj, S., Jialal, I., "The effects of alpha-tocopherol on critical cells in atherogenesis", ***Current Opinion in Lipidology***, 9, 11-15, (1998).

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Colombo, R., "Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress***", International Journal of Clinical Chemistry and Diagnostic Laboratory Medicine***, 329, (2003).

Dianiskova, M., Babiak, M., Tolvaj, L., "Color homogenısatıon of cherrywood (*cerasus avıum L*) and black locust (*robınıa pseudoaccacıa L*) durıng steamıng", ***Wood research***, 45-58, (2008).

Daenen, L., Sterckx, F., Derdelinckx, G., "Evaluation of the glycoside hydrolase activity of a Brettanomyces strain on glycosides from sour cherry (*Prunus cerasus*

L.) used in the production of special fruit beers", ***Fems Yeast Research***, 1103-1114, (2008).

Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M.S., "Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance", ***Mutation Research,*** 567, 1–61, (2004).

Fantal, A.G., "Reactive oxygen species in developmental toxicity; Review and hypothesis". ***Teratology***, 53, 96-217, (1996).

Foo, L.Y., Porter, L.J., "The structure of tannins of some edible fruits", ***Journal Science Food Agricaltural,*** 32, 711–716, (1981).

Gülçin, İ., "The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds***", International Journal of Food Sciences and Nutrition***, 56, 491-499, (2005).

Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., "Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.)", ***European Food Research and Technology,*** 223, 759–767, (2006a).

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., "Screening of antioxidant and antiradical activity of monodesmosides and crude extract from Leontice smirnowii Tuber", ***Phytomedicine,*** 13, 343–351, (2006b).

Gülçin, İ., "Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine", ***Life Sciences,*** 78, 803–811, (2006c).

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., "Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of Hedera colchica: 3-O-(β-D-glucopyranosyl)-hederagenin***", Phytotherapy Research***, 20, 130–134, (2006d).

Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., "Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophylata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.)", ***Food Chemistry***, 87, 393–400, (2004).

Gülçin, İ., "Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi", ***Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü***, s114, (2002).

Hallıwell, B., "How to characterise a biological antioxidant**",** ***Free Radical Research Comminucation,*** 9, 1-32, (1990).

Haugaard, N., "Cellular mecanism of oxygen toxicity", ***Physology Review***, 48, 311-373, (1968).

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Free Radicals in Biology and Medicine. ***Clarendon Press***, 543, Oxfor, (1989).

Halliwell, B., Clement, M.V., Long, L.H., "Hydrogen peroxide in the human body", ***Febs Letters***, 486, 10-13, (2000).

Heinecke, J.W., "Oxidized amino acids: Culprits in human atherosclerosis and indicators of oxidative stress", ***Free Radical Biology and Medicine*** 32, 1090-1101, (2002).

Halliwell, B., "Antioxidant in human health and disease", ***Annual Review of Nutrition***, 16, 33–50, (1996).

Horvath, A., Zanetto, A., Tavaud, M., Christmann, H., "Origin of Sour Cherry (Prunus cerasus L.) Genomes" ***Proceedıngs of the International Cherry Symposıum***, 31-136, (2008).

Haigh, R., "Safety and necessity of antioxidants: EEC approach", ***Food and Chemical Toxicology,*** 24, 1031–1036, (1986).

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview", ***Methods in Enzymology***, 186, 1–85, (1990).

Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., "Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study", ***Archives of Internal Medicine***, 155, 381-386, (1995).

Hirano, T., Gotoh, M., Oka, K., "Natural flavonoids and lignans are potent cytostaticagents against human leukemic HL-60 cells", ***Life Science***, 55, 1061–1069, (1994).

Kılınç, A., "Oksijen toksisitesisin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri", ***Hacettepe Tıp Dergisi***, 33(2): 110-118, (2002).

Kneepkens, C. M.; Lepage, G.; Roy, C. C.", The optential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation", ***Free Radical Biology and Medicine***, 17:127–160, (1994).

Keskin, H., Erkmen G., " *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci Basım" , İstanbul, (1987).

Keha, E., Küfrevioğlu, Ö. İ., *Biyokimya*, Aktif Yayınevi, Erzurum, (2000).

Kaul, N., Devaraj, S., Jialal, I., "α-tocopherol and atherosclerosis", ***Experimental Biology and Medicine***, 226 (1), 5–12, (2001).

Kulkarni, S.D., Tilak, J.C., Acharya R., Rajurkar, N.S., Devasagayam, T.P.A., Reddy, A.V.R., "Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as an aunction of growth under different conditions", ***Phytotherapy Research***, 20, 218–227, (2006).

Kovacs, E., Kristof, Z., Perlaki, R., "Cell wall metabolısm durıng rıpenıng and storage of nonclımacterıc sour cherry (*prunus cerasus* L, cv. kantorjanosı)", ***Acta Alimentaria***, 415-426, (2008).

Köksal, E., "Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi" ***Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı.*** Erzurum (2007).

Kianmehr, M., Aghbashlo, M., "Drying and rehydratıon characterıstıcs of sour cherry (*Prunus cerasus*)", ***Journal of Food Processıng and Preservatıon,*** 351-365, (2010).

Kato, S., Kimura, M., Tsuda, Y., "Genetic structure of Cerasus jamasakura, a Japanese flowering cherry, revealed by nuclear SSRs: implications for conservation", ***Journal of Plant Research***, 367-375, (2009).

Loeckıe, L., De zwart, John H. vd ,"Biomarkers of free radical ramage applications in expremental animals and in human", ***Free Radical Biology &Medicine,*** 26,202-226, (1999).

Levaj, B., Dragovic-UPedisic, S., "Identification and quantification of phenolic compounds of sour cherries cv. marasca (*prunus cerasus marasca*) and their changes during freezing storage", ***Proceedıngs of the 2008 Joint Central European Congress,*** 245-251, (2008).

Langseth, L., Oxidants, "Antioxidants and disease prevention***", ILSI (International Life Sciences Institute), Brussels, Belgium***, p.24, (1995).

Larocca, L.M., Piantelli, M., Leone, G., Sica, S., Teofili, L., Benedetti-Panici, P., Scambia, G., Mancuso, S., Capelli, A., Ranelletti, F., "Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukemias: Growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids", ***British Journal of Hematology***, 75, 489–495, (1990).

Miller, N. J., Paganga, G., "Antioxidant properties of phenolic compounds", ***Trends in Plant Science,*** 2, 152-159, (1997).

Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., Hadas, S.P, "Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves", ***Journal Agricaltural Food Chemistry***, 43, 1813-1819, (1995).

Miller, N. J., Paganga, G., "Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", ***Free Radical Biology & Medicine***, 20, 933-956, (1996).

Moldovan, L., Moldovan, N.I., "Oxygen free radicals and redox biology of organelles***", Histochemistry and Cell Biology***, 122, 395-412, (2004).

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Iwami K., "Antioxidativ action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid", ***Eiyoto Shokuryo***, 19, 210–214, (1966).

Mieszczakowska, M., Milala, J., Kosmala, M., "Characterization of cell wall polysaccharides of cherry (*Prunus cerasus*. Schattenmorelle) fruit and pomace", ***Plant Foods for Human Nutrition***, 279-285, (2009).

Magyar, L., Hrotko, K., "Prunus cerasus and prunus fruticosa as interstocks for sweet cherry trees", ***Acta Horticulturae***, 287-292, (2008).

Nordberg, J., Arner, E.S.J., "Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system", ***Free Radical Biology and Medicine,*** 31, 1287-1312, (2001).

Nordberg, J., Arner, E.S.J., "Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system", ***Free Radical Biology and Medicine,*** 31, 1287-1312, (2001).

Namiki, M., "Antioxidants/antimutagens in food", ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition***, 29, 273-3, (1990).

Nishina, A., Kubota, K., Kameoka, H., Osawa, T., "Antioxidizing component, musizin, in *Rumex japonicus* houtt", ***Journal of the American Oil Chemists Society***, 68, 735-739, (1991).

Nickavar, B., Mojab, F., Hooman, N., "Dıuretıc effect of powdered cerasus avium (*cherry*) tails on healthy volunteers", ***Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences***, 381-383, (2009).

Oyaizu, M. "Anti-oksidative activities of products of browning reactions prepared from glucosamine", ***Japanese Journal of Nutrition***, 44, 307-315, (1986).

Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L., "Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil" ***Arquivos de Biologiae Technologia***, 40, 97–106, (1997).

Pacific, R.E., Davis, K.J.A, "Protein, lipit and DNA repair system in oxydative stress: the free radical theoryof aging revisited", ***Gerontology,*** 37, 166–180, (1991).

Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R., Akoh, C.C., Min, D.B., Editör, ***Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology,*** New York: Marcel Dekker Inc; pp. 489-516. (2002).

Shahidi, F., "Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications", ***AOCS Press, Champaign, Illinois***, 0-935315-77-2, (1996).

Shahidi, F., Wanasundara, P., K., "JPhenolic antioxidants**", *Critical Review of Food Science and Nutritional***, 32, 67-103, (1992).

Skevin, D., Dragovic-Uzelac,V., Levaj, B., Pedisic, S., "Effect of Maturity and Geographical Region on Anthocyanin Content of Sour Cherries (*Prunus cerasus* var. marasca***)", Food Technology and Biotechnology***, 86-93, (2010).

Stadtman, E.R., "Importance of individuality in oxidative stress and aging", ***Free Radical Biology and Medicine***, 33, 597–604, (2002).

Temple, N.J., "Antioxidants and disease: more questions than answers", ***Nutritional Research***, 20, 449-459, (2000).

Tsuda, Y., Ueno, S., Kato, S., "Development of 13 EST-SSRs for Cerasus jamasakura and their transferability for Japanese flowering cherries", ***Conservatıon Genetics***, 685-688, (2009).

Tietz, N., ''Clinical Guide to Laboratory Tests'', ***Saunders Company***. Philadelphia, Pennsylvania, (1995).

Trumbeckaite, S., Majiene, D., Liegiute, S., "Anthocyanin composition and antimicrobial activity of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruit extracts", ***Zemdirbyste Agriculture***, 141-148, (2009).

Uğuzlar, H., ‘’Antalya’da yetişen *areceae arum dioscorides* tohumlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini’’, ***Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü***, Kimya Anabilim Dalı, KONYA, (2009).

Varga, E., Lekli, I., Juhasz, B., Bak, I., “Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*prunus cerasus*) Seed Kernel: An Emerging Functional Food”, ***Journal of Medicinal Food***, 905-910, (2010).

Yagi, K., “Lipit peroxides and human disease”, ***Chemistry Lipits,*** 45, 337–341, (1987).

Yen, G.C., Chen, H.Y., “Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity”, ***Journal of Agricaltural and Food Chemistry***, 43, 27–32, (1995).

Yıldırımlı, Ş., “Cerasus erzincanica(*Rosaceae*), a new species from Turkey”,***Candollea***,48:115-118, (1993).

Van Esch, G. J., “Toxicology of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ)”, ***Food and Chemical Toxicology***, 24, 1063–1066, (1986).

Zhu, Q.Y., Hackman R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R., Keen, C.L., “Antioxidative activities of along tea”, ***Journal of Agriculture and Food Chemistry***, 50, 6929-6934, (2002).

Whitehead, T.P., Thorpe, G.H.G. and Maxwell, S.R.J., “Enhancedchemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids”, ***Analitic Chemistry Acta***, 266, 265-277, (1992).

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldu. 2009 yılında, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen kimya anabilim dalın da yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.