İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUŞBURNU BİTKİSİNDE SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE ASKORBİK ASİT TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Ayça KARASAKAL

Anabilim Dalı: KİMYA
Programı: KİMYAGERLİK

OCAK 2007

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUŞBURNU BİTKİSİNDE SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE ASKORBİK ASİT TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Ayça KARASAKAL
(509041204)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14 Aralık 2006
Tezin Savunulduğu Tarih : 30 Ocak 2007

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Birsen Demirata ÖZTÜRK
Diğer Jüri Üyeleri Prof.Dr. Süleyman AKMAN (İ.T.Ü)
Doç.Dr. Erol ERÇAĞ (İ.Ü.)

OCAK 2007

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca her konuda desteğini gördüğüm hocam Prof.Dr.Birsen Demirata ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında bana her konuda yardımcı olan Uzm.Dilek ÖZYURT'a çok teşekkür ederim.

Son olarak tüm eğitim yaşantım boyunca her konuda destek olan aileme gösterdikleri her türlü yardım ve özverileri için çok teşekkür ederim.

ARALIK 2006 AYÇA KARASAKAL

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR **v**
TABLO LİSTESİ **vi**
ŞEKİL LİSTESİ **vii**
SEMBOL LİSTESİ **x**
ÖZET **xi**
SUMMARY **xii**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BÖLÜM **2**
2.1. OTOOKSİDASYON 2
2.2. SERBEST RADİKALLER 2
2.3. LİPİD OKSİDASYONU MEKANİZMASI 3
2.4. ANTİOKSİDANLAR 4
2.5. ASKORBİK ASİT (C Vitamini) 6
2.5.1. Askorbik asidin kimyasal özellikleri 7
2.5.2. Askorbik asidin sentezi 7
2.5.3. Askorbik asidin işlevleri ve eksikliği 8
2.5.4. Askorbik asidin kullanımı 8
2.5.5. Askorbik asidin Ce^{+4} iyonu ile reaksiyonu 9
2.6. LİTERATÜRDE YER ALAN, TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİNİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER 9
2.6.1. TEAC Yöntemi 9
2.6.2. FRAP Yöntemi 10
2.6.3. CV Yöntemi 10
2.6.4. CUPRAC Yöntemi 11
2.6.5. TOSC Yöntemi 11
2.6.6. CERAC Yöntemi 12
2.7. KUŞBURNU VE ÖZELLİKLERİ 12
2.7.1. Ülkemizde yetiştirilen kuşburnu türleri 14
2.7.2. Kullanıldığı yerler 15
2.7.3. Kuşburnu ile ilgili yapılan literatür çalışmaları 16

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR **17**
3.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER 17
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER 17
3.3. KULLANILAN ANA ÇÖZELTİNİN HAZIRLANMASI 17
3.3.1. $2x10^{-3}$ M Seryum(4) sülfat çözeltisinin hazırlanması 17
3.3.2. 1 M Amonyum asetat tamponunun (pH=7) hazırlanması 17
3.3.3. 0,003 M Neocuprain çözeltisinin hazırlanması 17
3.3.4. 0,01 M $CuCl_2x2H_2O$ çözeltisinin hazırlanması 18
3.3.5. 0,001 M Askorbik asit çözeltisinin hazırlanması 18
3.4. KUŞBURNU EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI 18
3.4.1. Kuşburnu çayı 18
3.4.2. Kuşburnu nektarı 18
3.4.3. Kuru kuşburnu meyvesi 18
3.4.4. Kuru kuşburnu çekirdeği 19
3.4.5. Taze kuşburnu meyvesi 19
3.4.6. Taze kuşburnu çekirdeği 19
3.4.7. Kuşburnu marmelatı 19
3.4.8. İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesi 19
3.4.9. İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin, oda sıcaklığında, 50° C'de ve 85° C 'de bekletilmesiyle hazırlanan ekstraktlar 20
3.5. UYGULANAN YÖNTEM 20
3.5.1. Spektrofotometrik Yöntem 20
3.6. ABSORPSİYON SPEKTRUMLARININ ÇİZİMİ VE DALGA BOYUNUN SEÇİMİ 21
3.6.1. Absorpsiyon spektrumları 21
3.6.2. Askorbik asidin kalibrasyon grafikleri 22
3.7. LİNEERLİK TESTİ 24
3.7.1. Saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi 24
3.8. KUŞBURNU EKSTRAKTLARININ SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZİ 25
3.8.1. Kuşburnu çayının sıcak-soğuk saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 25
3.8.2. Kuşburnu nektarının sıcak- soğuk saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 27
3.8.3. Kuru kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 30
3.8.4. Kuru kuşburnu çekirdeğinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 32
3.8.5. Taze kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 34

3.8.6. Taze kuşburnu çekirdeğinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktının analizi 36

3.8.7. Kuşburnu marmelatının sıcak–soğuk saf su ile hazırlanan ekstrakların analizi 38

3.8.8. Renk farkına göre toplanan taze kuşburnu meyvelerin analizi 39

3.8.8.1. Turuncu kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 40

3.8.8.2. Kırmızı kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 42

3.8.8.3. Koyu kırmızı kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktların analizi 44

3.8.9. İTÜ, Ayazağa kampüsünden taze toplanan kuşburnu meyvelerinin kurutulma şartlarının antioksidan miktarına etkisi 46

3.8.9.1. Oda sıcaklığında bekleme süresinin toplam antioksidan miktarına etkisi 46

3.8.9.2. 50°C'de bekleme süresinin toplam antioksidan miktarına etkisi 48

3.8.9.3. 85°C'de bekleme süresinin toplam antioksidan miktarına etkisi 50

3.8.10 Ekstraksiyon süresinin çözeltiye geçen toplam antioksidan miktarına etkisi 52

3.8.10.1. Soğuk saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi 52

3.8.10.2. Sıcak saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi 54

3.9.CERAC YÖNTEMİNİN,CUPRAC YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRMASI 56

3.9.1. CUPRAC Yönteminde toplam antioksidan miktarının hesaplanması için yapılan işlem 57

3.9.2. CUPRAC Yöntemi ile yapılan sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi 57

3.10. GERİ KAZANIM TESTİ 59

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA **60**

KAYNAKLAR **64**

ÖZGEÇMİŞ **67**

KISALTMALAR

CERAC	: Seryum İyonunu İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi
TEAC	: Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasite Yöntemi
FRAP	: Ferrcic Reducing Antioxidant Power Yöntemi
CV	: Döngülü Voltametrik Yöntem
CUPRAC	: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi
TOSC	: Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi Yöntemi
AA	: Askorbik Asit

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1 2.10^{-4} M Ce(IV) ile Askorbik asidin kalibrasyon grafiği değerleri……..22
Tablo 3.2 Ce(IV)- Askorbik asit reaksiyonu için çizilen kalibrasyon grafiklerinin eğimleri ve mol oranları ……23
Tablo 3.3 Kuşburnu çayı ekstraktlarının analizi……27
Tablo 3.4 Kuşburnu nektarı ekstraktlarının analizi……30
Tablo 3.5 Kuru kuşburnu meyve ekstraktlarının analizi……...31
Tablo 3.6 Kuru kuşburnu çekirdek ekstraktlarının analizi……..33
Tablo 3.7 Taze kuşburnu meyve ekstraktlarının analizi……...35
Tablo 3.8 Taze kuşburnu çekirdek ekstraktlarının analizi……37
Tablo 3.9 Kuşburnu marmelatı ekstraktlarının analizi……..39
Tablo 3.10 Turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi……....41
Tablo 3.11 Kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi….....43
Tablo 3.12 Koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi……..45
Tablo 3.13 Oda sıcaklığında 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi……48
Tablo 3.14 50°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi……...50
Tablo 3.15 85°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi….....52
Tablo 3.16 Soğuk saf su ile 3, 6, 12 dakika karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……..…….54
Tablo 3.17 Sıcak saf su ile 3, 6, 12 dakika karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi…….....56
Tablo 3.18 Saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi……58
Tablo 3.19 CERAC ve CUPRAC Yönteminin İstatiksel Değerleri…….....58
Tablo 3.20 Ofçay marka kuşburnu çayında geri kazanım test sonuçları……..59
Tablo 3.21 Renk farkına göre toplanan taze kuşburnu meyvelerindeki askorbik asit miktarı……..62
Tablo 3.22 İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden taze toplanan kuşburnu meyvelerinin oda sıcaklığında, 50° C ve 85° C'de bekleme sürelerinin etkisi……....62
Tablo 3.23 İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden taze toplanan ve 1 g alınan kuşburnu meyvelerinin, oda sıcaklığında, 50° C ve 85° C'de bekletilmesiyle oluşan ağırlık kaybı.....62
Tablo 3.24 Ekstraksiyon süresinin incelenmesi.....63

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 Askorbik asit (C Vitamini)…….6
Şekil 2.2 Askorbik asidin oksidasyon reaksiyonu……...7
Şekil 3.1 Ce(IV), Askorbik asit, Ce(IV) + Askorbik asit ve taze kuşburnu çözeltilerinin referans saf suya karşı absorpsiyon spektrumları…….21
Şekil 3.2 Ce(IV) –Askorbik asit reaksiyonu için kalibrasyon grafiği…….23
Şekil 3.3 Kuşburnu çayı ile Askorbik asit çözeltisinin etkileşimi……..24
Şekil 3.4 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu……25
Şekil 3.5 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu……26
Şekil 3.6 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu……26
Şekil 3.7 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu…….27
Şekil 3.8 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu……...28
Şekil 3.9 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu……..28
Şekil 3.10 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu……..29
Şekil 3.11 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu……29
Şekil 3.12 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……30
Şekil 3.13 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……...31
Şekil 3.14 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……...…31
Şekil 3.15 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu……32
Şekil 3.16 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu……...33
Şekil 3.17 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu…….33
Şekil 3.18 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……..34
Şekil 3.19 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu…….35

Şekil 3.20 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……35
Şekil 3.21 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu…….....36
Şekil 3.22 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu……..37
Şekil 3.23 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu…….37
Şekil 3.24 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu marmelatı ekstraktı ile reaksiyonu……38
Şekil 3.25 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan kuşburnu marmelatı ekstraktı ile reaksiyonu……39
Şekil 3.26 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……..40
Şekil 3.27 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……...41
Şekil 3.28 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……..41
Şekil 3.29 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……...42
Şekil 3.30 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……..43
Şekil 3.31 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu……43
Şekil 3.32 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu…….44
Şekil 3.33 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu…….45
Şekil 3.34 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu…….45
Şekil 3.35 Oda sıcaklığında 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……46
Şekil 3.36 Oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……47
Şekil 3.37 Oda sıcaklığında 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……47
Şekil 3.38 50°C' de 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……48

Şekil 3.39 50°C'de 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……..49
Şekil 3.40 50°C'de 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……..49
Şekil 3.41 85°C' de 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……..50
Şekil 3.42 85°C'de 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……..51
Şekil 3.43 85°C'de 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu……..51
Şekil 3.44 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan ve 3 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……52
Şekil 3.45 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan ve 6 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……53
Şekil 3.46 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan ve 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……53
Şekil 3.47 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan ve 3 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……54
Şekil 3.48 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan ve 6 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……55
Şekil 3.49 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan ve 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi……55

SEMBOL LİSTESİ

A_0 : Ce (IV)' ün, başlangıçtaki absorbansı (λ=320 nm)
A_1 : Ce (IV)' ün, kuşburnu ilave edildikten sonraki absorbansı (λ=320 nm)
As : Okunan Son absorbans
V_E , V_{cup} : Ekstraksiyon hacmi (ml)
ε_{AA} : Askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısı (mol $^{-1}$ cm $^{-1}$ L)
V_S : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)
$V_Ö$: Örnek hacmi (ml)
SF , r : Seyreltme Faktörü

ÖZET

Bütün canlı dokularda bulunan askorbik asit vücutta birçok kimyasal tepkimenin normal olarak yürümesi için gereklidir.Doğada yaygın olarak bulunan bu vitaminin en zengin kaynakları taze meyve ve sebzelerdir.Dış etkenlerin bu vitaminin dokulardaki durumunu etkilememesi bireyin gereksinimini arttırmaktadır.Kullanım sahası oldukça geniş olan bu vitamin oksijen tutma özelliğine sahip olması özelliğinden dolayı yirmi yıldan beri antioksidan olarak kullanılmaktadır.

Antioksidan , yağlarda serbest radikal zincir reaksiyonlarını engellemek ve yağların oksidasyon stabilitelerini artırmak amacıyla özellikle gıda sektöründe geniş uygulama alanı bulmuştur.Ucuzlukları ve yüksek stabiliteleri nedeniyle BHT, BHA, TBHQ gibi sentetik antioksidanlar gıda maddesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.Ancak son yıllarda sentetik katkı maddelerinin zehirli olmaları ve yan etkileri konusunda şüphelerin oluşmasından dolayı doğal kaynaklardan antioksidan eldesi yolları araştırılmaya başlamıştır..Doğal antioksidan kaynakları, baharatlar, şifalı bitkiler, çay, enzim, protein, çeşitli sebze ve meyvelerdir.

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde bitki çayı-ilaç olarak yaygın kullanılan kuşburnu bitkisindeki toplam antioksidan miktarını, aynı laboratuvarda geliştirilen tayin yöntemiyle (CERAC yöntemiyle) belirlemektir.

Bu yöntem reaksiyon basamakları az, ucuz ve spesifik olmayan cihazlarla yapılması ve tekrarlanabilirliği yüksek olması nedeniyle seçilmiştir.

Bu çalışmada kuşburnu bitkisinin analizi yapılırken aynı zamanda geliştirilen yöntemin kullanılabilirliliğinin ve diğer yöntemlerle karşılaştırılması da tekrarlanarak literatürde yer alması sağlanacaktır.

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN ROSEHIP BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

SUMMARY

Ascorbic Acid that is in all living tissues is necessary for many chemical reactions to be carried out as normal. The central source of this vitamin abundantly found in nature is fresh fruits and vegetables. Since external factors do not affect the position of that vitamin, it is vital for human beings to have it. This vitamin's having a wide habitat and it is special characteristics that enables it to keep oxygen, it has been used as and anti-oxidant for twenty years.

Anti-oxidants are widely used in food sector because they can be used to prevent reactions in free radical chains and to increase fats' oxidation stabilities. Their being cheap and having high stability, synthetic anti-oxidants such as BHT, BHA, and TBHQ are frequently used for food. But, in recent years since there have occurred some suspicions about synthetic additives, their side-affects and being poisonous, a new search for natural acquisition of anti-oxidants has started to take place. Some natural antioxidant sources are spices, some plants, teas, enzymes, proteins and certain vegetables and fruits.

This working intends to determine rosehip's total antioxidant's amount by CERAC method new being improved method in the same as laboratory. Rosehip is used as plant's tea and drug.

This method had been chosen because this methos is cheap,have few reaction step, is made device not specific and this method's repeating is high.While doing rosehip's analysis,we want to comprise CERAC method with other methods and see the CERAC method's using,thus our working will take part in literature.

1. GİRİŞ

C vitamini olarak bilinen Askorbik asit (AA) , insan beslenmesinde suda çözünen vitaminlerin en önemlilerindendir. AA, vücudda bağ doku, kemik, diş, kan damarı çeperlerinin şekillenmesinde , aminoasit ve demir'in vücuda özümlenmesine yardımcı olur. C vitamini bakımından eksik bir diyette skorbüt hastalığının gelişmesine neden olabilir. C vitamini yaygın hastalıklardan olan kardiovasküler hastalıklar ve kanserden ölüm oranını ve bunların etkisini azaltır. Bitkiler ve hayvanlar kendi C vitaminlerini yapar ama insanlar yapamaz. Bu nedenle insanlar bunu diğer kaynaklardan almaya ihtiyacı vardır. C vitamini doğada geniş oranda yiyeceklerde özellikle sebze ve meyvelerde bulunmaktadır. Ama AA' in dayanıklılığı sınırlıdır. Depolama esnasında , hazırlama ve pişirme esnasında yiyeceklerden kaybolabilir. Ticari ürünlerin raf ömrünü uzatmak için antioksidant olarak örneğin şaraplara eklenir. Hazır ilaçlar, insan diyetlerinde C vitamini kaynağını sağlıyacak AA sahiptir. AA'in geniş kullanımı ve büyük öneminin yanında , birçok analitik teknik farklı seviyelerde ve farklı matrislerde AA'in belirlenmesini amaçlar. Bunlar titrimetri , voltametri , potensiyometri , florometri , akış injeksiyon analizi (FI) , spektrofotometrik ve kromotografidir. Bu yöntemler, meyve suyu , sebze ve içicekler gibi kompleks materyallerden yapılan AA analizinde çok etkilidir. Spektrofotometrik metodlar hızı ve kolaylığı yüzünden daha caziptir. Çoğu spektrofotometrik metodlar AA 'in azaltıcı etkisine dayanır[1].

2. GENEL BÖLÜM

2.1. OTOOKSİDASYON

Otooksidasyon , kimyasal reaksiyon olarak tanımlanır. Bu reaksiyon, atmosferik oksijen ve organik bileşik arasında uygun sıcaklıkta olur. Gıdalarda ilk oksidasyon ürünlerinin ortaya çıkması için belli bir depolama süresinin geçmesi gerekmektedir. İndüksiyon periyodu olarak adlandırılan bu spesifik sürenin aşılmasından sonra tepkime hızı artar. Prooksidan içeren gıdalarda oksidasyon indüksiyon periyodu gerektirmeksizin gerçekleşir. İndüksiyon periyodunun hızı ve uzunluğu öncelikle yağ asitlerinden etkilenir. Yağ asitlerindeki allil grubunun(-C=C-) artması reaksiyon hızının artması ve periyodun kısalması anlamına gelir. Lipit oksidasyon reaksiyonlarının birinci basamağını aktif radikal oluşumu oluşturur. Isı ışık veya metal iyonlarının varlığında allil grubuna komşu C atomuna bağlı H atomu yapıdan ayrılır. Öylece ayrılan H atomunun bağlı olduğu radikal aktivite kazanır. Bu olay allil grubu yerine ona komşu C atomunda gerçekleşir çünkü allil grubundaki H atomları daha stabildir[2].

2.2. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, moleküler veya atomik yörüngesinde çiftleşmemiş elektron bulunduran bu özelliği ile atomu veya molekülü çok kararsız ,kısa ömürlü, yüksek reaktif yapan ve hücreyi oksidasyonla hasara uğratan reaktif oksijen partikülleridir.Pozitif,negatif,nötr yüklü olabilirler.. Serbest radikallerin çok sayıda çeşidi vardır.Biyolojik olarak önemli olan ROS (Reaktif oksijen türleri), Süper oksit radikal ($O_2^{\cdot -}$), Hidroksi radikali ($OH^{\cdot}$) , Singlet ($^1O_2$), ve Hidrojen peroksittir (H_2O_2). Serbest radikal oluşumuna sigara, UV ışınları, çevre kirliliği, petrokimyasallar, ilaçlar etki eder.Ayrıca, serbest radikaller, bronşit, parkinson, alkolik karaciğer hastalığı, serviks kanseri, akut renal yetmezlik, down sendromu , yaşlanma, aterogenez hastalıklarına yol açarlar.

Serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir :

1. Bir molekülün homolitik yıkımı sonucu

$$X : Y \rightarrow X^{\cdot} + Y^{\cdot}$$

2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı yada bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile

$$X : Y \rightarrow X^{+} + Y^{-}$$

3.Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

$$A + e^{-} \rightarrow A^{\cdot(-,+)}$$

Prooksidan, lipid, protein ve nükleik asitlerde oksidatif hasara yol açan ve çeşitli patolojik hastalıkların oluşmasını sağlayan toksik bir maddedir. Normal aerobik metabolik proseste oluşan reaktif oksijen ve reaktif azot türleri (ROS ve RON) prooksidanlara örnek olarak gösterilebilir[3-5].

2.3. LİPİD OKSİDASYONU MEKANİZMASI

Başlangıç :

$$RH \rightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$$
$$X^{\cdot} + RH \rightarrow R^{\cdot} + XH$$

Gelişme :

$$R^{\cdot} + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot}$$
$$ROO^{\cdot} + R'H \rightarrow R'^{\cdot} + ROOH$$

Sonuç :

$$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \rightarrow ROOR + O_2$$
$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow ROOR$$

İkinci Başlangıç :

$$ROOH \rightarrow RO^{\cdot} + HO^{\cdot}$$
$$2ROOH \rightarrow ROO^{\cdot} + RO^{\cdot} + H_20$$

Metal Katalizli Başlangıç :

$$M^{+n} + ROOH \rightarrow RO^{\cdot} + {}^{-}OH + M^{+(n+1)}$$
$$M^{+(n+1)} + ROOH \rightarrow ROO^{\cdot} + H^{+} + M^{+n}$$ [6-7]

2.4. ANTİOKSİDANLAR

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid,karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan denir[8]. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam sağlarlar. Antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmını bitkilerden alırken, bir kısmını vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretir. Vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar; katalaz, glutatyon peroksidaz, ve SOD (süperoksit dismutaz) gibi enzimlerdir[3].

Antioksidanlar gıdalarda lipit oksidasyonunu önleyen veya geciktiren yapıda bileşiklerdir. Bunlar,serbest–radikal yakalayıcısı, oksijen tutucu ve şelat ajanı olarak görev yaparlar. Gıdalarda lipit oksidasyonunun tümüyle önlenmesi mümkün olmamakla birlikte raf ömrünü uzatırlar ve besin maddelerinden oksidasyona duyarlı olanları da koruduklarından gıda kaliteside bir anlamda yükselmiş olmaktadır. İdeal bir antioksidanın sahip olması gereken özellikler şunlardır:

1.Kullanımda sağlık açısından bir sakınca olmamalıdır.

2.Gıdanın tat,koku veya lezzetini değiştirmemelidir

3.Düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olmalıdır.

4.Gıdaya kolaylıkla karıştırılabilmelidir.

5.Fırınlama veya pişirme işlemleri sonrasında dahi aktivitesini sürdürebilmelidir.

6.Fiyatı ucuz olmalıdır.

Antioksidanların yağlarda lezzet ve kaliteyi geliştirdikleri, ilerlemiş düzeydeki oksidatif acılaşmayı veya herhangi bir nedenle oluşmuş tat bozukluklarını giderebildikleri, mikrobiyal bozulmayı, ketonik ve hidrolitik acılaşmayı önledikleri gibi yanılgılara düşmemek gerekmektedir. Ayrıca antioksidanın etkisini tam olarak gösterebilmesi için mümkün olduğunca acılaşmanın ilk kademesinde hatta acılaşma başlamadan önce ilave edilmeleri gereklidir. Antioksidan, besinlerdeki vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin B2, vitamin B6, folik asit, selenyum, çinko antioksidanların sistemlerinin etkisini artırır. Görüldüğü gibi en çok sebze, meyve, kurubaklagil, soğan, sarımsak ve kuruyemişlerde bulunur.

Doğal kaynaklı veya sentetik olarak üretilmiş antioksidantlar kimyasal yapılarına göre **primer ve sekonder antioksidanlar** olarak 2'ye ayrılır.

Primer antioksidanlar serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif etki sağlarlar. Bunlardan sentetik olanlara BHA, BHT, TBHK, PG örnek verilebilir.Doğal antioksidanlardan ise tokoferoller,baharat ekstraktları (karnosik asit),flavanoidler '*Radikal yakalayıcısı'* olarak primer antioksidatif aktiviteyi sağlarlar.Askorbatlar ise oksijen yakalayıcısıdırlar.

Tek başlarına gıdaya veya ürüne ilave edildiklerinde antioksidatif etki göstermeyen, bununla birlikte gıdada mevcut antioksidanın yanısıra ilave edildiğinde bu antioksidanın tek başına yaptığı etkiyi artıran madelere ise 'Sekuesteran-İz' maddeler (Asit şelatları) denilmektedir. Bunlar **sekonder antioksidanlar** olarak bilinir. Asit şelatları metalleri veya pro-oksidatif etki gösteren metalloproteinleri yakalayarak birincil antioksidanların fonksiyonlarını yerine getirmelerine ve serbest radikalleri yakalamalarına olanak sağlarlar. Bunlardan gıdada kullanımına izin verilen antioksidanlara örnek olarak askorbik, sitrik, tartarik, malik, ve süksinik asitler ve sodyum trifosfat ve pirofosfat verilebilir. Asit şelatı olarak fitik asitin de lipit oksidasyonunu önlediği bilinmektedir. Lesitin ile aminoasitlerin de gıda içerisinde aynı görevi yaptıkları bilinmektedir.

Doğa, yaşayan mekanizmalarda aktif oksijenin neden olduğu bozulma reaksiyonlarını önlemek amacıyla önlem almış olup, pekçok doğal yapı, kendi varlığının mevcudiyeti için gerekli olabilecek antioksidanları bünyesinde bulundurmaktadır. Sebzelerde bulunan en önemli doğal antioksidanlar, C vitamini, E vitamini, karotenoidler, flavanoidlerdir. Doğal antioksidan kaynakları olarak, çeşitli bitkiler, çay yaprakları (flavanoidler ve kateşinler), yağlı tohumlar (susam), tahıllar (pirinç, yulaf), fasülye cinsleri, meyve ve sebzeler, yapraklardaki mumsu maddeler (okaliptüs bitkisinin yaprakları), bitki kökleri, fıstık kabuğu gibi meyve kabukları, baharat çeşitleri, tıbbi bitkiler, deniz yosunları, mikrobiyal ürünler, hayvansal ürünler, fermente ürünler, protein hidrolizatları, maillard reaksiyonu ürünleri, porfirin yapısındaki maddelerin oksidasyonu yavaşlattığı bilinmektedir. Baharatların esansiyel yağlarından ise antioksidatif özelliğinden daha çok antimikrobiyal etkilerinden yararlanılmaktadır.

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1. Başlıca reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,

♦Oksijen uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki

♦Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

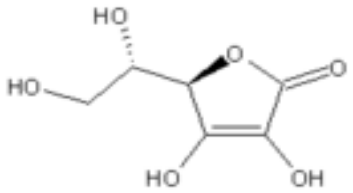
♦Süpürücü (scavening) etki : ROS'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme (Örneğin : Enzimler.)

♦Bastırıcı (quencher) etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma (Flavonoidler, vitaminler.)

♦Onarıcı (repair) etki,

♦Zincir kırıcı (chain breaking) etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki.(Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller) [8-20]

2.5. ASKORBİK ASİT (C Vitamini)



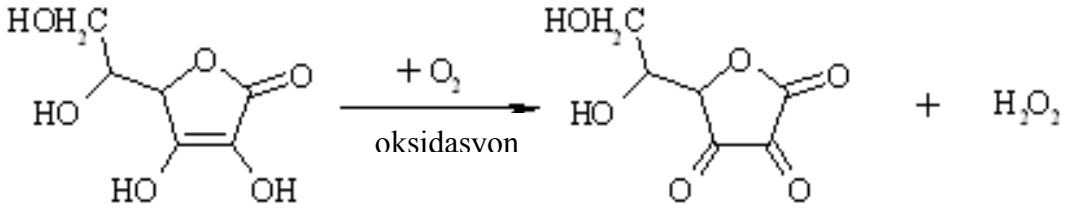
Şekil 2.1 Askorbik asit (C vitamini)

C vitamini, *Askorbik asit* olarak da bilinir, su da eritilebilen ve bir çok görevi olan vitamindir. Çoğu hayvanlar kendi C vitaminlerini glikoz'dan üretebilirler[21]. İnsanlar, bazı meyve yarasaları, hint domuzu ve insan benzeri primatlar C vitamini üretemediklerinden bunu besinlerinden almak zorundadırlar. Bütün taze sebze, meyve ve etler bir miktar C vitamini içerir. Ancak C vitamini ısıya hassas olduğundan pişirme esnasında hızla bozulur.

2.5.1. Askorbik asidin kimyasal özellikleri

C vitamini kimyasal olarak askorbik asidin ışığı sola döndüren enantiyomeridir. Ticari C vitamini genelde askorbik asit kristallerinden veya askorbik asitin kalsiyum veya sodyum tuzlarından oluşmaktadır. Askorbik asit, serbest oksijeni gıdadaki okside olabilen yapılardan daha önce yakalayarak koruma sağlarlar.

Askorbik asidin en önemli kimyasal özelliklerinden birisi de redoks potensiyeli olup, indiren ajan ve serbest radikal yakalıyıcısı olarak davranmasına neden olur ve bir H iyonu vererek serbest radikal zincirini inhibe eder .



Askorbik asit Dehidroaskorbik asit Hidrojen peroksit

Şekil 2.2 Askorbik asidin oksidasyon reaksiyonu

2.5.2. Askorbik asidin sentezi

Piyasada yalnız sentezle elde edilmiş askorbik asit vardır. Bugün geniş ölçekte uygulanmış yöntem Reichstein ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. Bu sentez yönteminde D glikozdan yola çıkılır, bunun katalitik hidrojenlenmesiyle aldehit grubu primer alkol grubuna indirgenerek D sorbid meydana gelir. Bunun Acetobacter xylinum ile biyokimyasal yükseltgenmesiyle L –sorboz oluşur. Bu madde C5 ve C6 atomlarında L-askorbik asit biçimlenmesindedir. Bunun platin katalizörü ile birlikte doğrudan doğruya oksijenle veya diaseton türevinin alkali ortamda potasyum permanganatla yükseltgenmesiyle, diaseton 2 keto-L-gulonik asit meydana gelir. Bunun suda ısıtılmasıyla aseton ayrılır, serbest 2-keto –L-gulonik asit meydana elir. Aynı madde L-gulonik asidin kromik asid veya vanadyum katalizörü ile birlikte kloratlarla seçimli olarak yükseltgenmesiyle de elde edilir. Bunun da seyreltik anorganik asitlerle kaynatılmasıyla laktonlaşma ve enolleşme meydana gelir[22].

2.5.3. Askorbik asidin işlevleri ve alımı

C vitamini vucüdumuzun çoğu dokularına sağlamlığını veren kolajenin üretiminden alyuvarların işlemesine kadar çok sayıda görevi vardır.Ağır C vitamini eksikliğine skorbüt adı verilir. Skorbütün belirtileri : halsizlik, kolayca kanıyan dişetleri, ciltte morluklar, eklemlerde ağrı ve yuvarlanan saçlardır. Ağır skorbüt günde 50-100mg C vitamini ile engellenebilinir (1mg = 1 miligram = 1/1000g = 0,001 gram).

Günde 50-1500 mg alan insanlar klinik belirtisiz skorbüt halindedirler. İnsanlığın büyük coğunluğu, batı toplumları dahil, bu durumdadır. Bunun nedeni ağır skorbütü engelliyen miktarın ötesinde C vitamini alımının tıpta (ortomoleküler tıp dışında) daha kabul edilmemiş olmasındandır. Bu durumun temel belirtileri zayıf bağışıklık sistemi, alerji, kanser, mide ülseri ve kalp ve damar hastalıklarına elverişliliktir.Yapay C vitaminiyle bitkilerden elde edilen C vitamini arasında herhangi bir kimyasal veya etkisel fark yoktur.C vitamini çeşitli şekillerde alınabilir. Ağız yoluyla tablet olarak yutulabilir. Ancak eczanede satılan C vitaminlerinin dozu genelde düşük olmakla beraber, kilo başına fiyatı da yüksek olabilmektedir. En ucuz ve en uygun şekli toz halinde, %99,5 veya daha yüksek saflıkta, tıbbi askorbik asit kristalleridir (Teknik saflık düzeyindeki askorbik asit tüketilmemelidir.)Günlük doz (3-20 gram) küçük dozlara bölünerek büyük bir bardak su veya meyve suyuna karıştırılarak yutulabilir. Asitlikten rahatsız olanlar bir bardak suya askorbik asit koyup yarı miktarda sodyum bikarbonat (kabartma tozu) ekleyerek asitliği yokedebilirler. Bu durumda sodyum askorbat içilmiş olunur.

On yaşından küçük çocuklara yaşları kadar gram askorbik asit verilmesi tavsiye edilir.Ağır hastalıklarda, özellikle viral enfeksiyonlarda ve kanserde hastalara damardan, günde 20 ile 300 gram sodyum askorbat verilmesi her zaman ağrıların, ateşin ve diğer semptomların hızla azalmasına, kanser dışında çoğu zaman hastanın iyileşmesine ve kanser durumda hastanın ömrünün önemli ölçüde uzamasına yol açmaktadır.Yüksek dozlu C vitamini alımını ortomoleküler tıbbın babası, yüzyılın kimyageri, çift paylaşılmamış Nobel ödülü sahibi Linus Carl Pauling yaygınlaştırmıştır[21].

2.5.4. Askorbik asidin kullanımı

Askorbik asit birçok ilaçlarda,besin ve içeceklerin vitamince zenginleştirilmesinde kullanılır.Askorbik asidce zengin besinler , indirgen ortamdan ötürü teneke

kutularda daha iyi saklanabilmektedir.Teneke kutularda saklanan meyve sularının askorbik asidi hiç eksilmezken ,plastik kutularda saklanan meyve sularında fazla miktarda askorbik asid kaybı saptanmıştır.Askorbik asid oksijen tutma özelliğine sahiptir.Onun için renk solması ve doğal kokularını kaybetme gibi özel besinler için önemli bir antioksidanttır.Çabuk soğutularak dondurulmuş meyveler erime sırasında doğal renk ve kokularını yitirirler.Bunları dondurmadan önce saf askorbik asit katılmakla bu sakıncalar önlenebilmektedir.Oksijen hoşa gitmeyen değişiklikleri yapmadan önce askorbik asit tarafından tutulur. Bu şekilde dondurulmuş şeftali, kayısı ,elma, üzüm, muz, armut, ananas gibi meyvelerde 20 yıldan beri askorbik asit antioksidan olarak kullanılmaktadır[22].

2.5.5. Askorbik asidin Ce^{+4} iyonu ile reaksiyonu

$$2\ Ce^{4+} + H_2Asc \rightarrow DAsc + 2\ Ce^{3+} + 2H^{+}$$

$H_2Asc \leftrightarrow HAsc^{-} + H^{+}$ ($pKH_2As = 4.08$)

$HAsc^{-} + Ce^{4+} \rightarrow Hasc^{\cdot} + Ce^{3+} + H^{+}$

$Hasc^{\cdot} + Ce^{4+} \rightarrow Ce^{3+} + DAsc + H^{+}$

2.6. LİTERATÜRDE YER ALAN, TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİNİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

2.6.1. TEAC (Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi

TEAC yöntemi ilk olarak Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş daha sonra Re ve arkadaşları tarafından bu yöntem biraz daha geliştirilmiştir**.** [23-25]

Miller'in geliştirmiş olduğu TEAC yönteminde metilmiyoglobinin H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu oluşan ferrilmiyoglobin radikallerinin ABTS ile etkileşimi sonucu oluşan $ABTS^{\cdot+}$ radikallerinin 660nm, 734nm ve 820nm'deki maksimum absorbans değerleri ölçülür. $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonunun absorbansındaki azalmadan yararlanarak toplam antioksidan kapasitesi trolox cinsinden bulunur. TEAC; 1mM deneysel örneğin derişimine eşdeğer miktardaki mM trolox konsantrasyonuna denir. Bu yöntemin dezavantajı, numuneler içindeki antioksidan maddelerin $ABTS^{\cdot+}$

radikallerini indirgemesi yanında ferrilmiyoglobin radikallerini de indirgeyebilmesidir.

Re ve arkadaşları tarafından geliştirilen TEAC yönteminde ise $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonu, ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu şekilde hazırlanan $ABTS^{\cdot+}$ radikali, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda muhafaza edilerek 2 gün boyunca kullanılabilir.

2.6.2. FRAP (Fe^{+3} indirgeyici antioksidan kapasite) Yöntemi

Benzei ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemde düşük pH ortamında Fe^{+3}-tripridilazin (Fe^{+3}- TPTZ) kompleksi antioksidanların etkisi ile Fe^{+2}- tripridilazin (Fe^{+2}- TPTZ) kompleksine indirgenir. Oluşan bu kompleksin 593 nm deki absorbansı ölçülür ve örnekler içindeki toplam antioksidan kapasitesi direkt olarak bulunur. FRAP yönteminde prooksidan moleküller veya yükseltgenebilir substratlar kullanılmamıştır.

Canlı metabolizmalarındaki antioksidan kapasitelerinin FRAP yöntemi ile ölçülmesi durumunda, Fe^{+2} iyonlarının ortamdaki H_2O_2 iyonları ile etkileşmesi (OH) hidroksi radikallerinin oluşmasına sebep olur. Bu nedenle örnek numuneler içindeki antioksidanların Fe^{+3}- tripridilazin (Fe^{+3}- TPTZ) kompleksini indirgemesi yanında ortamda hidroksi radikalleri ile de etkileşmesinden dolayı antioksidan kapasitesi direkt olarak değil indirek olarak ölçülebilir. FRAP yöntemi, prooksidan içermeyen ortamlarda yapılan toplam antioksidan gücünün tayinin de direkt bir yöntem olmasına karşın genel olarak düşünüldüğünde indirekt bir yöntemdir

2.6.3. CV (Döngülü Voltametrik) Yöntemi

Kohen ve arkadaşları tarafından geliştirilen döngülü voltametrik yönteme düşük molekül ağırlıklı antioksidanların indirgeme gücü tayin edilmiştir [26-27]. Bu yöntemde örnek, üç elektrotlu bir hücre içerisine yerleştirilir. Çalışma elektrodu olarak cam karbon elektrodu, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu ve yardımcı (karşılaştırma elektrodu) elektrot olarak ise platin elektrot kullanılmıştır. Tarama hızı 100 mV/s'dir. Tarama süresince potansiyel-akım eğrilerinden voltamogramlar çizilir. Bir örneğin indirgeme gücü (antioksidan gücü) iki parametreden oluşmaktadır.

- Pik Potansiyeli [$E_{P(a)}$]
- Anodik akım (Anodic current, AC)

$E_{P(a)}$, her bir anodik dalgada (AW)akımın yarısı kadar artması için gerekli potansiyel olarak ölçülür ve $E_{1/2}$ olarak gösterilir. $E_{1/2}$ değeri indirgen maddeler arasındaki korelasyonu göstermektedir. $E_{1/2}$ değerinin düşük olması, test edilen bileşiklerin çalışma elektroduna elektron verme yeteneğinin yüksek olmasını ifade etmektedir. AC ise her bir anodik dalganın y ekseninden ölçülür ve indirgenlerin derişimleri ile ilişkilidir.

2.6.4. CUPRAC (Cu^{+2} indirgeyici antioksidan kapasite) Yöntemi

Cu^{2+} redüksiyon kapasitesine dayalı toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemlerinden biride CUPRAC yöntemidir. Kromojenik bir redoks reaktifi olan bis(neokuproin)-bakır(II) klorürü kullanan CUPRAC yöntemi (CUPRAC: Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite) ile hem hidrofilik hem de lipofilik toplam antioksidan miktarı kolaylıkla tayin edilebilmektedir. Bu yöntemde sırasıyla Cu(II) klorür çözeltisi, %96'lık etil alkolde hazırlanmış neokuproin çözeltisi, amonyum asetat tamponu (pH=7) ve analiz çözeltileri son çözelti hacmi 4,1 mL olacak şekilde ilave edilir. Oda sıcaklığında yarım saat süre sonunda 450 nm'de reaktif körüne karşı absorbans değerleri ölçülür. Tepkime sonunda 2 proton açığa çıkmakta ve $Ar(OH)_n$ grubu antioksidan bileşikler kinon formlarına dönüşmektedir. Cu(II)-Nc ise 450 nm'de maksimum gösteren şiddetli renk oluşumuyla birlikte Cu(I)-Nc kelatına dönüşmektedir. Bu reaksiyonda, n-OH grubu içeren antioksidan karakterli bileşikler, 2n-e donör olarak hareket etmektedir[28].

2.6.5. TOSC (Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi) Yöntemi

Winston ve çalışma arkadaşlarının geliştirmiş olduğu bu yöntemde AAPH bileşiğinden elde edilen α–keto-γ-metilbutirik asit (KMBA) etilene yükseltgenir. Head space cihazında toplanan etilen gazı, gaz kromotografisi ile ölçülür ve numuneler içindeki toplam antioksidan kapasitesi aşağıdaki formülden yararlanarak hesaplanır [29].

$$TOSC = 100 - \left(\int SA / \int CA \times 100 \right)$$

SA; Örnek reaksiyon alanı, CA; kontrol reaksiyon alanı

Alan integralleri açısından açık bir sistemdir. Çünkü KMBA bu yöntemde sınırlayıcı bir reaktif olarak rol oynar ve KMBA'nın aşırısı kullanılmalıdır ki antioksidanlar tüketildikten sonra doğrusal bir artış gözlemlensin.

2.6.6. CERAC (Seryum iyonunu indirgeme antioksidan kapasite) Yöntemi

Cerac Metodu, sülfat asitli ortamda Ce(IV)'ün maksimum dalga boyundaki (320 nm) absorbans değeri, Ce(IV)'ün antioksidanlar ile reaksiyon sonucu azalmaktadır. Ce(IV)'ün maksimum dalga boyundaki bu azalmadan yararlanarak indirekt olarak toplam antioksidan miktarı hesaplanır[8].

2.7. KUŞBURNU VE ÖZELLİKLERİ



TARİHÇESİ : Kuşburnunun tarihinin gülle eşzamanlı olduğu söyleniyor. M.Ö. Akdeniz ülkelerinde saflık ve temizliğin simgesi olarak yetiştirilmiş. Romalılar çiçeğini karın ağrıları için ilaç olarak kullanmışlar, meyvelerinden kek, reçel ve şarap yapmışlar. Hipokrat zamanında iltihaplara karşı, Ortaçağ'da ve daha sonraki dönemlerde kan tükürmelere, dişeti kanamalarına, böbrek ve safra taşlarına, tenyaya, yılancık hastalığına karşı kullanılmış. Şehir yaşamına son yıllarda giren kuşburnu, aslında Anadolu'da çok bilinen ve tüketilen bir bitki. Özellikle Karadeniz'de yetişen kuşburnunun, Gümüşhane'de adına festivaller düzenleniyor. Büyük şehirlerde ise daha çok çay olarak tüketiliyor. Boya sanayiinden gıdaya, peyzajdan erozyona kadar pek çok alanda kullanılan, çok amaçlı bir bitkidir

HABİTÜSÜ : Rosaceac (Gülgiller) familyasının Roba Diease alt familyası kapsamına giren Kuşburnu, çok yıllık bir bitkidir. Kuşburnu genel olarak Fruktus Rosae denilen gül meyvesidir. Halk arasında: Yabangülü, Şillan, Deligül, Gülburnu, Gülelması olarak da bilinir. Çalı formundadır. Peyzaj açıdan hoş görünümlü, gülgillerden,ekonomik ömrü; 30-40 yıldır. Yaşam süresi ise çok uzundur. Doğada 300 yıllık kuşburnu çalısı olduğundan bahsedilmektedir.

KÖK: Kuvvetli bir kök yapısına sahiptir. Hem yüzeyde saçak kökleri, hem derinde 3m'ye kadar inen kazık kökleri vardır. Kökler, hastalık, zararlılar ve zor şartlara karşı

mukavemetlidir. Kırmızı renkte ve yumuşak etli yapıdaki bu kökler boya sanayiinde de kullanılır. Çok bol kök sürgünü verir.

GÖVDE VE DALLAR: Gövdesi dikenli ve sağlam yapıdadır. 3 yaşına kadar ancak 1cm çap oluşturabilir. Bir Kuşburnu gövdesinin bilek kalınlığına ulaşabilmesi için onlarca yıl geçmesi gerekir. Bunun için bitkinin dış görünüşü ağaç tipi değil, ocak şeklindedir. Gövdeyle bütünlük gösteren dalları esnek ve genellikle dikenlidir. Rosa Rugosa türünün dallarındaki dikenler zararsızdır. Bu da hasadı kolaylaştırır. Ocak çapı türlerine göre 1,5m (Rosa Rugosa) ile 3m (Rosa Canina) arasında değişir.

YAPRAKLAR : Yapraklar elips şeklinde, dişli, 3 ve 5 yaprakçıklı yapraklar şeklindedir. Martta açan, kışın dökülen yapraklar sık ve arkaları dikenlidir. Mat-yeşil renklidir. Fazla hassas olmamakla beraber ülkemizde, hastalıklardan; küllenme, zararlılardan ise; kırmızı örümcek kuşburnu yapraklarında görülebilir. Mücadelesi kolaydır.

ÇİÇEKLER : 5 Tac yapraklı çok hoş koku ve görünüme sahiptir. çift evciklidir. 3-4 cm çapında müstakil bulunan çiçekleri beyaz ya da uçuk pembe renktedir. Rosa rugosa türünde ise 6-7cm çapında grup halinde bulunan çiçekler çingene pembesi renktedir. İlki mayıs başında, sonuncusu eylül sonunda olmak üzere 4 periyod açarlar. Kaliks (Çanak Yapraklar) uca doğru sivrilerek çok parçalı durum almıştır. Petaller beyaz yada pembedir. Stomalar çok sayıda (25 kadar) ve tüylüdür. Bol çiçek tozu üretirler. Rosa Canina türünde Haziran ayında açan çiçekler 20 gün sonra meyveye döner. Rosa rugosa da ise mayıs başında açmaya başlayan çiçekler 40 günlük aralarla periyodlar halinde Ekime kadar sürdürürler. Bunun için kuşburnu ocakları yaz boyunca birçok gülden bile güzel görünürler. Bu da peyzaj çalışmalarında Rosa Rugosa türünün kullanılmasını sağlar.

MEYVELER : Kuşburnu meyvesi parlak kırmızı renkte, yumurtamsı veya yuvarlak şekildedir. İçi tüylü kılçıklı, 3-5gr. ağırlığında, 1-2cm uzunluğunda olan Rosa Canina meyvelerinin yanında, Rosa Rugosa meyveleri sadece et ve çekirdekten oluşan tüysüz yapısı, 6-8gr ağırlığı, 3cm'e varan çapıyla farklılık gösterir. Rosa Rugosa türü Kuşburnu meyveleri protein, şeker ve C Vitamini bakımından da üstünlük gösterir.

Rosa Canina'da ocağın her tarafına dağınık vaziyette bulunan meyvelerin hasadı zorken, Rosa Rugosa'da meyveler son yıllık sürgünün uçlarında salkım şeklinde

olduğundan hasadı kolaydır. Etli meyveleri koyu kıvamdadır. Tatlı mayhoş tadı vardır. Meyve içlerinde türlerine göre farklılık gösteren 10-60 adet çekirdek vardır. Rosa Canina'nın meyve oluşumu Eylül ayı iken, Rosa Rugosada; Temmuz başı, Ağustos ortası, Eylül sonu ve Kasım ortası olmak üzere 4 defa meyve hasadı yapılır. Meyveler %11,39 oranında şeker, %9,82 protein , 589 mg/100 gr C Vitamini içerir. Potasyum, Sodyum, Kalsiyum, Magnezyum, Fosfor gibi vücuda gerekli elementler de içerir. Kimyasal bileşimi ise %1,7-3.0 sabit yağ, %11 pektin asidi, %2.0-2.7 taneli maddeler, %2.4-4.0 kül, %10.0-13.7 invent şekeri, %0.6-2.4 sakkaroz, %11.6-15.6 toplam şeker, %3 elma ve limon asidi, %0.038 oranında portakal sarısı renginde uçucu yağ taşır. %22.8-38.0 arasında değişen oranlarda su ihtiva etmektedir. Ayrıca eser miktarda Vanilin bulunur.

Kuşburnu meyvesi vitaminler bakımından da çok zengindir. 100 gr meyvede 2,55-6,18 mg Vitamin A ve 1700 mg Vitamin C; ayrıca, Vitamin B1 ,Vitamin B2 ve flavonitler içerir. C Vitamini kadar önemli olan ancak üzerinde durulmayan P Vitamini özelliği gösteren Plavonitler 1100 mg/100 gr oranında bulunurlar

Kuşburnu en çok C Vitamininin diğer hiçbir meyvede olmadığı kadar yüksek oranda olmasıyla dikkat çekmiştir. Meyvesi lezzetli, tatlı ve mayhoştur. Tatlılığını veren şekerler; bilhassa glikoz, ekşiliğini veren sitrik ve malik asit, kokusunu veren asetik asit, rengini veren karotenlerdir. Ayrıca Provitamin A kaynağı olan Karotenler de renk maddesi olarak 3,8 mg/100 gr gibi fazla oranda bulunur. Bu da gıdaboyar madde olarak gıda endüstrisinde kullanılmasını sağlar[30].

2.7.1. Ülkemizde yetiştirilen kuşburnu türleri

Ülkemizde doğal olarak bulunan Rosa türlerinin sayısının 24 olduğu 5 alt tür 2 varyete ve 15 melezin bulunduğu, bunların yayılış alanları 'Flora Of Turkey' de belirtilmektedir.

Rosa Canina'dır (En yaygını),Rosa Nitida Willdenova, Rosa Xanthina Lindley, Rosa Sempervirens (Her dem yeşil), Rosa Moschata Herrm.(Akdeniz Bölgesinde yaygın), Rosa Spinoissima L. (Yalın kat, beyaz renkli, sahillerde yetişebilir), Rosa Rubrifoliavillars (Sonbaharda kırmızı renkli yapraklı), Rosa Mikrophylla (Anavatanı Çin), Rosa Primulina (Çiçekleri açık sarı), Rosa Helenae (Çiçekleri açık sarı), Rosa Virginianana Miller (Anavatanı Amerika olup 150cm ye kadar kök sürgünü yapmaktadır), Rosa Setigera (Pembe çiçekli), Rosa Rubiginoza (Yaprakları ezilince

koku veren bir gül türüdür.) Rosa Damascena (En iyi yağ çıkarma gülüdür), Rosa Rugosa (Yılda 4 defa kılçıksız meyve verir).

2.7.2. Kullanıldığı yerler

Kuşburnu, enfeksiyonlara ve soğuk algınlığına karşı, bedenin savunma sistemlerini güçlendirir. Genel güçsüzlüklere ve yorgunluklara karşı kullanılabilir. Besleyici ve güçlendirici, hafif müshil, hafif idrar söktürücü özelliği vardır. Kabızlık ve safrakesesi, böbrek ve mesane rahatsızlıklarında rahatlık sağlar. Ayrıca, böbreküstü bezlerini çok olumlu etkileyerek önemli hormonların üretimine destek sağladığı bilimsel olarak kanıtlanmıştır.

Yara iyileştirici ve kanı temizleyici özelliği vardır. Böbrek ve idrar yolu taşları ve kumlarında, kanlı idrarda, gut hastalığında, soğuk algınlığı ve gripte, bitkinlik durumlarında, rahim kanamasında, mide kramplarında, yanıklarda, yaralarda, yağlı yemeklere karşı duyarlılık durumlarında kullanılır. Kan yapıcı, tansiyon düzenleyici, vücudun hastalıklara karşı direncini artırma gibi özelliklerinin yanı sıra kuşburnu; hemaroid ve ülser gibi hastalıklarda da yararlıdır. Şeker hastalarının kullanması önerilir.

Kuşburnu, A vitamini ve karotenoidler içermesi nedeniyle, gece körlüğü ve diğer göz problemlerinin yanı sıra akne gibi bazı cilt bozukluklarını önler, bağışıklığı artırır, kansere karşı koruyucu etki gösterir. İçerdiği B1 Vitamini; Kan oluşumuna yardımcı olur. Kavrama yeteneği ve beyin fonksiyonlarını geliştirir. Enerji, büyüme ve öğrenme kapasitesi üzerinde olumlu etkileri vardır. Vücudu yaşlanmanın, sigara ve alkolün zararlı etkilerine karşı korur. C Vitamini ise, dokuların gelişimi ve tamiri için gereklidir. Bağışıklık sistemini güçlendirir.

Kuşburnu, doğal tüketilmesinin yanı sıra gıda sanayiinde de kullanılır. Gıda sanayisinde marmelat, reçel, şarap, likör, komposto, jöle, salata, nektar, meyve suyu, çay,bebek maması, gıda boyar madde(karoten,betakaroten), biçiminde yer alır. Kozmetik sanayisinde yağ (güneş kremi, şampuan, nemlendirici) olarak kullanılıyor. Ayrıca gülsuyu ve gülyağı yapımında kullanılır. Tıpta C vitamini sandozu ve karaciğer ilacı olarak kullanılır. Yem sanayisinde kuşburnunun çekirdeklerinden balık yemi, kuş yemi ve yüksek besin değerli at yemi yapımında kullanılır. Deri sanayisinde sepi maddesi olarak kullanılır. Ayrıca hurda meyveleri C vitamini bolluğu sebebiyle özellikle arap ülkelerde haralara satılır. Kuvvetli bir kök yapısına

sahip olduğu ve toprağı iyi tuttuğu için erozyonla mücadele için gerekli yerlere özel olarak ekilir. Kırmızı renkli, yumuşak etli kökleri ayrıca boya sanayiinde de kullanılıyor. Beyaz ve uçuk pembe renkli çiçekleri, kırmızı meyveleri nedeniyle de peyzaj çalışmalarında tercih edilir[30].

2.7.3. Kuşburnu ile ilgili yapılan literatür çalışmaları

Xiangqun Gao, Lars Björk'ün yapmış olduğu çalışmada kurutulmuş ve toz haline getirilmiş çeşitli türlerdeki kuşburnu örneklerini etanol çözücüsü ile ekstrakte ederek toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemlerinden olan FRAP ve TEAC'a göre antioksidan miktarları fenolik , lipofilik ve askorbik cinsinden ölçülmüştür.Bu çalışmada ayrıca kuşburnunun içerdiği karotenoid miktarıda saptanmıştır[31].

Fikret Demir ve Musa Özcan'ın yapmış olduğu çalışmada Hadim ve Kastamonu illerinden toplanan kuşburnunun kül, kuru madde, protein, lif, asitlik miktralarına bakılmış, ayrıca sodyum, potasyum, demir, fosfor, çinko, mangan, magnezyum, kalsiyum minarallerinin % olarak ne kadar bulunduğu saptanmıştır[3].

Tevfik User'in yapmış olduğu çalışmada ise Orta ve Kuzey Anadolu'da yetişen kuru ve taze kuşburnundaki C vitamini, glikoz, sakkaroz, yağ, asitler, tanen, A , B vitamini, ribofilavin, niasin miktarları içeriği bulunmuştur .Bu çalışmada , kuşburnunun beklemeden ileri gelen C vitamini kayıpları % 2'lik asetik asit çözeltisinin içinde ve normal şartlarda ölçülmüştür.Çalışmanın sonucunda zaman içerisinde kuşburnunun içerdiği C vitaminin azaldığı saptanmıştır[32].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Absorpsiyon ölçümleri için UV-VIS 1601 Shimadzu spektrofotometre, ışık yolu 1 cm olan kuvars küvet kullanıldı. Çalkalayıcı, magnetik karıştırıcılı ısıtıcı kullanıldı.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Askorbik asit, Seryum (IV) sülfat tetra hidrat ($Ce(SO_4)_2.4H_2O$), Sülfirik asit (H_2SO_4), Etil alkol (C_2H_5OH), Potasyum iyodür (KI), Potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$), Neocuprain, Amonyum asetat (NH_4CH_3COO), Bakır(II) klorür($CuCl_2x2H_2O$) kullanıldı.

3.3. KULLANILAN ANA ÇÖZELTİNİN HAZIRLANMASI

3.3.1. $2x10^{-3}$ M Seryum(4) sülfat çözeltisinin hazırlanması

Yaklaşık 0,2 gr $Ce(SO_4)_2.4H_2O$ tartılıp, önce az miktarda su ile çözdükten sonra üzerine 42,5 ml derişik H_2SO_4 ilave edip tamamen çözününceye kadar mağnetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Tamamen çözündükten sonra 250 ml lik balon jojede saf su ile 250 ml'ye tamamlandı, asit konsantrasyonu 3 M H_2SO_4'dir. Deneysel ölçümlerdeki çözeltilerdeki yaklaşık asit konsantrasyonu 0,3 M H_2SO_4 çözeltisi içermektedir.

3.3.2. 1 M Amonyum asetat tamponunun (pH=7) hazırlanması

3,854 g amonyum asetat alınıp,su ile biraz çözdükten sonra balon jojede 50 ml'ye saf su ile tamamlanır.

3.3.3. 0,003 M Neocuprain çözeltisinin hazırlanması

0,03 g neocuprain alınıp,alkol ile biraz çözdükten sonra balon jojede 50 ml'ye alkol ile tamamlanır.

3.3.4. 0,01 M $CuCl_2x2H_2O$ çözeltisinin hazırlanması

0,08 g bakır klorür çözeltisi alınıp,su ile biraz çözdükten sonra balon jojede 50 ml'ye su ile tamamlanır.

3.3.5. 0,001 M Askorbik asit çözeltisinin hazırlanması

0,0088 g askorbik asit alınıp su ile biraz çözdükten sonra balon jojede 50 ml'ye su ile tamamlanır

3.4. KUŞBURNU EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI

Yapılan deneylerde, Doğadan ve Ofçay marka kuşburnu çayı, Atatürk Orman Çiftliği marka kuşburnu nektarı, 2005 yılı Aralık ayında Bulgaristan'dan getirilen kuru kuşburnu meyvesi ve çekirdeği, Alanya ili yaylasından, Edirne ilinden ve İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanmış taze kuşburnu meyvesi ve çekirdeği, Sultan Bacı marka kuşburnu marmelatı kullanıldı.

3.4.1. Kuşburnu çayı

Doğadan ve Ofçay marka kuşburnu çayı 3 adet erlene eşit ölçüde 1 gram alındı. 1.erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 Etanol ile 50ml'ye tamamlandı.30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.2. Kuşburnu nektarı

Atatürk Orman Çiftliği marka kuşburnu nektarı 3 adet erlene eşit ölçüde 1 gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol-su karışımı ile toplam 50 ml' ye tamamlandı.30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.3. Kuru kuşburnu meyvesi

Bulgaristandan getirilen 2005 yılı Aralık ayında toplanmış kuşburnunun, çekirdekleri çıkarıldı ve meyvesi robot yardımıyla öğütüldü ve elekten geçirildi.Öğütülen kuru kuşburnu meyvesi 3 erlene eşit ölçüde 1'er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su , 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50

ml’ ye tamamlandı. 30 dakika çalkalayıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.4. Kuru kuşburnu çekirdeği

Bulgaristandan getirilen 2005 yılı Aralık ayında toplanmış kuşburnunun ayrılan çekirdekleri robot yardımıyla öğütüldü ve elekten geçirildi.Öğütülen kuru kuşburnu çekirdekleri 3 erlene eşit ölçüde 1’er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50 ml’ ye tamamlandı. 30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.5. Taze kuşburnu meyvesi

Alanya ili yaylasından toplanmış kuşburnunun, çekirdekleri çıkarıldı ve meyvesi robot yardımıyla öğütüldü ve elekten geçirildi.Öğütülen taze kuşburnu meyvesi 3 erlene eşit ölçüde 1’er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su , 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50 ml’ ye tamamlandı. 30 dakika çalkalayıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.6. Taze kuşburnu çekirdeği

Alanya ili yaylasından toplanmış kuşburnunun ayrılan çekirdekleri, robot yardımıyla öğütüldü ve elekten geçirildi.Öğütülen taze kuşburnu çekirdekleri 3 erlene eşit ölçüde 1’er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50 ml’ ye tamamlandı. 30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.7. Kuşburnu marmelatı

Sultan Bacı marka kuşburnu marmelatından 3 erlene eşit ölçüde 1’er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50 ml’ ye tamamlandı. 30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.8. İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesi

İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze **turuncu,kırmızı ve koyu kırmızı** kuşburnu meyvesi 3 erlene eşit ölçüde 1’er gram alındı. Üzerlerine 1. erlene kaynayan saf su, 2. erlene etanol ve 3. erlene %50 etanol- su karışımı ile toplam 50

ml' ye tamamlandı. 30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.4.9. İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin oda sıcaklığında, 50°C'de ve 85°C 'de bekletilmesiyle hazırlanan ekstraktlar

1 gr tartılan taze kuşburnu meyvesi 5 saat, 24 saat ve 48 saatlik aralıklarla oda sıcaklığında, 50°C' de ve 85°C'de bekletildikten sonra erlene alıp üzerlerine 50 ml kaynayan saf su eklendi. 30 dakika çalkalıyıcıda karıştırıldı. Çözelti Whatman tipi süzgeç kağıdından süzüldü.

3.5. UYGULANAN YÖNTEM

3.5.1. Spektrofotometrik Yöntem

Kuşburnu ekstraktlarının uygun seyreltmelerden sonra hazırlanan çözeltilerinden değişen miktarlarda alınarak $2x10^{-3}$ M Ce(IV) çözeltisinin sabit miktarları ile reaksiyona sokuldu Artan Ce(IV)'ün maksimum absorpsiyon yaptığı 320 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Ce(IV)'ün başlangıç ve reaksiyon sonrası ölçülen absorbansları arasındaki fark kuşburnunda bulunan toplam antioksidan miktarının ölçüsüdür. Antioksidan sonuçlarını askorbik asit cinsinden vermek üzere askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısı kullanıldı. Toplam Antioksidant Miktarı **(TAM)** aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplandı:

$$\textbf{TAM (mmol AA/ g)} = [(A_0 - A_1)/ \epsilon_{AA}]x\ V_S / V_{Ö} \text{ x SF x } V_E /m$$

A_0 = Ce (IV)' ün, başlangıçtaki absorbansı (λ=320 nm)

A_1 = Ce (IV)' ün, kuşburnu ilave edildikten sonraki absorbansı (λ=320 nm)

ϵ_{AA} = Askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısı ($mol^{-1}\ cm^{-1}\ L$)

V_S = Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)

$V_{Ö}$ = Örnek hacmi (ml)

SF = Seyreltme faktörü

V_E = Ekstraksiyon hacmi (ml)

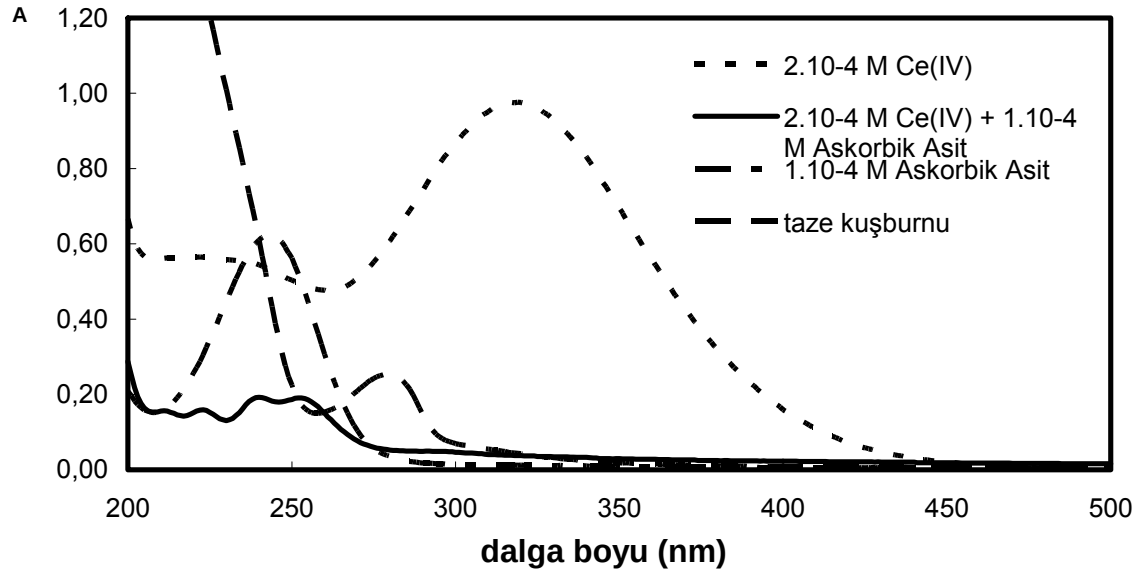
m = Örnek ağırlık (g)

3.6. ABSORPSİYON SPEKTRUMLARININ ÇİZİMİ VE DALGA BOYUNUN SEÇİMİ

3.6.1. Absorpsiyon spektrumları

Şekil 3.1'de 200-400 nm arasında 1.10^{-4} M askorbik asit ve 2.10^{-4} M Ce(IV)'ün absorpsiyon spektrumları alındı. Bu spektrumda askorbik asidin 320 nm'de absorpsiyon yapmadığı görülmektedir.

Sülfirik asit konsantrasyonu 0,3 M olan 2.10^{-4} M Ce(IV) sülfat çözeltisinin 200-500 nm arasında absorpsiyon spektrumu çizildi.Şekil 3.1'de görüldüğü gibi max.absorpsiyon dalga boyu 320 nm saptandı.2.10^{-4} M Ce(IV) çözeltisi üzerine 1.10^{-4} M olucak şekilde askorbik asit çözeltisi ilave edildi ve çözelti 10 ml'ye saf su ile tamamlandı, Çözelti, 30 dakika boyunca bekletildi.200-500 nm arasında referans saf suya karşı absorpsiyon spektrumu alındı.Şekil 3.1'de görüldüğü gibi askorbik asit ilave edildiğinde, Ce(IV)'ün 320 nm'deki absorbans değeri düşerken ,230-260 nm dalga boyları arasında Ce(III) 'e ait pikler oluşup , 320 nm'de Ce(IV)'e ait pikler kaybolmaktadır.



Şekil 3.1 Ce(IV), Askorbik asit, Ce(IV) + Askorbik asit ve taze kuşburnu çözeltilerinin referans saf suya karşı absorpsiyon spektrumları

3.6.2. Askorbik asidin kalibrasyon grafikleri

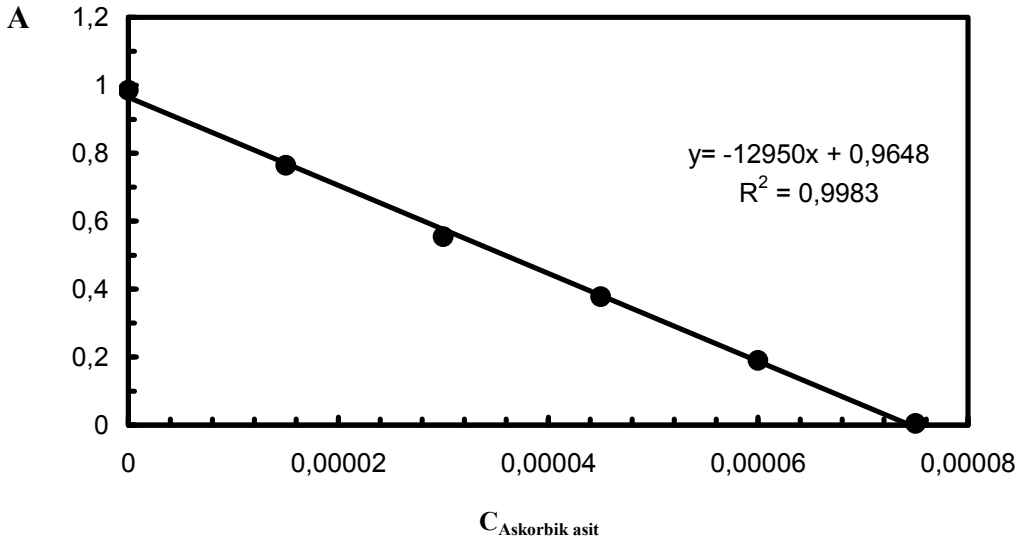
Sekiz adet tüpe, Ce(IV) çözeltisinden 1'er ml konduktan sonra üzerlerine $1,5x10^{-5}$ M – $7,5x10^{-5}$ M derişimleri olacak şekilde alınan askorbik asit çözeltileri ilave edildi. Çözelti karışımı saf su ile 10 ml ye tamamlandı. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra absorbans değerleri 320 nm'de referans suya karşı ölçüldü. Sonuçlar Tablo 3.1'de verilmiştir. Ölçülen absorbans değerleri ve askorbik asit konsantrasyonları arasında kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 3.2). Şekilde görüldüğü gibi elde edilen eğri; $1,5x10^{-5}$ M – $7,5x10^{-5}$ M askorbik asit derişimleri arasında lineer olup, denklemi aşağıda verilmiştir:

$A_{320} = 0,9592\text{-}12950\ C_{\text{askorbik asit}}$ $\qquad R^2 = 0,9845$

Bu doğrunun eğiminden molar absorpsiyon katsayısı 12950 L. mol^{-1} cm^{-1} bulunmuştur.

Tablo 3.1 2.10^{-4} M Ce(IV) ile Askorbik asidin kalibrasyon grafiği değerleri (kör çözelti: su , λ_{max}=320 nm)

[Askorbik Asit] $x10^{-5}$	A ($_{su'lu\ ortam}$)	A ($_{su'lu\ ortam}$)	A ($_{su'lu\ ortam}$)
0,0	0,985	0,983	0,987
1,5	0,764	0,768	0,760
3,0	0,554	0,556	0,552
4,5	0,377	0,370	0,384
6,0	0,190	0,192	0,188
7,5	0,005	0,007	0,003



Şekil 3.2 Ce(IV) –Askorbik asit reaksiyonu için kalibrasyon grafiği (kör :saf su)

Askorbik Asit ve Ce(IV) arasındaki reaksiyonun incelemek amacıyla kalibrasyon denemeleri 3 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen değerler Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

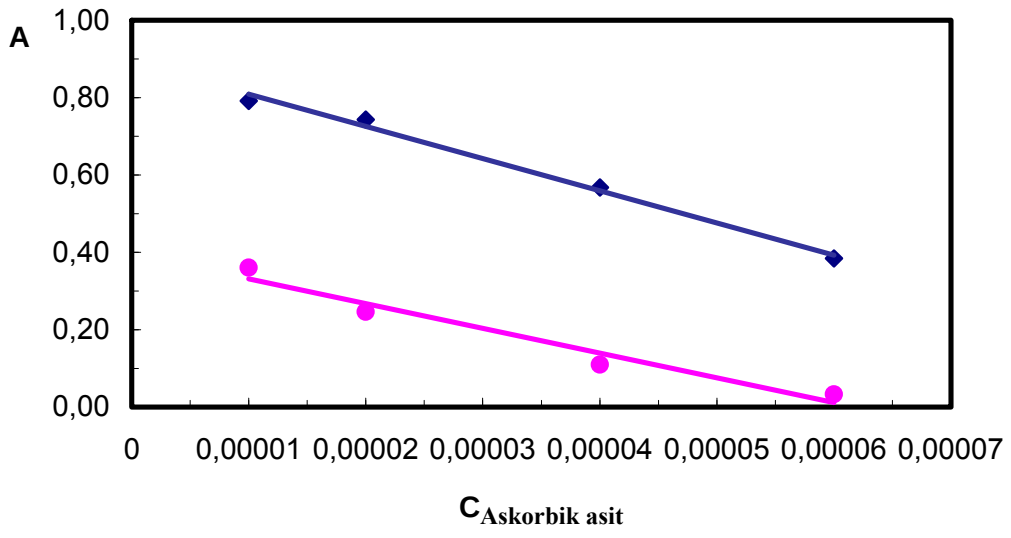
Tablo 3.2 Ce(IV)- Askorbik asit reaksiyonu için çizilen kalibrasyon grafiklerinin eğimleri ve mol oranları

Deney No	ε_{AA} (l mol^{-1}cm^{-1})	[Askorbik asit]	[Başlangıç Ce]	[Ce] / [Askorbik asit]
1	12950	$7{,}45\text{x}10^{-5}$	2.10^{-4} M	2,684
2	12941	$7{,}45\text{x}10^{-5}$	2.10^{-4} M	2,684
3	12960	$7{,}44\text{x}10^{-5}$	2.10^{-4} M	2,688
Ortalama	12950			2,688

3.7. LİNEERLİK TESTİ

3.7.1. Saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi

Hazırlanan ekstraklardan 5 ml Ofçay marka kuşburnu çayı alınıp 50 ml'lik balon jojeye konuldu, üzeri su ile tamamlandı. Birinci serideki 4 tüpe son konsantrasyonları 1.10^{-5} M – 6.10^{-5} M arasında değişen askorbik asit + $2x10^{-4}$ M Ce(IV) çözeltileri ilave edildi. Çözelti karışımı oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra çözelti karışımlarının absorbans değerleri 320 nmde referans saf suya karşı ölçüldü, askorbik asit konsantrasyonları ile absorbanslar arasında grafik çizildi.(◆)Aynı şekilde hazırlanan ikinci serideki çözeltilere hazırlanan kuşburnu ekstraklarından 0,5 ml kuşburnu eklendikten sonra aynı işlemler yapıldı. Çözeltiler 30 dakika ağzı kapalı bekletildikten sonra 320nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Askorbik asit konsantrasyonları ile absorbanslar arasında grafik çizildi.(●). Bu doğruların birbirine paralel olması kuşburnu çayı içindeki antioksidan bileşiklerin reaksiyon mekanizmasını bozucu bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.3 Kuşburnu çayı ile Askorbik asit çözeltisinin etkileşimi

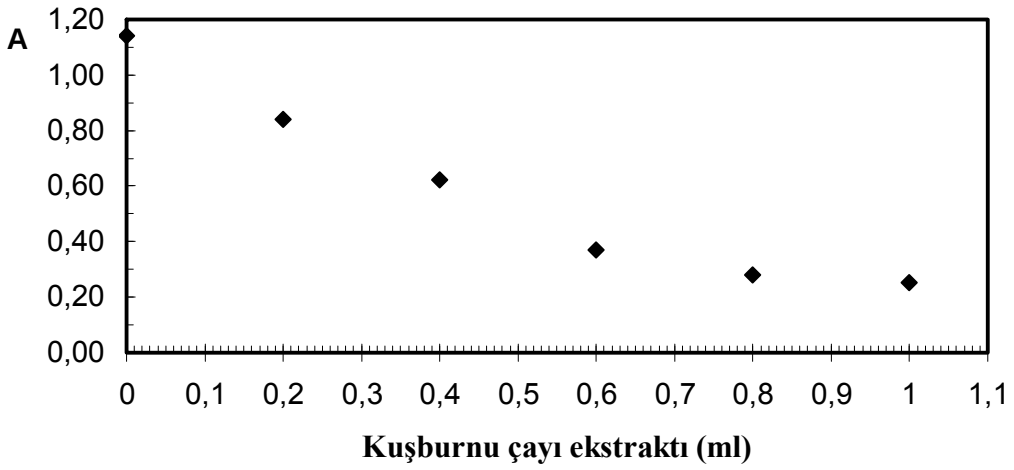
◆; Başlangıç çözeltisi: 2.10^{-4} M Ce (IV) + Askorbik asit çözeltileri (1.10^{-5} M-6.10^{-5} M)

● ; Başlangıç çözeltisi: 2.10^{-4} M Ce (IV) + Askorbik asit çözeltileri (1.10^{-5} M-6.10^{-5} M) + 0,5 ml örnek

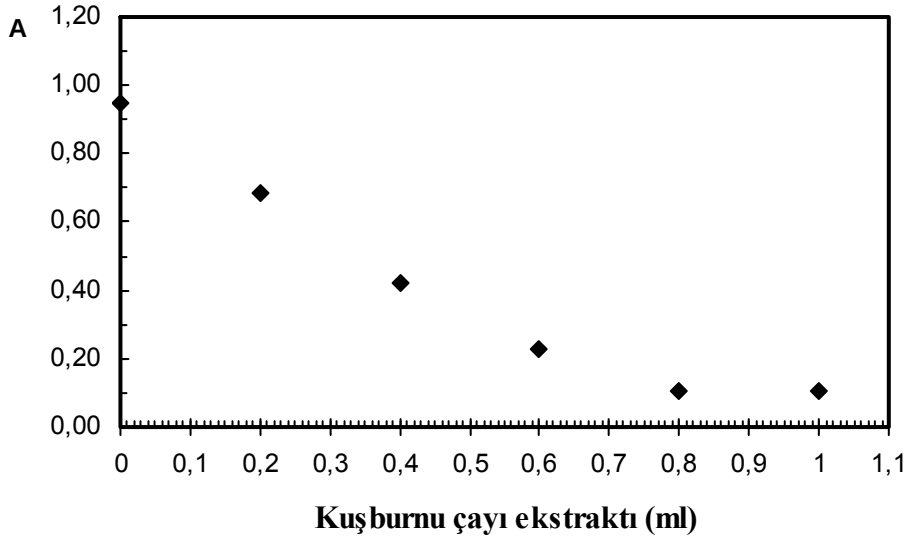
3.8. KUŞBURNU EKSTRAKTLARININ SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZİ

3.8.1. Kuşburnu çayının sıcak-soğuk saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

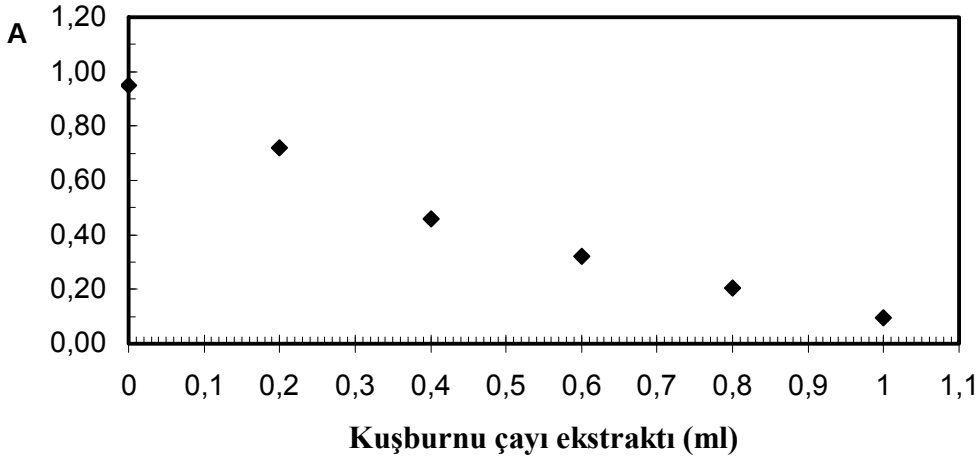
Hazırlanan ekstraklardan 5 ml kuşburnu çayı alınıp 50 ml'lik balon jojeye konuldu, üzeri su ile tamamlandı. 6 tüpe değişik oranlarda kuşburnu çayı (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320 nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



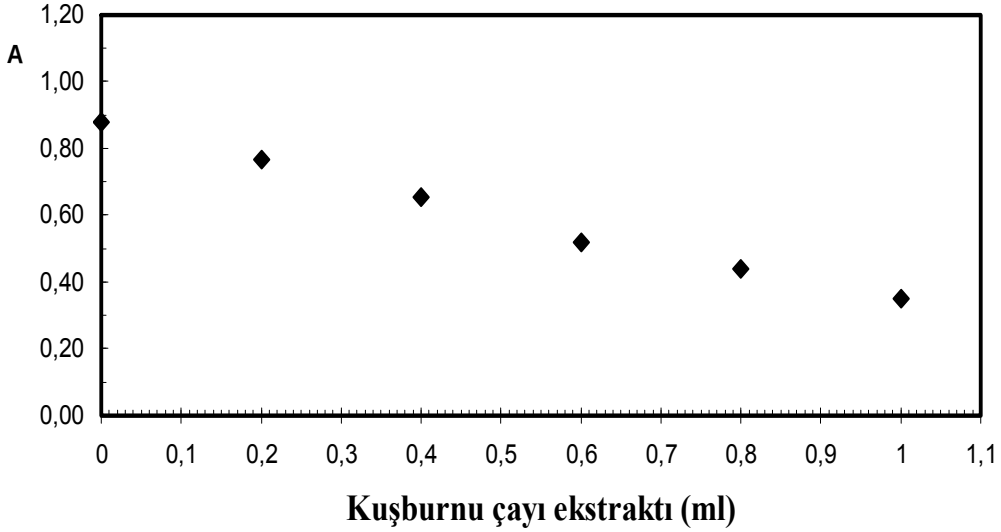
Şekil 3.4 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.5 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.6 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu



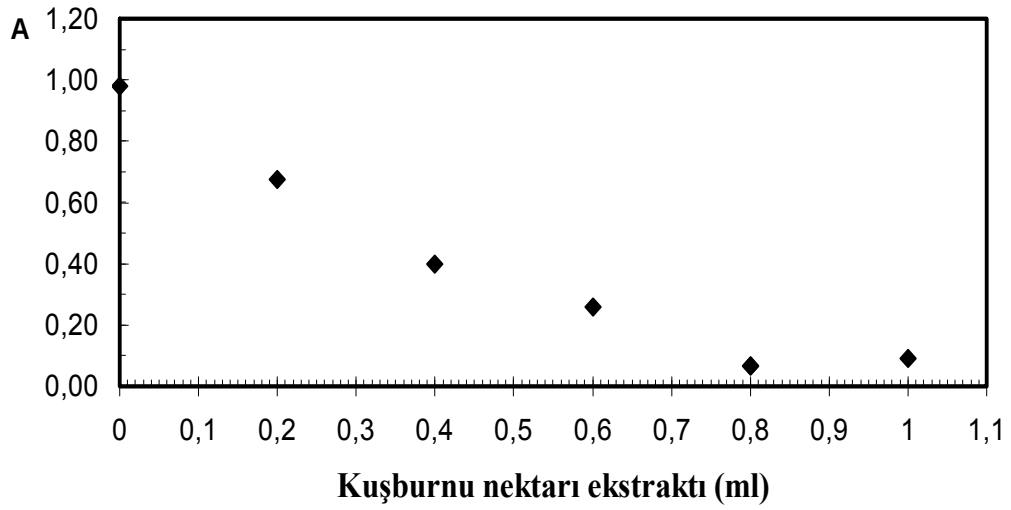
Şekil 3.7 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.3 Kuşburnu çayı ekstraktlarının analizi

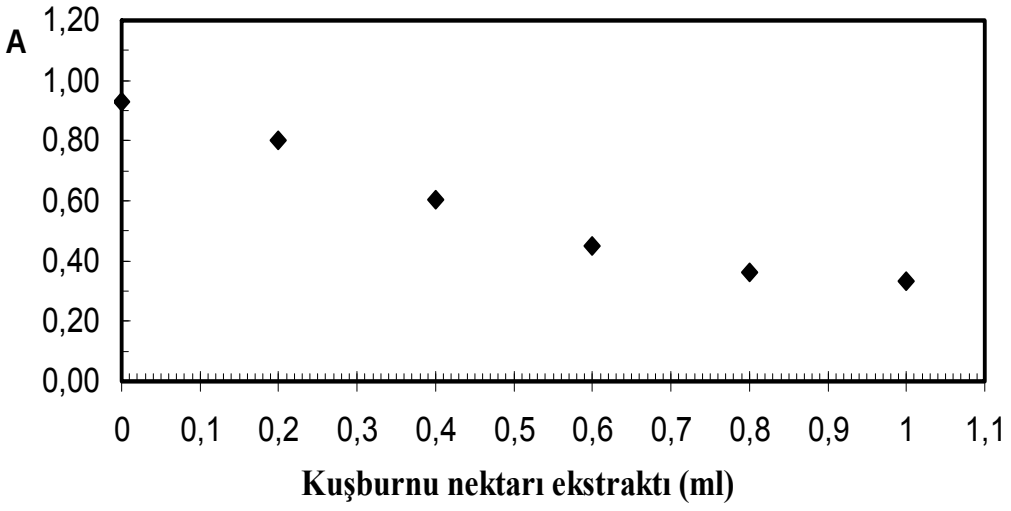
Ekstraksiyon	**Grafikten bulunan örnek hacim(ml)**	**A_{ilk}**	**A_{son}**	**mmol askorbik asit/g**
Sıcak Saf su	0,65	1,142	0,300	0,500
Soğuk Saf su	0,70	0,950	0,100	0,468
% 50 Etanol-su	0,42	0,950	0,420	0,487
Etanol	0,40	0,878	0,655	0,215

3.8.2. Kuşburnu nektarının sıcak-soğuk saf su, %50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

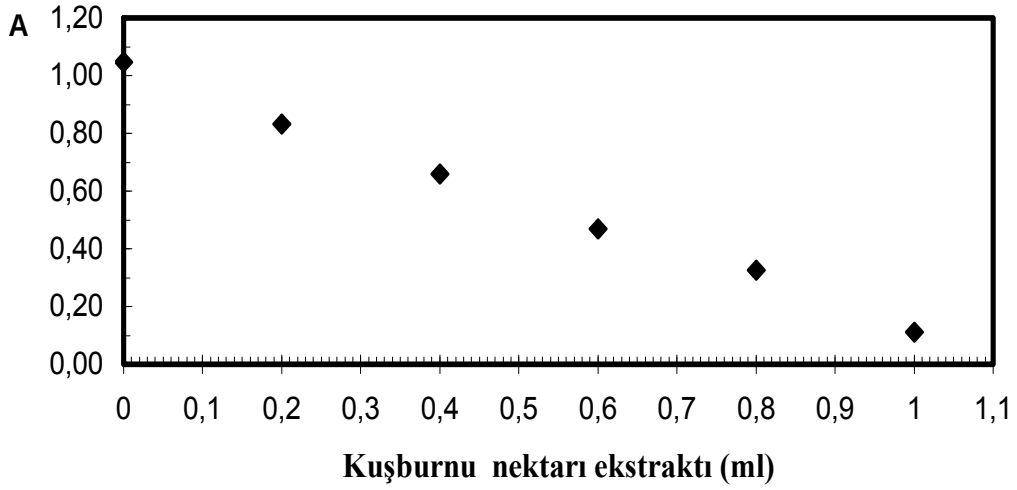
Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda kuşburnu nektarı (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320 nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



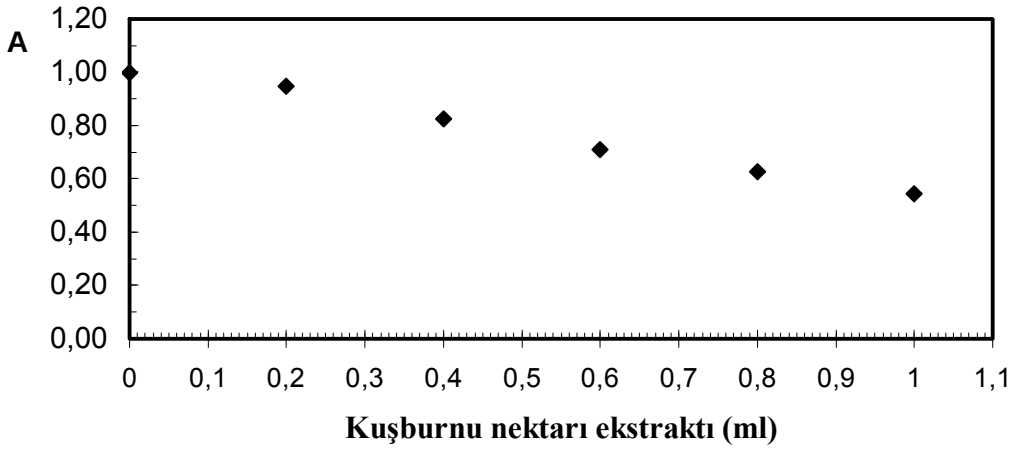
Şekil 3.8 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.9 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.10 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu



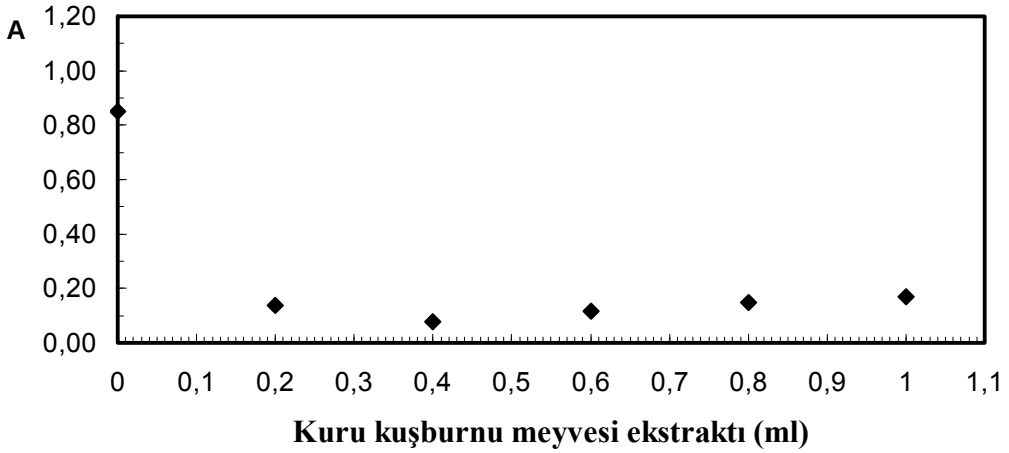
Şekil 3.11 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuşburnu nektarı ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.4 Kuşburnu nektarı ekstraktlarının analizi

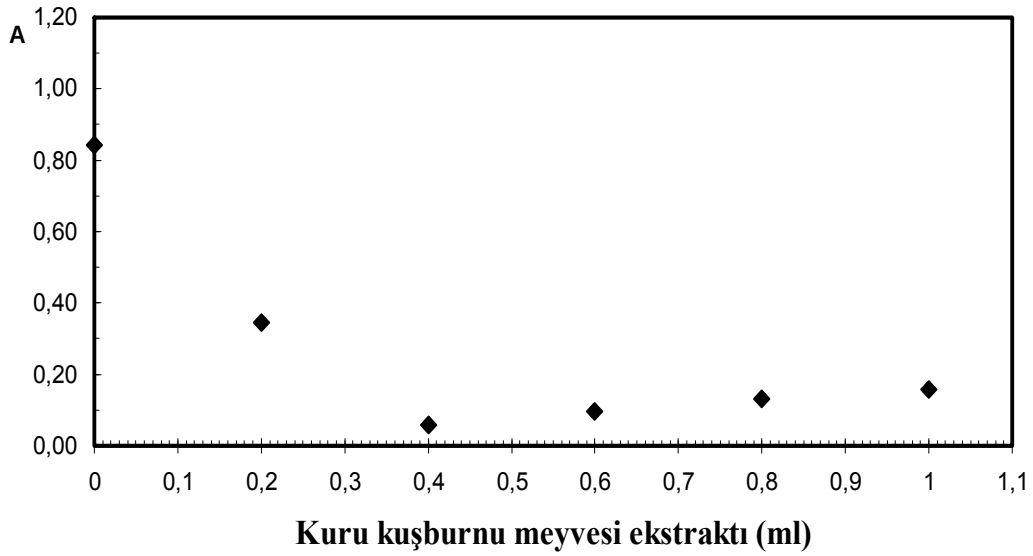
Ekstraksiyon	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
Sıcak saf su	0,77	0,978	0,060	0,046
Soğuk Saf su	0,71	0,928	0,360	0,031
% 50 Etanol-su	0,60	1,048	0,469	0,037
Etanol	0,60	0,999	0,709	0,015

3.8.3. Kuru kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

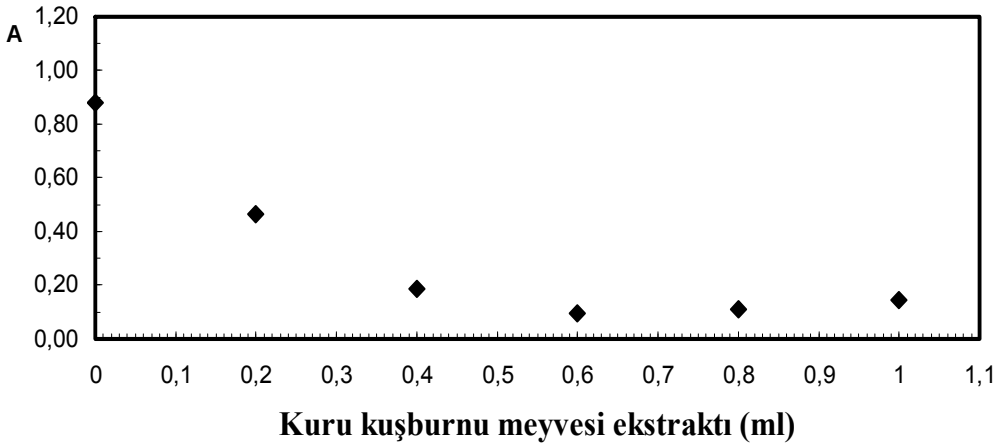
Sıcak saf su ve % 50 etanol-su ile hazırlanan ekstraktlardan 5 ml alınıp 25 ml su ile seyreltildi. Etanol ile hazırlanan ekstrakt seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi çözeltisinden (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.12 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.13 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



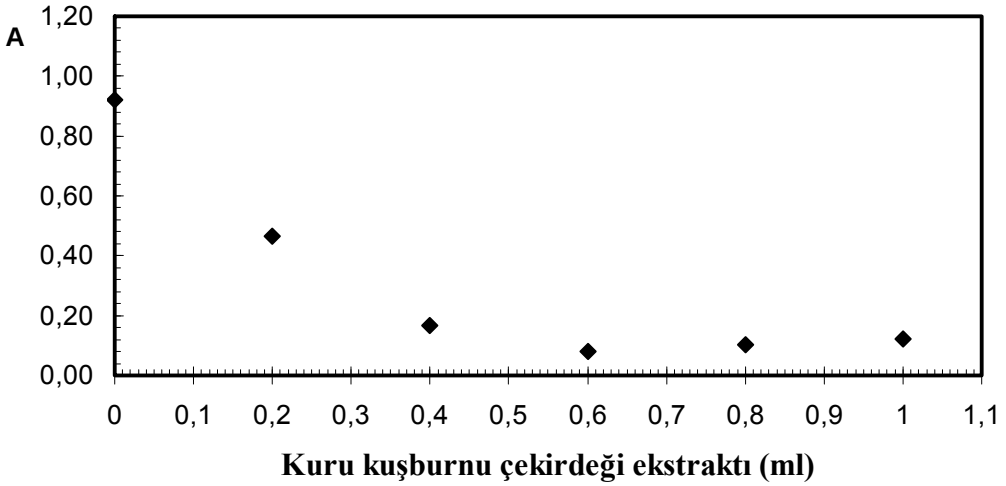
Şekil 3.14 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuru kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.5 Kuru kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

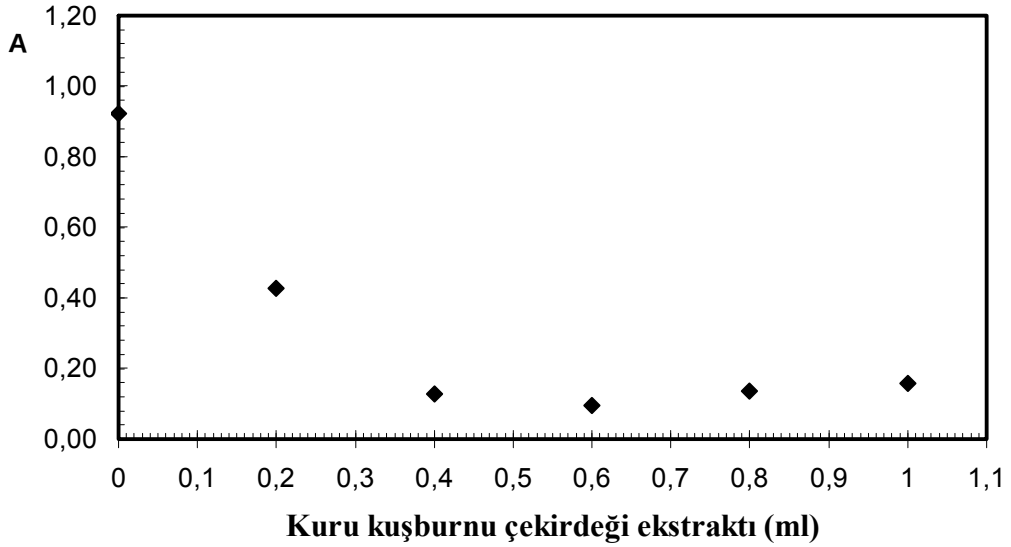
Ekstraksiyon	**Grafikten bulunan örnek hacim(ml)**	**A_{ilk}**	**A_{son}**	**mmol askorbik asit/g**
Sıcak Saf su	0,22	0,849	0,060	0,692
% 50 Etanol-su	0,32	0,843	0,040	0,484
Etanol	0,45	0,880	0,080	0,069

3.8.4. Kuru kuşburnu çekirdeğinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

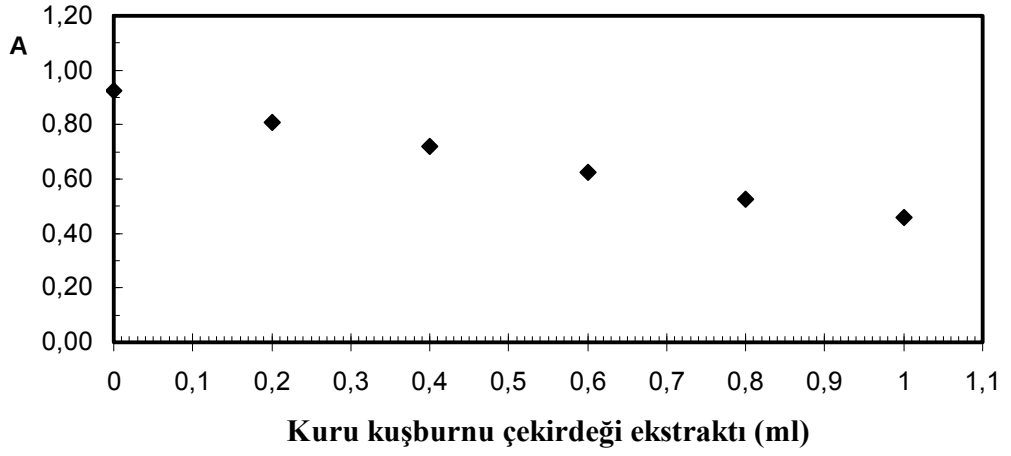
Hazırlanan ekstraklardan 5 ml alıp 25 ml su ile seyreltildi. 6 tüpe değişik oranlarda hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği çözeltisinden (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı. .



Şekil 3.15 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.16 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu



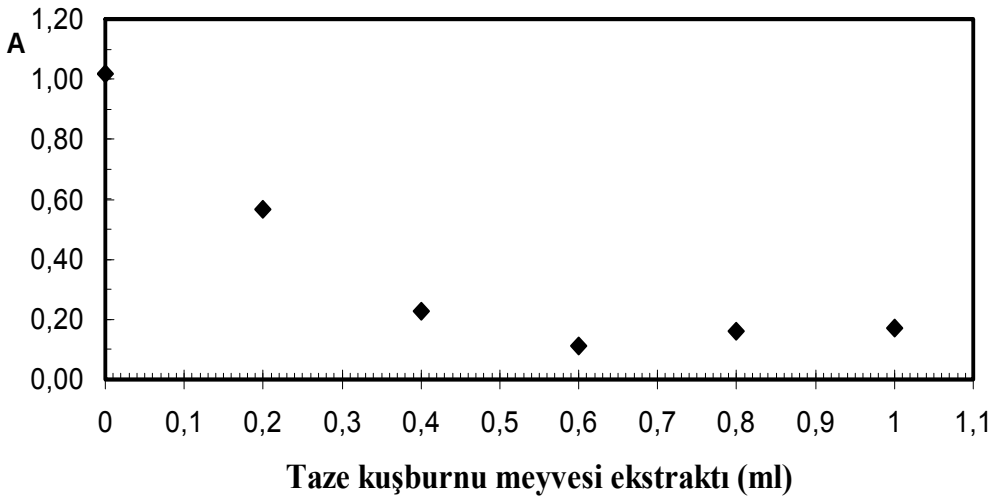
Şekil 3.17 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.6 Kuru kuşburnu çekirdeği ekstraktlarının analizi

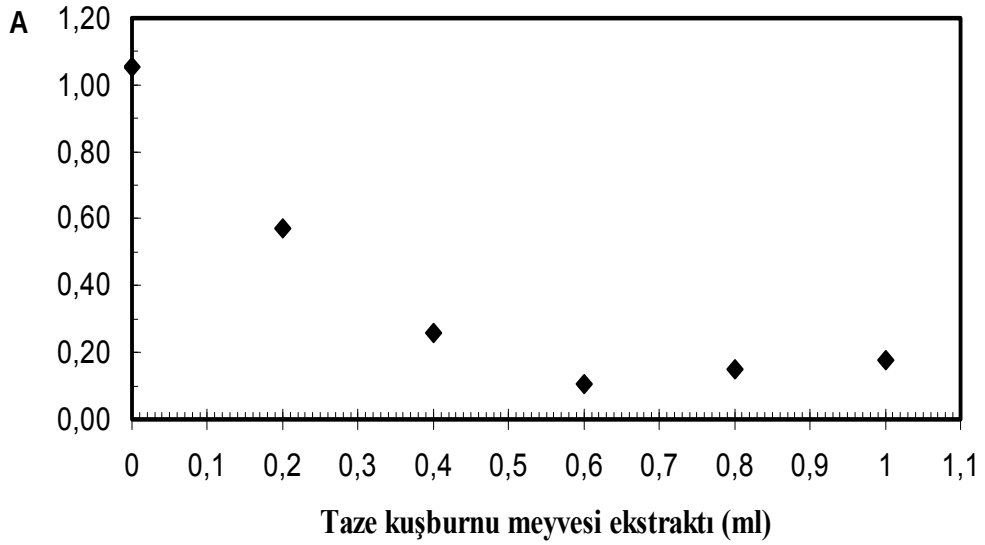
Ekstraksiyon	**Grafikten bulunan örnek hacim(ml)**	**A_{ilk}**	**A_{son}**	**mmol askorbik asit/g**
Sıcak Saf su	0,44	0,920	0,060	0,378
% 50 Etanol-su	0,41	0,922	0,080	0,396
Etanol	0,40	0,926	0,720	0,099

3.8.5. Taze kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

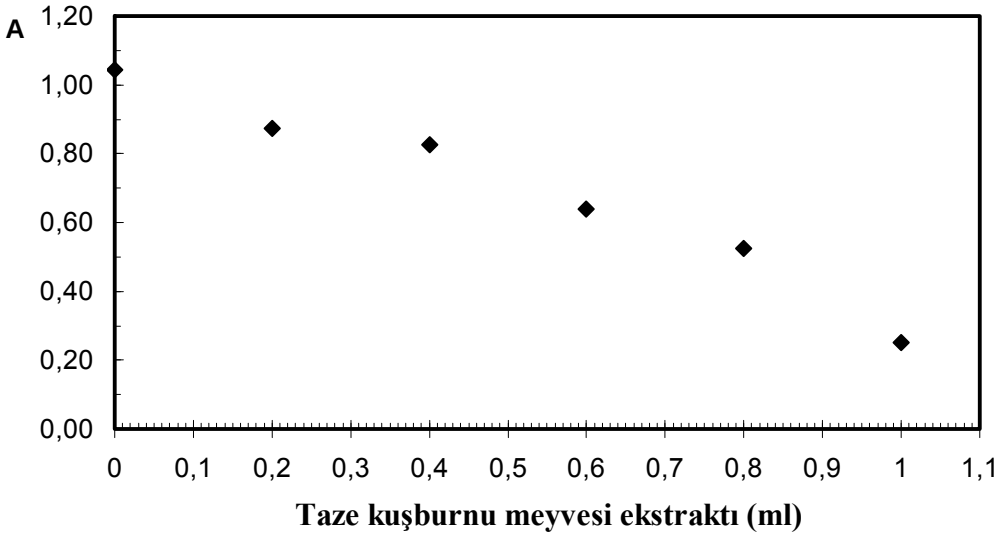
Sıcak saf su , % 50 etanol- su ile hazırlanan ekstraktlardan 5 ml alınıp 50 ml'ye seyreltildi.Etanol ile hazırlanan ekstrakt seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı



Şekil 3.18 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.19 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



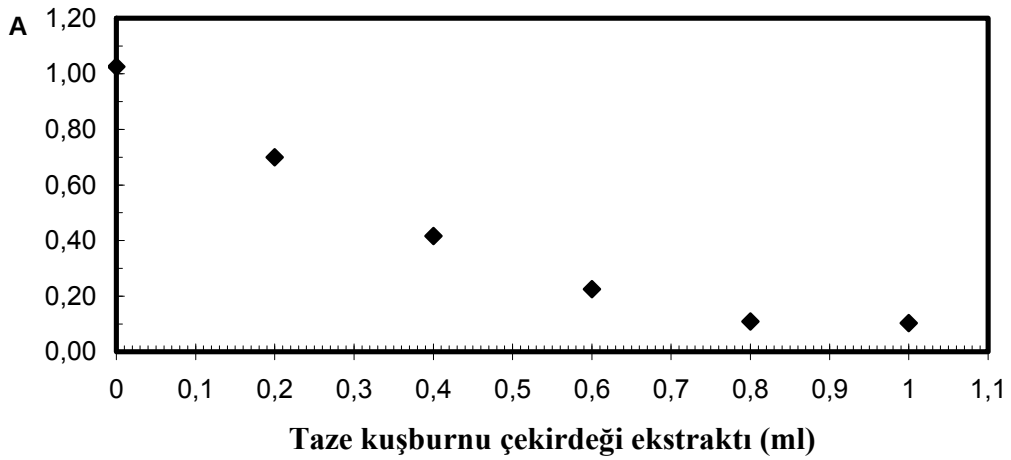
Şekil 3.20 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.7 Taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

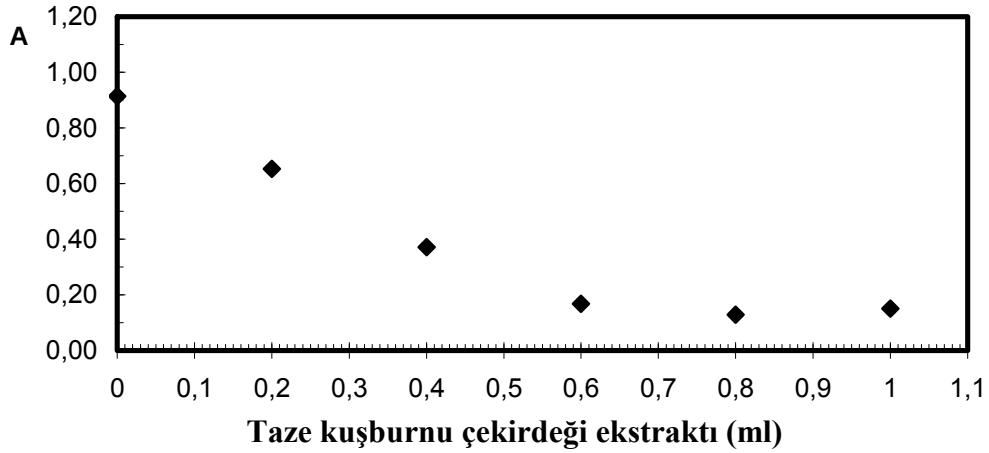
Ekstraksiyon	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
Sıcak Saf su	0,46	1,018	0,090	0,779
% 50 Etanol-su	0,47	1,055	0,080	0,800
Etanol	0,60	1,043	0,638	0,026

3.8.6. Taze kuşburnu çekirdeğinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

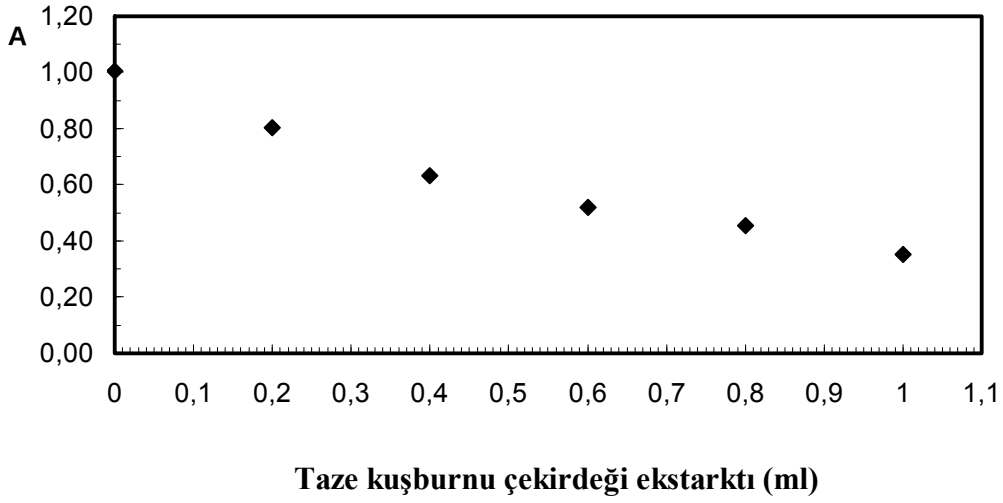
Sıcak saf su , % 50 etanol- su ile hazırlanan ekstraktlardan 5 ml alınıp 50 ml'ye seyreltildi.Etanol ile hazırlanan ekstrakt seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu çekirdeği (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı



Şekil 3.21 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.22 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu



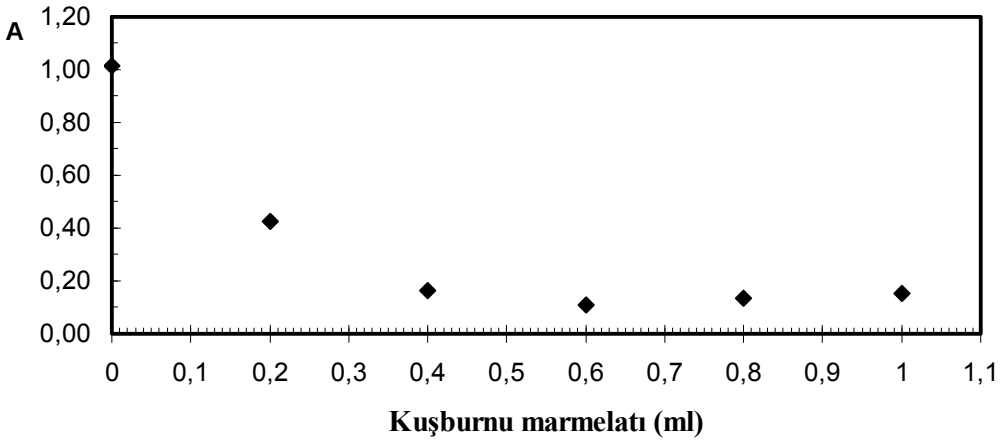
Şekil 3.23 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan taze kuşburnu çekirdeği ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.8 Taze kuşburnu çekirdeği ekstraktlarının analizi

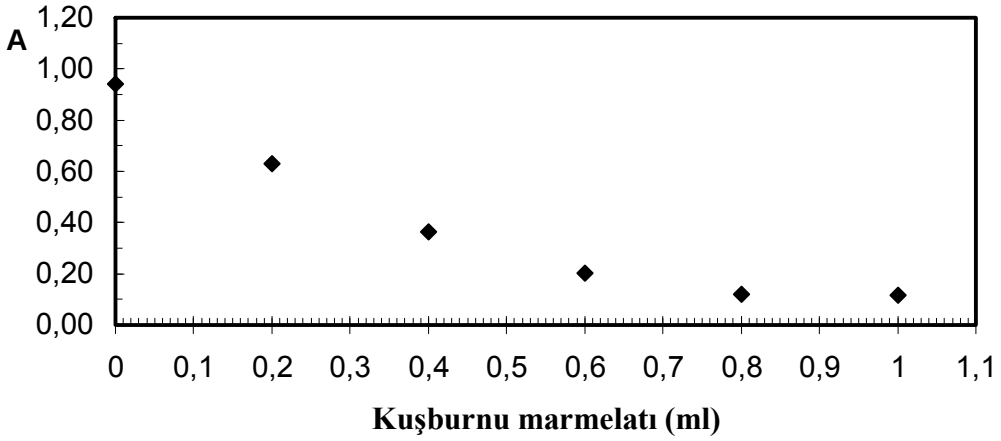
Ekstraksiyon	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
Sıcak Saf su	0,65	1,025	0,120	0,268
% 50 Etanol-su	0,56	0,914	0,160	0,239
Etanol	0,60	1,004	0,478	0,034

3.8.7. Kuşburnu marmelatının sıcak-soğuk saf su ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda hazırlanan kuşburnu marmelatı çözeltisinden (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.24 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu marmelatı ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.25 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin soğuk saf su ile hazırlanan kuşburnu marmelatı ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.9 Kuşburnu marmelatı ekstraktlarının analizi

Ekstraksiyon	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
Sıcak Saf su	0,295	1,016	0,140	0,114
Soğuk Saf su	0,63	0,942	0,120	0,050

3.8.8. Renk farkına göre toplanan taze kuşburnu meyvelerinin analizi

25 Ağustos 2006 tarihinde İ.T.Ü Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyveleri renk koyuluklarına göre sınıflandırıldıktan sonra toplam antioksidan aktiviteleri askorbik asit cinsinden tayin edildi.



Turuncu kuşburnu



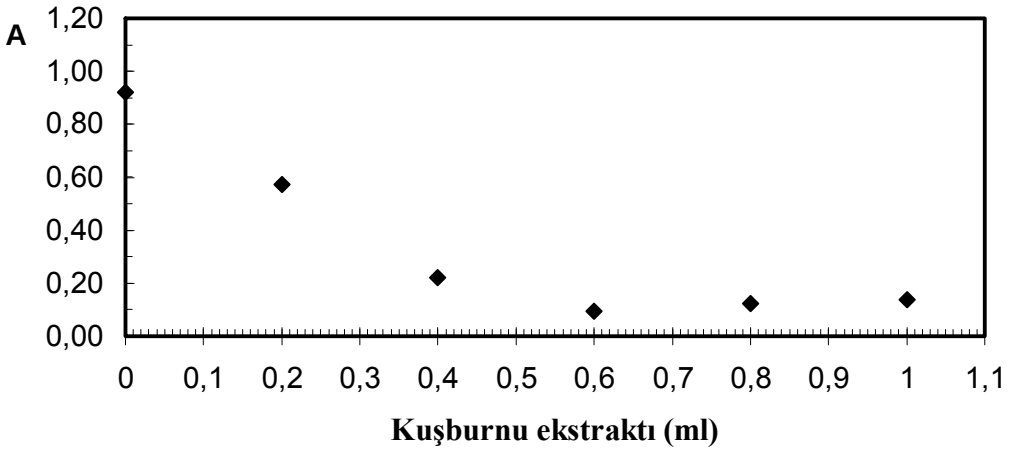
Kırmızı kuşburnu



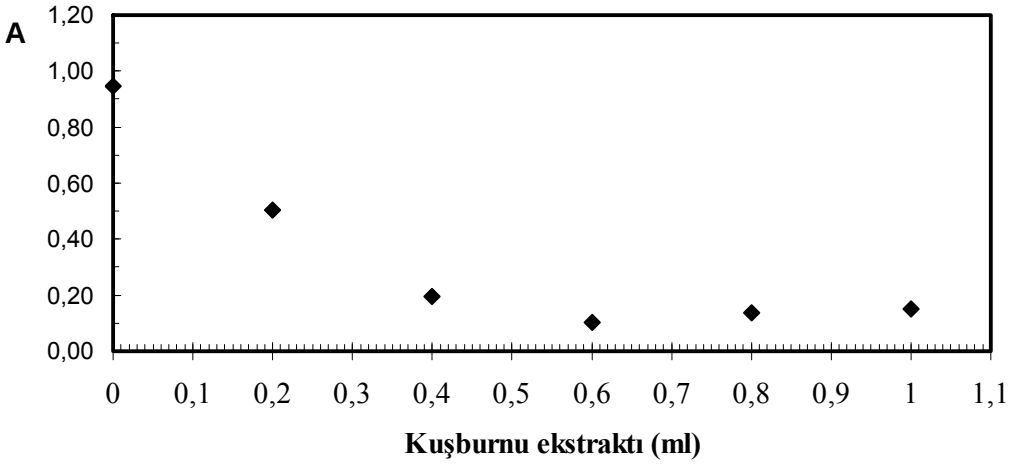
Koyu kırmızı kuşburnu

3.8.8.1. Turuncu kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

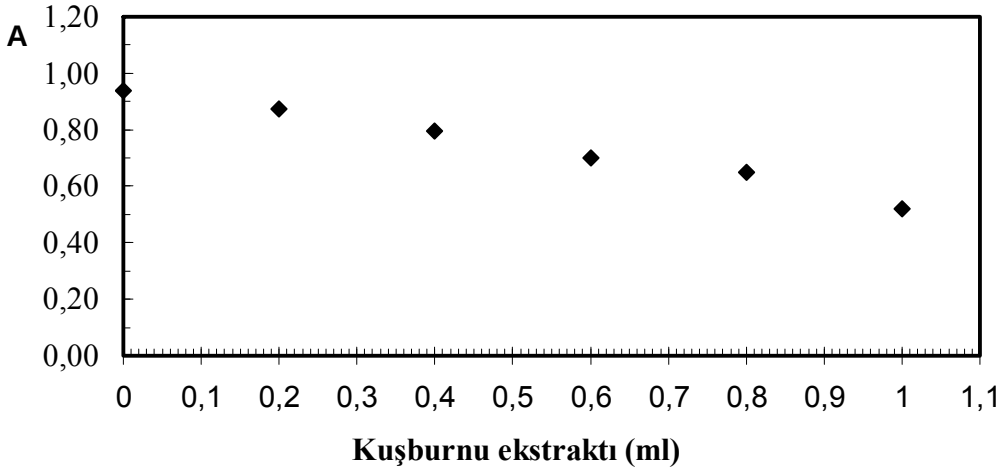
Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı.6 tüpe değişik oranlarda turuncu kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.26 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.27 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



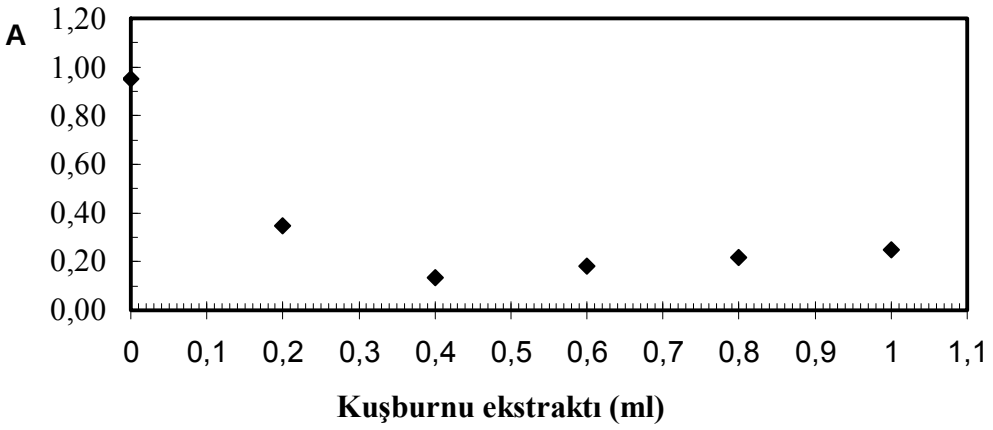
Şekil 3.28 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.10 Turuncu kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

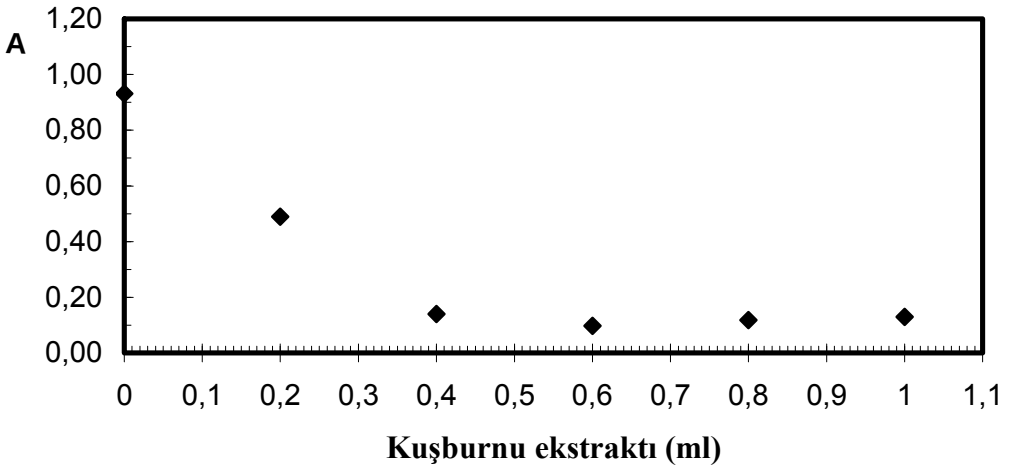
Ekstraksiyon	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
Sıcak Saf su	0,48	0,922	0,080	0,067
% 50 Etanol-su	0,45	0,947	0,080	0,074
Etanol	0,20	0,938	0,874	0,012

3.8.8.2. Kırmızı kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

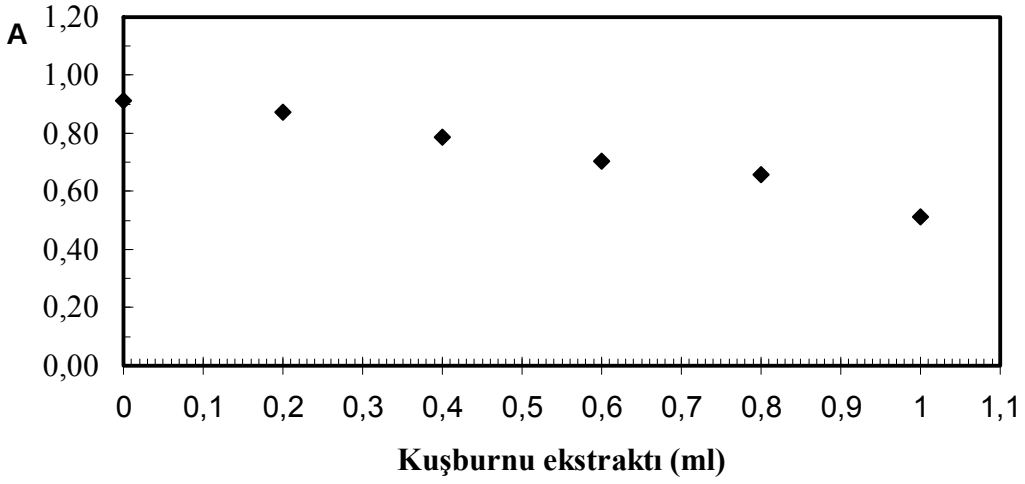
Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı.6 tüpe değişik oranlarda kırmızı kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı .



Şekil 3.29 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.30 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyon



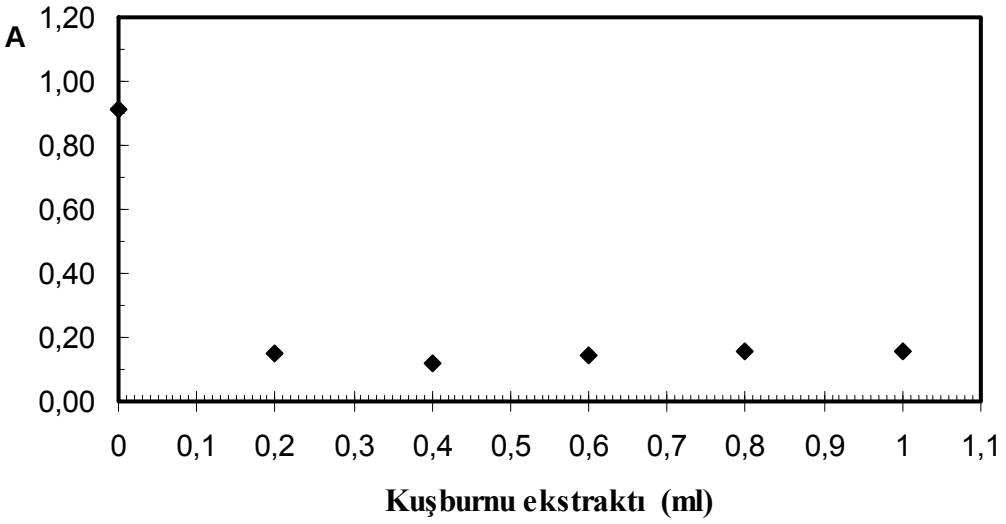
Şekil 3.31 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.11 Kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

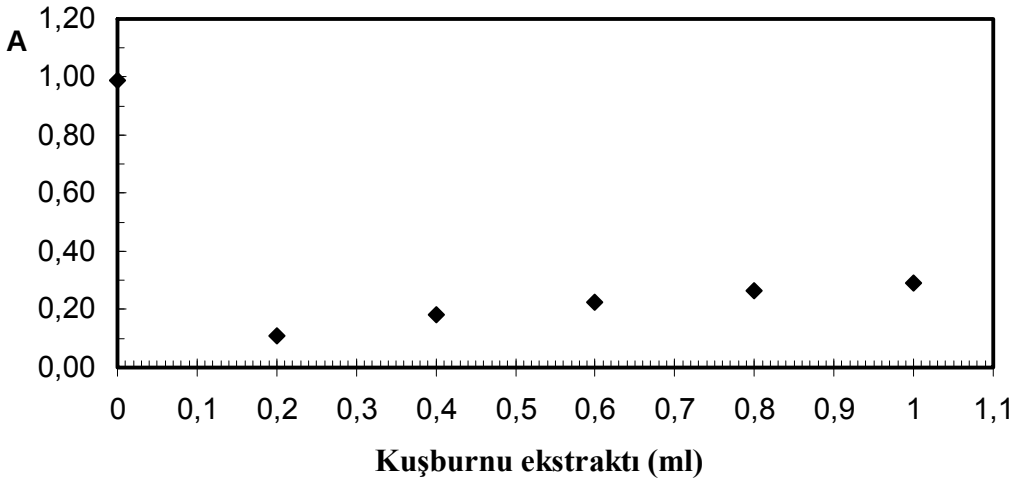
Ekstraksiyon	**Grafikten bulunan örnek hacim(ml)**	**A_{ilk}**	**A_{son}**	**mmol askorbik asit/g**
Sıcak Saf su	0,28	0,952	0,120	0,114
% 50 Etanol-su	0,42	0,931	0,080	0,078
Etanol	0,40	0,913	0,786	0,012

3.8.8.3. Koyu kırmızı kuşburnu meyvesinin sıcak saf su, % 50 etanol-su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarının analizi

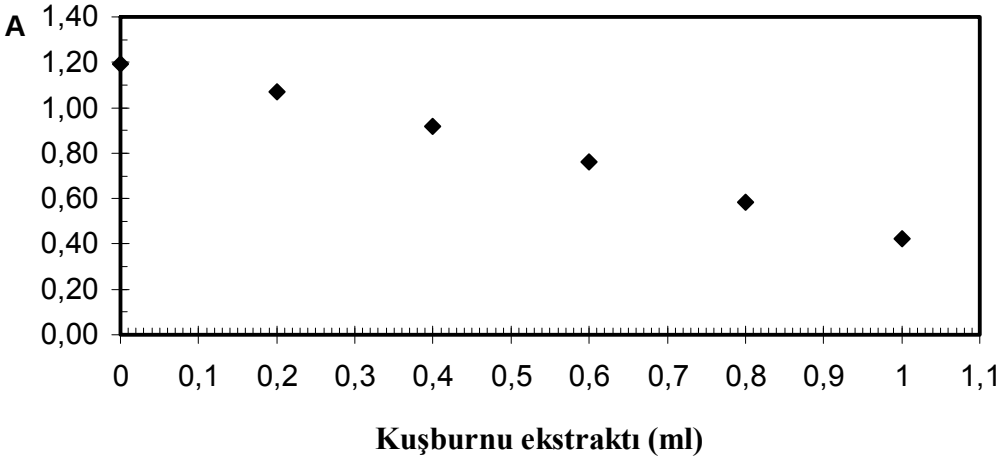
Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı.6 tüpe değişik oranlarda koyu kırmızı kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.32 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin sıcak saf su ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.33 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin % 50 etanol-su ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu



Şekil 3.34 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin etanol ile hazırlanan koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktı ile reaksiyonu

Tablo 3.12 Koyu kırmızı kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

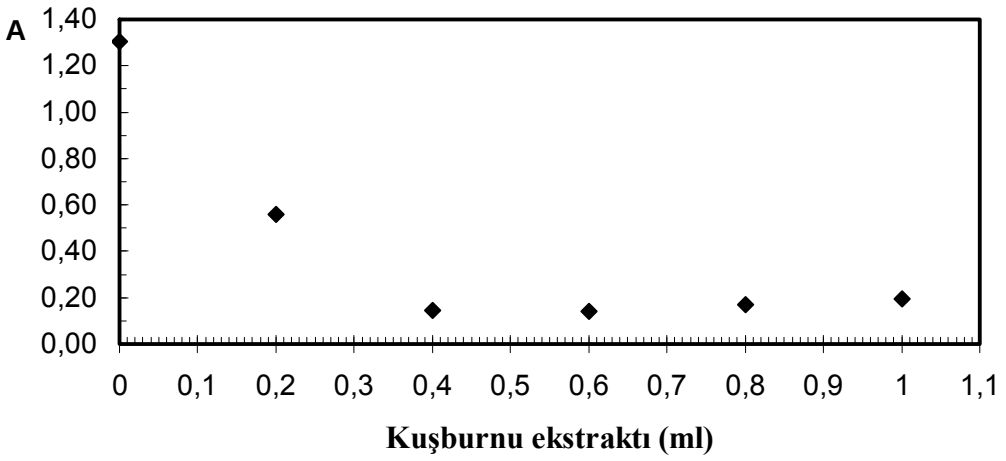
Ekstraksiyon	**Grafikten bulunan örnek hacim(ml)**	**A_{ilk}**	**A_{son}**	**mmol askorbik asit/g**
Sıcak Saf su	0,21	0,911	0,120	0,145
% 50 Etanol-su	0,19	0,989	0,140	0,172
Etanol	0,60	1,191	0,763	0,027

3.8.9. İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvelerinin kurutulma şartlarının antioksidan miktarına etkisi

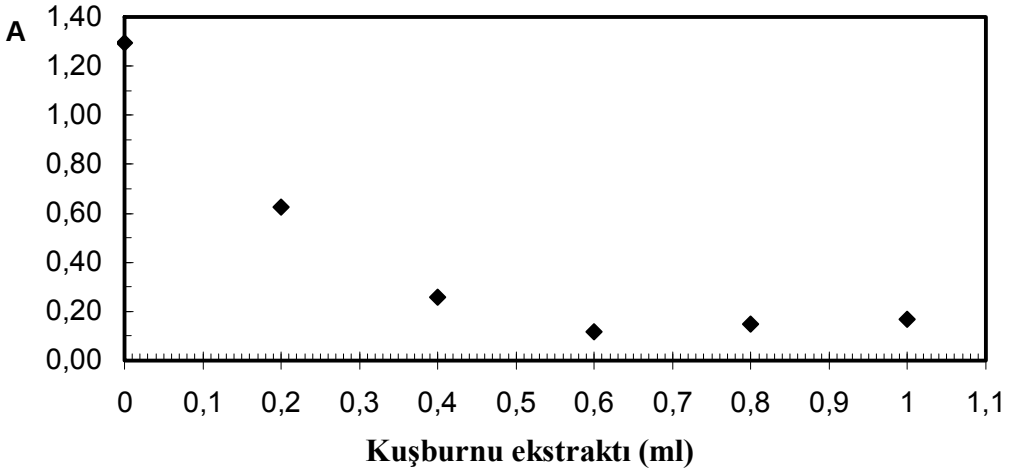
İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvelerinin, oda sıcaklığında, 50^{o}C ve 85^{o}C'de 5, 24 ve 48 saat bekletildikten sonra toplam antioksidan miktarları tayin edildi.

3.8.9.1. Oda sıcaklığında bekleme süresinin toplam antioksidan miktarına etkisi

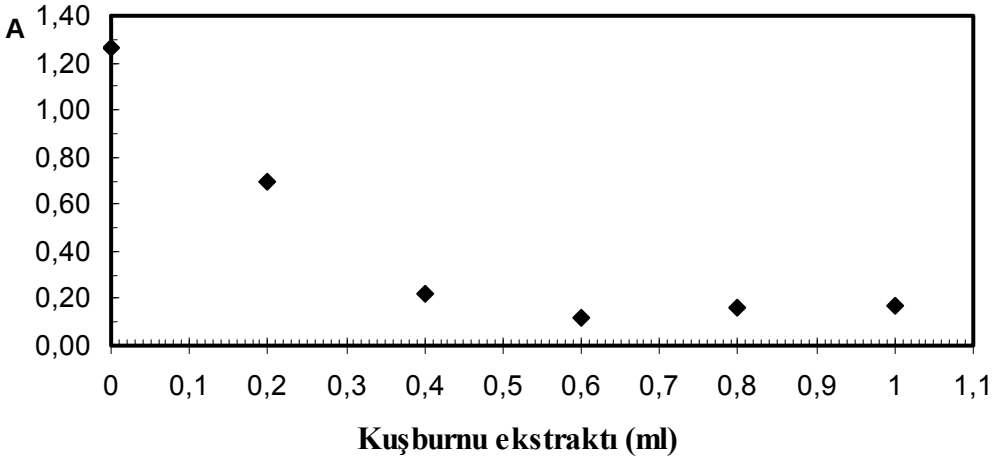
İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin, oda sıcaklığında bekleme sürelerinin etkisini incelemek için taze kuşburnu meyvesi, oda sıcaklığında 5, 24 ve 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile ekstrakte edildi**.** Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml 2x10^{-3} M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.35 Oda sıcaklığında 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



Şekil 3.36 Oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



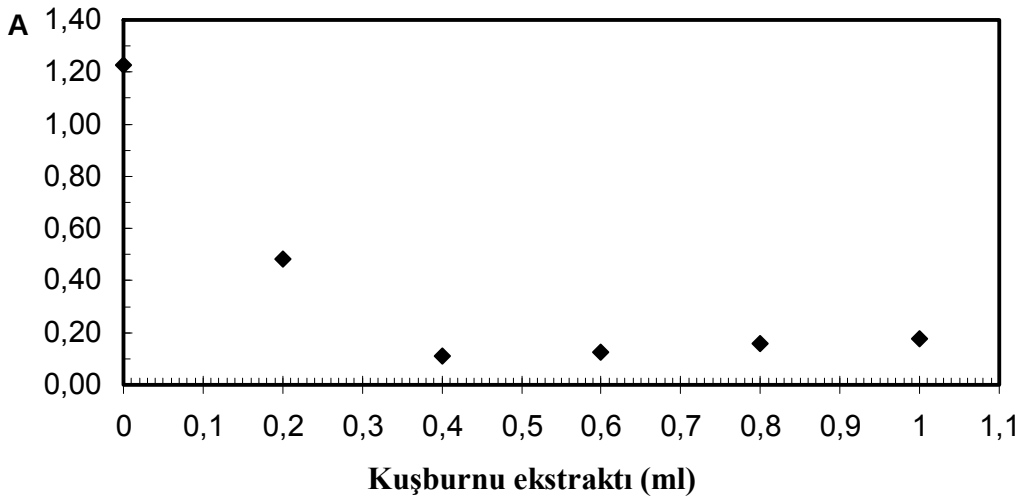
Şekil 3.37 Oda sıcaklığında 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu

Tablo 3.13 Oda sıcaklığında 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

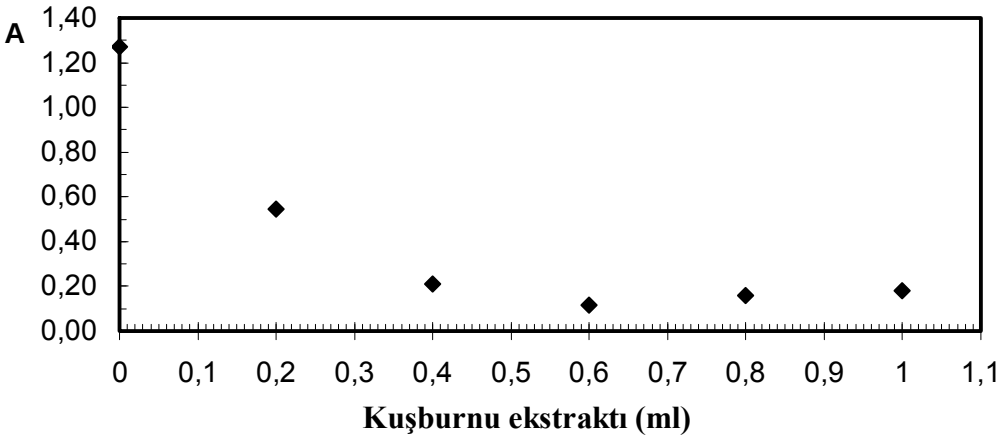
Bekleme Süresi	Kuşburnu miktarı (1 g)	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	Mmol askorbik asit/g
5 saat	0,92	0,32	1,305	0,120	0,142
24 saat	0,79	0,44	1,296	0,080	0,106
48 saat	0,71	0,44	1,261	0,100	0,101

3.8.9.2. 50°C'de bekleme süresinin toplam antioksidan miktarına etkisi

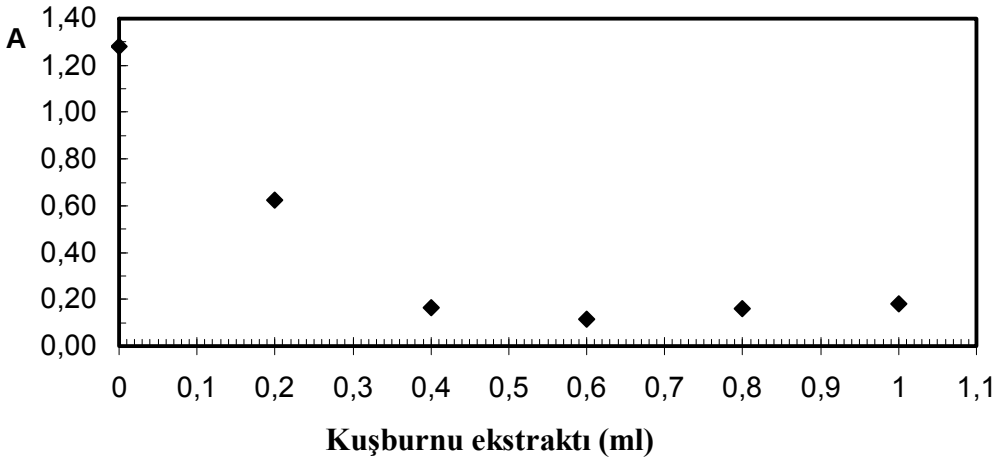
İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin 50°C'de bekleme sürelerinin etkisini incelemek için taze kuşburnu meyvesi 50°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile ekstrakte edildi**.** Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.38 50°C' de 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



Şekil 3.39 50°C' de 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



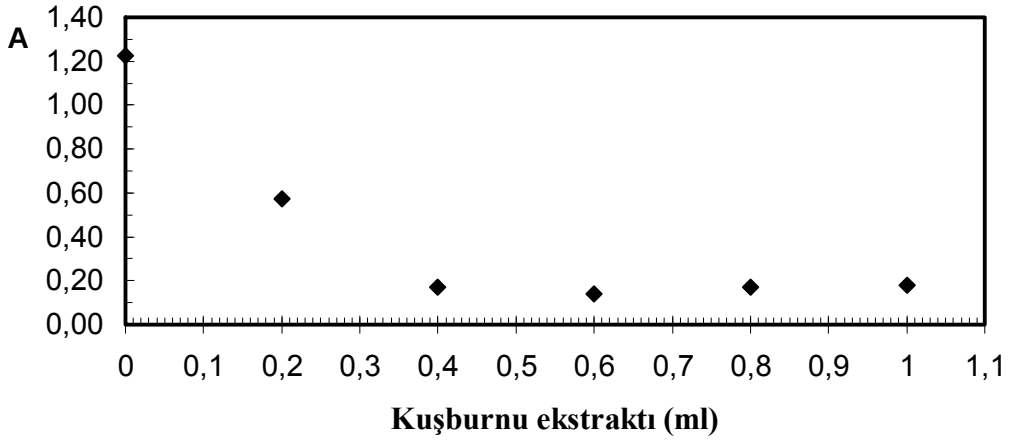
Şekil 3.40 50°C' de 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu

Tablo 3.14 50°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

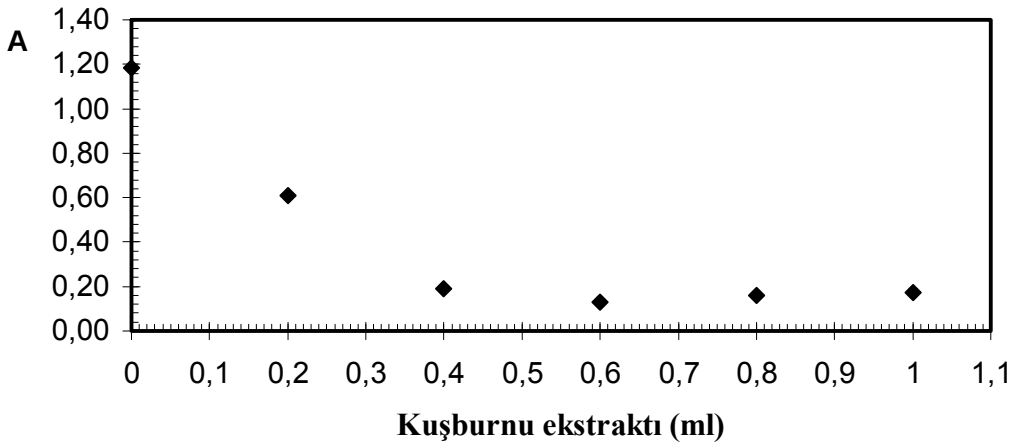
Bekleme Süresi	Kuşburnu miktarı (1 g)	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
5 saat	0,95	0,31	1,226	0,080	0,142
24 saat	0,80	0,42	1,271	0,080	0,109
48 saat	0,75	0,42	1,280	0,080	0,102

3.8.9.3. 85°C'de bekleme sürelerinin toplam antioksidan miktarına etkisi

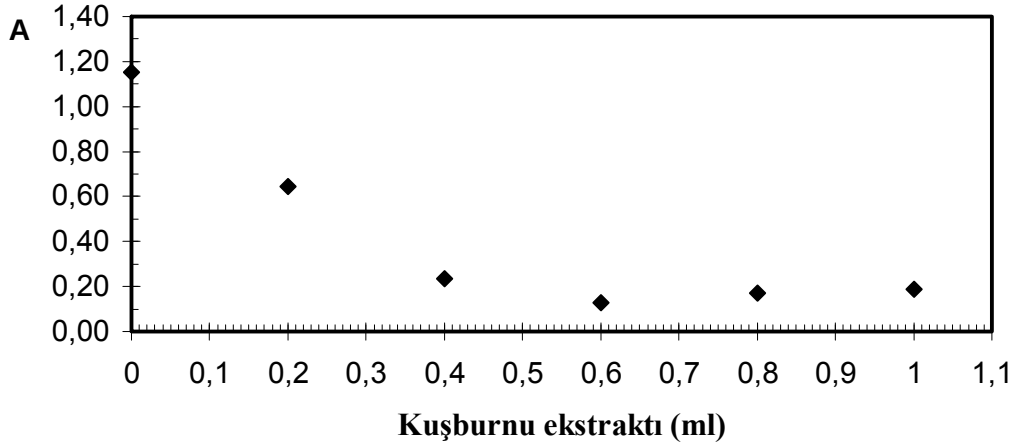
İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin 85°C'de bekleme sürelerinin etkisini incelemek için taze kuşburnu meyvesi 85°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile ekstrakte edildi**.** Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı.



Şekil 3.41 85°C' de 5 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



Şekil 3.42 85°C' de 24 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu



Şekil 3.43 85°C' de 48 saat bekletildikten sonra sıcak saf su ile hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktının, başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisiyle reaksiyonu

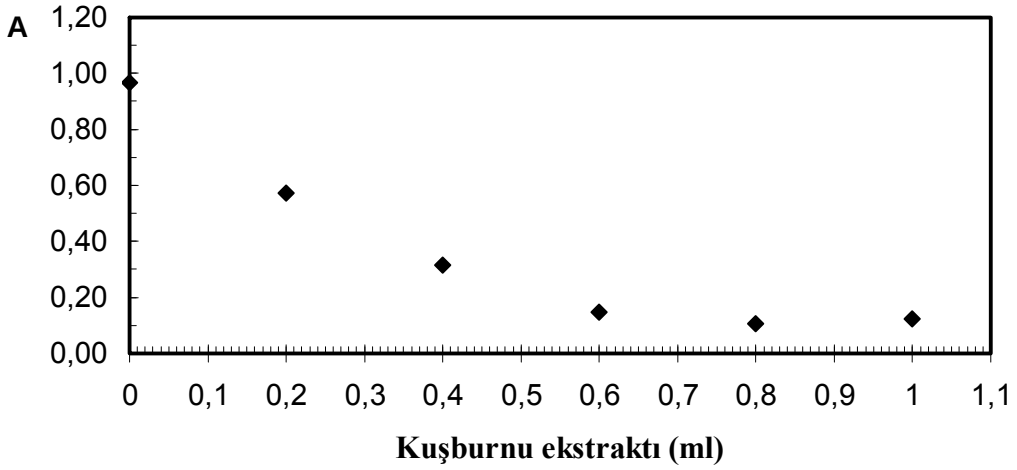
Tablo 3.15 85°C'de 5, 24 ve 48 saat bekletilerek hazırlanan taze kuşburnu meyvesi ekstraktlarının analizi

Bekleme Süresi	Kuşburnu miktarı (1 g)	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
5 saat	0,59	0,33	1,223	0,160	0,124
24 saat	0,58	0,42	1,186	0,120	0,097
48 saat	0,56	0,45	1,151	0,120	0,088

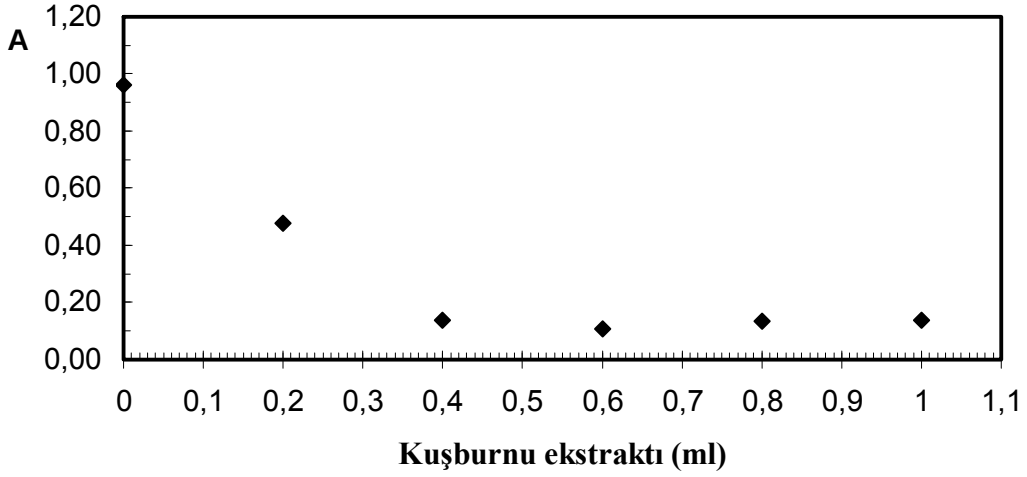
3.8.10. Ekstraksiyon süresinin çözeltiye geçen toplam antioksidan miktarına etkisi

3.8.10.1. Soğuk saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi

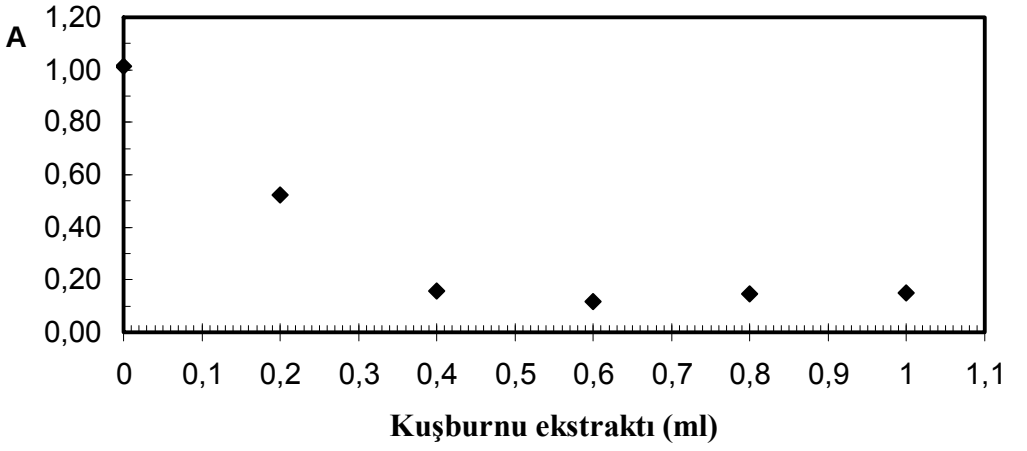
Edirne ilinden toplanan 1gr taze kuşburnu meyvesinin üzerine 50 ml soğuk saf su ilave edildi. 3, 6 ve 12 dakika karıştırdıktan sonra süzüldü. Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı .



Şekil 3.44 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, soğuk saf su ile hazırlanan ve 3 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu



Şekil 3.45 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, soğuk saf su ile hazırlanan ve 6 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu



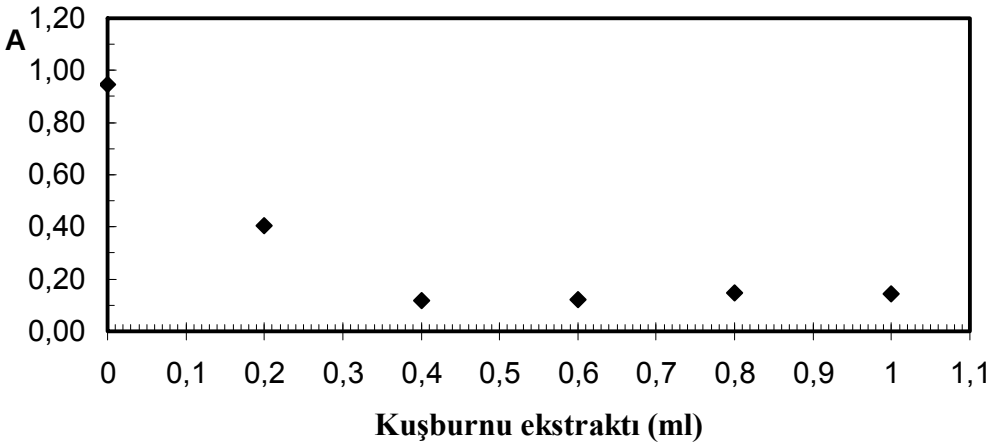
Şekil 3.46 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, soğuk saf su ile hazırlanan ve 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu

Tablo 3.16 Soğuk saf su ile 3, 6, 12 dakika karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi

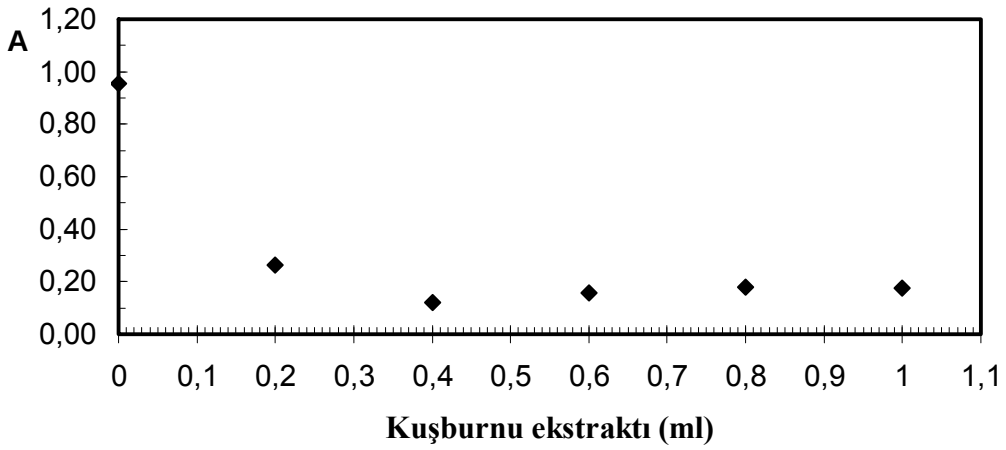
Ekstraksiyon Süresi	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
3 dakika	0,50	0,966	0,140	0,063
6 dakika	0,35	0,962	0,120	0,092
12 dakika	0,35	1,012	0,160	0,094

3.8.10.2. Sıcak saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi

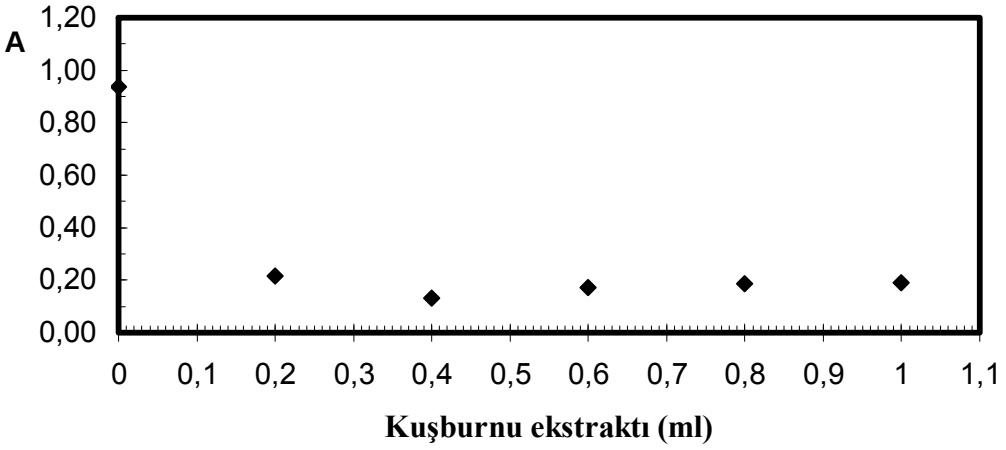
Edirne ilinden toplanan 1gr taze kuşburnu meyvesinin üzerine 50 ml sıcak saf su ilave edildi. 3, 6 ve 12 dakika karıştırdıktan sonra süzüldü. Hazırlanan ekstraklar seyreltilmeden kullanıldı. 6 tüpe değişik oranlarda taze kuşburnu meyvesi (0,2-1 ml arası) + 1 ml $2x10^{-3}$ M Ce(IV)+ su ilave edip toplamı 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra 30 dakika ağzı kapalı bekletildi. Hazırlanan çözeltilerin 320nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı .



Şekil 3.47 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, sıcak saf su ile hazırlanan ve 3 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu



Şekil 3.48 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, sıcak saf su ile hazırlanan ve 6 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu



Şekil 3.49 Başlangıç derişimi 2.10^{-4} M olan Ce(IV) çözeltisinin, sıcak saf su ile hazırlanan ve 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örnekleri ile reaksiyonu

Tablo 3.17 Sıcak saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi örneklerinin analizi

Ekstraksiyon süreleri	Grafikten bulunan örnek hacim(ml)	A_{ilk}	A_{son}	mmol askorbik asit/g
3 dakika	0,31	0,946	0,120	0,102
6 dakika	0,24	0,955	0,120	0,134
12 dakika	0,225	0,937	0,120	0,140

3.9.CERAC YÖNTEMİNİN, CUPRAC YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Kuşburnu bitkisindeki toplam antioksidan miktarını tayin etmek için İTÜ, Analitik Kimya Laboratuarlarında geliştirilen CERAC yöntemi kullanılmıştır [8]. Çalışmada toplam antioksidan miktarı, kuşburnu bitkisinde ağırlıklı olarak askorbik asit bulunduğundan askorbik asit cinsinden verilmiştir. CERAC metoduyla yaptığımız analiz sonuçlarını CUPRAC yöntemiyle karşılaştırdık.

3.9.1. CUPRAC Yönteminde toplam antioksidan miktarının hesaplanması için yapılan işlem

Deney tüpüne 1 ml $CuCl_2$ çözeltisi ($1.0x10^{-2}$ M), 1 ml neocuprain'in alkolde hazırlanmış çözeltisi ($3x10^{-3}$ M), ve 1 ml NH_4Ac tampon çözeltisi koyulur ve karıştırılır; (x) ml analiz edilecek madde konur ve (1,1-x) ml su eklenir.Toplam hacim 4,1 ml olur.Yarım saat sonra 450 nm'de absorbansı ölçülür.CUPRAC metodunda askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısı 15935 L mol^{-1} $cm^{-1.}$

Toplam antioksidan aktivitesi (mmol AA/g)= As / ε_{AA}) (Vs / Vö) r (Vcup / m)

formülüyle hesaplanır

As=Okunan absorbans değeri

ε_{AA}=AA molar absorpsiyon katsayısı

V_S = Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)

$V_Ö$ = Örnek hacmi (ml)

r = Seyreltme faktörü

V_{cup} = Ekstraksiyon hacmi (ml)

m = Örnek ağırlık (g)

3.9.2. CUPRAC Yöntemi ile yapılan sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi

Bir demlik Doğadan poşet çay (2,5 g) alındı.125 ml sıcak saf su ile demlendi. Hazırlanan ekstraklardan 5 ml kuşburnu çayı alınıp 50 ml'lik balon jojeye konuldu, üzeri su ile tamamlandı. 7 tüpe aynı oranlarda kuşburnu çayı (0,6 ml kuşburnu çayı) + 1 ml $CuCl_2x2H_2O$ çözeltisi + 1 ml NH_4CH_3COO + 1 ml neocuprain çözeltisi +0,5 ml su ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin 450 nm dalga boyunda ölçülen absorbansları ve askorbik asid'in molar absorpsiyon katsayısı [23] kullanılarak antioksidan miktarı hesaplandı. Deneyler 7 kez tekrarlandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.18 de verildi.

Tablo 3.18 Sıcak saf su ile hazırlanan kuşburnu çayı ekstraktının analizi

Örnek	Kuşburnu çayı (ml)	A_{450}	mmol askorbik asit/g kuşburnu çayı
X_1	0,6	1,190	0,255
X_2	0,6	1,199	0,257
X_3	0,6	1,202	0,258
X_4	0,6	1,134	0,243
X_5	0,6	1,132	0,243
X_6	0,6	1,127	0,242
X_7	0,6	1,126	0,241
		Ortalama	0,249 mmol askorbik asit/ g kuşb.çayı

Aynı çözeltilerin analizi CERAC Yöntemi ile tekrarlandı ve elde edilen sonuçlar CUPRAC yöntemiyle karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.19 'da görülmektedir.

Tablo 3.19 CERAC ve CUPRAC Yönteminin İstatiksel Değerleri

	CERAC YÖNTEMİ	**CUPRAC YÖNTEMİ**
	0,399 **0,392** **0,400** **0,411** **0,410** **0,407** **0,378**	**0,255** **0,257** **0,258** **0,243** **0,243** **0,242** **0,241**
$X_{ortalama}$	**0,399**	**0,249**
Standart sapma (s)	**0,0117**	**0,00781**
Varyans(s^2)	**$1.36x\ 10^{-4}$**	**$6.09x10^{-5}$**
F Testi	**2.23 <4,28** **$F_d < F_t$**	**2.23 <4,28** **$F_d < F_t$**

3.10. GERİ KAZANIM TESTİ

Ofçay marka kuşburnu çayının poşetleri açılarak 1'er gram alındı. Üzerine 50 ml saf su ilave edildi. Yarım saat bekledikten sonra çözelti tekrar 10 kat seyreltildi (5 ml alınıp 50 ml'ye saf su ile tamamlandı). Hazırlanan çaydan 1 ve 0,5'er ml alınarak askorbik asit miktarı spektrofotometrik yöntemle tayin edildi (Tablo 3.20)

Kuşburnu çayından tekrar alınan 1 ve 0,5 ml'lik örneklere değişen miktarlarda (0,5, 0,6 ve 0,8 ml) 1x10-3 M Askorbik asit çözeltisi ilave edildikten sonra aynı işlemler tekrarlandı. Askorbik asit ilaveli ve ilavesiz sonuçlar karşılaştırıldı. Bulunan Tablo 3.20'de verilmiştir.

Tablo 3.20 Ofçay marka kuşburnu çayında geri kazanım test sonuçları

Örnekte bulunan askorbik asit miktarı (g)	Eklenen AA (g)	Bulunan AA (g)	Geri Kazanım
$6{,}87.10^{-4}$ g	$1{,}76.10^{-4}$ g	$1{,}1.10^{-5}$ g	% 94
$1{,}46.10^{-3}$ g	$1{,}67.10^{-4}$ g	2.10^{-5} g	% 88
$1{,}46.10^{-3}$ g	$2{,}47.10^{-4}$ g	1.10^{-5} g	% 96

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada insan sağlığı ve gıda maddeleri için önemli olan antioksidanların analizi için basit, tekrarlanabilirliği yüksek, reaksiyon basamakları az, ucuz ve spesifik olmayan cihazlarla yapılan CERAC yöntemi ile çalışıldı.

Kuşburnu örneklerindeki askorbik asit miktarı, spektrofotometrik yöntemle tayin edildi.Çalışılan dalga boyu Ce(IV) 'ün maksimum absorpsiyon yaptığı 320 nm'dir.Askorbik asit bu dalga boyunda absorpsiyon yapmadığı için Ce(IV) ile bir etkileşimi yoktur ve deney sonuçları üzerinde herhangi bir hataya sebep olmamaktadır.

CERAC Metodu, sülfat asitli ortamda Ce(IV)'ün maksimum dalga boyundaki absorbans değerinin, antioksidanlar ile reaksiyon sonucu azalması esasına dayanmaktadır. Ce(IV)'ün maksimum dalga boyundaki bu azalma ile toplam antioksidan miktarı hesaplandı.

Askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısını belirleyebilmek için askorbik asidin kalibrasyon grafiği çizildi ve aşağıdaki denklem elde edildi.Buradan askorbik asidin molar absorpsiyon katsayısı 12950 L $mol^{-1}cm^{-1}$ bulundu.

$A_{320} = 0{,}9592\text{-}12950\ C_{\text{askorbik asit}}$ $\qquad R^2 = 0{,}9845$

Bu çalışmada, kuşburnu çayı, kuşburnu nektarı, kuru kuşburnu meyvesi, kuru kuşburnu çekirdeği, taze kuşburnu meyvesi, taze kuşburnu çekirdeği, kuşburnu marmelatı ve İ.T.Ü Ayazağa kampüsünden toplanan turuncu, kırmızı, koyu kırmızı renkli taze kuşburnu meyvesi bulunan toplam antioksidan miktarı askorbik asit cinsinden tayin edildi.

Kuşburnularını ekstrakte etmek için, sıcak-soğuk saf su , % 50 etanol-su ve etanol çözücüleri kullanıldı.Elde edilen sonuçlara göre, sıcak saf su ile ekstrakte edilen kuşburnularında bulunan askorbik asit miktarının en fazla olduğu kuşburnu çeşitleri; Kuşburnu çayı, Kuru kuşburnu meyvesi, Kuşburnu marmelatı, Taze kuşburnu çekirdeği ve Kırmızı renkli taze kuşburnu meyvesidir. % 50 etanol-su ile ekstrakte

edilen kuşburnularında bulunan askorbik asit miktarının en fazla olduğu kuşburnu çeşitleri; Kuşburnu nektarı, Kuru kuşburnu çekirdeği, Taze kuşburnu meyvesi, Turuncu ve Koyu kırmızı renkli taze kuşburnu meyvesidir.Çalışılan kuşburnu örneklerinde etanol ile ekstrakte edilenlerde en düşük miktarda askorbik asit bulundu.

İ.T.Ü, Ayazağa kampüsünden toplanan turuncu, kırmızı, koyu kırmızı renkli taze kuşburnu meyvelerinde renk koyulaştıkça askorbik asit miktarının arttığı gözlemlendi[Tablo 3.21].

Bir diğer çalışmada, kuşburnunu farklı zaman ve sıcaklıklarda (oda sıcaklığında, 50°C ve 85°C'de) bekleterek askorbik asit miktarı belirlendi.Bulunan askorbik asit miktarları [Tablo 3.22] ve kuşburnunun zaman ve sıcaklığa bağlı miktar kaybı [Tablo 3.23]'de gösterildi. Kuşburnu'nun farklı zaman ve sıcaklıklarla yapılan deneylerinde bekleme süresinin ve sıcaklığın artması ile askorbik asit miktarının azaldığı, en fazla azalmanında en yüksek sıcaklık ve en uzun süre olan 85°C'de 48 saatlik beklemede olduğu gözlemlendi.Kuşburnu miktarındaki kayıplarda yine zaman ve sıcaklık artışı ile doğru orantılı olarak azaldığı gözlemlendi.

Sıcak-soğuk saf su ile hazırlanan ve 3, 6, 12 dakikalık karıştırma işlemi ile ekstrakte edilen taze kuşburnu meyvesi analizinden, karıştırma süresinin artması ile askorbik asit miktarının arttığı ve sıcak su ile hazırlanarak yapılan ekstrakttaki askorbik asit miktarının daha yüksek çıktığı görüldü[Tablo 3.24].

CERAC Yöntemi ve standart CUPRAC Yöntemi ile Kuşburnu çayı örneği analiz edildi.Elde edilen sonuçlara t ve F testi uygulandı ve sonuçlara bakıldığında iki yöntemde ortalama ve standart sapmalar açısından anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi.CUPRAC ve CERAC Yöntemi uygulama kolaylığı bakımından karşılaştırıldığında, CERAC Yöntemini uygulamak daha kolay ve kısa olduğu görüldü.

Kuşburnu çayında, yapılan lineerlik testi kuşburnu –askorbik asit ve askorbik asit çözeltilerinden hazırlanan örneklerden elde edilen grafikte birbirine paralel olduğu görüldü.

Kuşburnu çayında yapılan geri kazanım testinde % 94 , % 88, ve % 96'lık bir geri kazanım bulundu.

Tablo 3.21 Renk farkına göre toplanan taze kuşburnu meyvelerindeki askorbik asit miktarı

Ekstraksiyon Yöntemi	Turuncu Kuşburnu (mmol AA / g)	Kırmızı Kuşburnu (mmol AA / g)	Koyu Kırmızı Kuşburnu (mmol AA / g)
Sıcak saf su	0,067	0,114	0,145
% 50 Etanol-su	0,074	0,078	0,172
Etanol	0,012	0,012	0,027

Tablo 3.22 İTÜ, Ayazağa kampüsünden toplanan taze kuşburnu meyvesinin oda sıcaklığında, 50° C ve 85° C'de bekleme sürelerinin etkisi

	1g kuşburnu meyvesinde bulunan toplam AA (mmol)		
Bekleme süresi	**Oda sıcaklığında**	**50° C 'de**	**85° C'de**
5 saat	0,142	0,142	0,124
24 saat	0,106	0,109	0,097
48 saat	0,101	0,102	0,088

Tablo 3.23 İTÜ, Ayazağa kampüsünden toplanan ve 1 g alınan taze kuşburnu meyvesinin, oda sıcaklığında, 50° C ve 85° C'de bekletilmesiyle oluşan ağırlık kaybı

Bekleme süresi	Oda sıcaklığında	50° C 'de	85° C'de
5 saat	0,92	0,95	0,59
24 saat	0,79	0,80	0,58
48 saat	0,71	0,75	0,56

Tablo 3.24 Ekstraksiyon süresinin incelenmesi

Ekstraksiyon süresi	**Sıcak saf su (mmol AA / g)**	**Soğuk saf su (mmol AA / g)**
3 dakika	0,102	0,063
6 dakika	0,134	0,092
12 dakika	0,140	0,094

KAYNAKLAR

[1].Apak, R., Özyürek, M., Tütem, E., Sözgen, K., Güçlü, K., 2004. Spectrofotometric determination of ascorbic acid using cupper(II)- neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals : Science Direct Talanta (65) 2005 1226-1232.

[2].Arias, I.M., Jakoby, W.B. (Eds)., 1976. Glutathione:Metabolism and Function 6, Raven Press, New York.

[3]. Demir, F., & Özcan, M., 2001. Chemical and technological properties of rosa (Rosa canina L.) fruits grown wild in Turkey. Research note. Journal of Food Engineering, 47, 333–336.

[4].Dickinson,D.A., Lu, S.C., Forman H.J., Dickinson., Glutathione- Synthesis.pdf http://www.medicine.uiowa.edu/frrb/VirtualSchool/Dickinson-GSH-Synthesis.pdf

[5].Kosower, E.M., 1976. Chemical properties of glutathione

[6].Friedman., 1994. Improvement in the Safety of Food by SH-Containing Aminoacids and peptids.A Review.J.Agric.Food Chem. 42,3-20

[7].Baskin , S.J., Salem , H., in: Antioksidant Properties of Glutathione and its Role in tissue Protection Taylor & Francis Oxidants, Antioxidants and Free Radicals

[8].Özyurt,D., 2005. Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen Spektrofotometrik Yöntem İle Tayini, *Yüksek Lisans Tezi* , İTÜ Kimya Bölümü, İstanbul.

[9].Özçelik,B., 2000. Biberiye (Rosmarinus Officinalis) antioksidanlarının fındık füresinin raf ömrünü geciktirmedeki etkinliği , *Doktora Tezi* , İ.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü , İstanbul.

[10].Gökçe, D.,1998. Türkiye Kökenli Yeşil Çayın Antioksidan Kaynağı olarak değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi* , İstanbul Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.

[11].Chen, H., &Tappel, A.,1996. Protection by multiple antioxidants against lipid peroxidation in rat liver homogenates.Lipids , 31, 47-50.

[12].Hart, D. J., & Scott, K. J., 1995. Development and evaluation of an HPLC Method for analysis of carotenoids in foods, and the measurement of carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. Food Chemistry, 54, 101- 111.

[13].Ismail, A., Marjam, Z.M., & Foong, C.W., 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables.Food Chemistry, 87, 581-586

[14].Kurilich, A.C., Jeffery, E.H., Juvic, J.A., Wallig, M.A.,& Klein, B.P., 2002. Antioksidant capacity of different broccoli (Brassica oleracea) genotypes using the oxigen radical absorbance capacity (ORAC) assay.Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 5053- 5057.

[15].Pellegrini Re. R., N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay .Free Radical Biology & Medicine, 26(9/10), 1231-1237

[16].Roberts, W.G., & Gordon, M.H., 2003. Determination od the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51, 1486-1493

[17].Murakami, M ., Yamaguchi, T., Takamura, H., & Matoba, T., 2003. Effects of ascorbic acid and β-tokoferol on antioxidant activity of polyphenolic compounds.Journal of Food Science, 68(5), 1622-1625.

[18].Ohr, L.M., 2004. Dietary antioxidants.Food Technology, 58 (10), 67-74.

[19].Zhang, D., & Hamauzu, Y., 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking.Food Chemistry, 88, 503-509

[20].Vinson, J. A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., & Jang, J., 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 43, 2800-2802.

[21]. http://tr.wikipedia.org/wiki/C_Vitamini

[22].Turan , B., 1991. Kuşburnundan C Vitamini izolasyonu ve çekirdek yağlarının incelenmesi , *Yüksek Lisans Tezi* , İ.T.Ü. Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.

[23].Özyürek, M., 2005. Bazı İçeceklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayininde Yeni Bir Yöntem Geliştirilmesi , *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi , Kimya Bölümü, İstanbul.

[24].Rice-Evans, C ., Miller , N.J., 1994. Total antioxidants statusin plasma and body fluids. Meth. Enzymol , 234 , 279-293.

[25].Miller, N.J, Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gpoinanthan, V.,Milner , A., 1993. Anovel method for measuring antioxsidant capacity and its application to monitoring the antioxidants status in premature neonates., Clin. Science , 84 , 407-412.

[26].Chevion , S., Berry , E.M ., Kıtrossky , N.K., Kohen , R ., 1997. Evaluation of plasma low molecular weight antioxidant capacity by cyclic voltammetry , Free Radic. Biol. Med., 22 , 411-421.

[27].Kohen , R., Beit-Yannaı , E., Berry , E.M., Tırosh , O., 1999. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry , Meth. Enzymol., 300.285-296.

[28].Apak , R., Güçlü , K., Özyürek , M., Karademir , S.E., 2004. Anovel tatola antioxidant capacity index for dietary polyphenols , vitamin C and E , using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method, J. Agric. Food Chem., 52 , 7970-7981.

[29].Winston , G.W., Regoli , F., Dugas , A.J., Fong , J.H., Blanchard , K.A ., 1998. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. Free Radical Biology Medical , 24 , 480-493.

[30]. http://www.biriz.biz/kusburnu.

[31]. Xiangqun Gao, Lars* Björk , Victor Trajkovski., Swedish Univercity of Agricultural Sciences, Fjalkestatdsv 123-1, S-291 94, Kristianstad, Sweden

[32]. User, E.T ., 1967. Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi 27 (1) : 39-60

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Edirne'de doğdu. İlk ve Orta ögrenimini Edirne'de tamamladı. 2004 yılında, Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimyagerlik Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl , İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimyagerlik yüksek lisans programına başladı.