

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BİTKİSEL ÇAYLARIN FENOLİK MADDE PROFİLİ VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. Seda ERUÇAR**

Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

HAZİRAN 2006

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BİTKİSEL ÇAYLARIN FENOLİK MADDE PROFİLİ VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. Seda ERUÇAR
(506011280)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 8 Mayıs 2006
Tezin Savunulduğu Tarih : 13 Haziran 2006**

**Tez Danışmanı : Prof.Dr. Dilek BOYACIOĞLU
Diğer Jüri Üyeleri: Prof.Dr. Artemis KARAALI (İ.T.Ü.)
Prof.Dr. Melek TÜTER (İ.T.Ü.)**

HAZİRAN 2006

ÖNSÖZ

Çalışma boyunca bana destek veren herkese, öncelikle, harcadığı zamanı, her aşamada sunduğu değerli fikirleri ve gösterdiği sabrı için değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Dilek Boyacıoğlu'na saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın her döneminde esirgemedikleri bilgi ve destekleri için başta Araş. Gör. Dilara Nilüfer olmak üzere Araş. Gör. Esra Çapanoğlu'na da çok teşekkür ederim.

Çalışmayı destekleyen FLORA Projesi'ne (EU 6th Framework Strep Project, Flavonoids and Related Phenolics for Healthy Living Using Orally Recommended Antioxidants) ve bu projenin yürütücüsü sayın Prof. Dr. Artemis Karaali'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın HPLC analizleri kısmındaki yardımları için Uzman Yüksek Mühendis Nalan Demir'e ve analizlerde kullanılan malzemelerin teminindeki yardımları için Araş. Gör. Neşe Şahin'e ayrıca teşekkür ederim.

Araştırmada kullandığımız bitkisel çayların teminini sağlayan Malatya Pazarı Kuruyemiş San. Tic. Aş.' ye de teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım ve tüm eğitim yaşantım boyunca, başarımla beraber, her türlü zor zamanıma da ortak olan sevgili aileme, bana her konuda desteklerini ve güvenlerini esirgemedikleri için sonsuz sevgi ve minnetlerimi sunarım. Karanlıklarda yoluma ışık olduğunuz için teşekkürler...

Mayıs, 2006

Seda ERUÇAR

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	3
2.1. Bitkisel Çayların Özellikleri	3
2.2. Antioksidanlar Ve Fenolik Bileşikler	5
2.3. Bitkisel Ürünlerin Antioksidan Özellikleri Ve Fenolik Bileşik İçerikleri	7
3. MALZEME VE YÖNTEM	17
3.1. Malzeme	17
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Bitkisel çaylarda yaprak ekstraksiyonu	19
3.2.2. Bitkisel çaylardan infüzyon hazırlama	19
3.2.3. İnfüzyonların kurutulması	20
3.2.4. Kompozisyon analizleri	20
3.2.4.1. Nem tayini	20
3.2.4.2. Kül tayini	20
3.2.5. Askorbik asit tayini	20
3.2.6. Örneklerin analize hazırlanması	20
3.2.7. Toplam fenolik madde analizi	20
3.2.8. Toplam flavonoid analizi	21
3.2.9. Antioksidan aktivitesi tayinleri	21
3.2.9.1. DPPH metodu ile antioksidan aktivitesi	21
3.2.9.2. ABTS metodu ile antioksidan aktivitesi	21
3.2.9.3. Metal şelatlama aktivitesi	22
3.2.9.4. İndirgeme potansiyeli	22
3.2.9.5. Linoleik asit sisteminde antioksidan aktivitesi	22
3.2.9.6. Hidrojen peroksit yakalama aktivitesi	22
3.2.10. Fenolik madde profillerinin belirlenmesi	22
3.2.11. İstatistiksel analiz	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24

4.1.	Kompozisyon Analizleri	24
4.2.	Yaprak Ekstraksiyonu İçin Yöntem ve Çözgen Seçimi Ön Denemesi	24
4.3.	Örneklerin Askorbik Asit Miktarı Analiz Sonuçları	25
4.4.	Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivitesi	27
4.4.1.	Toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri	27
4.4.2.	Antioksidan aktiviteleri	31
4.4.2.1	DPPH metodu ile antioksidan aktivitesi	31
4.4.2.2.	ABTS metodu ile antioksidan aktivitesi	32
4.4.2.3.	Metal şelatlama aktivitesi	35
4.4.2.4.	İndirgeme potansiyeli	37
4.4.2.5	Linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidan aktivitesi	39
4.4.2.6.	H ₂ O ₂ yakalama aktivitesi	40
4.4.3.	Örneklerin fenolik madde profilleri	42
4.5.	Antioksidan Tayin Metotları ile Fenolik Madde ve Flavanoid İçeriklerinin Değişimi	49
5.	SONUÇLAR	55
	KAYNAKLAR	58
	EKLER	64
	ÖZGEÇMİŞ	71

KISALTMALAR

DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
ABTS	: 2,2'-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6sulfonik asit
FC	: Folin-Ciocalteu
Troloks	: 6-Hidroksil-2,5,7,8-Tetrametil Kroman-2-Karboksilik asit
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
TRAP	: Radikal-Tutuklama Antioksidan Parametresi
FRAP	: Demir İyonlarını İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
TEAC	: Troloks Eşitliği Antioksidan Kapasitesi
HAT	: Hidrojen Atom Transferi
SET	: Tek Elektron Transferi

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 Flavonoidlerin grupları ve bu gruplara ait bileşikler	8
Tablo 3.1 Numunelere uygulanan analiz yöntemleri.....	17
Tablo 3.2 Analizlerde kullanılan standartlar.....	18
Tablo 3.3 Uygulanan yöntemin HPLC koşulları	23
Tablo 3.4 HPLC gradient koşulları.....	23
Tablo 4.1 Örneklere ait % nem ve kül miktarları	24
Tablo 4.2 Ön denemelerde elde edilen toplam fenolik madde içeriği ve DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi.....	25
Tablo 4.3 Örneklerin askorbik asit miktarları.....	25
Tablo 4.4 Ekstraksiyon ve infüzyonların toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları.....	28
Tablo 4.5 Antioksidan aktivitesi analizleri toplu sonuçları.....	34
Tablo 4.6 Standartlara ait kolonda alıkonma süreleri.....	43
Tablo 4.7 Mürver çiçeğindeki fenolik bileşikler	44
Tablo 4.8 Mürver çiçeği infüzyonunda fenolik bileşikler	45
Tablo 4.9 Böğürtlen yaprağındaki fenolik bileşikler.....	46
Tablo 4.10 Böğürtlen yaprağı infüzyonunda fenolik bileşikler.....	47
Tablo 4.11 Karahindiba kökündeki fenolik bileşikler	48
Tablo 4.12 Karahindiba kökü infüzyonunda fenolik bileşikler	49
Tablo 4.13 Antioksidan kapasitesi tayin metotları ile toplam fenolik ve toplam flavonoid madde içeriklerinin tüm bitkisel çaylarda regresyon katsayıları.....	50
Tablo B.1 Bitki ve infüzyonlarının toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içeriklerinin t-testi ile karşılaştırılması.....	68
Tablo B.2. Toplam fenolik madde içerikleri için regresyon varyans analizi	69
Tablo B.3 Toplam flavonoid içerikleri için regresyon varyans analizi.....	70

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1 : Bitkilerden infüzyon hazırlama	19
Şekil 4.1 : Askorbik asit kalibrasyon eğrisi.....	26
Şekil 4.2 : İnfüzyon sonucu toplam fenolik madde miktarlarında azalma yüzdesi.....	28
Şekil 4.3 : İnfüzyon sonucu toplam flavonoid miktarlarındaki azalma	29
Şekil 4.4 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	29
Şekil 4.5 : Epikateşin kalibrasyon eğrisi.....	30
Şekil 4.6 : İnfüzyon sonucu % radikal yakalama aktivitesindeki azalma.....	32
Şekil 4.7 : ABTS yöntemi % radikal yakalama sonuçları.....	33
Şekil 4.8 : İnfüzyon sonucu mM troloks cinsinden ABTS yüzdelerindeki azalma.....	33
Şekil 4.9 : Troloks kalibrasyon eğrisi (6. Dakika).....	35
Şekil 4.10 : İnfüzyon sonucu metal şelatlama aktivitesi, % demir iyonu inhibisyonundaki değişim.....	36
Şekil 4.11 : C vitamini kalibrasyon eğrisi.....	38
Şekil 4.12 : İnfüzyon sonucu indirgeme potansiyelindeki azalma.....	38
Şekil 4.13 : İnfüzyon sonucu % lipit peroksidasyonu inhibisyonundaki değişim (24 Saat Sonunda).....	39
Şekil 4.14 : H ₂ O ₂ kalibrasyon grafiği.....	41
Şekil 4.15 : İnfüzyon sonucu H ₂ O ₂ aktivitesindeki azalma.....	42
Şekil 4.16 : Mürver çiçeği ekstraksiyonuna ait HPLC kromatogramı.....	43
Şekil 4.17 : Mürver çiçeği infüzyonuna ait HPLC kromatogramı	44
Şekil 4.18 : Böğürtlen yaprağı ekstraksiyonuna ait HPLC kromatogramı	45
Şekil 4.19 : Böğürtlen yaprağı infüzyonuna ait HPLC kromatogramı.....	46
Şekil 4.20 : Karahindiba kökü ekstraksiyonuna ait HPLC kromatogramı.....	47
Şekil 4.21 : Karahindiba kökü infüzyonuna ait HPLC kromatogramı	48
Şekil 4.22 : Toplam fenolik madde (a) DPPH % radikal yakalama aktivitesi, (b) ABTS % radikal yakalama aktivitesi ve (c) ABTS troloks eşitliğinde inhibisyon analizleri regresyon analiz grafikleri.....	51
Şekil 4.23 : Toplam fenolik madde (a) metal şelatlama aktivitesi, % (1,33 mg/ml) (b) metal şelatlama aktivitesi, % (2 mg/ml) ve (c) İndirgeme potansiyeli, mg C vitamini/ml, regresyon analiz grafikleri.....	53
Şekil 4.24 : Toplam flavonoid (a) DPPH % radikal yakalama aktivitesi, (b) ABTS % radikal yakalama aktivitesi ve (c) İndirgeme potansiyeli, mg C vitamini/ml, regresyon analiz grafikleri.....	54
Şekil A.1 : (-) Epikateşin standardı kalibrasyon eğrisi.....	64
Şekil A.2 : Ferulik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	64
Şekil A.3 : Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	65
Şekil A.4 : Kafeik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	65

Şekil A.5	: Klorojenik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	66
Şekil A.6	: Kumarik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	66
Şekil A.7	: Luteolin standardı kalibrasyon eğrisi.....	67
Şekil A.8	: Rutin standardı kalibrasyon eğrisi.....	67

BAZI BİTKİSEL ÇAYLARIN FENOLİK MADDE PROFİLİ VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Çalışmada incelenen böğürtlen (*Rubus fruticosus*) yaprağı, mürver ağacı (*Sambucus nigra*) çiçeği ve karahindiba (*Taraxacum officinale*) kökü piyasada bulunan birçok bitkisel çayda karışım olarak değişik oranlarda tat, koku ve aroma amaçlı kullanılmaktadır. Bu üç bitkinin fenolik bileşik ve antioksidan kapasiteleri hakkında literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır. Özellikle bu üç bitkinin infüzyonlarının fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi konusunda ise bir boşluk göze çarpmaktadır.

Bu çalışmada; bitkisel çay olarak tüketim gören üç farklı bitkide (böğürtlen yaprağı, mürver ağacı çiçeği ve karahindiba kökü) fenolik madde içeriği ve antioksidan aktiviteleri tespit edildikten sonra, belirli miktarlarda kullanılarak bitkisel çay tüketiminde yaygın uygulanan metot esas alınarak infüzyon elde edilmiş, infüzyonlar dondurularak kurutulduktan sonra bitkisel çayların antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde profilleri analizlenmiştir.

Bitkilerde fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde farklı çözgen sistemleri (metanol, etanol, metanol-su) denenmiş ve en yüksek verimin elde edildiği çözgen analizlerde kullanılmıştır. Böylelikle bu bitkilerde mevcut fenolik madde ve antioksidan aktivitesi potansiyeli belirlenerek bitkisel çay tüketimi ile ne miktarda vücuda alındığı tespit edilmiş olacaktır.

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır. Antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde ise çeşitli metotlardan yararlanılmıştır: DPPH metodu, ABTS metodu, redüktif potansiyel, linoleik asit emülsiyon sistemi, hidrojenperoksit radikal yakalama ve metal şelatlama aktivitesi metodları kullanılmıştır. Ayrıca fenolik madde profilleri HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Böylece kullanılan farklı antioksidan aktivitesi hesaplama yöntemleri ile yöntem etkinliklerinin karşılaştırılması ve antioksidan potansiyelin metabolizmadaki çeşitli etkilerini saptamak üzere farklı mekanizmalar açısından değerlendirilmesi mümkün olmuştur.

Örneklere ilk olarak kompozisyon analizleri uygulanmış, elde edilen nem ve kül değerleri olması gereken (toplam nem en çok %10, toplam kül miktarı en çok %9) değerler içinde bulunmuştur. Ayrıca örneklerin askorbik asit miktarları tayin edilmiş, böğürtlen yaprağı en yüksek sonucu veren örnek olmuştur (69 mg C vit./g numune).

İkinci aşamada örneklere toplam fenolik madde ve toplam flavonoid analizleri uygulanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, ekstraksiyonlarda ve infüzyonlarda en yüksek olarak böğürtlen yaprağında bulunmuştur (44,17 mg GA/g numune ve 33,65 mg GA/g numune). Infüzyon işleminin toplam fenolik miktarında azalmaya yol açmaktadır.

Toplam fenolik madde içeriği en yüksek ürün böğürtlen yaprağı olmasına rağmen, toplam flavonoid miktarı mürver çiçeğinde en yüksek olarak bulunmuştur. Mürver

ieğinin flavonoid miktarının yüksek olmasının temel sebebi yapısında bulunan (-)-epikateşin, rutin ve luteolin olduğu tahmin edilmektedir.

Toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği belirlenen örneklere bir sonraki aşama olarak antioksidan aktivitesi yöntemleri uygulanmıştır.

Böğürtlen yaprağı metal şelatlama aktivitesi ve hidrojen peroksit yakalama aktivitesi dışında diğer bütün analiz sonuçlarında en yüksek değeri vermiş birçok açıdan iyi bir antioksidan aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Düşük fenolik içeriğe sahip olduğu belirlenen karahindiba kökü ise birçok antioksidan aktivitesi yönteminde en az değeri vermesine rağmen, sahip olduğu yüksek şelatlama aktivitesi ile (%56,52) iyi bir şelatlama ajanıdır. Ayrıca karahindiba kökü hidrojen peroksit yakalama yönteminde de en yüksek aktiviteyi göstermiştir (%27,98).

Mürver ağacı çiçeği ise diğer numunelere göre en düşük fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi göstermiştir. Ancak yine de düşük seviyelerde de olsa antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bütün analiz sonuçları değerlendirildiğinde, yaprak ekstraksiyonları ile infüzyon sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerinde önemli düzeylerde azalma olduğu belirlenmiştir. HPLC yöntemi ile fenolik madde profili incelemelerinde de bu azalmalar net olarak gözlenmiştir. Klorojenik asit ve rutin mürver çiçeğinin, kumarik asitin ise böğürtlen yaprağı ve karahindiba kökünün temel fenolik bileşenleri olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçların regresyon varyansı analizleri yapılarak, yöntemler arası ilişkilere bakılmıştır. En iyi ilişki, toplam fenolik madde miktarı ile DPPH ve ABTS radikal yakalama aktivitesi arasında grlmştr (her ikisi içinde $r=0,94$ $P<0.01$).

EXAMINING PHENOLIC SUBSTANCE PROFILE AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SOME HERBAL TEAS

SUMMARY

Blackberry (*Rubus fruticosus*) leaf, elderberry (*Sambucus nigra*) flower and dandelion (*Taraxacum officinale*) root materials, which are selected for the study, are used as mixtures in the herbal teas in market with other herbs in different ratios to obtain taste, smell and aroma. Also, there is no sufficient information about phenolic compound and antioxidant capacities of these three plants. Especially, there is a lack of knowledge about the amount of phenolic substance and antioxidant activity of the infusions of these three plants in the literature.

In this study, the phenolic contents and the antioxidant activity potentials of plants used as herbal tea are evaluated. Also by using definite quantities of three different tea sample (blackberry leaf, elderberry flower, dandelion root) infusions are obtained, freeze-dried, and their antioxidant activities and phenolic substance profiles are determined with different methods.

Different extraction solvents (ethanol, methanol, and methanol-water) are used for the determination of total phenolic contents of those plants. Solvent with the highest extraction yield is selected for the analysis. By this, the antioxidant and phenolic content potentials of those plants are determined and the amounts of those components passing to the infusions are evaluated. The effectiveness of consuming herbal teas by means of getting phenolic compounds and antioxidants is also determined.

For determination of total phenolic content Folin-Ciocalteu method is used. For antioxidant determination different methods are performed. For evaluating antioxidant activities; DPPH radical scavenging activity assay, ABTS radical cation decolorisation assay, Reductive potential, Antioxidant activity in linoleic acid emulsion system, Hydrogen peroxide radical scavenging and Metal chelating activity methods are performed, and for determining phenolic profile HPLC method is used. Different methods of assessing antioxidant activity are compared and effectiveness of these methods is determined. By this, various effects of antioxidant on metabolism will also be determined by taking into account different mechanisms.

Firstly, composition analyses were applied to the samples. Moisture and ash contents were found to be acceptable according to legal limits (total moisture max. 10 %, total ash max. 9 %). Secondly, ascorbic acid contents were also determined, blackberry leaves were found to involve the highest content among other samples analyzed (69 mg vit C / g sample).

At the second step, total phenolic substances and total flavanoid analyses were applied to the samples. Highest total phenolic content, for both in leaf/root extractions and in infusions, were obtained for blackberry leaves (44,17 mg GA/g sample and 33,65 mg GA/g sample). It was obvious that infusion process decreased the total phenolic content.

Although blackberry leaves were found to have the highest phenolic content, elderberry flower gave the highest values for flavanoid content. (-)Epicatechin, rutin and luteolin that are present in the structure of elderberry flower was considered to be the basic reason of this high flavanoid content.

In the next step, antioxidant activities were evaluated with different methods. Blackberry leaf samples, except for metal chelating activity and hydrogen peroxide assays, gave the highest antioxidant activities among all other methods, and demonstrated to be a good source of antioxidant.

Despite of its lower phenolic content and lower antioxidant activity values obtained from other antioxidant assays, dandelion root was found to have highest chelating activity (56,52 %) and also hydrogen peroxide scavenging activity (27 %) among other samples.

Elderberry flower, with its lowest phenolic content and antioxidant activity among other samples, also showed an antioxidant activity but to a lesser extent.

When statistically evaluated, all infusions showed significant decreases in phenolic contents and antioxidant activities with respect to their leaf/root extracts. Also from HPLC phenolic profile results, it was observed that the amount of each phenolic compound showed a decrease after the infusion process. Chlorogenic acid and rutin were found to be the basic phenolics of elderberry flowers and coumaric acid was found to be the major phenolic compound of blackberry leaf and dandelion root.

For phenolic and flavonoid contents, regression analysis were performed for each of the antioxidant assays. Highest regressions were obtained between total phenolic contents and both DPPH and ABTS radical scavenging activity methods ($r = 0,94$, $P < 0,01$).

1. GİRİŞ

Günümüzde hem keyif almak amacıyla hem de sağlık açısından olumlu etkilerinden dolayı, en yaygın olarak tüketilen bitkisel kökenli doğal ürünler bitki çaylarıdır. Bitki çaylarının yüksek oranda içerdikleri antioksidan maddelerin (yağda çözünen A ve E vitamini, suda çözünen C vitamini ve geniş orandaki fenolik bileşikler olarak adlandırılan amfifatik moleküller) hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki öneminin açıkça ortaya konulmasının sonucu olarak bu ürünlerin tüketimi her geçen gün daha çok ilgi çekmektedir (Ivanova ve diğ., 2005). Bu nedenle çaylar ve bitkisel infüzyonlar günlük diyetimizin temel fenolik bileşik kaynaklarını oluşturmaktadır (Atoui ve diğ., 2005).

Bitki çaylarının besin değerini artıran antioksidan maddeler; yaşlanma ve yaşlanmanın dejeneratif hastalıklarında anahtar rolü oynayan serbest radikallerin inaktivasyonunu sağlayan savunma mekanizmalarıdır. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda dahi, bulundukları ortamdaki oksidasyonla bozunmaya uğrayacak substratları oksidasyona karşı koruyan bileşiklerdir (Becker ve diğ., 2004; Atoui ve diğ., 2005).

Doğal antioksidan kaynaklarını genel olarak bitki fenolikleri oluşturmaktadır (Atoui ve diğ., 2005; Huang ve diğ., 2005; Mathew ve Abraham, 2006a; Skerget ve diğ., 2005). Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, moleküllerinde yer alan hidroksil grubuyla ilişkilidir (Raven ve diğ.,1999; Ziakova ve Brandsteterova, 2003). Bitki fenoliklerinin en geniş kısmını flavonoidler oluşturmaktadır. Bu grup altında bilinen 8000' den fazla bileşik mevcuttur (Pietta ve Gardana, 2003).

Flavonoidlerin vücuda, içilen bitkisel çaylarla alınması çay ve çayın hazırlanış biçimine bağlıdır. Çay yaprağının boyu ve ekstraksiyonda kullanılan miktar ile flavonoid içeriği arasında önemli bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bitkideki flavonoid miktarını tam olarak ekstraksiyonunda önemli olan husus, uygun yöntemle doğru hazırlama metotlarının belirlenmesidir (Aherne ve O'Brien, 2002).

Bu araştırmada seçilen böğürtlen (*Rubus fruticosus*) yaprağı, mürver ağacı (*Sambucus nigra*) ieği ve karahindiba (*Taraxacum officinale*) kökü piyasada bulunan birçok bitkisel çay karışımlarının yapısında kullanılmaktadır. İçeriklerinde fenolik bileşiklerin olduğu bilinmesine rağmen bu üç bitkinin fenolik fraksiyonları hakkında az sayıda çalışma mevcuttur.

Bu çalışmanın amacı, ticari bitkisel çayların yapısında bulunan ve tek başlarına bitki ayı olarak tüketilebilen böğürtlen yaprağı, mürver ağacı çiçeği ve karahindiba kökü olarak üç farklı bitkisel kaynağın antioksidan aktiviteleri ve fenolik içerikleri incelemektir. Çalışma iki aşamalı olarak yürütülmüştür; İlk aşamada yaprak numunelerinden fenolik bileşikleri ekstrakte edecek en etkin çözgen sistemi tespit edilmiştir. Daha sonra bu çözgen sistemi kullanılarak, yaprak numunelerinin antioksidan aktivitesi, fenolik madde içeriği ve profilleri belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise aynı analizler, yapraklardan elde edilen infüzyonlar üzerine uygulanmıştır. Elde edilen antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarı sonuçları doğrultusunda, ürünün yaprak-infüzyon ekstraksiyonları arasında, antioksidan aktivitesi ve fenolik içerikleri bakımından, infüzyon işlemi sonucunda ortaya çıkan değişim ve kayıplar gözlenmiştir. Böylece infüzyon işleminin antioksidan aktivite ve fenolik bileşikler açısından etkinliği saptanmaya çalışılmıştır.

Çalışma; giriş bölümünü takiben, bitkisel çaylar, antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşikleri kapsayan literatür zeti, kullanılan materyal ve metotlar, bulgular ve tartışma, sonuçlar, kaynaklar listesi ve son olarak ekler şeklinde sunulmuştur.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Bitkisel Çayların Özellikleri

İnsanoğlu bitkilerden ilk çağlardan beri hem temel besin hem de ilaç kaynağı olarak yararlanmıştır. Bitkilerin hangi kısımların yenilebileceğini, zehirli ve şifa verici özelliklerini deneme yanılma yöntemleriyle keşfetmişler, sadece toplamakla kalmayıp tıbbi bitkileri kültüre de almışlardır (Baydar, 2005).

Bitkisel ürünlerin en yaygın ilaç hazırlama ve tüketme şekilleri toz, hap, infüzyon, dekoksion, merhem, tentür, tıbbi yağ ve kokulu yağ olarak sıralanabilmektedir. Günümüzde hem keyif almak amacıyla hem de sağlık açısından olumlu etkilerinden dolayı, en yaygın olarak tüketilen bitkisel kökenli doğal ürünler, bitkilerden infüzyon ve dekoksion yoluyla hazırlanan bitkisel çaylardır (Baydar, 2005). Bitkisel çayların sağlık açısından öneminin ortaya konulması, bu ürünlere ilginin gün geçtikçe artışına neden olmaktadır (Ivanova ve diğ., 2005). Ayrıca son dönemlerde bitkisel çayların ticari olarak da piyasada yaygın olarak bulunması kullanım oranlarının yükselmesine etki eden bir başka faktördür. Bu nedenle çaylar ve bitkisel infüzyonlar günlük diyetimizin temel fenolik bileşik kaynaklarını oluşturmaktadır (Atoui ve diğ., 2005).

Bitkisel infüzyon olarak tüketilen en eski ürün *Camellia sinensis* bitkisinin yaprağı olan çaydır. Çay, ilk ilaç olarak MÖ 3000 yılında Çin’de tüketilmeye başlamış, daha sonra diğer Asya ülkelerine dağılmıştır (Balentine ve Paetau-Robinson, 2000; Wang ve diğ., 2000). Geçmiş bu kadar eskiye dayanan çay, Avrupa’ya ancak 1600’lü yılların başında girmiştir (Balentine ve Paetau-Robinson, 2000; Shahidi ve Nacz, 2003). Bugün yeşil, siyah ve oolong olmak üzere çeşitli şekillerde kültürü yapılan çay, hem soğuk hem de sıcak olarak severek tüketilen bir içecektir (Balentine ve Paetau-Robinson, 2000; Wang ve diğ., 2000). Çayın yapısında bulunan flavonoidler ve metilksantinler çaya aromasını veren ve çaya antioksidan özelliği kazandırarak kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklardan korunmaya yardımcı olan biyoaktif bileşiklerdir (Balentine ve Paetau-Robinson, 2000). Bu etkide rol oynayan temel bileşikler; polifenolik yapılar olan kateşinler ve fenolik asitlerdir.

Çayın yapısında bulunan temel kateşinler epigallokateşin gallat, epigallokateşin, epikateşin galat ve epikateşindir (Zuo ve diğ., 2002).

Yapılan araştırmalar özellikle yeşil çayın yüksek oranlarda içerdiği kateşinlerin (kuru ağırlığın %20-30'u) (Wang ve diğ., 2000), yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, böylece antikanserojenik, antimutajenik ve tümör oluşumunu inhibe edici özellikler kazandığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle son yıllarda yeşil çayın fenolik bileşimini ve etkilerinin belirleme üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır (Toyoda ve diğ., 1997; Bronner ve Beecher, 1998; Lakenbrink ve diğ., 2000; Mattila ve diğ., 2000; Khokhar ve Magnusdottir, 2002; Zuo ve diğ., 2002; Ramirez-Mares ve Mejia, 2003; Ramirez-Mares ve diğ., 2004; Atoui ve diğ., 2005).

Çay dışında infüzyonları hazırlanarak yaygın olarak tüketilen diğer bazı bitkiler adaçayı, ıhlamur, kuşburnu, papatya, nane olarak sayılabilir (Zheng ve Wang, 2001; Atoui ve diğ., 2005; Başgel ve Erdemoğlu, 2005; Ivanova ve diğ., 2005). Bir çok araştırma bu bitkilerin de aynı çayda olduğu gibi kayda değer oranlarda antioksidan bileşikler ihtiva ettiğini ortaya koymaktadır (Kähkönen ve diğ., 1999; Karakaya ve El, 1999; Toit ve diğ., 2001; Zheng ve Wang, 2001; Exarchou ve diğ., 2002; Ziakova ve Brandsteterova, 2003; Atoui ve diğ., 2005; Ivanova ve diğ., 2005). Ayrıca ıhlamurun soğuk algınlığına iyi geldiği ve sinirleri yatıştırıcı özelliği olduğuna, kuşburnunun soğuk algınlığına iyi geldiğine, adaçayının virüs ve bakterilerle savaşp, vücudu yenilediğine ve papatyanın antimikrobiyal ve antiseptik özelliklere sahip olduğuna inanılarak sözkonusu rahatsızlıkların tedavilerinde bu çaylardan yoğun olarak yararlanılmaktadır (Başgel ve Erdemoğlu, 2005; Ivanova ve diğ., 2005). Ihlamurun yapısında bulunan kuersetin ve kempferol, adaçayının yapısında bulunan kuersetin ve luteolin, kuşburnunun yapısında bulunan kuersetin bu bitkilerin önemli flavonoidleridir (Karakaya ve El, 1999).

Böğürtlen yaprağı, mürver ağacı çiçeği ve karahindiba kökü de piyasadaki birçok bitkisel çay karışımlarının yapısında bulunan ve ayrıca kurutulmuş ürünleri yaygın olarak tüketilen bitkilerdendir.

Karahindiba uzun yıllardır bitkisel ilaç olarak kullanılan fenolik içeriğinde olduğu bilinen bitkilerdendir (Hu ve Kitts, 2005). Besleyici olarak yüksek değerlere sahip olduğu bilinen karahindiba kökünün ayrıca mikrobiyolojik analizlerde besiyeri

olarak da kullanılabilir (Trojanova ve diğ., 2004). Karahindiba kökü özellikle safra kesesi ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak tüketilmektedir.

Benzer şekilde mürver ağacı meyvesi ve çiçeği üzerine yapılan araştırmalarda mürver ağacının da serbest radikalleri nötralize ve oksidasyon reaksiyonlarını inhibe etmede etkili olduklarını ortaya koymaktadır. Ayrıca geleneksel inanışa göre çiçeğinden yapılan infüzyonun birçok hastalığa iyi geldiği düşünülmekte, meyve kısmından ise ev yapımı ilaçlarda çokça yararlanıldığı görülmektedir (Dawidowicz ve diğ., 2006).

Meyvesi sevilerek tüketilen böğürtlenin yüksek oranda antioksidan madde ihtiva ettiği bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda bu meyvenin konsantresinde flavonoller, hidroksisinamik asit türevleri, stilbenoidler, flavon-3-oller, elagik asit türevleri gibi flavonoidler ve diğer fenolik asitler belirlenmiştir (Burdurlu ve diğ., 2005). Ancak son yıllarda yapılan araştırmaların sonuçları yapraklarda da kayda değer oranda antioksidan madde varlığını göstermektedir. Bu özelliğinden dolayı bitkisel çay karışımlarının yapısına katılarak bu ürünlerin antioksidan kapasitesinin yükseltilmesinin sağlanması önerilmektedir (Wang ve Lin, 2000).

2.2. Antioksidanlar Ve Fenolik Bileşikler

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda, yaşlanma ve yaşlanmanın dejeneratif hastalıklarında (kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarak vb.) anahtar rolü vücutta bulunan serbest radikallerin üstlendiği belirlenmiştir (Atoui ve diğ., 2005). Serbest radikaller, vücutta meydana gelen normal fizyolojik prosesler ve patolojik şartlar altında oluşmaktadır (Mathew ve Abraham, 2006a).

Serbest radikaller nötralize edilmediğinde vücutta, hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonlarını engellemek, çekirdek membranını yararak çekirdekteki genetik materyale etki edip, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek ve bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak gibi hasarlara neden olabilirler (Sertsever ve Gök, 2003).

Vücutta oluşan serbest radikallerin inaktivasyonu antioksidan adı verilen savunma mekanizmalarıyla gerçekleştirilmektedir (Mathew ve Abraham, 2006a). Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda dahi bulundukları ortamdaki oksidasyonla

bozunmaya uğrayacak substratları oksidasyona karşı koruyan veya oksidasyonu tam olarak ortadan kaldıran bileşiklerdir (Atoui ve diğ., 2005; Becker ve diğ., 2004).

Antioksidanlar etkilerini; serbest radikal oluşumunu engellenmesi (başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki, oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyon azaltıcı etki, katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki) ve oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi (toplayıcı etki, bastırıcı etki, onarıcı etki, zincir kırıcı etki) olmak üzere iki şekilde gösterirler (Sertsever ve Gök, 2003). Antioksidanların vücuttaki aktivitesi, ortamdaki oksijen miktarı, sıcaklık, konsantrasyon miktarı ve substrat çeşidi gibi özelliklere bağlı olarak değişkenlik gösterir (Becker ve diğ., 2004).

Antioksidanlar mekanizmalarına göre genel olarak 2 sınıfa ayrılırlar. Bunlardan birinci sınıf olan “Birincil Antioksidanlar”; radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmesini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir (örn; katalaz, peroksidaz, transferin). İkinci grup olan “İkincil Antioksidanlar” ise; Oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran bileşiklerdir (örn; askorbik asit, E vitamini, polifenoller) (Sertsever ve Gök, 2003).

İkincil antioksidanlar grubuna giren askorbik asitin, güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Miller ve Rice-Evans, 1997; Sertsever ve Gök, 2003; Güçlü ve diğ., 2005; Toor ve Savage, 2005; Raffo ve diğ., 2006). Genel olarak etkilerini, reaktif oksijen türlerine proton ilavesiyle, aktivite kayıplarına neden olarak gösterirler (bastırıcı etki). Ayrıca serbest radikal ve oksidan süpürücü etki mekanizmalarıyla okside olabilir bileşikleri korumakta, bazı antioksidanların rejenere edilmesini sağlamaktadırlar. Askorbik asit, bulunduğu ürünlerin yapısındaki E vitaminin yapısının korunmasına ve bu vitaminin antioksidan etkisini göstermesine de yardımcı olmaktadır. (Sertsever ve Gök, 2003).

Doğal antioksidan kaynakları olarak meyveler, sebzeler, bitkisel çaylar, şarap, kahve ve kakao gibi ürünleri içeren birçok gıda maddesi ve içeceğini saymak mümkündür (Roginsky ve Lissi, 2005). Doğal antioksidan kaynaklarını genel olarak ‘bitki fenolik maddeleri’ oluşturmaktadır (Atoui ve diğ., 2005; Huang ve diğ., 2005; Mathew ve Abraham, 2006a; Skerget ve diğ., 2005). Fenolik maddeler; biyolojik olarak antibakteriyel, antikanserojenik, antialerjik aktivite gösteren bileşiklerdir (Parejo ve diğ., 2002; Ziakova ve Brandsteterova, 2003; Atoui ve diğ., 2005). Basit fenoller

(C₆) bitkilerin yapısında doğal olarak oluşurlar (Parejo ve diğ., 2002; Sertsever ve Gök, 2003). Fenolik bileşikler meyve, yaprak, kök ve kabuk kısımları gibi bitkilerin tüm kısımlarında yer alabilirler (Karakaya ve diğ., 2001; Roginsky ve Lissi, 2005; Skerget ve diğ., 2005).

Gıdalardaki fenolik maddeler, tat uyarıcısı, tortu oluşturunucu, enzimatik esmerleşme substratı, antioksidan ve antimikrobiyel etken, enzim inhibitörü, saflık kontrol kriteri olarak önem taşımaktadır (Ekşi ve Karadeniz, 2002).

Bitki fenolikleri, basit fenoller, fenolik asitler (benzoik ve sinamik asit türevleri), flavonoidler, hidrolize ve kondense tanenler, lignan ligninleri içermektedir (Nacz ve Shahidi, 2004). Bitki fenoliklerinin en geniş kısmını flavonoidler oluşturmaktadır. Bu grup altında bilinen 8000’den fazla bileşik mevcuttur (Pietta ve Gardana, 2003).

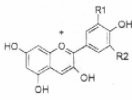
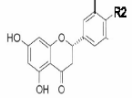
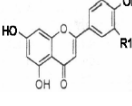
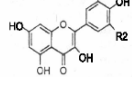
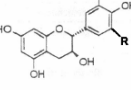
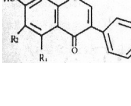
Kimyasal olarak flavonoidlerin güçlü antioksidan özellikleri üç özellikten kaynaklanır; aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler. Bu sayede serbest radikalleri yok edebilirler. Aromatik heterosiklik ve çoklu doymamış bağlardan oluşan yapılarıyla dayanıklı bir kimyasal yapı oluşturlar. Metal şelatlama kapasitesine sahip yapısal grupları vasıtasıyla OH⁻ ve O⁻² gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl, 2003).

Flavonoidleri yapılarına bağlı olarak 6 grupta toplamak mümkündür. Bunlar; Antosiyanidinler, Flavanonlar, Flavonlar, Flavonoller, Flavan-3-oller, İzoflavonlar’dır (Cam ve Hışıl, 2003). Flavonoidlerin grupları ve her bir grubu ait bileşikler Tablo 2.1’de verilmiştir.

2.3. Bitkisel Ürünlerin Antioksidan Özellikleri Ve Fenolik Bileşik İçerikleri

Antioksidanların sağlık üzerine etkilerinin anlaşılması ile bu konuda yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artış göstermektedir. Antioksidan aktivitesini hesaplama yöntemleri iki temel prensibe dayanır. Bunlardan birincisi ‘Hidrojen Atom Transferini’ (HAT) temel alan analizler, ikincisi ise ‘Tek Elektron Transferini’ (SET) temel alan analizlerdir. HAT reaksiyon mekanizmasına dayalı başlıca analizler oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) ve radikal-tutuklama antioksidan parametresi (TRAP)’dir. SET reaksiyon mekanizmasına dayalı başlıca analizler ise, Troloks eşitliği antioksidan kapasitesi yöntemi (TEAC; “ABTS”), demir iyonlarını

Tablo 2.1: Flavonoidlerin Grupları Ve Bu Gruplara Ait Bileşikler

Antosiyanidinler	Flavanonlar	Flavonlar	Flavonoller	Flavan-3-oller (Kateşinler)	İzoflavonlar
					
Siyanidin Delfinidin Malvidin Pelargonodin Petunidin Peonidin	Diydmin Eriositrin Eriodisitiyol Hesperetin Hesperidin Isosakuranetin Naringenin Naringin Narirutin Neriositrin Neohesperidin Pinosembrin Ponsirin Prunin	Apigenin Baisalein Diosmin Genkwain Isohoifolin Luteolin Riyofilin Tektokrisin	Astragalin Hiperosid Isokuersitrin Isohamnetin Kempferid Kempferol Mirsetin Kuersetin Kuersitrin Ramnetin Rutin	Kateşin Gallokateşin Epikateşin Epigallokateşin Epikateşin-3-gallat Epigallokateşin-3-gallat	BiokemA Daidzein Formomonetin Genistein Glisitein Glisititein Daidzm Genistin Siyertim

indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) ve DPPH (% serbest radikal yakalama aktivitesi) yöntemi ve toplam fenolik madde miktarı analizi için Folin-Ciocalteu yöntemidir (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005).

Antioksidan aktivitesi hesaplamada tercih edilen yöntemlerinin başında DPPH serbest radikal yakalama yöntemi gelmektedir. Yöntemde DPPH, antioksidan molekülleriyle etkileşerek hidrojen vererek indirgenir ve böylece absorbansın düşmesine neden olur. Absorbanstaki azalma ne kadar yüksek olursa radikal yakalama aktivitesi o kadar yüksektir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Antioksidan aktivitesi hesaplamada sıklıkla tercih edilen diğer bir yöntem olan ABTS metoduyla antioksidan aktivitesi yöntemi, ABTS (2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)'nin potasyum persülfatla reaksiyonu sonucu oluşan mavi/yeşil renkli ABTS⁺'nin Troloks eşitliğine dayanarak hesaplanmasına dayanır. Metodun en önemli avantajı hem hidrofilik hem lipofilik bileşiklere uygulanabilir oluşudur (Huang ve diğ., 2005).

Bitkisel ürünlerin antioksidan aktivitesi hesaplamalarında DPPH ve ABTS en çok tercih edilen yöntemler arasındadır (Karakaya ve diğ., 2001; Toit ve diğ., 2001; Exarchou ve diğ., 2002; Parejo ve diğ., 2002; Amarowicz ve diğ., 2004; Atoui ve

diğ., 2005; Dawidowicz ve diğ., 2006 ; Hu ve Kitts, 2005; Ivanova ve diğ., 2005; Mathew ve Abraham, 2006a).

Ayrıca, ortamda bulunan serbest radikalleri yakalama aktivitesine dayanan yöntemlerde, son zamanlarda antioksidan kapasitesini belirlemede yaygın kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan süperoksit anyon yakalama aktivitesi, fenazinmetosülfat-NADH sisteminde NADH'ın oksidasyonu ve NBT'deki indirgenme sonucu enzimatik olmayan bir şekilde süperoksit radikallerinin oluşması, ortama fenozin metasulfat (PMS) ilavesiyle başlayan reaksiyonla absorbanstaki azalmanın hesaplanması esasına dayanır. Burada düşük absorbans yüksek yakalama aktivitesine işarettir. Süper oksitin biyolojik olarak önemi, ortamdaki yüksek oksidatif türleri (hidroksil radikalleri vb gibi) ayrıştırabilmesidir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Serbest radikalleri yakalama aktivitesi esasına dayanan diğer yöntemlerden biri olan indirgeme potansiyeli metodunda yüksek absorbans, yüksek indirgeme potansiyelini gösterir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Bir diğer metot olan metal şelatlama aktivitesi, ortamda bulunan Fe^{2+} iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Aktivite kendini şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması sonucu kırmızı renkteki azalmayla gösterir. Metal şelatlama aktivitesi lipit peroksidasyonundaki katalize olmuş geçiş metallerini indirgediği için önem taşımaktadır. Şelatlama ajanları redoks potansiyelini indirgeyerek metal iyonlarının oksidasyonunu stabilize edebilirler. Bu nedenle şelatlama ajanları ikincil antioksidanlardır (Mathew ve Abraham, 2006a).

Ortamda bulunan lipit peroksidasyonunun inhibisyonuna dayanan ve tiyosiyanat metodu olarak da bilinen linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidan aktivitesi metodunda gözlenen düşük absorbans değeri yüksek lipit peroksit inhibisyonunun göstergesidir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Bir diğer yöntem olan hidroksil radikal yakalama aktivitesinin ölçümü deoksiriboz metoduyla yapılmaktadır. Bu yöneme göre; düşük absorbans değeri yüksek deoksiriboz parçalanmasının inhibisyonu anlamındadır. Yüksek oranda reaktif hidroksil, DNA, yağlar ve proteinler üzerinde oksidatif zararlara neden olabilmektedir. Hidroksil yakalama aktivitesi yüksek olan ürünler, – OH grubunu

nötrale edip hidrojen atomuna dönüştürerek inaktif hale getirdikleri için önemlidir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında genellikle tercih edilen Folin-Ciocalteu metodu, yönteme adını veren reaktif vasıtasıyla oluşan renk yoğunluğunu göre absorbans ölçümüne dayanmaktadır. Ancak metot, ortamda bulunan ekstrakte edilebilir proteinleri de ekstrakte ettiği için gıdaların yapısında bulunan bütün fenolik grupları ortaya çıkarır. Bu nedenle spesifik bir metot kabul edilmemektedir. Ayrıca metodun en önemli dezavantajı analiz sırasında ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramasıdır (Huang ve diğ., 2005). Analiz sonucunda yüksek absorbans değeri yüksek fenolik madde miktarının göstergesidir. Bitkisel ürünlerin, toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında genellikle Folin-Ciocalteu (F-C) metodu tercih edilmektedir (Kähkönen ve diğ., 1999; Lakenbrink ve diğ., 2000; Karakaya ve diğ., 2001; Zheng ve Wang, 2001; Exarchou ve diğ., 2002; Khokhar ve Magnusdottir, 2002; Parejo ve diğ., 2002; Tsai ve diğ., 2002; Amarowicz ve diğ., 2004; Atoui ve diğ., 2005; Hu ve Kitts, 2005; Ivanova ve diğ., 2005; Mathew ve Abraham, 2006a; Skerget ve diğ., 2005).

Lakenbrink ve diğ. (2000), ticari poşet çay ve kafein içeren içecekler üzerinde yaptıkları çalışma ile bu içeceklerin fenolik madde miktarlarına göre karşılaştırılmasını amaçlamışlardır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarlarını belirlemede Folin-Ciocalteu metodunu kullanmışlardır.

Kähkönen ve diğ. (1999) 92 ve Exarchou ve diğ. (2002) 3 çeşit bitki ekstraktında yaptıkları çalışmada Folin-Ciocalteu metodunu kullanmış, bu bitkilerin doğal antioksidan özelliklerini karakterize etmeye çalışmıştır. Benzer şekilde içlerinde yeşil çayında bulunduğu üç farklı bitkisel çay numunesinin polifenol içeriğinden kaynaklanan kemo-önleyici aktiviteyi belirlemek üzere çalışma yapan Ramirez-Mares ve diğ. (2004), toplam fenolik madde içeriğini hesaplamada Folin-Ciocalteu metodundan yararlanmışlardır.

Karışım veya kompleks sistemler, çoklu reaksiyon karakteristiği ve farklı fazlarda çözünme özelliklerine sahip oldukları için, tek bir analiz yöntemi bütün radikal kaynaklarını veya bütün antioksidanları ortaya çıkarmayı mümkün kılmamaktadır

(Prior ve diğ., 2005). Bu nedenle özellikle son dönemlerde yapılan araştırmalarda antioksidan aktivitesi hesaplanırken sadece bir yönteme değil birden fazla yönteme yer verildiği görülmektedir (Tsai ve diğ., 2002; Amarowicz ve diğ., 2004; Dawidowicz ve diğ., 2006; Hu ve Kitts, 2005; Mathew ve Abraham, 2006a ve 2006b).

Wang ve Lin (2000), böğürtlen, ahududu ve çileğin meyvesi ve yapraklarında yaptıkları çalışmada, örneklerin antioksidan aktivitelerini, toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu, antioksidan kapasitesi için ORAC yöntemlerini kullanarak belirlemiş, meyve ve yaprak kısımları arasındaki aktiviteyi, elde edilen sonuçlar doğrultusunda karşılaştırmıştır. Meyvelerinin yüksek oranda antioksidan aktivitesi içeriğine sahip olduğu bilinen bu bitkilerin yapraklarında da kayda değer oranda aktivite olduğunu ortaya konulmuştur (Meyvesinde 20,7mgGA/g.numune toplam fenolik madde içeren böğürtlenin, yaprağında 20,9mgGA/g.numune fenolik madde içeriği).

Mathew ve Abraham, tarçın bitkisinin kabuk ekstraktında (2006a) ve yaprak ekstraktında (2006b) yaptıkları iki ayrı çalışma ile bu bitkinin antioksidan aktivitesi ve yakalama etkisini, çeşitli antioksidan maddelerle karşılaştırarak (Troluks, BHA ve askorbik asit) incelemiştir. Araştırmacılar toplam fenolik madde tayin metodunun (Folin-Ciocalteu) yanı sıra 7 farklı antioksidan aktivitesi yönteminden (DPPH, ABTS, süper oksit anyon yakalama, indirgeme potansiyeli, metal şelatlama aktivitesi, linoleik asit emülsiyon sistemi ve hidroksil radikal yakalama) yararlanmışlardır. Çalışma sonunda bitkinin kabuk ekstraktında %90 radikal yakalama aktivitesi, %88 linoleik asit oksidasyonu inhibisyonu ve %96 ABTS radikali yakalama aktivitesi bulunmuş ve aynı analizlerin sonuçları yaprakta sırasıyla %82, %82 ve %92 olarak tespit edilmiştir.

Ivanova ve diğ. (2005), 21 adet Bulgaristan ilaç bitkisi üzerinde çalışma yapmış, bu çalışmayla bitkilerin antioksidan kapasitelerini ortaya koymuşlardır. Buldukları sonuçları genel olarak yüksek antioksidan kapasitesine sahip oldukları bilinen çay örnekleriyle karşılaştırmışlardır. Fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu ve antioksidan aktivitesi için ABTS yönteminden yararlanmışlardır. ABTS radikal yakalama aktivitesi sonuçları mM Troluks cinsinden, karahindiba için 1,02 mM, melisa için 4,06 mM, papatya için 0,86 mM, siyah çay için 3,92 mM, yeşil çay için 5,91 mM ve böğürtlen yaprağı için 4,23 mM olarak bulunmuştur. Aynı

örneklerde kuersetin cinsinden toplam fenolik miktarları sırasıyla, 362,14 µM, 1370,9 µM, 254,35 µM, 187,96 µM, 317,62 µM ve 608,95 µM olarak gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, Bulgaristan'da yoğun olarak tüketilen bitkisel ürünlerin, antioksidan kaynakları olarak düşünülen siyah ve yeşil çay referans alındığında, iyi birer antioksidan kaynağı olduklarını göstermiştir (Ivanova ve diğ. 2005).

Caillet ve diğ. (2006), yaptıkları çalışmada birçok bitkisel ürünün su ve etanolik ekstraksiyonunda antioksidan aktivitesini hidroksil radikal yakalama yöntemiyle ve ayrıca çözgen sistemlerinin etkinliğini incelemiş, adaçayı ve nanenin çoğu ticari kimyasal gıda katkısından daha yüksek oranda antioksidan aktivite içerdiklerini ortaya koymuşlardır (%70,4 ve %71,7).

İçlerinde siyah çay ve bitkisel çay örneklerinin de bulunduğu 26 çeşit bitkisel üründe yapılan çalışmada ürünlerin antioksidan aktiviteleri Folin-Ciocalteu metodu ve ABTS yöntemi kullanılarak ortaya konmuştur (Karakaya ve diğ., 2001).

9 farklı Akdeniz bitkisinin antioksidan aktivitesi, DPPH, hidrojen peroksit yakalama, demir şelatlama aktivitesi yöntemleriyle El ve Karakaya (2004) tarafından incelenmiştir. Örneklerle birlikte kateşin ve kuersetin standartları da analizlenmiş, böylece elde edilen sonuçlar bu standartlarla karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Kateşin ve kuersetin standartlarının hidrojen peroksit yakalama aktiviteleri %10,63 ve %22,77 (50 mg/ml madde miktarı için) olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan farklı bitkisel ekstraktların 50 mg/ml'sinden elde edilen sonuçların bu standart değerlerinden genel olarak daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir (yabani havuç %4,64, yabani turp %35,65 ve ebegümeci %46,19).

Amarowicz ve diğ. (2004) seçilmiş Kanada bitkileri üzerinde yaptıkları serbest radikal yakalama kapasiteleri ve antioksidan aktivitelerini Folin-Ciocalteu, DPPH, hidroksil radikal yakalama ve indirgeme potansiyeli yöntemlerinden yararlanarak incelemiştir. Bölgeye ait *Arctostaphylos uva-ursi* bitki örneği bütün yöntemler için en yüksek sonucu vermiş ve bu bitkinin iyi bir antioksidan kaynağı olduğu gözlenmiştir (Toplam fenolik için 312 mg kateşin/g numune, DPPH için %98,2 yakalama aktivitesi ve 125 ppm örnek miktarı için %100 OH radikal yakalama aktivitesi) (Amarowicz ve diğ., 2004).

Rooibos çayının (*Aspalathus linearis*) antioksidan ve proantioksidan aktivitelerini ölçmek için yapılan bir çalışmada, özelliklerin belirlenmesinde toplam fenolik

(Folin-Ciocalteu), toplam flavonoid ve linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu yöntemleri kullanılmıştır (Joubert ve diğ., 2005). Bitkinin antioksidan aktivitesi özellikleri incelenirken, fermentasyon prosesinin antioksidan aktivitesinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Sulu fermente ekstrakt için toplam fenolik miktarı 34,25 mg GA/g numune iken, fermente olmamış ekstrakta 39,30 mg GA/g numune olarak gözlenmiştir (Joubert ve diğ., 2005).

Kakaonun, çay ve kırmızı şaraba göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymaya çalışan Lee ve diğ. (2003), antioksidan aktivitenin belirlenmesinde ABTS ve DPPH yöntemlerini kullanmış, ayrıca toplam fenolik madde (Folin-Ciocalteu metodu ile) ve toplam flavonoid miktarlarını da hesaplamışlardır. Yeşil çay için toplam fenolik madde miktarı 165 mg GA, flavonoid miktarı 47 mg EK olarak bulunurken, siyah çay için aynı sonuçlar sırasıyla 124 mg GA ve 34 mg EK olarak hesaplanmıştır.

Parejo ve diğ. (2002) 6 farklı Akdeniz bitkisinde yaptıkları çalışmada, toplam fenolik için Folin-Ciocalteu, radikal yakalama yöntemleri olarak da DPPH, hidroksil radikal ve süperoksitanyon yakalama yöntemlerini kullanarak bitkilerin antioksidan kapasitelerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca ekstraksiyonlarda farklı çözügen sistemlerinden ve bitkilerin farklı fraksiyonlarından yararlanmışlar, böylece bitkilerin her sistem ve fraksiyonun antioksidan aktivitesine nasıl etki ettiğini gözlemlemişlerdir. Buna göre genel olarak, örneklerin destilasyon işlemi görmemiş etil asetat fraksiyonlarının bütün analiz yöntemleri için yüksek fenolik madde verimi verdiğini belirlemişlerdir (Parejo ve diğ., 2002).

Çeşitli bitkisel ürünleri kapsayan çalışmalarında Hinneburg ve diğ. (2006), bu ürünlerin antioksidan aktivitelerini hesaplamada linoleik asit emülsiyonu, indirgeme potansiyeli, DPPH ve metal şelatlama yöntemlerini kullanmışlardır. Analizi yapılan bitkisel ürünlerin, 18,5'tan 147 mg GA/g numune miktarına kadar çeşitlilik gösteren toplam fenolik madde miktarlarıyla, sentetik ürünlere alternatif olabileceklerini belirlemişlerdir. Ayrıca kullandıkları yöntemler arasında ilişkileri incelemişler, şelatlama aktivitesi ve DPPH yöntemi ile toplam fenolik madde ilişkisini önemsiz, indirgeme potansiyeli ve lipit peroksidasyonunun inhibisyonuna ait sonuçların toplam fenolik madde ile ilişkisini ise önemli bulmuşlardır ($P < 0,01$).

Fenolik madde profillerini belirlemede ise genellikle kromatografik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntemler yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC), kapiller elektroforez (CE), kapiller elektrokromatografi (CEC) ve gaz kromatografisi (GC)'dir. Ayrıca farklı enstrümanlarla birleştirilen kromatografik sistemler elde edilen analitik sonuçların kesinliğinin artırılmasını sağlamaktadır (Molnar-Perl ve Füzfai, 2005).

Mürver ağacı bitkisinin meyve, çiçek ve yaprak kısımlarının antioksidan aktivitesi ve fenolik profillerini belirlemek isteyen Dawidowicz ve diğ. (2006), yaptıkları çalışmada antioksidan aktiviteyi DPPH metoduyla, fenolik kompozisyonunu ise fotodiyod ışın (PDA=Photo Diode Array) dedektör içeren HPLC ile incelemiştir. Elde ettikleri sonuçlarda bitkinin çiçek kısmının en çok antioksidan aktivite gösteren parçası olduğunu belirlemişler (%91,95), yapısında bulunan rutin, izokuersitin, astragalin gibi flavonoidlerin miktarlarını tespit etmişlerdir (Dawidowicz ve diğ., 2006).

Zheng ve Wang (2001), içlerinde karahindiba kökünün de bulunduğu 39 farklı bitkisel ürün üzerinde ORAC ve Folin-Ciocalteu yöntemlerini kullanarak antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşiklerin miktarlarını hesaplamışlardır. Daha sonra yüksek miktarda aktivite içerdiği tespit edilen bitkilerin fenolik madde profilleri HPLC-PDA sistemi ile belirlenmiştir. Yüksek miktarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenen adaçayının fenolik maddeleri, vanilik asit (2,27 mg/100g taze ağırlık), kafeik asit (7,42 mg/100g taze ağırlık), luteolin (33,4 mg/100g taze ağırlık), rosmarinik asit (117,8 mg/100g taze ağırlık) ve apigenin (2,4 mg/100g taze ağırlık) olarak tespit edilmiştir (Zheng ve Wang, 2001).

Atoui ve diğ. (2005), çay ve bitkisel örneklerin infüzyonlarında yaptığı çalışmayla öncelikli olarak bu ürünlerin fenolik madde miktarlarını (Folin-Ciocalteu metoduna göre) ve antioksidan kapasitesini belirlemiş, daha sonra HPLC (LC-DAD-MS ilaveli) kullanarak yapılarındaki fenolik profilleri incelemiştir. Bitkisel ürünlerin yapısında 60 farklı çeşit flavonoid, fenolik asit ve türev bileşikleri tanımlanmıştır. Siyah çayda temel kateşin ürünlerinin yanında gallik asit esterleri ve ksantoksilin, yeşil çayda temel kateşin bileşenlerinin yanında kafeik asit esterleri ile kumarik asit esterleri ve papatyada klorojenik asit, luteolin-7-glikozid ve apigenin-7-glikozid gibi temel bileşenler ile ferulik asit, kafeik asit ve sinnamik asit gibi diğer bileşenlerin esterleri tespit edilmiştir (Atoui ve diğ., 2005),.

Yeşil, siyah ve Oolong çayı üzerinde, Zuo ve diğ. (2002) yaptıkları çalışmada, bu ürünlerin ekstraktlarının yapılarında bulunan kateşinleri HPLC-PDA sistemi ile belirlemeyi ve fermentasyon proseslerinin kateşinler üzerine etkisini görmeyi amaçlamışlar, yeşil çayın yapısında belirledikleri (-)-epigallokateşin gallat, (-)-epigallokateşin, (-)-epikateşin gallat ve (-)-epikateşin miktarlarının, siyah ve Oolong çayına uygulanan fermentasyon proseslerinin etkisiyle azaldıklarını gözlemlemiştir (Zuo ve diğ. 2002).

Hu ve Kitts (2005), karahindiba çiçek ekstraktının antioksidan aktivitesi ve fenolik profilinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Bunun için öncelikle örneğe antioksidan aktivitesi (DPPH, linoleik asit emülsiyonu ve superoksit radikal) ve toplam fenolik (Folin-Ciocalteu) yöntemleri uygulanmış, daha sonra HPLC kullanarak fenolik profili ortaya konmuştur. Örnek, 195,4 µg GA/mg numune toplam fenolik miktarı ve 417 µg C vit./mg numune indirgeme potansiyeli sonucu ile yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca bitkinin fenolik profili incelendiğinde, klorojenik asit, kafeik asit, luteolin-7-glukozid ve luteolin bitkinin fenolik bileşikleri olarak tespit edilmiştir (Hu ve Kitts, 2005).

Mattila ve diğ. (2000), içinde siyah ve yeşil çayı bulunduğu çeşitli bitki örneklerinin flavonoid içeriğinin belirlenmesi için DAD ilaveli HPLC kullanmışlar ve çayların yapısında bulunan kateşinler, kuersetin, kempferol ve mirisetin miktarlarını tespit etmişlerdir. Buna göre yeşil çay için (+)-kateşin miktarı 0,8 mg/100 g taze ağırlık, kuersetin miktarı 2,3 mg/100 g taze ağırlık, (-)-epikateşin miktarı 2,7 mg/100 g taze ağırlık olarak bulunurken, siyah için bu değerler sırasıyla 0,4 mg/100 g taze ağırlık, 1,7 mg/100 g taze ağırlık ve 0,7 mg/100 g taze ağırlık olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar siyah çayın fermentasyon işlemi sırasında fenolik bileşiklerinin miktarlarında kayıplar olduğunu ortaya koymaktadır.

Skerget ve diğ. (2005), Akdeniz bitkilerini içeren çalışmalarında bitkilerin fenolik miktarlarını ve fenolik profillerini belirlemişlerdir. Toplam fenolik için Folin-Ciocalteu metodundan, fenolik profil için HPLC sisteminden yararlanılmıştır.

28 farklı siyah ve yeşil çay çeşidinin antialerjik flavonoid potansiyelinin ortaya konulmasını amaçlayan Toyoda ve diğ.(1997), fenolik profili belirlemede HPLC'den yararlanmışlardır. Çalışmada çay örneklerine uygulanan infüzyon işlemi ile aglikonların hidrolizasyonu sağlanarak, her aglikonun hidrolizi için gerekli olan süre

HPLC kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Örneklerin genel çoğunluğu için mirisetin, kuersetin ve kaempferol 30 dk. içinde hidrolizasyon göstermiştir. Ayrıca içerisinde yeşil çayın da bulunduğu 17 çayın yapısında kuersetin ve kaempferol, 5 çayın yapısında luteolin, 4 çayın yapısında apigenin ve içinde yaseminin de bulunduğu iki çayın yapısında mirisetin belirlenmiştir. Antialerjik özelliğe sahip olduğu bilinen skultellarin ise 3 çayın yapısında tespit edilmiştir (Toyoda ve diğ., 1997).

Bronner ve Beecher (1998), siyah, yeşil ve yasemin çayının bulunduğu örneklerin kateşin içeriğinin ve miktarının belirlenmesi amacıyla HPLC-DAD sisteminden yararlanmış, bütün çay gruplarının yüksek oranlarda (1-13 mg/ml arasında) kateşin tespit ederek (epikateşin, epigallokateşin ve epikateşin gallat) bu çayların zengin bir kateşin kaynağı olduğunu göstermişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

Analizlerde kullanılmak üzere kurutulmuş olarak Malatya Pazarı Kuruyemiş San. Tic. Aş.'den (İstanbul) temin edilen 3 bitkisel çay yaprağına, öncelikli olarak çözgen ekstraksiyonu ve infüzyon yöntemiyle çay hazırlama işlemleri uygulanmış, iki ayrı analiz numunesi elde edilmiştir. Elde edilen analiz numunelerinin çözgenleri kurutma işlemi ile uzaklaştırılmış, daha sonra kurutulan örnekler metanolde çözündürülerek (%80'lik) antioksidan aktivitesi ve fenolik madde profili analizlerinde kullanılmıştır. Numunelere uygulanan antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı ile ilgili deneme deseni Tablo 3.1 de verilmiştir.

Tablo 3.1: Numunelere Uygulanan Analiz Yöntemleri

Örnek	Uygulama Şekli	Komp. analizleri	Askorbik asit analizi	Toplam Fenolik	Toplam Flavanoid	DPPH	ABTS	İndirgeme Potansiyeli	Metal şelatlama	Linoleik asit emülsiyonu	H ₂ O ₂ Yakalama	HPLC Profil Belirleme
Böğütlen Yaprığı	İnfüzyon			*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Yaprak Ekstrak.	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Mürver Ağacı Çiçeği	İnfüzyon			*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Çiçek Ekstrak.	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K.hindiba Kökü	İnfüzyon			*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Kök Ekstrak.	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler; DPPH (2,2-Diphenyl-1-pirihydrazyl) (Fluka), Tween 20 (Riedel), Trikloroasetik asit (Riedel), Demir (III) klorür (Riedel), Potasyum dihidrojen fosfat (Riedel), EDTA (Etilendiamintetraasetik asit) (Fluka), L-askorbikasit (Aldrich), Hidrojen peroksit (Riedel), Folin-Ciocalteu reaktifi (Fluka), Linoleik asit (Sigma), Amonyum tiyosiyanat (Riedel), Demir (II) klorür (Aldrich), Ferrozine (Fluka), Potasyum ferrisiyanid (Fluka), Tris-HCl tamponu (Riedel), NBT (Nitroblue tetrazolium) (Fluka), PMS (Fenazinmetosülfat) (Fluka), ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6sulphonic acid) (Fluka), Troloks (6-hydroxyl-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid) (Fluka) temin edilmiştir. Kullanılan standartlar ise Sigma-Aldrich GmbH'den (Sternheim, Almanya) temin edilmiş, standartların listesi Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2: Analizlerde Kullanılan Standartlar

Kullanılan standartlar
Gallik asit (Fluka)
Rutin (kuersetin-3-rutinosid) (Sigma)
Kuersetin (Aldrich)
Luteolin (Sigma)
Kaffeik asit (Sigma)
Klorejenik asit (Sigma)
Kumarik asit (Sigma)
Ellagik asit (Sigma)
Ferrulik asit (Fluka)
(-) – epikateşin (Sigma)
Isokuersitrin (Sigma)
Astragalin (Sigma)
Apigenin (Fluka)
Mirsetin (Sigma)

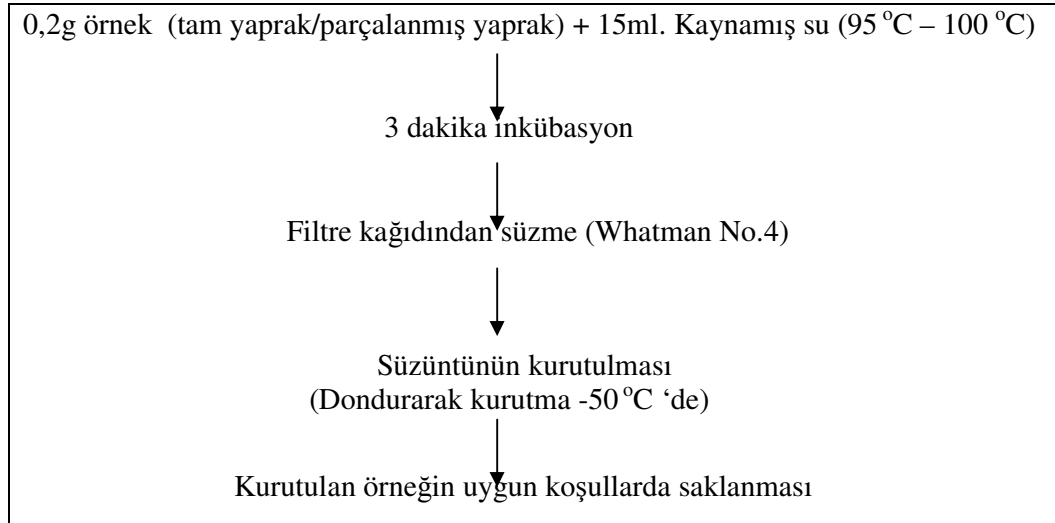
3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkisel Çaylarda Yaprak Ekstraksiyonu

Bitkisel çay numunelerine öncelikli olarak, 3 farklı çözgen sistemiyle iki farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanmış, elde edilen sonuçlar doğrultusunda en etkin çözgen sistemi (%80'lik Metanol- Su) ve yöntem (santrifüj metodu) seçilerek örnekler ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon yöntemi olarak Kähkönen ve diğ. (1999) kullandığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. 0,2g. örnek 2 tekrarlı olarak 10ml. çözgen ilave edilerek, 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş (Hettich Universal 32R), bu işlem ekstrakt her seferinde süzülerek ve aynı miktarda çözgen ilave edilerek 3 kez tekrarlanmıştır. En son elde edilen 3 ekstrakt birleştirilerek Whatman No.4 filtre kağıdından süzölmüştür.

3.2.2. Bitkisel Çaylardan İnfüzyon Hazırlama

Kurutulmuş olarak hazır alınan bitkisel çay örnekleri homojen halde parçalandıktan sonra infüzyon işlemine tabi tutulmuştur. İnfüzyon işlemi 2 deney tekrarıyla Baydar (2005) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Uygulanan infüzyon hazırlama yöntemi Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Bitkilerden İnfüzyon Hazırlama Metodu

3.2.3. İnfüzyonların Kurutulması

Şekil 3.1' e göre infüzyonları hazırlanan örneklerin kurutulmasında dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yönteminden yararlanılmıştır. Örnekler -50 °C sıcaklık altında tam olarak kuruyana kadar işleme tabi tutulmuş, kurutma işlemi vakum pompası ilaveli (Vakuubrand 2,5) liyofilizatör (Christ Alpha 1-2 LD Plus) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Kompozisyon Analizleri

3.2.4.1. Nem tayini

Numunelerin nem miktarının hesaplanması AOAC 934.01 yemlerde 95°C-100°C'de fırın kurutma ile nem kaybı metoduna göre 2 tekrarlı olarak uygulanmıştır (AOAC, 1998).

3.2.4.2. Kül tayini

Numunelerin kül miktarının hesaplanması AOAC 941.12A baharatlarda kül-gravimetrik metoduna göre 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir (AOAC, 1990).

3.2.5. Askorbik Asit Tayini

Numunelerin askorbik asit miktarının hesaplanması AOAC 961.27 vitamin hazırlama ve meyve sularında askorbik asit 2,6 diklorofenol indofenol yöntemi-titrimetrik metoduna göre spektrofotometrik olarak 3 deney tekrarıyla yapılmıştır. (AOAC, 2000).

3.2.6. Örneklerin Analize Hazırlanması

İki tekrarlı olarak hazırlanan ve kurutulan ekstraksiyonlar ve infüzyonlar, 50 ml %80'lik metanolde çözündürülerek analizlere hazır hale getirilmiştir.

3.2.7. Toplam Fenolik Madde Analizi

Kurutulan ve daha sonra metanolde çözündürülen örneklerin toplam fenolik madde miktarının hesaplanmasında Folin–Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Yöntem her örneğe 3 deney tekrarıyla uygulanmıştır. Örneklerin absorbans değerleri çift ışınlı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700

Pharmospec) ölçülmüştür. Yöntemde elde edilen sonuçlar gallik asit cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8. Toplam Flavonoid Analizi

Örneklerin toplam flavonoid miktarının hesaplanmasında Zhinsen ve diğ.(1999)'nin kullandığı yöntemden yararlanılmıştır. Yöntem her örneğe 3 deney tekrarıyla uygulanmıştır. Örneklerin absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür. Yöntemde elde edilen sonuçlar epikateşin cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.9. Antioksidan Aktivitesi Tayinleri

Örneklerin antioksidan aktivitesi belirlenmesi amacıyla 6 farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden % radikal yakalama aktivitesi (DPPH yöntemi) ve ABTS metoduyla antioksidan aktivitesi yöntemi toplam antioksidan aktivitesi temeline dayanırken, indirgeme potansiyeli kapasitesi, metal şelatlama aktivitesi, linoleik asit emülsiyonu ve H₂O₂ yakalama aktivitesi, serbest radikal yakalama aktivitesine dayanmaktadır.

3.2.9.1. DPPH metodu ile antioksidan aktivitesi

Örneklerin toplam antioksidan aktivitelerinin hesaplanmasında % radikal yakalama aktivitesi (DPPH) yöntemi kullanılmıştır (Brand-Williams ve diğ., 1995). Yöntem her örneğe 3 deney tekrarıyla uygulanmış, elde edilen sonuçların absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür.

3.2.9.2. ABTS metodu ile antioksidan aktivitesi

Örneklerin toplam antioksidan aktivitelerinin hesaplanmasında bir diğer yöntem olarak ABTS metodu ile antioksidan aktivitesi yöntemi kullanılmıştır (Wettasinghe ve diğ., 2002; Mathew ve Abraham, 2006a). Yöntem 3 deney tekrarıyla uygulanmış, elde edilen sonuçların absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür. Örneklerin sonuçlarının ifade edilmesinde Troloks eşitliğinden yararlanılmıştır.

3.2.9.3. Metal şelatlama aktivitesi

Yöntem, her bitkisel çay numunesine 3 deney tekrarıyla, 3 farklı örnek konsantrasyonunda (1/3 ml, 1,5/3 ml, 2/3 ml), Dinis ve diğ. (1994)'nin metodu kullanılarak uygulanmıştır. Absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür.

3.2.9.4. İndirgeme potansiyeli

Serbest radikal yakalama aktivitesine dayanan bir diğer metot olan indirgeme potansiyeli 3 tekrarlı olarak, 2 mg/ml örnek konsantrasyonu değeri ile uygulanmış (Oyaizu, 1986), absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür.

3.2.9.5. Linoleik asit sisteminde antioksidan aktivitesi

Yöntem her bitkisel çay numunesine 3 deney tekrarıyla uygulanmış (Duh ve diğ., 1997), absorbans değerleri Shimadzu UV-1700 Pharmospec UV-Visible spektrofotometresiyle ölçülmüştür.

3.2.9.6. Hidrojen peroksit yakalama aktivitesi

Bitkisel çayların serbest radikal yakalama aktivitesini hesaplamada kullanılan yöntemlerden biri olan peroksit yakalama aktivitesi 3 çay numunesine, 3 deney tekrarıyla uygulanmış (Wettasinghe ve Shahidi, 2000), örneklerin absorbans değerleri çift ışıklı UV-Visible spektrofotometresiyle (Shimadzu UV-1700 Pharmospec) ölçülmüştür.

3.2.10. Fenolik Madde Profillerinin Belirlenmesi

Bitki numunelerinin fenolik profillerini belirlemede bazı modifikasyonlar uygulanarak Dragovic-Uzelac ve diğ. (2005)'ne ait metot kullanılmıştır. Örnekler HPLC'ye her bir ekstraksiyon ve liyofilizasyon numunesi %50'lik metanol:su çözgeninde 1:1 oranında çözündürülerek 3 tekrarlı olarak enjekte edilmiştir. Kullanılan yöntemin koşulları Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'de verilmiştir.

Sonuçlar integrasyon alan hesabı ile değerlendirilmiştir. Alanlar, her standart için kalibrasyon eğrilerinden konsantrasyon olarak hesaplanmıştır. Standartlara ait kalibrasyon eğrileri Ek A'da sunulmuştur.

Tablo 3.3: Uygulanan Yöntemin HPLC Koşulları

HPLC sistemi:	Waters 2695 Separation module, Waters 2996 PDA dedektör
Kolon:	Supelcosil C18, 5 µm, (25 x 4,6 mm)
Mobil sistem:	Gradient
Mobil faz A:	3% asetik asit - H ₂ O
Mobil faz B:	%3 asetik asit, %25 CH ₃ CN, %72 H ₂ O
Kolon sıcaklığı:	20°C
İnjesiyon hacmi:	20 µl
Dalga boyu:	278 nm (210-360 nm arası)
Yazılım	Empower Build 1154

Tablo 3.4: HPLC Gradient Koşulları

Zaman	Başlangıç %A	Final %A	Akış Hızı
0-40 dk.	%100 A	%30 A	1 ml / dk
40-45 dk.	%30 A	%20 A	1 ml / dk
45-55 dk.	%20 A	%15 A	1.2 ml/dk
55-57 dk.	%15 A	%10 A	1.2 ml/ dk
57-75 dk.	%10 A	%10 A	1.2 ml/dk

3.2.11. İstatistiksel Analiz

Her bitki çeşidi ve karşılık gelen infüzyonlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar populasyon varyansları eşit kabul edilerek t-testi ile karşılaştırılmıştır (P<0,05).

Antioksidan potansiyeli tayin metotları ile tüm bitkisel çayların toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri arasındaki ilişki SPSS istatistik yazılımı (versiyon 14.0) vasıtasıyla lineer regresyon varyans analizi ile incelenmiştir (P<0.01).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kompozisyon Analizleri

Örneklere ait kül ve nem miktarı sonuçları aşağıda Tablo 4.1’de verilmiştir. TS 12933 bitkisel çaylar standardında yer alan, bitkisel çayların kimyasal özelliklerine göre çayların içerdiği nem miktarının en çok %10, toplam kül miktarının da en çok %9 olması gereklidir (TS, 2003). Örneklerden elde edilen değerler bu sınırların içinde kalmakta ve standarda uygunluk göstermektedir.

Tablo 4.1: Örneklere Ait % Nem ve Kül Miktarları¹

Örnek	% Nem miktarı	% Kül miktarı
Mürver 1	%8,0	%8,69
Mürver 2	%8,0	%8,96
Böğürtlén 1	%8,0	%4,89
Böğürtlén 2	%8,0	%5,43
Karahindiba 1	%7,5	%6,49
Karahindiba 2	%7,5	%5,95

¹ Tablodaki değerler 2 ölçümün ortalamasını göstermektedir.

4.2. Yaprak Ekstraksiyonu İçin Yöntem ve Çözgen Seçimi Ön Denemesi

Örneklerin yaprak ekstraksiyonunda kullanılacak olan yöntem ve çözgen sisteminin tespit edilmesi için yapılan ön denemelerde 2 farklı yöntem ve 3 farklı çözgen sisteminden incelenmiştir. Ekstraksiyon yöntemleri yatay çalkalayıcı kullanılarak uzun süreli (6 saat) ve santrifüj kullanılarak kısa süreli olan (45 dakika) iki farklı tekniği içermektedir. Çözgen sistemleri olarak etanol, metanol ve %80’lik metanol-su karışımı kullanılarak örnekler, iki farklı ekstraksiyon metoduna tabi tutulmuşlardır. Ön denemeler sonucunda elde edilen ekstraktlara toplam fenolik madde tayini ve DPPH analizleri uygulanarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Ön deneme analizler sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2: Ön Denemelerde Elde Edilen Toplam Fenolik Madde İçeriği Ve DPPH Yöntemi İle Antioksidan Kapasitesi^{1,2}

Örnek	Çözgen	Toplam Fenolik Madde (mg GA/g numune) ²		Antioksidan Kapasitesi (DPPH % İnhibisyon)	
		Yatay çalkayıcıda ekstraksiyon	Santrifüjde ekstraksiyon	Yatay çalkayıcıda ekstraksiyon	Santrifüjde ekstraksiyon
Mürver	Etanol	5,3	4,9	9	10,5
	Metanol	15,7	16,23	35,9	54,5
	Metanol, %80	19,7	20,94	45,4	71,5
Böğürtlen	Etanol	13,66	6,27	52,6	53,7
	Metanol	29,46	29,56	92,8	91
	Metanol-su, %80	32,69	32,13	93,8	93
Karahindiba	Etanol	2,23	1,7	0,5	0,2
	Metanol	3,96	3,5	4,1	3,2
	Metanol-su, %80	5,8	5,5	8,2	10,1

¹ Tablodaki değerler 2 ölçümün ortalamasını göstermektedir.

² mg GA/g numune: Gram numunedeki miligram Gallik asit miktarı

İncelenen 3 çözgen sisteminden her koşulda en iyi sonucu veren %80 metanol- su karışımı çözücü olarak seçilmiştir. Sonuçlar arasında çok büyük farklılık göstermeyen iki ekstraksiyon sisteminden kısa ve tekrarlanabilirliği kolay olan ikinci yöntem (santrifüj yöntemi) ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenmiştir.

4.3. Örneklerin Askorbik Asit Miktarı Analiz Sonuçları

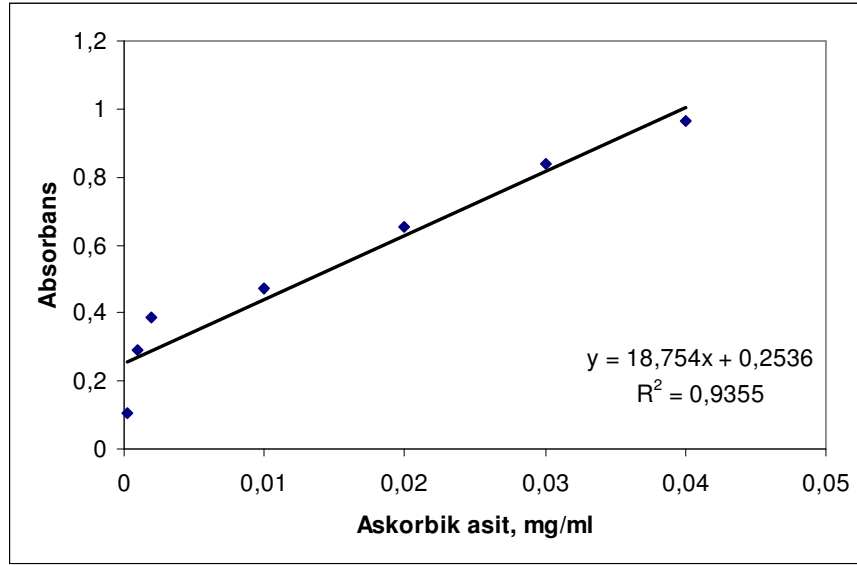
Antioksidan aktiviteye sahip olan askorbik asidin miktarı, numunelerde ölçümü hedeflenen antioksidan kapasitelerin üzerine etkili olabileceği dikkate alınarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te ve askorbik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1'de verilmiştir.

Askorbik asit miktarları numuneler içinde en yüksek böğürtlen yaprağında bulunmuş olup, mürver çiçeği ve karahindiba kökü daha az miktarlarda askorbik asit içermektedir.

Tablo 4.3: Örneklerin Askorbik Asit Miktarları¹

Örnekler	Askorbik Asit (mg /g numune)
Mürver çiçeği	0,47 ± 0,01
Böğürtlen yaprağı	0,69 ± 0,02
Karahindiba kökü	0,14 ± 0,06

¹Tablodaki değerler 3 ölçümün ortalamasını ve standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.1: Askorbik Asit Kalibrasyon Eğrisi

Çalışmada incelenen bitkisel çaylarda elde edilen bu değerler diğer bitkisel kaynakların askorbik asit miktarları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir. Askorbik asitin zengin kaynaklarından olan ve bitkisel çay olarak yaygın kullanılan kuşburnu meyvesinde askorbik asit miktarı 3,89-57,63 mg/g aralığında olup, çeşitler arası farklılıklar gözlenmiştir (Gao ve diğ., 2000).

Askorbik asitin antioksidan aktivitesi nedeniyle, özellikle bu vitamince zengin kaynak olan bitkisel kaynakların antioksidan kapasite tayinlerinde miktarlarının tayini önemlidir (Gao ve diğ., 2000). Toplam fenolik madde miktarı hesaplanırken, kullanılan Folin-Ciocalteu çözeltisi ortamda bulunan bakır ve askorbik asit gibi fenolik olmayan bileşenler tarafından da indirgenebilmektedir. Bu nedenle Toor ve Savage (2005)'ın domates üzerindeki çalışmasında, toplam fenolik madde içeriği C vitamininin etkisi çıkarılarak hesaplanmıştır. Ancak genel olarak bitkisel ürünlerde, askorbik asit miktarının çok yüksek olmaması nedeniyle, yapılan çalışmalarda toplam fenolik madde miktarı hesaplanırken böyle bir ayırıma gidilmemiştir (Kähkönen ve diğ., 1999; Lakenbrink ve diğ., 2000; Karakaya ve diğ., 2001; Zheng ve Wang, 2001; Exarchou ve diğ., 2002; Khokhar ve Magnusdottir, 2002; Parejo ve diğ., 2002; Tsai ve diğ., 2002; Amarowicz ve diğ., 2004; Atoui ve diğ., 2005; Hu ve Kitts, 2005; Ivanova ve diğ., 2005; Mathew ve Abraham, 2006a; Skerget ve diğ., 2005). Nitekim kuşburnu meyvesinde yoğun olarak bulunan askorbik asidin antioksidan etkisinin araştırılması amacıyla yapılmış olan bir çalışmada, askorbat

oksidaz ile muamele edilen fenolik ekstraktın antioksidan etkisi, toplam fenolik madde ekstraktının antioksidan aktivitesinden çıkartılarak, askorbik asitten kaynaklanan antioksidan aktivite saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; askorbik asidin toplam antioksidan aktiviteye etkisi çok küçük (% 8,6-16,9) olarak bulunurken, fenolik ekstraktın etkisi oldukça yüksek (% 90,5-75,7) bulunmuştur (Gao ve diğ., 2000).

En yüksek askorbik asit miktarına sahip olduğu belirlenen böğürtlen yaprağının (0,69 mg C vitamini/g), diğer örneklerle göre daha yüksek fenolik madde miktarına ve daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olması nedeniyle askorbik asit ile ilişkilendirilmesi mümkün değildir. Ayrıca aynı örneğin infüzyonlarında da fenolik maddelerinin diğer örneklerle göre daha yüksek olması (33,65 mg GA/g ile en yüksek değer), yüksek sıcaklıklarda askorbik asitin zarar görebileceği (infüzyon işlemi yaklaşık 95-100°C'de gerçekleşmektedir) dikkate alınarak, bu özelliklerin askorbik asit miktarı ile ilişkilendirilmesinin hatalı olacağı tartışmasını desteklemektedir. Nitekim tüm numunelerde var olan hidrosinamiklerin (kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit ve kumarik ait) ve rutin C vitamininden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (kafeik asit ve klorojenik asit 1,3 mM troloks, ferulik asit 1,9 mM troloks ve kumarik asit 2,2 mM troloks, rutin 2,4 mM troloks, C vitamini 1 mM troloks) (Rice-Evans ve diğ., 1997).

Askorbatların ve fenolik bileşiklerin temel yapılarındaki farklılıklardan dolayı, suda çözünabilir fraksiyonların antioksidan aktivitedeki değişimlerinin açıklanması güçtür. Bu etkinin tam anlaşılabilmesi için, öncelikle örnek ekstraktlarının konsantrasyon ve sinerjik etkilerine bağlı antioksidan aktiviteleri tam olarak tespit edilmelidir. Daha sonra antioksidan sistemlerinde domatesde olduğu gibi mevcut diğer kompleks yapıların antioksidan aktivite üzerindeki etkilerinin incelenmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır (Raffo ve diğ., 2006).

4.4. Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivitesi

4.4.1. Toplam Fenolik Madde ve Flavonoid İçerikleri

Bitkisel çayların içerdiği fenolik bileşiklerin, antioksidan aktivitesinde belirleyici grup olmalarından dolayı, örneklerle ilk olarak toplam fenolik madde ve bu bileşiklerin alt grubu olan toplam flavonoid miktarı analizleri yapılmıştır. Elde edilen

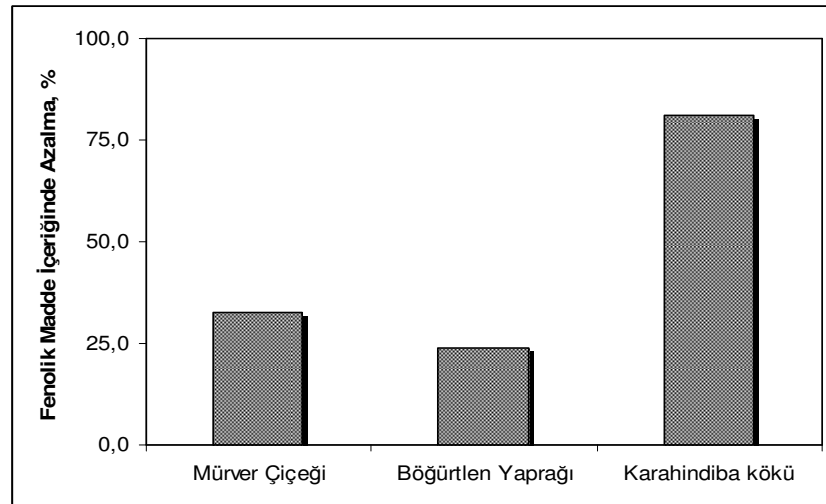
fenolik madde ve flavonoid miktarları Tablo 4.4 ile azalma yüzdeleri Şekil 4.2 ve 4.3'te ve hesaplamalarda kullanılan gallik asit ve epikateşin kalibrasyon eğrileri Şekil 4.4 ve 4.5'te verilmiştir. Tüm örneklerin yaprak ekstraksiyonları ve infüzyonlarında fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$) ve t-testine ait sonuçlar Ek B'de Tablo B.1'de verilmiştir.

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları en yüksek olarak böğürtlen yaprağında elde edilmiş ve mürver çiçeği ile karahindiba kökü bunu izlemiştir (Tablo 4.4). Böğürtlen yaprağı üzerinde çalışan Wang ve Lin (2000)'nin, elde ettikleri 20,9 mg GA/g düzeyi bu çalışmanın sonuçlarından daha düşüktür. Benzer şekilde bu araştırmada elde edilen fenolik madde miktarları Zheng ve Wang (2001)'un karahindibada buldukları 0,26 mg GA/g miktarından daha yüksektir.

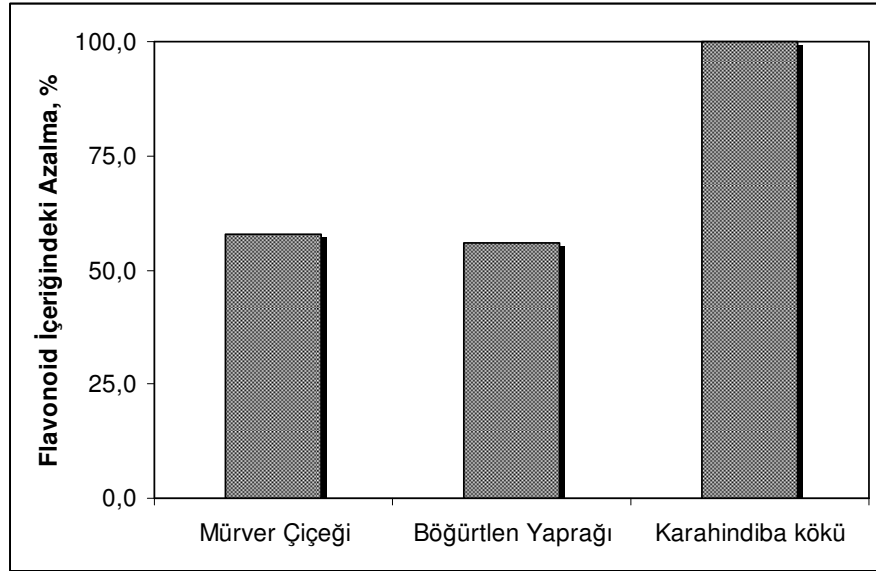
Tablo 4.4: Ekstraksiyon Ve İnfüzyonların Toplam Fenolik Ve Toplam Flavonoid Miktarları¹

Numune	Toplam Fenolik Madde mg GA/ g numune	Toplam Flavonoid mg EK /g numune
Mürver ekstraksiyon	30,83±1,29	6,76±0,77
Mürver infüzyon	20,84±2,04	2,84±0,48
Böğürtlen ekstraksiyon	44,17±3,03	3,52±0,16
Böğürtlen infüzyon	33,65±1,75	1,56±0,35
Karahindiba ekstraksiyon	7,92±2,46	0,43±0,16
Karahindiba infüzyon	1,51±0,61	0

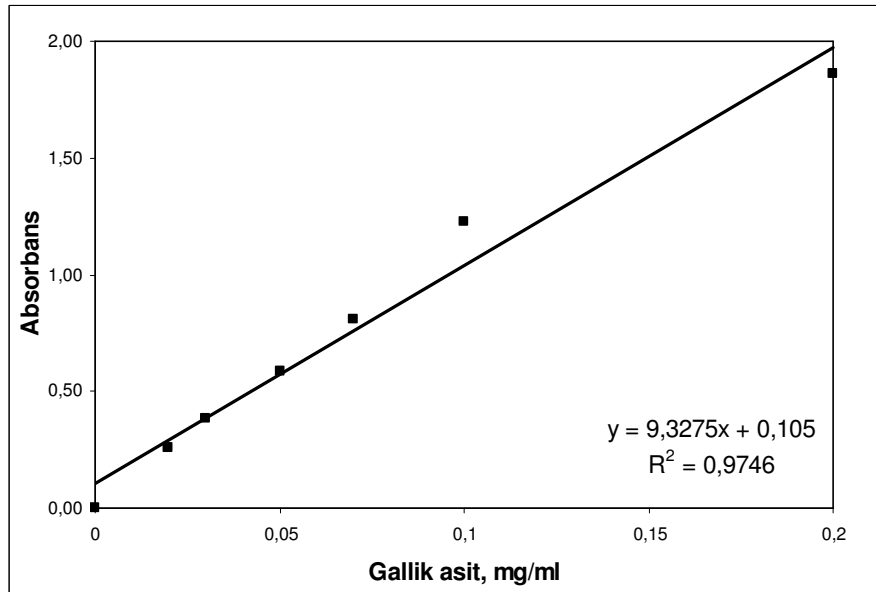
¹Tablodaki değerler 6 tekrarin ortalamasını ve standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.2: İnfüzyon Sonucu Toplam Fenolik Madde Miktarında Azalma Yüzdesi (N=6)

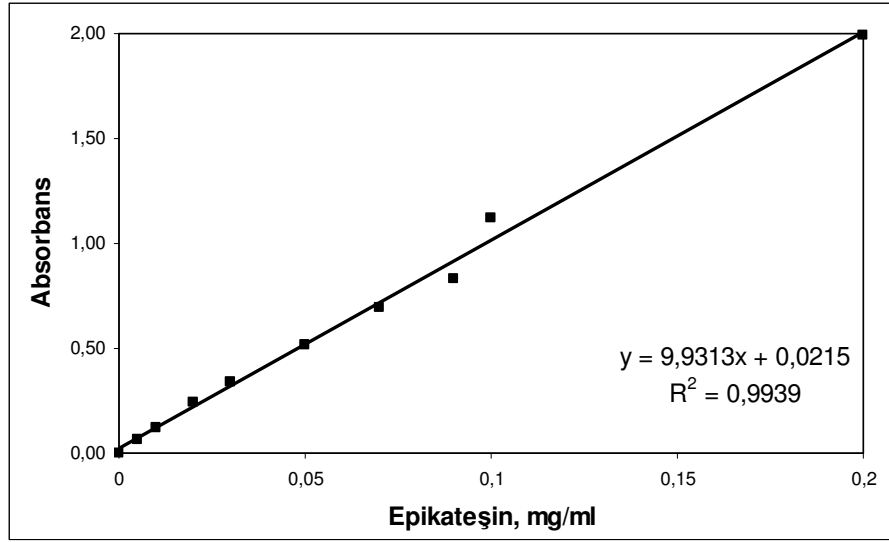


Şekil 4.3: İnfüzyon Sonucu Toplam Flavonoid Miktarlarındaki Azalma (N=6)



Şekil 4.4: Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

Ayrıca aynı araştırmacılar, adaçayı ve melisa gibi diğer bitkisel çay numunelerinde de sırasıyla 1,34 mg GA/g ve 1,26 mg GA/g gibi düşük değerler elde etmişlerdir (Zheng ve Wang, 2001). Lee ve diğ. (2003)'nin yeşil çayda buldukları 165 mg GA/g ve siyah çayda elde ettikleri 124 mg GA/g miktarıyla karşılaştırıldığında, araştırma numunelerinin toplam fenolik madde içerikleri bu ürünlere göre daha düşüktür.



Şekil 4.5: Epikateşin Kalibrasyon Eğrisi

Ürünlere uygulanan infüzyon işleminin fenolik madde miktarında kayıplara neden olmaktadır. Tüm yaprak çeşitleri ve bunlara karşılık gelen infüzyonların toplam fenolik madde miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). İnfüzyonlarda fenolik madde içerikleri böğürtlen yaprağı, mürver çiçeği ve karahindibada sırasıyla %24, %32 ve %81 azalmaktadır (Şekil 4.2).

Farklı bitkisel çay numunelerinin infüzyonları üzerinde çalışan Atoui ve diğ. (2005)'nin yeşil çay ve siyah çay infüzyonlarında gözledikleri değerler ile Lee ve diğ.(2003)'nin aynı ürünlerin yaprak ekstraksiyonlarında buldukları değerlerin karşılaştırılmasında görülen azalma (sırasıyla %51 ve %55) bu sonuçları desteklemektedir. Ayrıca Atoui ve diğ. (2005)'nin yaygın olarak tüketilen bitkisel çay infüzyonlarından, ıhlamur için 12,27 GA/g, adaçayı için 8,26 mg GA/g, okaliptüs için 7,5 mg GA/g ve papatya için 7,1 mg GA/g olarak elde ettikleri fenolik madde miktarları, araştırmada incelenen böğürtlen yaprağı ve mürver çiçeğinden daha düşüktür.

En yüksek flavonoid miktarı mürver çiçeğinin ekstraksiyonunda (6,76 mg EK/g) ve infüzyonunda (2,84 mg EK/g) bulunmuştur (Tablo 4.4). Bunun nedeni mürver çiçeğinin yapısında, yüksek miktarda rutin bulunmasının yanı sıra diğer örneklerde rastlanmayan (-)-epikateşin ve luteolinin de yer almasıdır. Daha azalan miktarda takip eden numune böğürtlen yaprağıdır (3,52 mg EK/g). Örneklerin toplam flavonoid miktarları da infüzyonlarda, yapraklara göre daha azdır. İnfüzyonlardaki

azalmalar sırasıyla, mürver çiçeği ve böğürtlen yaprağında %58 ve %56'dır. Flavonoid miktarı en düşük olan karahindiba kökünün (0,43 mg EK/g) infüzyonunda ise flavonoid kalmamıştır (%100 azalma). Tüm yaprak çeşitleri ve karşılık gelen infüzyonlar için toplam flavonoid miktarları ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$). Elde edilen sonuçlar Lee ve diğ.(2003)'nin yeşil ve siyah çayda buldukları 47 ve 34 mg EK/g miktarına göre bu çalışmada incelenen bitkisel ürünlerin flavonoid içerikleri daha düşüktür.

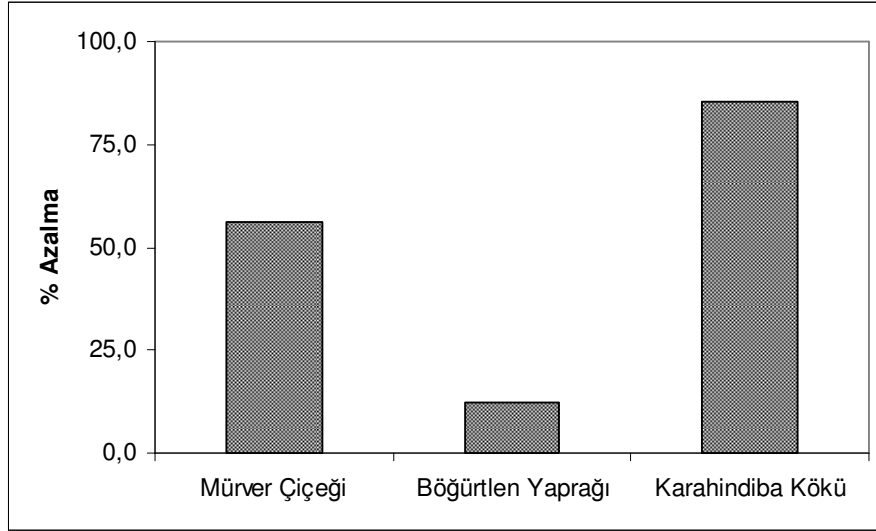
4.4.2. Antioksidan Aktiviteleri

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, oksidasyon proseslerinde başlatıcı rol oynayan serbest radikalleri nötralize edebilmeleri nedeniyle önemlidir. Bu nedenle toplam fenolik madde içeriği ve toplam flavonoid miktarları belirlenen örneklere 6 farklı çeşit antioksidan aktivitesi tayin yöntemi uygulanmıştır. Tüm analiz metodları ile elde edilen antioksidan kapasitesi sonuçları Tablo 4.5'te verilmektedir.

4.4.2.1. DPPH metodu ile antioksidan aktivitesi

Örneklere uygulanan infüzyon ile DPPH yönteminde gözlenen antioksidan potansiyelinde azalma yüzdeleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Kararlı bir serbest radikal olan DPPH, antioksidan maddelerden elektron ve hidrojen radikallerini kabul ederek, kararlı moleküllere dönüşmektedirler. Antioksidan maddelerin, DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme kapasiteleri, ölçülen absorbanstaki düşüşle kendini göstermektedir (Gülçin ve diğ., 2004).

En yüksek düzeyde kapasite 4 mg/ml konsantrasyonda, böğürtlen yaprağında gözlenmiş ve radikal yakalama aktivitesi %92,97, infüzyonunda ise %81,65 olarak bulunmuştur (%12 azalma). Mürver çiçeğinin ekstraksiyonu ile %84,43 oranında radikal yakalama aktivitesi tespit edilirken, aynı örneğin ekstraksiyonunu inceleyen Dawidowicz ve diğ. (2006) bu oranı %91,95 olarak rapor etmiştir. Yaprak ekstraksiyonundan oldukça yüksek değer elde edilen mürver çiçeğinin infüzyonu sonucu serbest radikal yakalama aktivitesi azalmaktadır (%56). Karahindiba kökünün ekstraksiyonundan elde edilen değer %14,41 iken infüzyon sonucu %85 oranında azalmaktadır. Aynı bitkinin çiçeklerinde çalışan Hu ve Kitts (2005), serbest radikal yakalama aktivitesini %90,2 olarak belirlemiştir.



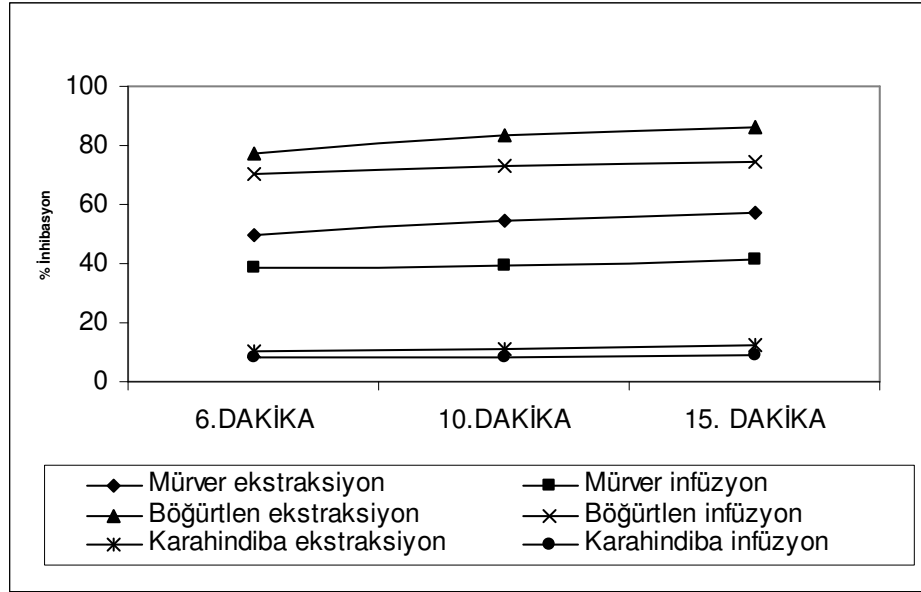
Şekil 4.6: İnfüzyon Sonucu % Radikal Yakalama Aktivitesindeki Azalma (N=6).

Karahindiba kökünün infüzyonunda ise ekstarksiyona göre radikal yakalama aktivitesinde büyük bir düşüş görülmüştür (%85 oranında). Bu sonuçlara göre bitkisel çayların infüzyonunda %81,65 oranında aktivite görülen böğürtlen yapağı çayının, iyi bir serbest radikal tutucu olduğunu gözlenmektedir.

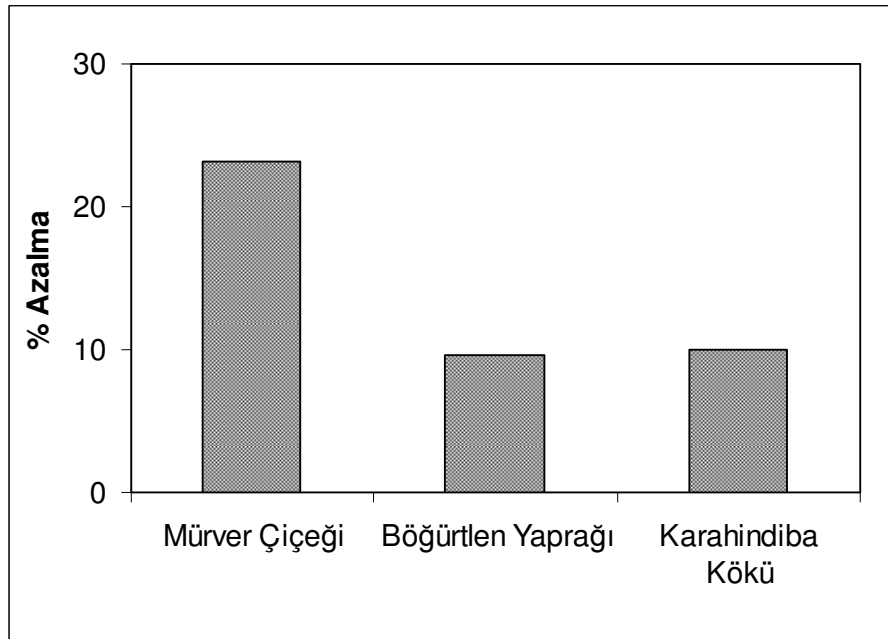
4.4.2.2. ABTS metodu ile antioksidan aktivitesi

Nispi antioksidan kapasitesini ABTS radikalini kullanarak, Troloks standardı eşitliğinde ölçen bu metot hidrojen verici ve serbest radikal zincirlerini kırıcı antioksidan maddelerin aktivitelerini belirlemede etkilidir (Mathew ve Abraham, 2006a). Örneklere uygulanan ABTS yöntemi sonuçları % radikal yakalama ve mM Troloks eşitliğinde ifade olmak üzere iki şekilde değerlendirilmiş ve Şekil 4.7’de 6., 10. ve 15. dk ölçümleri sunulmuştur. Şekil 4.8’de numunelerin infüzyonu sonucu gözlenen azalma yüzdeleri ve Troloks kalibrasyon eğrisi Şekil 4.9’de verilmiştir.

ABTS yöntemiyle % radikal yakalama aktivitesi böğürtlen yapağında ve infüzyonunda %77,58 ve %70,32 (6. dakikada) olmak üzere en yüksektir. Diğer örneklerden 6.dakikada alınan sonuçlar ise, mürver çiçeğinde %49,72 ve infüzyonunda %38,42, karahindiba kökünde %10,16 ve infüzyonunda %8,41’dir. İnfüzyon ile radikal yakalama kapasitesinde örneklerdeki azalma böğürtlen yapağında %10, mürver çiçeğinde %22 ve karahindibada %10 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, DPPH metodu ile elde edilen antioksidan kapasitelerindeki azalmayla karşılaştırıldığında DPPH metodunda gözlenen azalmadan daha düşüktür.



Şekil 4.7: ABTS Yöntemi % Radikal Yakalama Sonuçları (N=6)



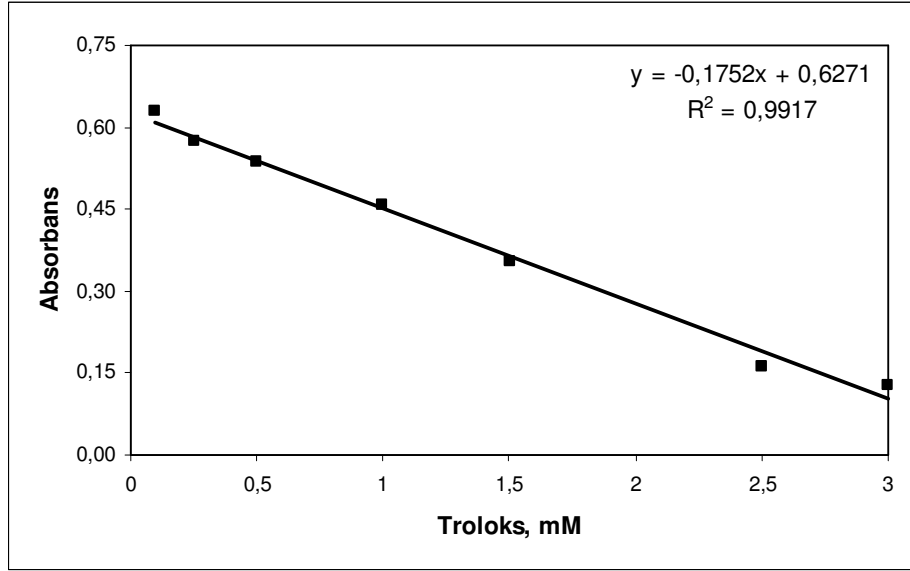
Şekil 4.8: İnfüzyon Sonucu mM Troluks Cinsinden ABTS Yüzdelilerindeki Azalma (N=6)

Tablo 4.5: Antioksidan Aktivitesi Analizleri Toplu Sonuçları^{1,2}

Örnek	DPPH, %	ABTS,%	ABTS TRO	MŞ (1,33), %	MŞ(2.00), %	MŞ (2,66), %	İND.POT., %	LİN.ASİT, %	H ₂ O ₂ , %
Mürver ekstraksiyon	84,43(±3,48)	49,72(±3,83)	1,68(±0,14)	40,64(±6,08)	45,67(±4,32)	55,14(±4,66)	0,067(±0,009)	77,43(±4,27)	20,43(±5,87)
Mürver infüzyonu	37,06(±6,91)	38,42(±9,20)	1,29(±0,34)	50,23(±1,87)	41,62(±5,84)	23,97(±13,33)	0,029(±0,005)	87,72(±3,96)	13,57(±2,70)
Böğürtlen ekstraksiyon	92,97(±0,84)	77,58(±1,78)	2,73(±0,07)	0,00	0,00	5,65(±2,87)	0,133(±0,006)	84,64(±1,47)	14,96(±6,00)
Böğürtlen infüzyonu	81,65(±2,81)	70,32(±1,99)	2,47(±0,07)	0,00	0,00	0,00	0,049(±0,005)	81,14(±4,22)	11,02(±1,24)
Karahindiba ekstraksiyon	14,41(±2,29)	10,16(±1,16)	0,19(±0,05)	33,26(±7,42)	43,83(±5,73)	50,94(±6,98)	0,014(±0,002)	39,74(±8,39)	27,98(±2,53)
Karahindiba infüzyonu	2,11(±0,86)	8,41(±2,67)	0,17(±0,10)	51,76(±7,08)	51,92(±6,63)	30,93(±8,95)	0,002(±0,002)	62,28(±5,92)	17,82(±2,01)

¹ Kolonlardaki değerler altı tekrarın ortalamasını ve parantez içinde standart sapmaları temsil etmektedir.

² DPPH=%Radikal yakalama aktivitesi; ABTS %= % cinsinden inhibisyon; ABTS TRO=Troloks cinsinden inhibisyon mM Troloks; MŞ (1,33)=Metal şelatlama aktivitesi 1,33 mg/ml için (%); MŞ(2.00)=Metal şelatlama aktivitesi 2.0 mg/ml için (%); MŞ (2,66)=Metal şelatlama aktivitesi 2,66 mg/ml için (%); İND.POT= İndirgeme potansiyeli mg C vitamini/g cinsinden; LİN. ASİT=Linoleik asit emülsiyon sisteminde antoksidan aktivitesi (24.gün sonuçları) %; H₂O₂= Hidrojen peroksit yakalama aktivitesi, %

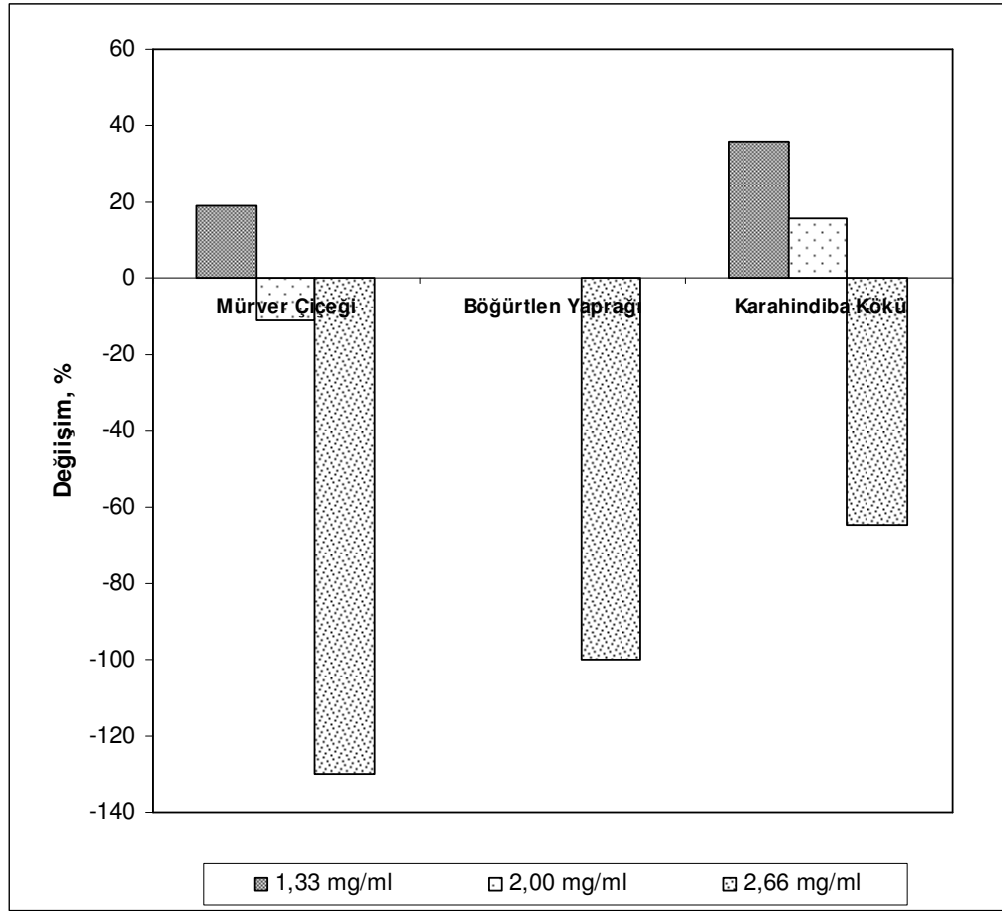


Şekil 4.9: Troloks Kalibrasyon Eğrisi (6. dakika)

Sonuçların Troloks cinsinden ifadesinde, % radikal yakalama sonuçlarına paralel olarak, en yüksek değerler böğürtlen yaprağı ve infüzyonunda elde edilmiştir (2,73 mM Troloks ve 2,47 mM Troloks, sırasıyla). Bunu mürver çiçeğı (1,68 mM Troloks) ve karahindiba kökü (0,19 mM Troloks) takip etmiştir. Ivanova ve diğ. (2005)'nin 21 çeşit farklı bitkisel üründe yaptıkları çalışmada antioksidan kapasitesi böğürtlen yaprağında 4,23 mM Troloks ve karahindiba kökünde 0,5 mM Troloks olarak bildirilmektedir. Aynı çalışmada melisa, papatya, siyah ve yeşil çay gibi tüketimi yoğun olan bitkisel çaylarda antioksidan kapasiteleri sırasıyla 1,02, 0,86, 3,92 ve 5,91 mM Troloks olarak bulunmuştur. Bu literatür verileri çalışmada incelenen örnekler ile karşılaştırıldığında, numunelerin yeşil ve siyah çaya göre daha düşük antioksidan kapasitesine sahip olduğu, ancak böğürtlen yaprağı ve mürver çiçeğinin diğer iki çay numunesine göre daha iyi sonuç verdiği ortaya konmuştur.

4.4.2.3 Metal şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi yöntemi ile 3 farklı konsantrasyonda elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'de ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Bu yöntemde ferrozin ile Fe^{+2} kompleks oluşturularak, ortama kırmızı renk verir. Şelatlama ajanlarının ilavesiyle, kompleks oluşumu bozulur ve kırmızı renk azalır. Metal şelatlama ajanlarının, demir iyonlarını ferrozinden önce yakalayarak kompleks oluşumu engellenerek renkteki azalma üzerinden hesaplanmaktadır (Gülçin ve diğ., 2004).



Şekil 4.10: İnfüzyon Sonucu Metal Şelatlama Aktivitesi, % Demir İyonu İnhibisyonundaki Değişim (N=6).

Metal şelatlama aktivitesi metoduna göre % demir iyonları inhibisyonuna konsantrasyonun etkisi, ekstraksiyonlarında ve infüzyonlarında farklı sonuçlar vermiştir (Tablo 4.5). Ekstraksiyonunda, konsantrasyon miktarı arttıkça (1,33 mg/ml'den, 2,66 mg/ml'ye) şelatlama aktivitesinde mürver çiçeğinde %11 ve karahindibada %24 oranında artış göstermiştir. Konsantrasyon 2,66 mg/ml'ye arttığında ise mürver çiçeğinde şelatlama aktivitesindeki artış %26'ya ve karahindibada %35'e ulaşmıştır. Böğürtlen yaprağında ise 1,33 mg/ml konsantrasyonda sıfır olarak gözlenen aktivite 2,66 mg/ml konsantrasyonda %5,65'e yükselmiştir. Diğer antioksidan kapasitesi tayin yöntemleriyle en yüksek sonucu veren böğürtlen yaprağının şelatlama aktivitesinin hiç olmaması, El ve Karakaya (2004)'nın farklı bitki ekstraktlarında yaptıkları çalışmada gözledikleri en yüksek DPPH % indirgeme sonucu veren yabani havuç numunesinde düşük şelatlama aktivitesi gözlemleriyle benzerdir. Dolayısıyla metal şelatlama metodunun bazı

bitkisel kaynaklarda diğerk antioksidan metotlarına göre farklı sonuçlar verebildiğı görölmektedir. Bu metotda böğürtlen yaprağının yeşil rengini veren klorofilde mevcut divalent magnezyum atomunun ortamın pH'sına bağılı olarak inhibisyon reaksiyonunda yer alarak girişim etkisi göstermesi olasıdır.

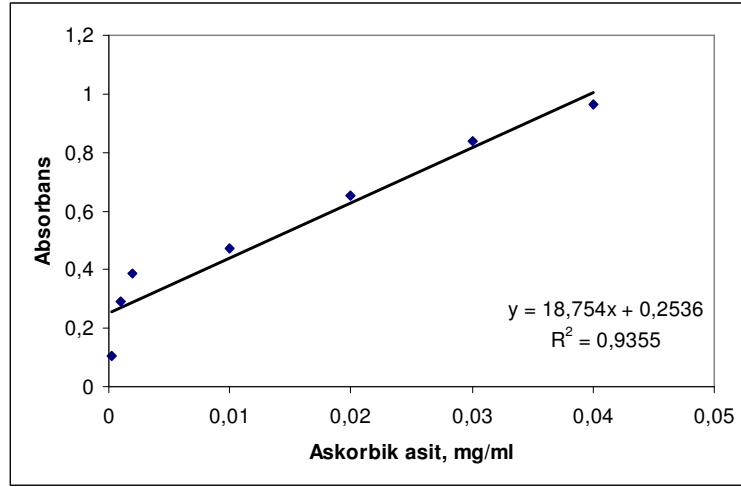
İnfüzyon örneklerinde şelatlama aktivitesinin 1,33 mg/ml konsantrasyonda maksimum aktivite gösterdiği, konsantrasyon değeri yükseldikçe azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir (mürver için %26, karahindiba için %21). Ancak mürver çiçeğinde infüzyon ile şelatlama aktivitesinde 1,33 mg/ml konsantrasyonda %19 oranında artış gözlenmiş iken 2,00 ve 2,66 mg/ml konsantrasyonlarda %10 ve %57 oranlarında azalma söz konusudur. Karahindiba kökü numunesinde şelatlama aktiviteleri 1,33 ve 2,00 mg/ml konsantrasyonlarda %36 ve %16 oranlarında artış verirken, 2,66 mg/ml'de %39 oranında azalma göstermiştir. Tüm numunelerde 2,66 mg/ml konsantrasyonda yapılan ölçümlerde infüzyon sonucu azalma gözlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında, mürver çiçeğı için, 1,33 mg/ml, karahindiba kökü için 2 mg/ml en iyi sonuç veren konsantrasyonlar olup, bu değerlerin üzerindeki konsantrasyonlarda, sonuçların infüzyonlarda, yaprak ekstraksiyonlarının aksine, azalma eğilimi (prooksidan etki) gösterdiği belirlenmiştir.

Metal şelatlama aktivitesini etkileyen en önemli özellik, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplardır. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S- ve -O- fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu görölmektedir (Gölçin, 2006). Bu nedenle metot ile elde edilen sonuçlardaki tutarsızlık numunelerin yapılarındaki farklı fonksiyonel gruplara ve bu grupların bulundukları pozisyon ve bulunma miktarlarına bağlanabilir.

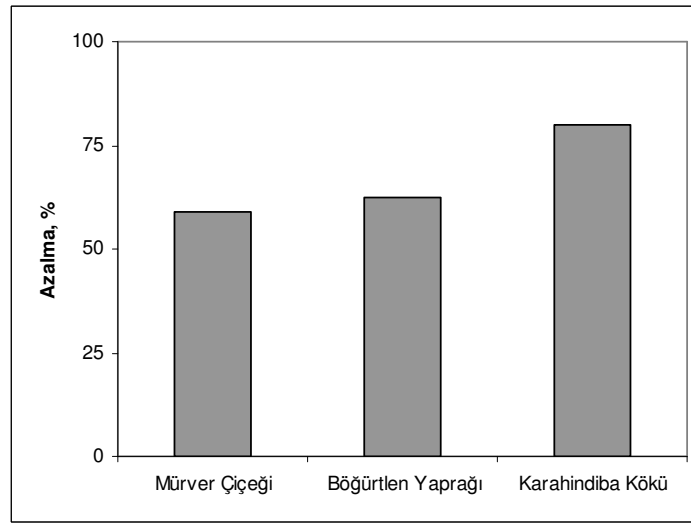
4.4.2.4. İndirgeme potansiyeli

Örneklerin indirgeme potansiyelleri Tablo 4.5'de, C vitamini kalibrasyon eğrisi ve infüzyon sonucu aktivitedeki azalma Şekil 4.11 ve 4.12'de verilmektedir. Örneklerden elde edilen indirgeme potansiyeli sonuçları absorbans değerleri, kalibrasyon eğrisinden mg C vitamini/ml numune birimine çevrilerek ifade edilmiştir. Buna göre ekstraksiyon sonuçları mürver çiçeğinde 0,07 mg C vitamini/ml, böğürtlen yaprağında 0,13 mg C vitamini/ml ve karahindiba kökünde 0,01 mg C vitamini/ml bulunmuştur. Bu bitkilerin infüzyonlarında,

ekstraksiyonlarında en yüksek değeri veren böğürtlen yaprağı, en yüksek değere sahiptir (0,05 mg C vitamini/ml).



Şekil 4.11: C Vitamini Kalibrasyon Eğrisi



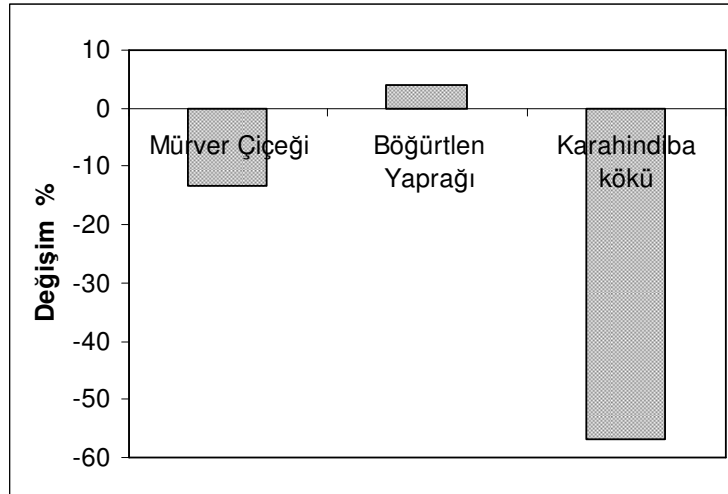
Şekil 4.12: İnfüzyon Sonucu İndirgeme Potansiyelindeki Azalma (N=6).

İnfüzyonlardan elde edilen değerler, ekstraksiyon değerlerine göre azalmıştır (Mürver çiçeğinde %59, böğürtlen için %62 ve karahindiba için %80). Örneklerden elde edilen absorbans değerleri, Mathew ve Abraham (2006b)'ın tarçının yaprak ekstraktında elde ettikleri 0,57 absorbans değeri ile karşılaştırıldığında, mürver çiçeği ve böğürtlenin yaprak ekstraktlarında elde edilen sonuçların daha yüksek (0,745 ve 1,329) olduğu ve infüzyonlarda ise böğürtlen sonuçlarının tarçın yaprağı (0,579) ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

4.4.2.5. Linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidan aktivitesi

Örneklerin lipit peroksidasyonu inhibisyon sonuçları Tablo 4.5’de ve değişim yüzdeleri Şekil 4.13’de verilmektedir. Lipit peroksidasyonu, hızlı ransidite ve aroma kaybının oluşmasına ve bu nedenle yağlarda ve yağ içeriği yüksek gıdalarda kalite bozulmasına yol açan birincil mekanizmadır (Mathew ve Abraham, 2006b).

24 saat sonunda elde edilen lipit peroksidasyonu ekstraksiyon sonuçları mürver çiçeği, böğürtlen yaprağı ve karahindiba kökünde sırasıyla %77,43, %86,64 ve %39,74 olarak bulunmuştur (Tablo 4.5). Ekstraksiyon sonuçlarında en yüksek değer böğürtlen yaprağında elde edilirken, infüzyon sonuçlarında en yüksek değeri mürver çiçeği vermiştir (%87,72). Diğer metotlar ile genel olarak infüzyon örneklerinde gözlenen antioksidan kapasitesindeki azalma eğilimi, bu yöntemde böğürtlen için söz konusu iken (%4 oranında), diğer örneklerde ise artış görülmüştür (mürver çiçeğinde %13 ve karahindiba kökünde %57). Özellikle karahindiba kökünde meydana gelen artış oldukça yüksektir (%57). Elde edilen bu sonuçlar, Mathew ve Abraham (2006a ve 2006b)’ın, tarçının kabuk ve yaprak ekstraktında yaptıkları çalışmada elde ettikleri %88 ve %82 oranındaki sonuçları ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.13: İnfüzyon Sonucu % Lipit Peroksidasyonu İnhibisyonundaki Değişim (24 Saat Sonunda) (N=6).

Linoleik asit peroksidasyonunun inhibisyonunda, fenolik bileşik yapılarının hidrofilik veya lipofilik yapıda olmasının çok fazla etkili olmadığı, her iki karaktere ait bileşenlerinde yüksek oranda inhibisyon aktivite gösterebildikleri bilinmektedir (Hidrofilik yapıdaki rutin %71,8 ve lipofilik yapıdaki epikateşinin %91,3) (Caillet

ve diğ., 2006). Bu özelliğe ait en önemli etkin faktör, fenolik bileşiklerin yapısındaki hidroksil gruplarının sayısı ve bileşikte bulundukları pozisyonlarıdır (Sroka ve Cisowski, 2003). Genel anlamda örnekler yüksek inhibisyon etkisine sahiptir. Bu etkinin sebebi, örneklerde bulunan ve yüksek peroksidasyon inhibisyonu sağlayan klorojenik asit (%93), kafeik asit (81,5) (Sroka ve Cisowski, 2003) ve rutin (%71,8) gibi fenolik bileşiklerle ilişkilendirilebilir. Ayrıca karahindiba kökünün infüzyonundaki aktivite artışını (%57) infüzyon yapısında yaklaşık iki kat daha fazla bulunan rutin ile açıklanabilir.

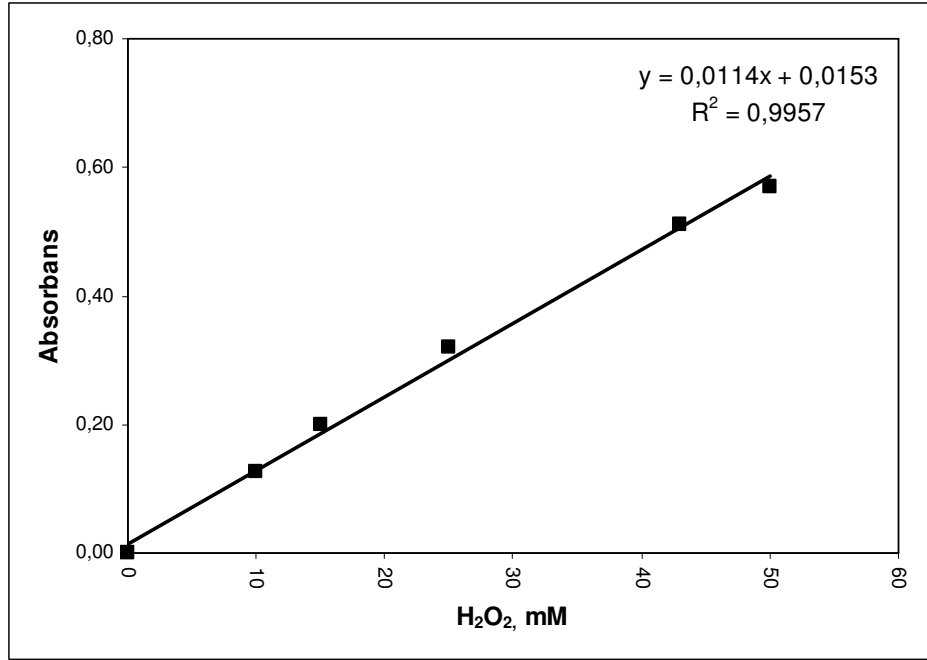
4.4.2.6. H₂O₂ yakalama aktivitesi

Hidrojen peroksit lipit oksidasyonunda düşük aktiviteye sahip olmasına rağmen, aktif oksijen türü olarak, Fenton reaksiyonlarındaki, yüksek reaktif hidroksil radikallerinin oluşumunda etkilidir. Bu nedenle hidrojen peroksidin mutlaka vücuttan uzaklaştırılması gereklidir (El ve Karakaya, 2004). Örneklere uygulanan H₂O₂ yakalama aktivitesi değerleri Tablo 4.5’de, kalibrasyon eğrisi ve aktivitede azalma yüzdeleri Şekil 4.14 ve 4.15’de verilmiştir.

Örneklerden elde edilen sonuçlara göre genellikle en düşük antioksidan aktivitesi özelliğini gösteren karahindiba kökü ekstraksiyonunun bu metot ile en yüksek yakalama aktivitesini (%27,98) gösterdiği görülmüştür. Benzer şekilde bu bitkinin infüzyonuna ait sonuçta, %17,82 ile en yüksek olmuştur. Mürver çiçeği ekstraksiyonu ve infüzyonundan sırasıyla %23,43 ve %13,57 oranında yakalama aktivitesi elde edilirken, genel olarak en yüksek antioksidan aktivitesi değerlerini veren böğürtlen yaprağının H₂O₂ yakalama kapasitesi yaprak ve infüzyonda sırasıyla %14,96 ve %11,02 bulunarak, bu yöntemle ait en düşük değerleri vermiştir. Yaprakların infüzyonu ile H₂O₂ yakalama kapasitesinde gözlenen azalma oranları sırasıyla böğürtlen yaprağı, mürver çiçeği ve karahindiba kökünde %26, %42 ve %36 olarak bulunmuştur.

Düşük konsantrasyonlarda inert olan hidrojen peroksit, uygun koşullar altında demir (Fe⁺²) iyonlarıyla kombinasyona girerek oksidasyon gücünü ortaya koymaktadır. Ortamda antioksidan maddenin belirmesiyle bu oksidasyon inhibe elmektedir. Antioksidan maddelerin H₂O₂ inhibisyon mekanizmaları, birden fazla kimyasal yolla gerçekleşebildiği için, bu mekanizmaları tek bir açıdan açıklamak mümkün değildir. Antioksidan maddeler, H₂O₂ ile doğrudan reaksiyona girebildiği gibi, H₂O₂ veya

enzimler ile de reaksiyona girebilmekte ve inhibisyonu gerçekleştirebilmektedirler (Huang ve diğ., 2005). Antioksidan maddelerin H_2O_2 yakalamadaki etkinliğinin yüksek ya da düşük olmasında en önemli etken, fenolik bileşiklerin aromatik zincirlerindeki bağlı olan hidroksil (OH) grubu sayısı ve bu grupların bileşikte bulundukları konumlarıdır. Ayrıca bu sebeplere bağlı olarak antioksidanların yapısında yer alan farklı grup karakterlerinin (karboksil veya asetil gruplar) hidroksil gruplarıyla ilişkileri de inhibisyon gücünde büyük ölçüde etkilidir (Sroka ve Cisowski, 2003).

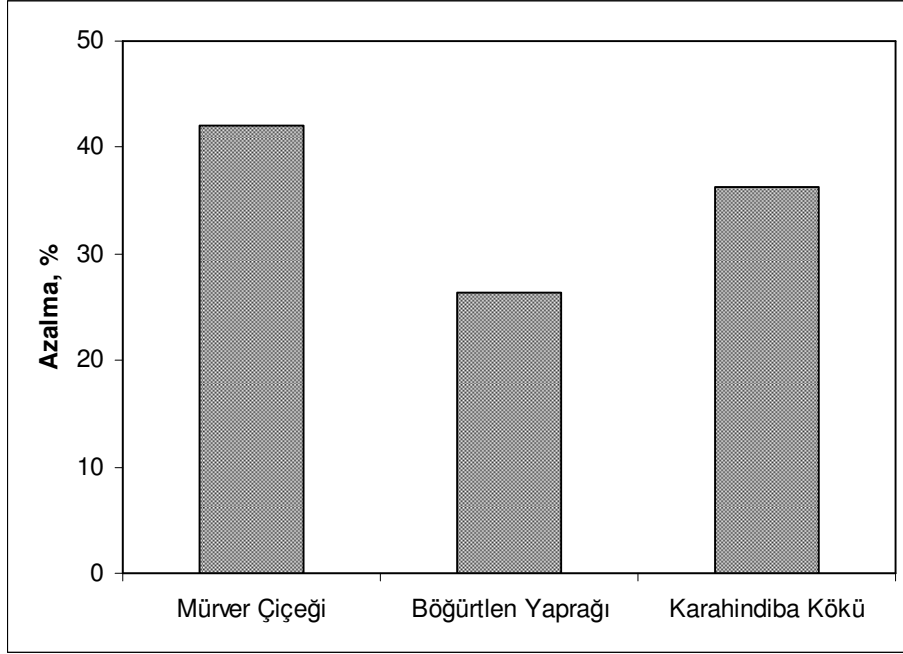


Şekil 4.14: H_2O_2 Kalibrasyon Grafiği

Böğürtlen yaprağının düşük H_2O_2 inhibisyon sonucunun, fenolik bileşiklerin yapısındaki hidroksil gruplarının sayısı ve dizilişleriyle ilişkilendirilmesi doğru bir yaklaşım olacaktır. Ayrıca örneklerin hepsinin yapısında yer alan ve zayıf H_2O_2 yakalama aktivitesine sahip olduğu bilinen klorojenik asitin varlığı (%20) (Sroka ve Cisowski, 2003) ile karahindiba kökünün daha yüksek sonuç vermesi kafeik asitin (%50) yerini güçlü indirgeme aktivitesine sahip gallik asitin (%90) (Sroka ve Cisowski, 2003) alması ile ilişkili olabilir.

El ve Karakaya (2004)'nın, kateşin ve kuersetin standartlarının %10,63 ve %22,77 (50 mg/ml madde miktarı için) değerleri ile çalışma numunelerinin 1 mg/ml'sinde elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, bitkisel çay numunelerinin standartlara göre

oldukça yüksek H_2O_2 yakalama aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca aynı çalışmada kullanılan farklı bitkisel ekstraktların 50 mg/ml'sinde elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında (yabani havuç %4,64, yabani turp %35,65, ebegümece %46,19) çalışma numunelerinin düşük konsantrasyona (1 mg/ml) rağmen yüksek kapasiteye sahiptir.



Şekil 4.15: İnfüzyon Sonucu H_2O_2 Aktivitesindeki Azalma (N=6)

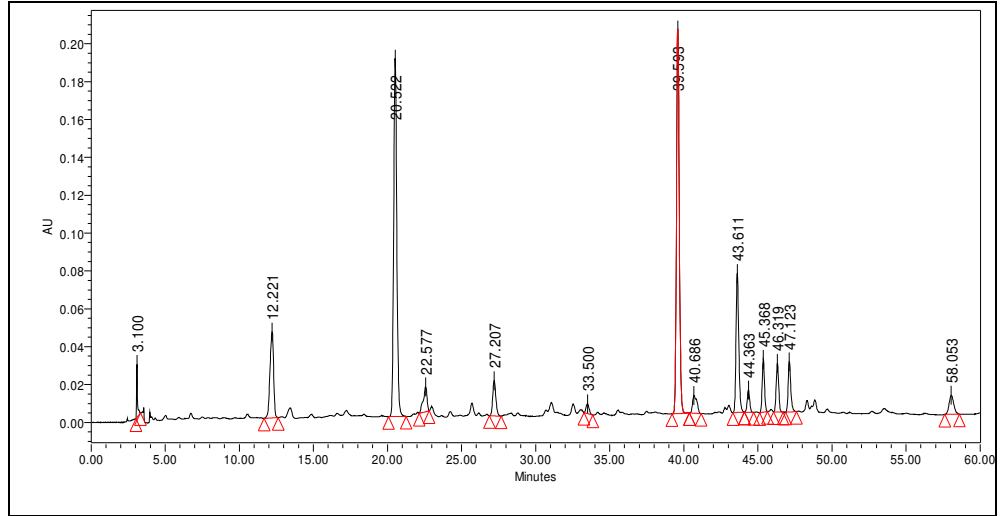
4.4.3. Örneklerin Fenolik Madde Profilleri

Fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri çeşitli metotlar ile belirlenmiş olan bitkisel numunelerin, bu özelliklerini ortaya koyan fenolik madde profillerinin belirlenmesi için HPLC sisteminde kromatografik ayrımları yapılmıştır. Standartlara ait kolonda alıkonma süreleri Tablo 4.6'te verilmiştir.

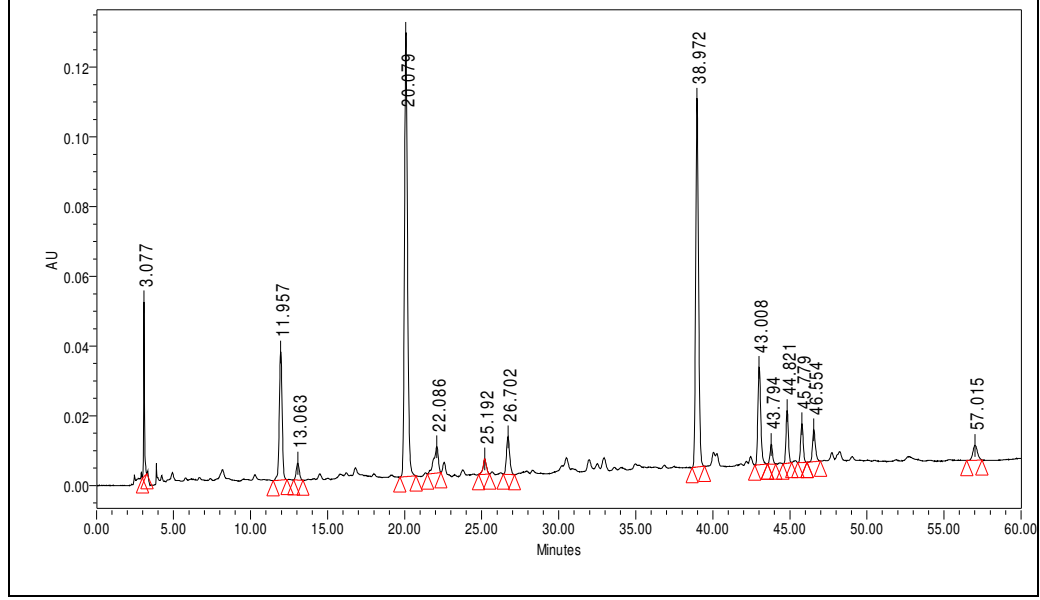
Mürver çiçeği ekstraksiyonu ve infüzyonuna ait HPLC kromatogramları Şekil 4.16 ve 4.17'da ve değerlendirme sonuçları Tablo 4.7 ve 4.8'da, böğürtlen yapağı ekstraksiyonu ve infüzyonuna ait HPLC kromatogramları Şekil 4.18 ve 4.19'de ve değerlendirmeleri Tablo 4.9 ve 4.10'de ve son olarak karahindiba kökü ekstraksiyonu ve infüzyonuna ait HPLC kromatogramları Şekil 4.20 ve 4.21'de ve değerlendirmeleri Tablo 4.11 ve 4.12'da sunulmaktadır.

Tablo 4.6: Standartlara Ait Kolonda Alıkonma Süreleri

Alıkonma Süresi (dk.)	Fenolik bileşen
5.954	Gallik asit
20.571	Klorojenik asit
22.604	Kafeik asit
26.635	Şiringik asit
27.105	(-)-epikateşin
27.200	(+)-epikateşin
31.953	Kumarik asit
36.780	Sinapic asit
36.848	Ferulik asit
39.631	Rutin
56.834	(-)-kateşin
57.502	Luteolin



Şekil 4.16: Mürver Çiçeği Ekstraksiyonuna Ait HPLC Kromatogram



Şekil 4.17: Mürver Çiçeği İnfüzyonuna Ait HPLC Kromatogramı

Tablo 4.7: Mürver Çiçeğindeki Fenolik Bileşikler

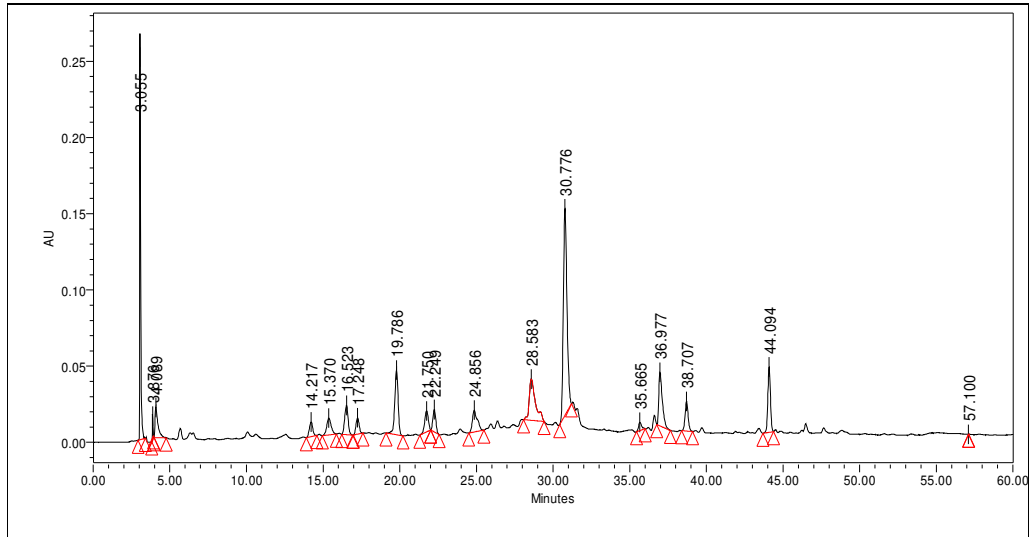
Pik No	Fenolik Bileşik	Alıkonma süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	Solvent	3.100	115889	1.24	27171	
2		12.221	768267	8.23	45445	
3	Klorojenik asit	20.522	2777961	29.75	189351	9,88
4	Kafeik asit	22.577	230665	2.47	13105	0,05
5	(-) - epikateşin	27.207	272582	2.92	18620	1,77
6		33.500	74541	0.80	5154	
7	Rutin	39.593	2686188	28.77	203197	21,51
8		40.686	194144	2.08	9402	
9		43.611	935436	10.02	73632	
10		44.363	135198	1.45	11730	
11		45.368	301733	3.23	27875	
12		46.319	298405	3.20	25686	
13		47.123	327879	3.51	26496	
14	Luteolin	58.053	218719	2.34	10043	1,22

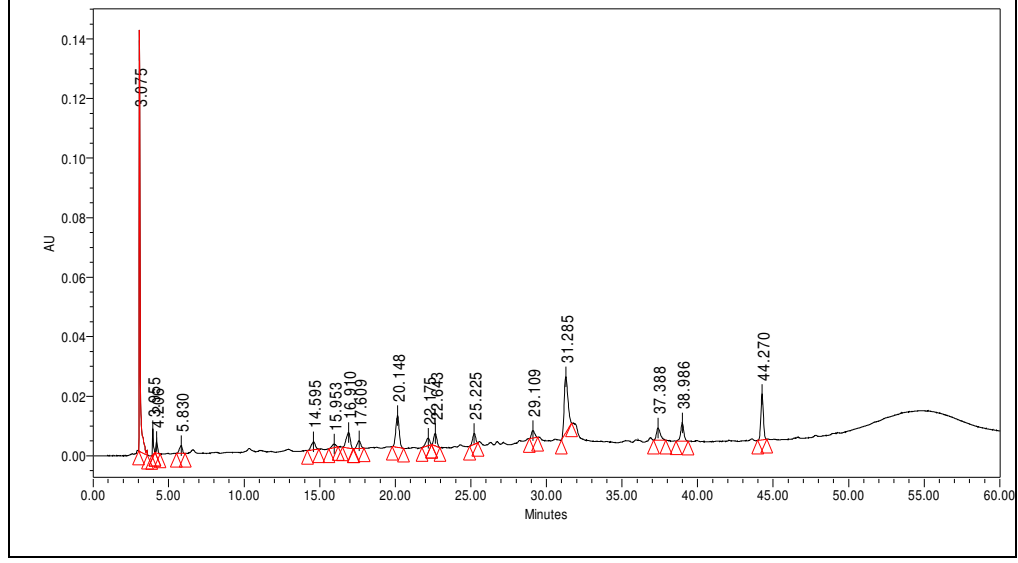
Elde edilen kromatogram sonuçlarına göre mürver çiçeğinde klorojenik asit, kafeik asit, (-)- epikateşin, rutin ve luteolin varlığı tanımlanmıştır. Klorojenik asit ve rutinin en yüksek miktarlar ile bu bitkiye ait temel fenoliklerden oldukları görülmektedir. Dawidowicz ve diğ. (2006)'nin, mürver çiçeği ekstraksiyonunda yaptıkları çalışmada rutin varlığı gözlenmiş, ayrıca izokuersetin ve astragalin de tespit edilmiştir.

Tablo 4.8: Mürver Çiçeği İnfüzyonunda Fenolik Bileşikler

Pik No	Fenolik adı	Ablkonma süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	solvent	3.077	200289	3.91	47487	
2		11.957	474332	9.26	36831	
3		13.063	67052	1.31	4827	
4	Klorojenik asit	20.079	1723540	33.64	127470	6,11
5	Kafeik asit	22.086	154335	3.01	7544	0,03
6		25.192	68257	1.33	4443	
7	(-) - epikateşin	26.702	156167	3.05	10794	1,00
8	Rutin	38.972	1353647	26.42	105982	10,79
9		43.008	365167	7.13	28023	
10		43.794	65329	1.28	5652	
11		44.821	162128	3.16	15170	
12		45.779	126664	2.47	11117	
13		46.554	118041	2.30	9175	
14	Luteolin	57.015	88608	1.73	4271	0,51

Mürver çiçeğinin ekstraksiyonunda tanımlanan bütün fenolik bileşenler, infüzyon örneklerinde de tespit edilmiş, ancak miktarlarında önemli oranda azalmanın olduğu görülmüştür. Rutinde miktar değeri; 21,51 mg/100ml'den, 10,79 mg/100ml'ye (%50 azalma) düşerken, klorojenik asitte 9,88 mg/100ml'den, 6,11 mg/100ml'ye (%38 azalma), (-)-epikateşinde ise 1,77 mg/100ml'den, 1,00 mg/100ml'ye (%44 azalma) düşmüştür.

**Şekil 4.18:** Böğürtlen Yaprığı Ekstraksiyonuna Ait HPLC Kromatogramı



Şekil 4.19: Bögürtlen Yaprığı İnfüzyonuna Ait HPLC Kromatogramı

Tablo 4.9: Bögürtlen Yaprığındaki Fenolik Bileşikler

Pik No	Fenolik adı	Ablıkona süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	Solvent	3.055	1100790	13.68	255101	
2		3.876	45423	0.56	14314	
3		4.089	265653	3.30	20130	
4	Gallik asit	5.893	78198	1.07	6471	0,02
5		14.217	149589	1.86	9565	
6		15.370	221088	2.75	11060	
7		16.523	299734	3.72	19266	
8		17.248	153666	1.91	10792	
9	Klorojenik asit	19.786	652553	8.11	42556	2,28
10	Kafeik asit	21.750	225027	2.80	13764	0,04
11		22.249	195514	2.43	14741	
12		24.856	318252	3.96	14384	
13		28.583	759616	9.44	27074	
14	Kumarik asit	30.776	2246645	27.92	135954	2,42
15		35.665	74910	0.93	5390	
16	Ferulik asit	36.977	560070	6.96	35253	1,27
17	Rutin	38.707	270491	3.36	19536	2,07
18		44.094	507759	6.31	43030	

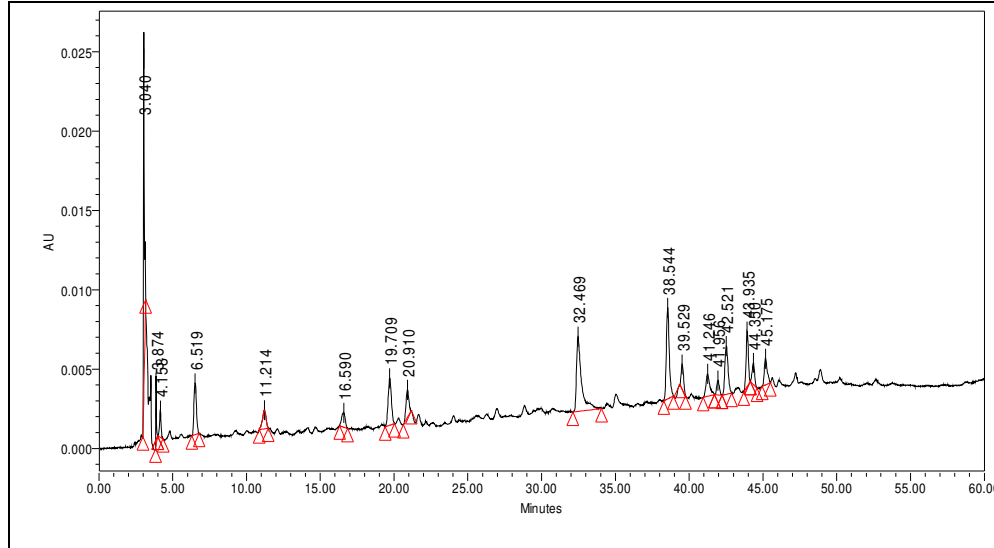
Bögürtlen yaprağı ekstraksiyonuna ait HPLC kromatogramı bitkinin yapısında bulunan klorojenik asit, kafeik asit, kumarik asit, ferulik asit, gallik asit ve rutin fenoliklerini göstermiş olup, kumarik asit ve klorojenik asitin bitkinin temel fenolik bileşeni olduğu belirlenmiştir.

Bögürtlen yaprağı infüzyonunda, ekstraksiyon sonucu tanımlanan 6 fenolik bileşenin hepsi tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin miktarları infüzyon işlemi sırasında azalmaktadır. Buna göre miktar değeri 2,42 mg/100ml'den, 0,29 mg/100ml'ye düşen

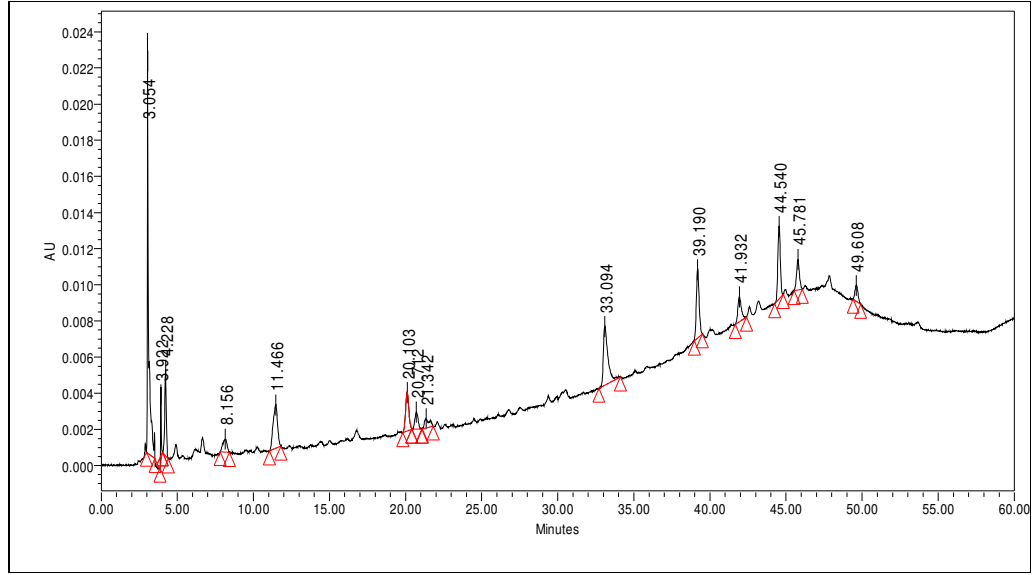
kumarik asitte azalma oranı %88 gibi bir orandadır. Benzer şekilde 2,28 mg/100ml'den, 0,55 mg/100ml'ye düşen klorojenik asitte de azalma %76 oranındadır.

Tablo 4.10: Böğürtlen Yaprığı İnfüzyonunda Fenolik Bileşikler

Pik No	Fenolik adı	Alınma süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	Solvent	3.075	618638	31.71	133382	
2		3.955	33811	1.73	8082	
3		4.206	28547	1.46	3946	
4	Gallik asit	5.830	35273	1.81	2674	0,01
5		14.595	49984	2.56	2675	
6		15.953	21982	1.13	1180	
7		16.910	96462	4.94	5247	
8		17.609	42506	2.18	2580	
9	Klorojenik asit	20.148	166351	8.53	10682	0,55
10	Kafeik asit	22.175	44663	2.29	2493	0,01
11		22.643	60032	3.08	4218	
12		25.225	51508	2.64	3648	
13		29.109	37645	1.93	2532	
14	Kumarik asit	31.285	324818	16.65	18754	0,29
15	Ferrulik asit	37.388	75106	3.85	4141	0,13
16	Rutin	38.986	87113	4.47	6081	0,60
17		44.270	176370	9.04	15373	



Şekil 4.20: Karahindiba Kökü Ekstraksiyonuna Ait HPLC Kromatogramı



Şekil 4.21: Karahindiba Kökü İnfüzyonuna Ait HPLC Kromatogramı

Tablo 4.11: Karahindiba Kökündeki Fenolik Bileşikler

Pik No	Fenolik Madde ve Flavonoid	Alıkonma süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	Solvent	3.040	100235	15.74	22177	
2		3.874	12601	1.98	3703	
3		4.158	12342	1.94	1681	
4	Gallik asit	6.519	38832	6.10	3237	0,01
5		11.214	19920	3.13	1177	
6		16.590	15438	2.42	900	
7		19.709	45538	7.15	2970	
8	Klorojenik asit	20.910	23663	3.72	1741	0,04
9	Kumarik asit	32.469	112356	17.65	4705	0,06
10		38.544	79483	12.48	5741	
11	Rutin	39.529	17852	2.80	1569	0,04
12		41.246	25186	3.96	1394	
13		41.956	11324	1.78	911	
14		42.521	45861	7.20	3051	
15		43.935	37016	5.81	3468	
16		44.350	15589	2.45	1364	
17		45.175	23486	3.69	1665	

Karahindiba kökünün ekstraksiyonundan elde edilen tanımlama sonuçlarına göre, yapısında gallik asit, klorojenik asit, kumarik asit ve rutin tespit edilmiş ve kumarik asitin (0,06 mg/100ml) bitkinin temel fenolik bileşeni olduğu gözlenmiştir.

Karahindiba kökü infüzyonuna ait HPLC kromatogramında, ekstraksiyon ile belirlenen fenolik bileşenlerden gallik asit hariç diğer bütün bileşenler tespit

Tablo 4.12: Karahindiba Kökü İnfüzyonunda Fenolik Bileşikler

Pik No	Fenolik Madde ve Flavonoid	Alınma süresi, dk	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/100ml)
1	Solvent	3.054	132059	25.56	21375	
2		3.922	11344	2.20	3528	
3		4.228	34787	6.73	4753	
4		8.156	14117	2.73	720	
5		11.466	48323	9.35	2405	
6		20.103	31483	6.09	2142	
7	Klorojenik asit	20.712	14022	2.71	945	0,003
8		21.342	11773	2.28	511	
9	Kumarik asit	33.094	67296	13.03	3242	0,007
10		39.190	48946	9.47	3800	
11	Rutin	41.932	22486	4.35	1378	0,075
12		44.540	45390	8.79	4049	
13		45.781	22225	4.30	1705	
14		49.608	12341	2.39	880	

edilmiştir. Diğer örneklerde olduğu gibi, bu örneğin infüzyonunda da fenolik bileşiklerin miktarlarında genel olarak azalma tespit edilirken rutin miktarında tersi oranda artış gözlenmiştir. Buna göre ekstraksiyonda kumarik asitte 0,06 mg/100ml olan miktar değeri, infüzyonda 0,007 mg/100ml'ye düşmüştür (%87 oranında azalış). Rutin miktarı ise 0,04 mg/100ml'den, 0,075 mg/100ml'ye yükselmiştir (%50 oranında artış).

4.5. Antioksidan Tayin Metotları ile Fenolik Madde ve Flavonoid İçeriklerinin Değişimi

Örneklerde, metotlar ile fenolik madde ve flavonoid içerikleri arasındaki değişimi incelemek üzere, antioksidan potansiyeli tayin metotları ile tüm bitkisel çayların toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri arasında lineer regresyon varyans analizi gerçekleştirilmiştir ($P < 0.01$). Elde edilen sonuçlar Tablo 4.13'de, toplam fenolik ve antioksidan tayin yöntemleri arasındaki regresyon grafikleri Şekil 4.22, 4.23 ve 4.24'de ve toplam flavonoid miktarı ve antioksidan tayin yöntemleri arasındaki regresyon grafikleri Şekil 4.25, 4.26 ve 4.27'de verilmektedir. Ayrıca sonuçların regresyon varyans analizi tabloları Ek B'de Tablo B2 ve B3'te sunulmuştur. Toplam fenolik madde içeriğinin, DPPH yöntemi ile arasındaki ilişki ($r=0,964$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,01$). Aynı metodun toplam flavonoid madde miktarı ile ilişkisi de istatistiksel olarak önemlidir ($r=0,708$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13: Antioksidan Kapasitesi Tayin Metotları İle Toplam Fenolik Ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Tüm Bitkisel Çaylarda Regresyon Katsayıları

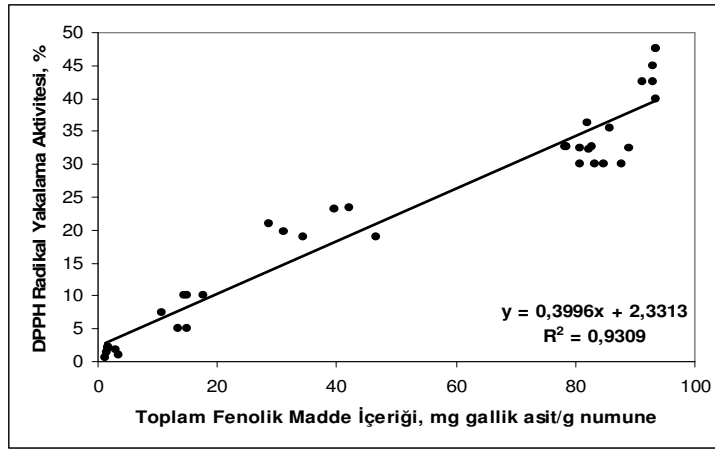
Antioksidan Kapasitesi Tayin Metotları	Toplam Fenolik İçeriği	Toplam Flavonoid içeriği
DPPH % radikal yakalama	0,93 ^a	0,501 ^a
ABTS % radikal yakalama	0,934 ^a	0,276 ^a
Troloks eşitliğine ABTS (mM Troloks)	0,929 ^a	0,269 ^a
%Metal Şelatlama aktivitesi (1,33mg/ml numune)	0,518 ^a	0,001
%Metal Şelatlama aktivitesi (2 mg/ml numune)	0,603 ^a	0,002
%Metal Şelatlama aktivitesi (2,66mg/ml numune)	0,253 ^a	0,037
İndirgeme potansiyeli (%)	0,812 ^a	0,350 ^a
Linoleik asit peoksidasyonu inhibisyonu (%)	0,465 ^a	0,278 ^a
% H ₂ O ₂ yakalama aktivitesi	0,168	0,002

(a) Regresyon varyans analiz sonucu istatistiksel olarak önemlidir (P<0.01)

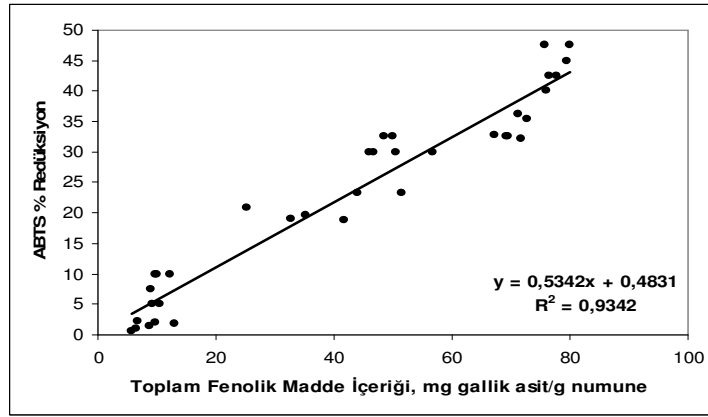
Kakao, çay ve şarap örnekleri üzerinde çalışma yapan Lee ve diğ. (2003), toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları ile DPPH yöntem sonuçları arasındaki ilişki benzer şekilde önemli bulmuştur (sırasıyla $r=0,983$ ve $r=0,957$). Bu sonuçlara uyumlu olarak Parejo ve diğ. (2002)'nin 6 farklı Akdeniz bitkisinde ($r=0,837$), Cheung ve diğ. (2003)'nin mantar ekstraktında ($r=0,964$) ve Katsube ve diğ.(2004)'nin yenilebilir bitki materyallerinde tespit ettikleri ($r=0,983$) toplam fenolik madde miktar sonuçları ile DPPH yöntemi sonuçları arasındaki ilişkiler önemlidir.

ABTS yöntemi ile toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon katsayısı % inhibisyon metodunda sırasıyla 0,966 ve 0,525 iken, Troloks eşitliği metodunda 0,964 ve 0,519 olarak $P<0,01$ düzeyinde önemlidir. Lee ve diğ. (2003)'nin kakao, çay ve şarapta elde ettikleri toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarı sonuçlarının ABTS yönteminin önemli düzeydeki ilişkisi (sırasıyla $r=0,991$ ve $r=0,974$) bu bulguları desteklemektedir.

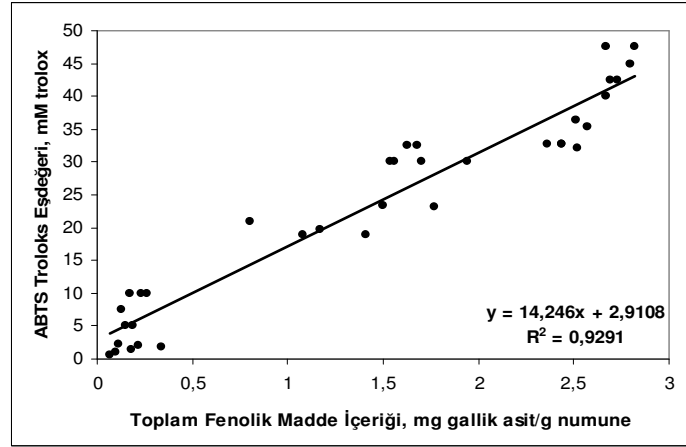
Bütün çay örneklerinin linoleik asit peroksidasyonunu inhibisyonu ve indirgeme potansiyeline ait sonuçlarının, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarı arasındaki sonuç ilişkisi tüm yöntemler için önemlidir ($P<0,01$). Linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonu yönteminin toplam fenolik miktarı ve toplam flavonid için verdiği regresyon katsayısı değerleri sırasıyla $r^2=0,465$ ve $r^2=0,278$, indirgeme potansiyelinin ise $r^2=0,812$ ve $r^2=0,350$ olmuştur. Farklı bitkisel ürünleri inceleyen Hinneburg ve diğ.(2006)'nin regresyon varyans analizi ile önemli buldukları toplam fenolik madde içeriği ile linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonu ($r=0,946$) ve indirgeme potansiyeli ($r=0,942$) arasındaki ilişkiler bu bulguları doğrulamaktadır.



(a)



(b)



(c)

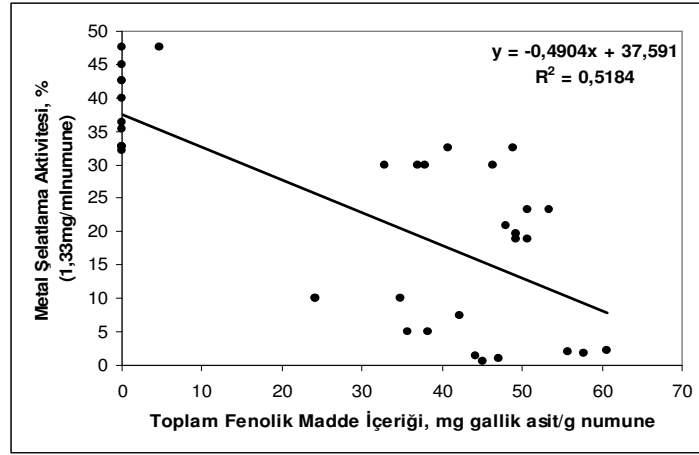
Şekil 4.22: Toplam Fenolik Madde (a) DPPH % Radikal Yakalama Aktivitesi, (b) ABTS % Radikal Yakalama Aktivitesi Ve (c) ABTS Troloks Eşitliğinde İnhibisyon Analizleri Regresyon Analiz Grafikleri

Joubert ve diğ.(2005), rooibos çayının sonuçları üzerinde yaptıkları regresyon varyansı analizinde linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonu ile toplam fenolik madde arasındaki ilişkiyi önemli bulmuşlardır ($r=0,947$). Benzer şekilde indirgeme potansiyeli ve toplam fenolik madde arasında Wong ve Kitts (2006) ve Juntachote ve diğ. (2006) önemli düzeyde ilişki tespit etmişlerdir ($r=0,740$ ve $r=0,872-0,999$).

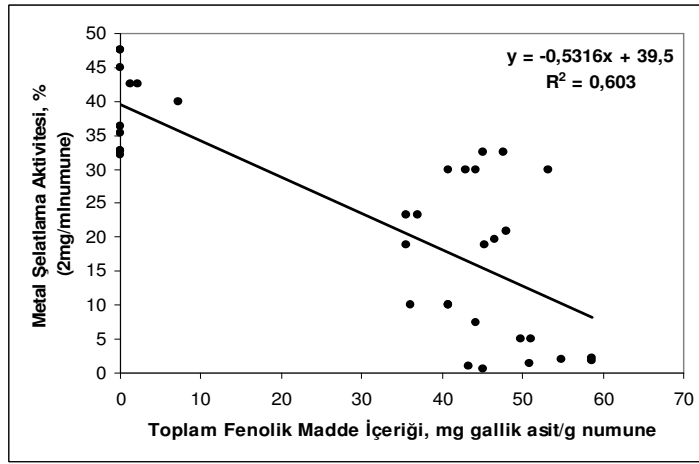
Metal şelatlama aktivitesinin, toplam fenolik madde miktarı sonuçları ile değişimi her 3 konsantrasyon değerinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($r^2=0,518$ $r^2=0,603$ $r^2=0,253$) ($P<0,01$). Buna karşın yöntemin flavonoid miktarı ile ilişkisi ise her 3 konsantrasyon düzeyinde önemsizdir. Hinneburg ve diğ. (2006), farklı bitkisel ürünlerdeki çalışmalarında şelatlama aktivitesi ile toplam fenolik madde ilişkisini önemsiz bulmuşlardır.

Hidrojen peroksit yakalama aktivitesi sonuçlarının toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarı sonuçları arasındaki ilişki ise önemsizdir ($P<0,01$).

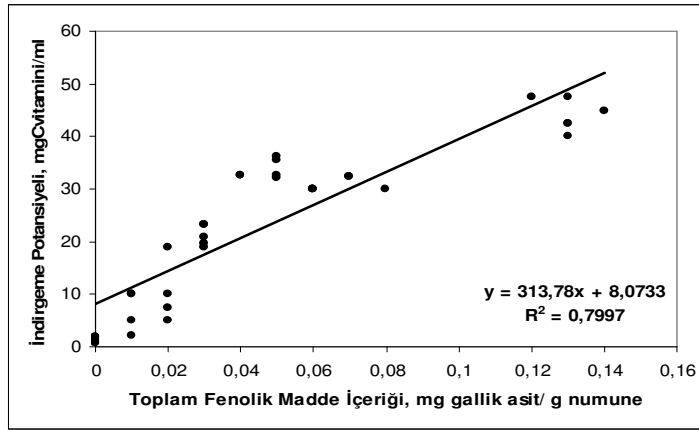
Bitkisel örneklerin antioksidan ve radikal yakalama aktivitelerinin, toplam fenolik madde miktarı ile arasındaki ilişkiyi istatistiksel araçlarla açıklanması güçtür. Her antioksidan aktivitesi tayin yöntemi farklı mekanizmalara dayanmakta ve her yöntem kendi açısından farklı sonuçlar vermektedir. Ayrıca analizlenen örneklerin yapısı, polarite ve buna bağlı olarak antioksidan ve pro-oksidan özellik gösteren farklı bileşiklerin kompleks karışımları oldukları için, birbirleri arasında sinerjik etki de gösterebilmektedirler. Bu nedenlerden dolayı radikal yakalama aktivitesi toplam fenolik madde miktarıyla tahminlenememektedir (Parejo ve diğ., 2002).



(a)

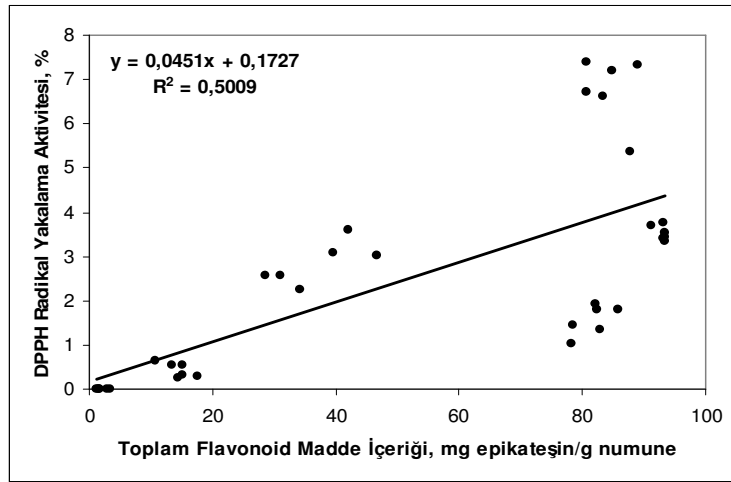


(b)

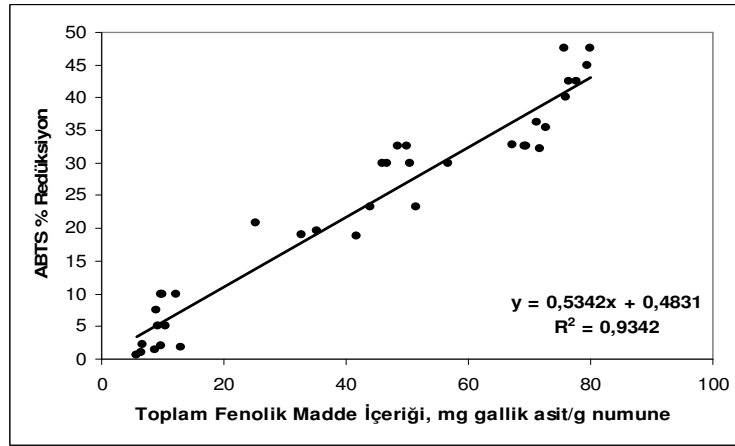


(c)

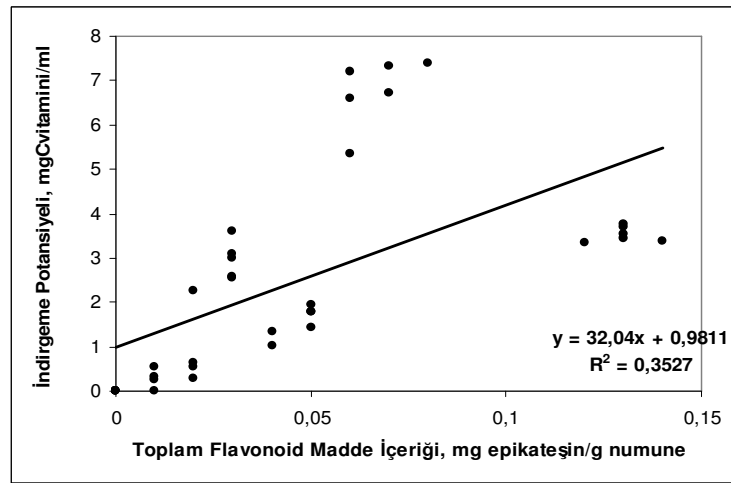
Şekil 4.23: Toplam Fenolik Madde (a) Metal Şelatlama Aktivitesi, % (1,33 mg/ml) (b) Metal Şelatlama Aktivitesi, % (2 mg/ml) ve (c) İndirgeme Potansiyeli, mg C vitamini/ml, Regresyon Analiz Grafikleri



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.24: Toplam Flavonoid (a) DPPH % Radikal Yakalama Aktivitesi, (b) ABTS % Radikal Yakalama Aktivitesi ve (c) İndirgeme Potansiyeli, mg C vitamini/ml, Regresyon Analiz Grafikleri

5. SONUÇLAR

Bu çalışmayla, halk arasında bitkisel çay olarak tüketilen ve ticari olarak bitkisel çay karışımlarında yer alan üç farklı bitkinin, (mürver ağacı çiçeği, böğürtlen yaprağı ve karahindiba kökü) yaprak/kök ve infüzyonlarında toplam fenolik madde içerikleri ve fenolik madde profilleri ortaya konularak antioksidan aktiviteleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Örneklerin içeriğindeki fenolik bileşiklerin eldesinde ve buna bağlı olarak maksimum antioksidan aktivitesine ulaşılmasında ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözgen sisteminin önemi ön deneme çalışmalarıyla açıkça görülmüştür. Buna göre, farklı çözgen sistemleri ile ekstraksiyon denemesi için elde edilen sonuçlarda, önemli düzeylerde farklılıklar saptanmıştır. Bitkisel örneklerin yapısal farklılıkları nedeniyle ekstraksiyon yöntemlerinde her örnek için tek bir çözgen sisteminin kullanımından bahsetmek mümkün olamamaktadır. Elde edilen sonuçların da açıkça ortaya koyduğu gibi, analizlerde öncelikli olarak uygun çözgen sisteminin seçimi, doğru ve yüksek sonuçlara ulaşmada en önemli parametrelerden biridir. Analizlenen her numune için farklı çözgen sistemleriyle ön denemeler yapılmak suretiyle en uygun çözgen sisteminin belirlenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Elde edilen sonuçlarda, çalışılan bitkilerin fenolik madde içeriğindeki farklılıkların, gösterdikleri antioksidan özelliklerini etkilediği açıkça görülmüştür. Yüksek fenolik miktarına veya yüksek radikal yakalama aktivitesine sahip olmanın, tüm antioksidan aktivitesi çalışmalarında yüksek sonuç vermediği açıkça görülmüştür. Böylelikle tek bir yöntemle antioksidan aktivitesi hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı anlaşılmaktadır. Buna göre antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanarak canlı sistemlerdeki biyokimyasal olayları da simüle edebilecek metotların uygulanması ve elde edilen aktivite sonuçlarının, her bir özelliğe göre verilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu tip sonuçların *in vivo* çalışmalar ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi biyoyararlılığın belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Bitkisel kaynaklarda bulunan askorbik asit, miktarına bağı olarak toplam fenolik madde miktarı sonuçları ile girişim yapabilir. Ancak, antioksidan kapasitesi tayin yöntemleri ile bu etkileşim önemli farklılıklara yol açmamaktadır. Bu nedenle fenolik madde içeriği tayin edilirken, numunelerde askorbik asit miktarlarının belirlenmesi önem taşımaktadır.

Fenolik madde ve flavonoid miktarları ile antioksidan kapasitesi tayin yöntemleri arasında ilişki mevcut olabilir. Özellikle radikal yakalama temeli üzerine kurulu DPPH ve ABTS metotlarının toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları ile ilişkisi bazı bitkisel kaynaklarda önemli olabilir. Bununla birlikte antioksidan kapasiteleri ile fenolik bileşikler ve flavonoidler arasında da önemli farklılıklar söz konusu olabilir. Bitkisel kaynakların antioksidan kapasitelerini değerlendirirken bu ilişkilerin de irdelenmesi önerilmektedir.

Ancak antioksidan tayin yöntemlerinin tam olarak oturmamış olması ve her bitkisel ürün için standart bir yöntem kullanılamaması önemli bir sorundur. Buna bağı olarak, elde edilen sonuçlardaki çeşitlilik, çalışmaların tam olarak karşılaştırılamamasına neden olmaktadır. Yöntemler arası ilişkiler de tam olarak açıklanamamakta ve ilişkilerin açıklanabilmesi için bu konuda daha fazla veriye ihtiyaç bulunmaktadır.

Bitkisel çay olarak kullanılan numunelerin yaprak/kök ve infüzyonları arasındaki fenolik madde ve antioksidan aktivitesi değerleri arasındaki değışim ve elde edilen sonuçlar üzerinden antioksidan aktivitesi yöntemlerinin birbirleri arasındaki ilişkilerinin incelendiğı çalışmada ilgili literatürdeki çalışma boşluğu giderilmeye çalışılmıştır. Ancak, çözgen sistemlerinin ekstraksiyon sonuçları üzerindeki etkisinde olduğu gibi, bitkisel çayların sahip oldukları antioksidan miktarları, çayların hazırlama yöntemleri ile doğru orantılıdır. Bu yüzden yapılacak yeni çalışmalarda, infüzyon hazırlama yönteminde sıcaklık-süre parametrelerinin incelenmesi, ayrıca diğ er çay hazırlama yöntemleri ile de (kaynatma ve soğuk demleme) yöntem karşılaştırması yapılarak, infüzyon parametrelerinin optimizasyonunun araştırılması hedeflenebilir.

Çay olarak kullanılan bitkilerin yaprak/kök kısımları önemli düzeylerde fenolik madde ve antioksidan aktivite içerebilir. Tüketicilerin tüketeceği şekilde infüzyona uğratılmış numuneler, yaygın olarak tüketilen bitkisel çay ürünlerinden papatya,

adaçayı ve ıhlamıra kıyasla daha yüksek oranlarda antioksidan aktivitesine sahiptir. Bu çalışmanın sonuçları ile; mürver ağacı çiçeğı, böğürtlen yaprağı ve karahindiba kökünün, antioksidan özellikleri nedeni ile bitkisel çay karışımlarının içerisinde kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aherne, S.A. and O'Brien, N.M., 2002. Dietary flavanols: Chemistry, food content, and metabolism, *Nutrition*, **18**, 75-81.
- Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A., 2004., Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from Canadian prairies, *Food Chemistry*, **84**, 551-562.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P., 2005. Tea and herbal infusions: Their antioksidant activity and phenolic profile, *Food Chemistry*, **89**, 27-36.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.
- AOAC, 1998. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.
- Balentine, D.A. and Paetau-Robinson, I., 2000. Tea as a source of dietary antioxidants with a potential role in prevention of chronic diseases, in *Functional Foods and Nutraceuticals Series Herbs, Botanicals and Tea*, pp. 265-287, Eds., Mazza G. & Oomah B.D., Technomic Publishing Company Inc., USA.
- Başgel, S. and Erdemoğlu, S.B., 2005. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey, *Science of the Total Environment*, Baskıdaki makale.
- Baydar, H., 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:51, Isparta.
- Becker, E.M., Nissen, L.R. and Skibsted, L.H., 2004., Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, Review, *European Food Research Technology*, **219**, 561-571.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm Wiss Technology*, **28**, 25-30 (Alınmıştır: Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Sauro-Calixto, F., 1998. A prosedure to masure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of Science of Food Agriculture*, **76**, 270-276).
- Bronner, W.E. and Beecher, G.R., 1998. Method for determining the content of catechins in tea infusions by HPLC, *Journal of Chromatography, A*, **805**, 137-142.

- Burdurlu, H., Koca, N. ve Karadeniz, F.,** 2005. Meyve sularında biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktivitesi, *Dünya Gıda*, **6**, 62-66.
- Caillet S., Yu, H., Lessard, S., Lamoureux, G., Ajdukovic, D. and Lacroix, M.,** 2006. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants, *Food Chemistry*, Baskıdaki makale.
- Cam, M. ve Hışıl, Y.,** 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K. and Ooi, V.E.C.,** 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts, *Food Chemistry*, **81**, 249-255.
- Dawidowicz, A.L., Wianowska, D. and Baraniak, B.,** 2006. The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts), *LWT Food Science and Toxicology*, **39(3)**, 308-315.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeida, L.M.,** 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **315**, 161-169. (Alınmıştır: **Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528).
- Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djarkovic, S. and Pospisil, J.,** 2005. Phenolic profiles of raw apricots, pumkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53(12)**, 4836-4843.
- Duh, Y. and Du, Y.,** 1997. Antioxidant activity of mung bean hulls, *Journal of the American Oil Chemists Society*, **74**, 1059-1063. (Alınmıştır: **Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528).
- Ekşi, A. ve Karadeniz, F.,** 2002. Fenoliklerin gıda bileşeni olarak önemi, *Dünya Gıda*, **2002-4**, 64-70.
- El, S.N. and Karakaya, S.,** 2004. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **55**, 67-74.
- Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A. and Boskou, D.,** 2002. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek Oregano, Greek Sage, and Summer Savory. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **50**, 5294-5299.
- Gao, X., Björk, L., Trajkovski, V. and Uggla, M.,** 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80(14)**, 2021 – 2027.
- Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek M. and Apak, R.,** 2005. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II)-

- neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals, *Talanta*, **65**, 1226-1232.
- Gülçin, İ., Şat, İ.G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M. and Küfrevioğlu, Ö.İ.**, 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia Caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L), *Food Chemistry*, **87**, 393-400.
- Gülçin, İ.**, 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicology*, **217**, 213-220.
- Hinneburg, I., Dorman Damien, H.J. and Hiltunen, R.**, 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices, *Food Chemistry*, **97**, 122-129.
- Hu, C. and Kitts, D.D.**, 2005. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro, *Phytomedicine*, **12(8)**, 588-597.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L.**, 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, Reviews, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**, 1841-1856.
- Ivanova D., Geroval, D., Chervenkov, T. and Yankova, T.**, 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 145-150.
- Joubert, E., Winterton, P., Britz, T.J. and Gelderblom, W.C.A.**, 2005. Antioxidant and pro-antioxidant activities of aqueous extracts and crude polyphenolic fractions of rooibos (*Aspalathus linearis*) tea, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**, 10260-10267.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Bauer, F. and Siebenhand S.**, 2006. The application of response surface methodology to the production of phenolic extracts of lemon grass, galangal, holybasil and rosemary, *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 121-133.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorella, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M.**, 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 3954-3962.
- Karakaya, S. and El, S.N.**, 1999. Quercetin, luteolin, apigenin and keampferol contents of some foods, *Food Chemistry*, **66**, 289-292.
- Karakaya, S., El, S.N. and Taş, A.A.**, 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **52**, 501-508.
- Katsube, T., Tabata, H., Ohta, Y., Yamaski, Y., Anuurad, E., Shiwaku K. and Yamane Y.**, 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Cocalteu assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 2391-2396.
- Khokhar, S. and Magnusdottir, S.G.M.**, 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 565-570.

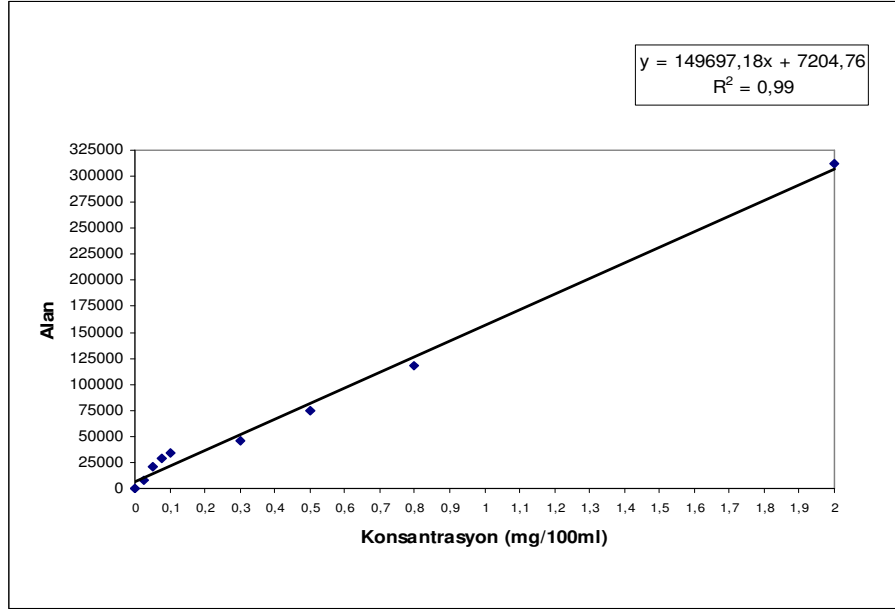
- Lakenbrink, C., Lapczynski, S., Mailwald, B. and Engelhardt, U.H.,** 2000. Flavanoids and other polyphenols in consume brews of tea and other caffeinated beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 2848-2852.
- Lee, K.W., Kim J.J, Lee, H.J. and Lee C.Y.,** 2003. Cocoa has more phenolic hytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *Journal of Agriculture of Food Chemistry*, **51**, 7292-7292.
- Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528.
- Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006b. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extracts assayed by different methodologies , *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 198-206.
- Mattila, P., Astola, J. and Kumpulainen, J.,** 2000. Determination of flavanoids in plant material by HPLC with diode-array and electro-array detections, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5834-5841.
- Miller, N.J. and Rice-Evans, C.A.,** 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and aple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chemistry*, **60(3)**, 331-337.
- Molnar-Perl, I. and Füzfai Z.,** 2005. Chromatographic, capillary electrophoeritic and capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids, Review, *Journal of Chromatography A*, **1073(1-2)**, 201-227.
- Naczki, M. and Shahidi, F. C.,** 2004. Extraction and analysis of phenolics in food, Review, *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95-111.
- Oyaizu, M.,** 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, **44**, 307-315. (Alınmıştır: **Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528).
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rossas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. and Codina, C.,** 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6882-6890.
- Pietta, P. and Gardana, C.,** 2003. Flavonoids in herbs, in *Flavonoids in Health and Disease 2nd Ed. Revised and Expanded*, pp. 49-69, Eds. Rice-Evans, C.A. & Packer, L., Marcel Dekker Inc.
- Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K.,** 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 4290-4320.

- Raffo, A., Malfa, G.L., Fogliano, V., Maiani, G. and Quaglia, G.,** 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**, 11-19.
- Ramirez-Mares, M.V. and Mejia, E.G.,** 2003. Comparative study of the antioxidant effect of ardisin and epigallocatechin gallate in rat hepatocytes exposed to benomyl and 1- nitropyrene, *Food and Chemical Toxicology*, **41**, 1527-1535.
- Ramirez-Mares, M.V., Chandra, S. and Mejia, E.G.,** 2004. In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols, *Mutation Research*, **554**, 53-65.
- Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.,** 1999. Biology of Plants 6th Ed. New York, USA.
- Rice-Evans, C.A, Miller, N.J. and Paganga, J.,** 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds, Reviews, *Trends in Plant Science*, **2(4)**, 152-159.
- Roginsky, V. and Lissi, E.A.,** 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, **92**, 235-254.
- Shahidi, F. and Naczk, M.,** 2003. Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press.
- Sertsever, A. ve Gök, V.,** 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, s. 83-98.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A.,** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-158 (**Alınmıştır: Shahidi, F. and Naczk, M.,** 2003. Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press).
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M. and Knez, Z.,** 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones, and flavonol in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, **89**, 191-198.
- Sroka, Z. and Cisowski, W.,** 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids, *Food and Chemical Toxicology*, **41**, 753-758.
- Toit, R.D., Volsteadt, Y. and Apostolides, Z.,** 2001. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables, and teas measured as vitamin C equivalents, *Toxicology*, **166**, 63-69.
- Toor, R.K. and Savage, G.P.,** 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, *Food Research International*, **38**, 487-494.
- Toyoda, M., Tanaka, K., Hoshino, K., Akiyama, H., Tanimura, A. and Saito, Y.,** 1997. Profiles of potentially antiallergic flavanoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 2561-2564.
- Trojanova, I., Rada, V., Kokoska, L. and Vlkova, E.,** 2004. The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root, *Fitoterapia*, **75**, 760-763.

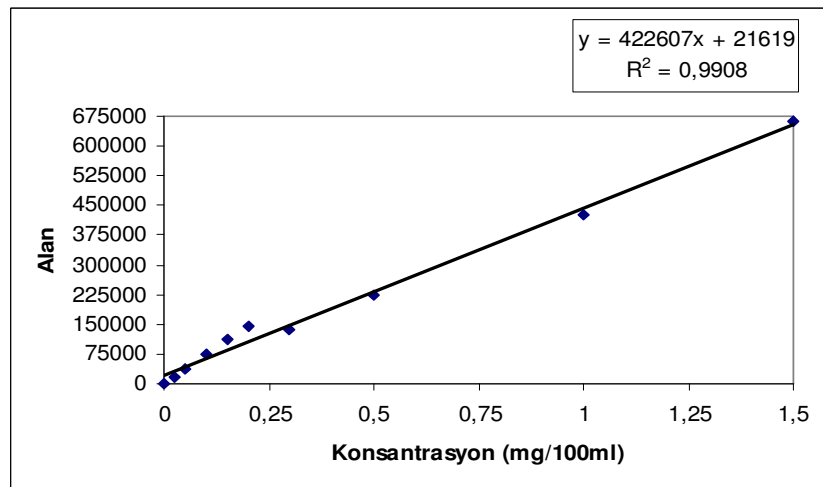
- TS-12933**, 2003. Bitkisel Çaylar, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Tsai, P.J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan, B.R.**, 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract, *Food Research International*, **35**, 351-356.
- Wang, S.Y. and Lin, H.S.**, 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 140-146.
- Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K.**, 2000. Tea flavanoids: Their functions, utilisation and analysis, *Trends in Food Science & Technology*, **11**, 152-162
- Wettasinghe, M. and Shahidi, F.**, 2000. Scavenging of reactive oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals, *Food Chemistry*, **70**, 17-26.
- Wettasinghe, M., Bolling, B., Plhak, L., Xýao, H. and Parkin, K.**, 2002. Phase II enzyme- inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extracts from phenotypes of different pigmentation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6704-6709.
- (Alınmıştır: Mathew, S. and Abraham, T.E.**, 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528).
- Wong, P.Y.Y. and Kitts, D.D.**, 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of persley (*Petroselinium crispum*) cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts, *Food Chemistry*, **97**, 505-515.
- Zheng, W. and Wang, S.Y.**, 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **49**, 5165-5170.
- Zhinsen, J., Megcheng, T. and Jianming, W.**, 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemicals*, **64**, 555-559.
- (Alınmıştır: Lee, K.W., Kim J.J, Lee, H.J. and Lee, C.Y.** 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7292-7292).
- Ziakova, A. and Brandsteterova, E.**, 2003. Validation of HPLC determination of phenolic acids present in some *Lamiaceae* family plants, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **26 (3)**, 443-453.
- Zuo, Y., Chen, H. and Deng, Y.**, 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector, *Talanta*, **57**, 307-316.

EKLER

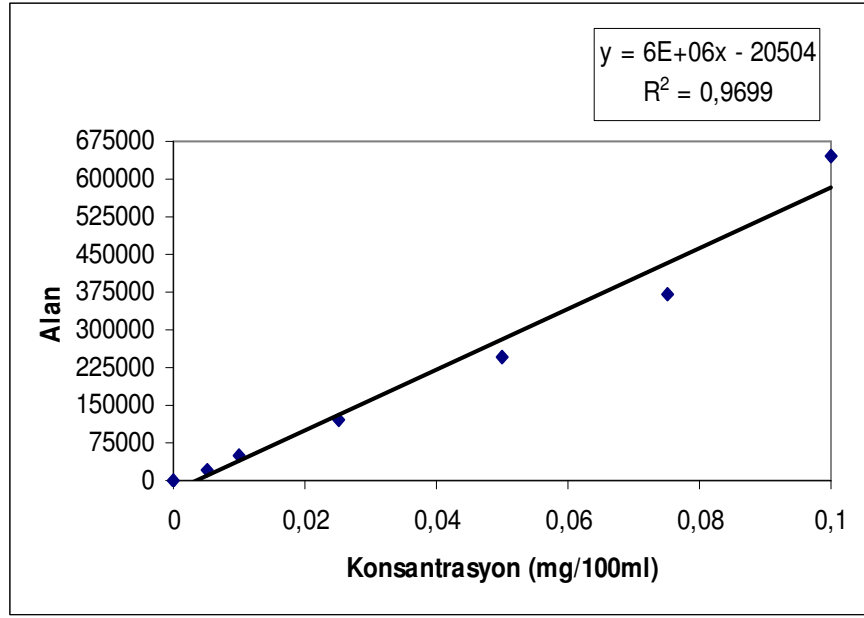
EK A



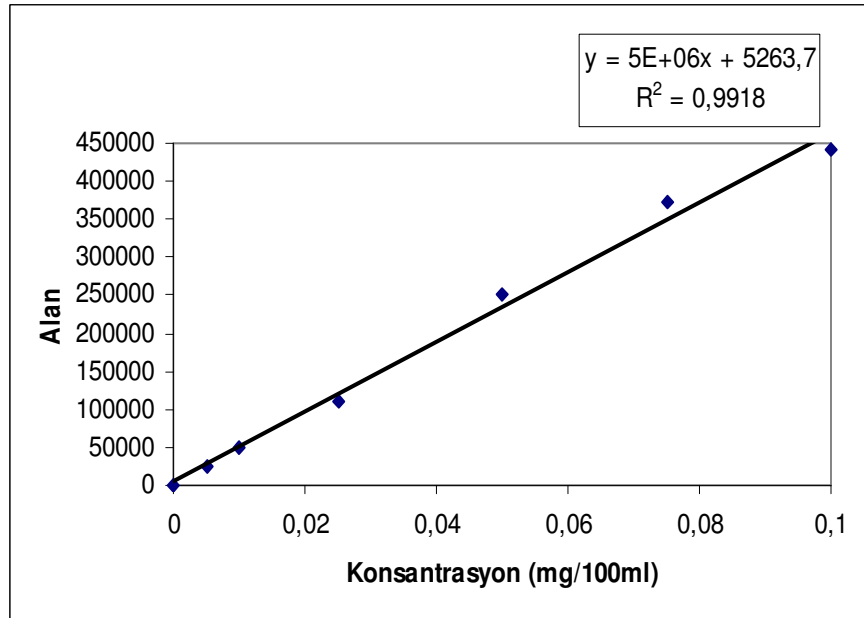
Şekil A.1: (-) - Epikateşin Standardı Kalibrasyon Eğrisi



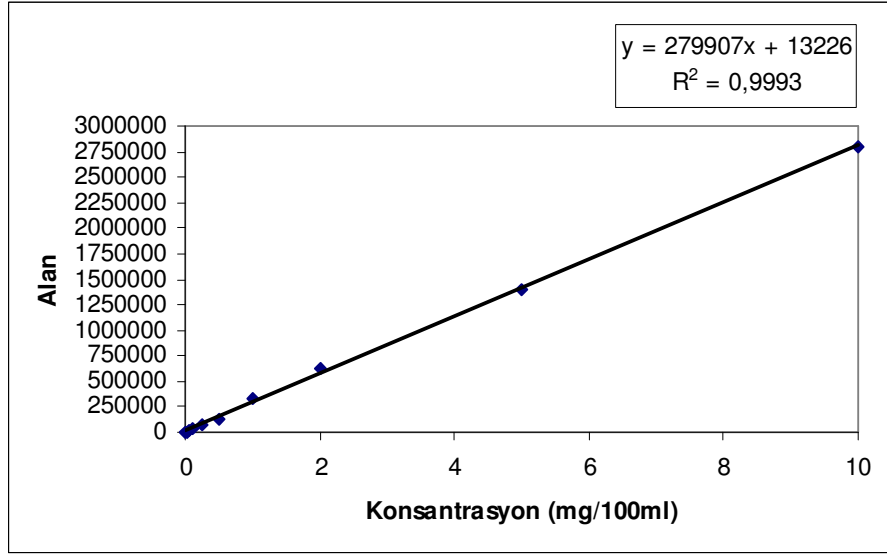
Şekil A.2: Ferulik Asit Standardı Kalibrasyon Eğrisi



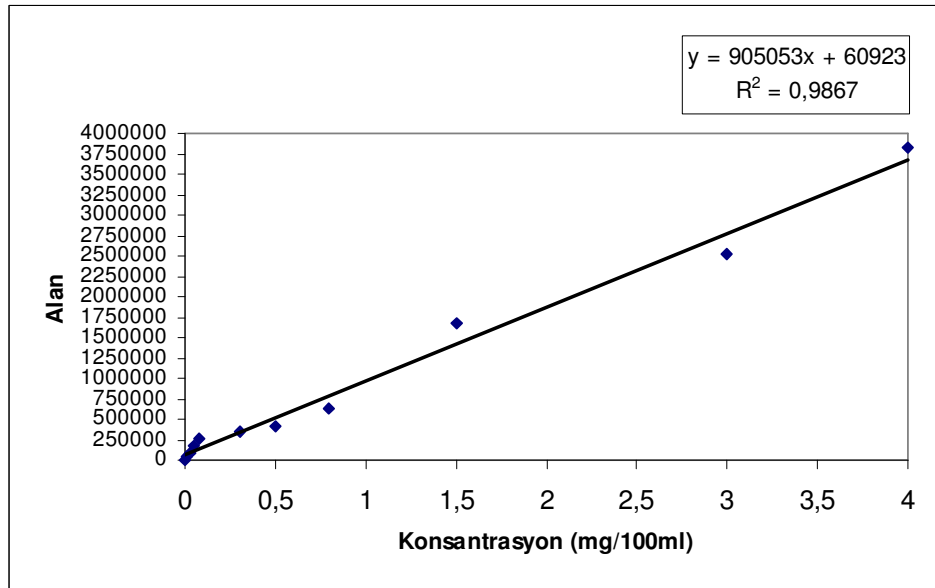
Şekil A.3: Gallik Asit Standardı Kalibrasyon Eğrisi



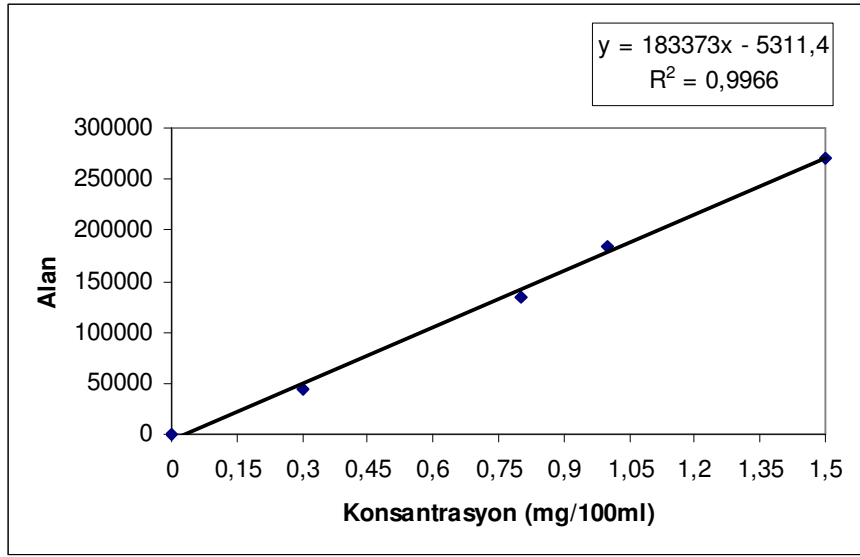
Şekil A.4: Kafeik Asit Standardı Kalibrasyon Eğrisi



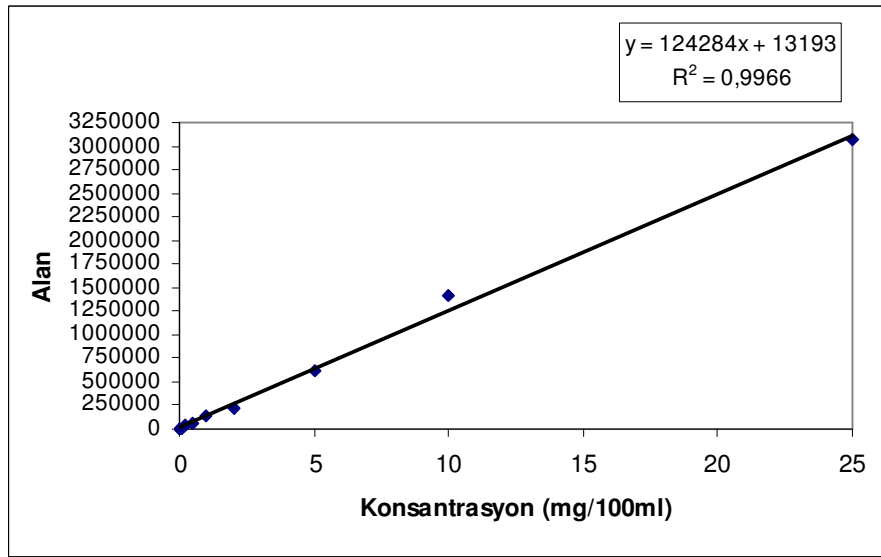
Şekil A.5: Klorojenik Asit Standardı Kalibrasyon Eğrisi



Şekil A.6: Kumarik Asit Standardı Kalibrasyon Eğrisi



Şekil A.7: Luteolin Standardı Kalibrasyon Eğrisi



Şekil A.8: Rutin Standardı Kalibrasyon Eğrisi

EK B**Tablo B.1:** Bitki Ve İnfüzyonlarının Toplam Fenolik Madde Ve Toplam Flavonoid İçeriklerinin t-Testi İle Karşılaştırılması

TOPLAM FENOLİK MADDE	t-değeri	S.D	P (İki-uçlu)	Farkın Standart Hatası	Farkın %95 Güven Aralığı	
					Alt Limit	Üst Limit
Böğürtlén Yaprığı ve infüzyonu	7,372	10	0,000	1,42639	7,33680	13,69320
Mürver çiçeğı ve infüzyonu	10,152	10	0,000	0,98449	7,80142	12,18858
Karahindiba kökü ve infüzyonu	6,465	10	0,000	0,06615	0,28024	0,57502
TOPLAM FLAVONOID İÇERİĞİ	t-değeri	S.D	P (İki-uçlu)	Farkın Standart Hatası	Farkın %95 Güven Aralığı	
					Alt Limit	Üst Limit
Böğürtlén Yaprığı ve infüzyonu	12,514	10	0,000	0,15729	1,61787	2,31880
Mürver çiçeğı ve infüzyonu	10,637	10	0,000	0,36852	3,09890	4,74110
Karahindiba kökü ve infüzyonu	6,465	10	0,000	0,06615	0,28024	0,57502

Tablo B.2: Toplam Fenolik Madde İçerikleri İçin Regresyon Varyans Analizi

DPPH serbest radikal yakalama metodu, %	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	43546,331	1	43546,331	458,301	0,000
Hata	3230,575	34	95,017		
Toplam	46776,906	35			
ABTS radikal yakalama metodu, %	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	24535,056	1	24535,056	482,401	0,000
Hata	1729,249	34	50,860		
Toplam	26264,305	35			
ABTS Trolox Eşdeğeri ,mM Trolox	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	34,123	1	34,123	445,305	0,000
Hata	2,605	34	0,077		
Toplam	36,728	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (1.33mg/ml)	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	8967,010	1	8967,010	36,599	0,000
Hata	8330,286	34	245,008		
Toplam	17297,295	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (2mg/ml)	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	10325,681	1	10325,681	51,650	0,000
Hata	6797,208	34	199,918		
Toplam	17122,889	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (2,66mg/ml)	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	4322,101	1	4322,101	11,493	0,002
Hata	12786,570	34	376,076		
Toplam	17108,671	35			
İndirgeme potansiyeli metodu , mgCvitamini/ml	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	0,053	1	0,053	146,521	0,000
Hata	0,012	34	0,000		
Toplam	0,065	35			
Linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidant aktivitesi, %	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	4990,334	1	4990,334	29,573	0,000
Hata	5737,430	34	168,748		
Toplam	10727,764	35			
H₂O₂ yakalama metodu, %	Kareler Topamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	247,725	1	247,725	6,857	0,013
Hata	1228,391	34	36,129		
Toplam	1476,116	35			

Tablo B.3: Toplam Flavanoid İçerikleri İçin Regresyon Varyans Analizi

DPPH serbest radikal yakalama metodu, %	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	43546,331	1	43546,331	458,301	0,000
Hata	3230,575	34	95,017		
Toplam	46776,906	35			
ABTS radikal yakalama metodu, %	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	7250,922	1	7250,922	12,966	0,001
Hata	19013,383	34	559,217		
Toplam	26264,305	35			
ABTS Trolox Eşdeğeri, mM Trolox	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	9,898	1	9,898	12,542	0,001
Hata	26,831	34	0,789		
Toplam	36,728	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (1.33mg/ml)	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	19,070	1	19,070	,038	0,848(a)
Hata	17278,226	34	508,183		
Toplam	17297,295	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (2mg/ml)	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	42,675	1	42,675	,085	0,772(a)
Hata	17080,214	34	502,359		
Toplam	17122,889	35			
Metal şelatlama aktivitesi metodu, % (2,66mg/ml)	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	638,975	1	638,975	1,319	0,259
Hata	16469,696	34	484,403		
Toplam	17108,671	35			
İndirgeme potansiyeli metodu , mgCvitamini/ml	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	0,023	1	0,023	18,321	0,000
Hata	0,042	34	0,001		
Toplam	0,065	35			
Linoleik asit emülsiyon sisteminde antioksidant aktivitesi, %	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	2983,813	1	2983,813	13,101	0,001
Hata	7743,951	34	227,763		
Toplam	10727,764	35			
H₂O₂ yakalama metodu, %	Kareler Toplamları	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P
Regresyon	2,467	1	2,467	0,057	0,813
Hata	1473,649	34	43,343		
Toplam	1476,116	35			

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İstanbul’da doğdu. İlk ve orta öğretimini İstanbul’da tamamladı. 1997 - 2001 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2001 İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya- Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı.