T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *CENTAUREA* TÜRLERİNİN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gökhan ZENGİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA, 2010

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *CENTAUREA* TÜRLERİNİN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gökhan ZENGİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA

2010

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI *CENTAUREA* TÜRLERİNİN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gökhan ZENGİN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

2010, IX+73 Sayfa

Jüri: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Yrd. Doç Dr. Haluk ÖZPARLAK
Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ

Bu çalışmada, üçü Türkiye florası için endemik olan altı *Centaurea* (Asteraceae) türünün antioksidan kapasiteleri ve yağ asidi komposizyonları araştırılmıştır. Türlerin metanol ekstraklarının antioksidan kapasiteleri total fenolik içerik, total antioksidan kapasite, serbest radikal yakalama testi, β-karoten/linoleik asit sistemi, indirgeme gücü ve CUPRAC (bakır indirgeme gücü) testini içeren altı farklı kimyasal metotla değerlendirilmiştir. BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) ve askorbik asit standart antioksidan bileşikler olarak kullanılmıştır. *Centaurea* türlerinin metanol ekstrakları önemli bir antioksidan etkinlik göstermiştir. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella* tüm test sistemlerinde diğer türlerden daha güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Türlerin yağ asidi komposizyonları gaz kromatografik sistem (GC) kullanılarak tanımlanmış ve otuz yağ asidi belirlenmiştir. Genel olarak C 18:2 ω6 (linoleik asit) ve C 18:3 ω3 (α-linolenik asit) major yağ asitleri olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar *Centaurea* türlerinin doğal antioksidanların ve esansiyel yağ asitlerinin bir kaynağı olarak gıda ve farmakolojik uygulamalarda kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan kapasite**,** Yağ asidi komposizyonu, *Centaurea*, Türkiye.

ABSTRACT

MS Thesis

DETERMINATION OF SOME BIOCHEMICAL PROPERTIES OF SOME *CENTAUREA* SPECIES

Gökhan ZENGİN

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

2010, IX+73 Pages

Jury: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Asist. Prof. Dr. Haluk ÖZPARLAK
Asist. Prof. Dr. Yener TEKELİ

In this study, the antioxidant capacities and fatty acid compositions of six *Centaurea* (Asteraceae) species three of which are endemic to Turkey were investigated. Antioxidant properties of methanolic extracts of the species were evaluated by six different chemical assays including total phenolic content, total antioxidant capacity, free radical scavenging assay, β-carotene/linoleic acid system, reducing power and CUPRAC assay. Also, BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) and ascorbic acid were used as the standard antioxidant compounds. Methanolic extracts of the *Centaurea* species exhibited a significant antioxidant activity. *C. drabifolia* subsp. *detonsa, C. kotschyi* var. *persica* and *C. pulchella* have stronger antioxidant properties than other *Centaurea* species in all test system. The fatty acid compositions of the species were analyzed by using gas chromatography (GC) system and thirty fatty acids were described in the oils. Generally, C 18:2 ω6 (linoleic acid) and C 18:3 ω3 (α-linolenic acid) were determined as the major fatty acids. The results indicated that the *Centaurea* species can be considered as a source of natural antioxidant and essential fatty acids for food and pharmalogical applications.

Key Words: Antioxidant capacity, Fatty acid composition, *Centaurea*, Turkey.

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi-Biyokimya araştırma laboratuarında yürütülmüş olan bu yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye florası için oldukça önemli olan *Centaurea* cinsine ait bazı türlerin biyokimyasal özellikleri araştırılmıştır.

Bu çalışma konusunu veren ve çalışmanın oluşmasındaki desteklerinden dolayı başta danışman Hocam Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK' e teşekkür ederim. Ayrıca bitkilerin toplanması ve teşhislerinde emekleri geçen hocalarım Doç. Dr. Tuna UYSAL, Arş. Gör. Ahmet UYSAL ve Arş. Gör. Evren YILDIZTUGAY'a teşekkürü borç bilirim. Antioksidanlar konusunda bilgilerini sakınmadan benimle paylaşan Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Yener Tekeli'ye ve Cumhuriyet Üniversitesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Bektaş TEPE, ve tüm çalışmalarım boyunca desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Haluk Özparlak'a sonsuz saygılarımı sunarım. Laboratuarda numunelerin hazırlanmasında, ekstraksiyon çalışmalarında ve yağ asidi analizlerinin yorumlanmasında hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Gökalp Özmen GÜLER'e ve doktora öğrencisi Yavuz Selim ÇAKMAK'a ve çalışmalarım süresince maddi manevi her türlü desteği sağlayan aileme içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ ..... **iii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **viii**
KISALTMALAR ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**
2.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar 4
2.2. Fenolik Bileşikler 8
2.3. Antioksidan Kapasite Tayin Metotları 10
2.4. Bitkisel Yağlar 14
2.5. Asteraceae Familyası ve *Centaurea* cinsi 17
3.MATERYAL VE METOT **19**
3.1. Çalışmada Kullanılan *Centaurea* Türleri ve Özellikleri 19
3.2. Bitkisel ekstrakların hazırlanması 22
3.3. Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde uygulanan metotlar 23
3.3.1.Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi) 23
3.3.2.Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi 23
3.3.3. DPPH süpürme etkinliği 24
3.3.4. β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sistemi 25
3.3.5. CUPRAC metodu 26
3.3.6. İndirgeme gücü (Reducing power) 26
3.4. Bitkilerin yağ asidi komposizyonlarının belirlenmesi 27
3.4.1. Bitkilerden yağın ekstrakte edilmesi 27
3.4.2. Yağ asitlerinin metil esterlerinin hazırlanması 27
3.4.3. Numunelerin gaz kromatografi cihazında analiz koşulları 27
4. SONUÇLAR **29**
4.1. Antioksidan Kapasite Metotlarına Ait Sonuçlar 29
4.1.1. Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi) 29

4.1.2. Toplam antioksidan kapasite 31
4.1.3. DPPH süpürme etkinliği 33
4.1.4. β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sistemi 43
4.1.5. CUPRAC metodu 45
4.1.6. İndirgeme gücü 48
4.2. Yağ asidi analizlerine ait sonuçlar 52
5. TARTIŞMA **56**
5.1. Antioksidan Kapasite 56
5.2. Yağ Asidi Bileşimi 60
6. KAYNAKLAR **63**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Serbest radikallerin oluşumu ve etkileri 6
Şekil 2.2. Flavonoid grupları 9
Şekil 2.3. Doymuş bir yağ asidi, Tekli doymamış bir yağ asidi ve Çoklu doymamış bir yağ asidi. 16
Şekil 3.1. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* 21
Şekil 3.2. *C. kotschyi* var. *persica* 21
Şekil 3.3. *C. patula* 21
Şekil 3.4. *C. pulchella* 21
Şekil 3.5. *C. tchihatcheffii* 22
Şekil 3.6. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* 22
Şekil 4.1. Gallik asidin kalibrasyon eğrisi 29
Şekil 4.2. *Centaurea* türlerinin gallik asit eş değer (mg/g) toplam fenolik madde içeriği 30
Şekil 4.3. Askorbik asidin kalibrasyon eğrisi 31
Şekil 4.4. *Centaurea* türleri ve gallik asidin askorbik asit eşdeğer total antioksidan kapasiteleri 32
Şekil 4.5. DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi 33
Şekil 4.6. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* konsantrasyon-absorbans grafiği 34
Şekil 4.7. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*'nın konsantrasyon-inhibisyon grafiği 34
Şekil 4.8. *C. kotschyi* var. *persica* konsantrasyon-absorbans grafiği 35
Şekil 4.9. *C. kotschyi* var. *persica* konsantrasyon-inhibisyon grafiği 35
Şekil 4.10. *C. patula* konsantrasyon-absorbans grafiği 36
Şekil 4.11. *C. patula*'nın konsantrasyon-inhibisyon grafiği 36
Şekil 4.12. *C. pulchella* konsantrasyon-absorbans grafiği 37
Şekil 4.13. *C. pulchella* konsantrasyon-inhibisyon grafiği 37
Şekil 4.14. *C. tchihatcheffii* konsantrasyon-absorbans grafiği 38
Şekil 4.15. *C. tchihatcheffii* konsantrasyon-inhibisyon grafiği 38
Şekil 4.16. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* konsantrasyon-absorbans grafiği 39
Şekil 4.17. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* konsantrasyon-inhibisyon grafiği 39
Şekil 4.18. BHA konsantrasyon-absorbans grafiği 40
Şekil 4.19. BHA'nın konsantrasyon- inhibisyon grafiği 40
Şekil 4. 20. BHT konsantrasyon-absorbans grafiği 41
Şekil 4.21. BHT'nin konsantrasyon-inhibisyon grafiği 41
Şekil 4.22. *Centaurea* türleri ve standart antioksidanları IC_{50} değerleri 42
Şekil 4.23. *Centaurea* türlerinin ve standart antioksidanların linoleik asit oksidasyonu inhibisyon grafiği 44

Şekil 4.24. *Centaurea* türlerinin ve BHT'nin BHA'ya göre bağıl antioksidan aktiviteleri 44
Şekil 4.25. *Centaurea* türlerinin bakır iyonunu indirgeme yeteneklerinin karşılaştırılması 45
Şekil 4.26. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 46
Şekil 4.27. *C. kotschyi* var. *persica* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 46
Şekil 4.28. *C. patula* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 46
Şekil 4.29. *C. pulchella* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması ... 47
Şekil 4.30. *C.tchihatcheffii* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 47
Şekil 4.31. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 47
Şekil 4.32. *Centaurea* türlerinin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 49
Şekil 4.33. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması . 49
Şekil 4.34. *C. kotschyi* var. *persica* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 49
Şekil 4.35. *C. patula* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 50
Şekil 4.36. *C. pulchella* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 50
Şekil 4.37. *C. tchihatchefii* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması 50
Şekil 4.38. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması .. 51
Şekil 4.39. *Centaurea* türleri ve BHT'nin EC_{50} değerlerinin karşılaştırılması 51
Şekil 4.40. *Centaurea* türlerinin major yağ asitleri 54
Şekil 4.41. *Centaurea* türlerinin ΣSFA, ΣMUFA ve ΣPUFA içerikleri 54

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Gallik asidin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık absorbansları 29
Tablo 4.2. *Centaurea* türlerine ait ekstraktların 765 nm'de absorbansları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları..... 30
Tablo 4.3. Askorbik asidin çeşitli konsantrasyonlarının 695 nm'de absorbansları. 31
Tablo 4.4. *Centaurea* türleri ve gallik asidin absorbansları ve askorbik asit eşdeğer toplam antioksidan kapasiteleri 32
Tablo 4.5. DPPH radikalinin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık absorbansları 33
Tablo 4.6. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları..... 34
Tablo 4.7. *C. kotschyi* var. *persica*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları 35
Tablo 4.8. *C. patula*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları..... 36
Tablo 4.9. *C. pulchella*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları..... 37
Tablo 4.10. *C. tchihatcheffii*'nin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları..... 38
Tablo 4.11. *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları..... 39
Tablo 4.12. BHA'nın çeşitli konsasntrasyonlarına karşılık inhibisyon değerleri..... 40
Tablo 4.13. BHT'nin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon değerleri..... 41
Tablo 4.14. *Centaurea* türleri ve standart antioksidanları IC_{50} değerleri 42
Tablo 4.15. *Centaurea* türlerinin β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sisteminde absorbansları, inhibisyonları ve bağıl antioksidan kapasiteleri 44
Tablo 4.16. *Centaurea* türlerinin ve askorbik asitin 450 nm'de absorbansları 45
Tablo 4.17. *Centaurea* türlerinin ve BHT'nin 700 nm'deki absorbansları 48
Tablo 4.18. *Centaurea* türleri ile BHT'nin EC_{50} değerleri..... 51
Tablo 4.19. *Centaurea* türlerinin yağ asidi bileşimde bulunan yağ asitleri..... 52
Tablo 4.20. *Centaurea* türlerinin yağ asidi komposizyonu (%) 55

KISALTMALAR

BHA : Bütillenmiş hidroksianisol

BHT :Bütillenmiş hidroksitoluen

TBHQ : Tersiyerbutil hidrokinon

PG : Propilgallat

GAE :Gallik Asit Eşdeğeri

AE :Askorbik Asit Eşdeğeri

DPPH : 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil

IC_{50} : %50 İnhibisyon Konsantrasyonu

CUPRAC : Bakır(II) İyonu İndirgenme Antioksidan Kapasitesi

EC_{50} :Absorbansın 0.5 olduğu Etkin Konsantrasyon

FID : Flame Ionization Detector (Alev İyonlaştırma Dedektörü)

SFA : Saturated Fatty Acids (Doymuş Yağ Asitleri)

MUFA : Mono Unsaturated Fatty Acids (Tekli Doymamış Yağ Asitleri)

PUFA : Poly Unsaturated Fatty Acids (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri)

1.GİRİŞ

Bitkiler içerdikleri maddelerle beslenmenin yanısıra insan ve hayvan sağlığı açısından da büyük öneme sahiptir. Günümüzde sentetik ilaçların yerine doğal bitkisel ilaçlarla tedavi yaygınlaşmaya başlamıştır (Dimayuga ve Garcia 1991).

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı, eski çağlardan beri devamlı bir artış göstermektedir. Eski çağlarda kullanılan tıbbi bitkilerin miktarı oldukça az sayıda olmasına karşılık 19. yüzyılda bu sayı yaklaşık 13000 civarına ulaşmıştır. (Baytop 1999). 20. yüzyılda Dünya Sağlık Örgütü yaptığı çalışmada tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısının yaklaşık 20000 civarına ulaştığı belirtilmektedir (Kalaycıoğlu ve Öner 1994). Tıbbi bitkiler özellikle gelişmekte olan ülkelerde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ülkelerdeki gerek ekonomik şartların zorluğu, gerekse tıbbi tedavilerin yetersizliğinin insanları bu alana yönlendirdiği düşünülmektedir (Alkofahi ve ark. 1990).

Bu duruma uygun olarak Dünya Sağlık Örgütünün çalışmalarında gelişmekte olan ülkelerde insanların yaklaşık %80'nin tedavide geleneksel ilaçları tercih ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca bitkilerden elde edilen etken maddelerin ilaçlarda önemli yere sahip olduğu ve 1984'de Amerika ve Kanada'da ilaçların yaklaşık %25'nin doğal bitki ürünleri olduğu tespit edilmiştir. Sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla oluşu, bitkisel ilaçların daha ucuz ve kolay temin edilmesi tıbbi bitkiler ile bunlardan elde edilen biyolojik olarak aktif bileşikleri ilgi odağı haline getirmiştir (Baytop 1999).

Çok sayıdaki fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde insan vücudunda genellikle oksijen içeren serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Serbest radikallerin aşırı miktarda üretimi biyomoleküllerde (lipid, protein, DNA) oksidatif hasar meydana getirebilir ve sonuçta ateroskleroz, kanser, diabet, yaşlanma gibi kronik hastalıklara ve diğer dejeneratif hastalıklara neden olur (Halliwell 1994). Bununla birlikte organizmada bu bileşikleri etkisiz hale getirebilecek çeşitli koruyucu mekanizmalar mevcuttur. Eğer bu mekanizmalar düzenli bir şekilde çalışmazsa besinsel kaynaklı antioksidanların alımı büyük önem kazanmaktadır. Bitkiler serbest radikal yakalayan ve bu şekilde serbest radikalleri

etkisiz hale getiren fenolik bileşikler, azotlu bileşikler, vitaminler, terpenler ve bazı iç metabolitler gibi güçlü antioksidan aktiviteye sahip çeşitli bileşikleri içerir (Velioğlu ve ark. 1998).

Epidemiyolojik çalışmalar antioksidan bileşiklerin antiinflamatuvar, antiaterosklerotik, antitümor, antimutagenik, antikarsinojenik, antibakterial ve antiviral aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Halliwell 1994). Antioksidanların özellikle doğal kaynaklı olanları tercih edilmesi tavsiye edilmektedir (Kranl ve ark. 2005). Çünkü sentetik antioksidanların karsinojenik etkileri başta olmak üzere çeşitli toksik etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuşur (Ito ve ark. 1986). Bu yüzden doğal antioksidan kaynaklarının tespit edilmesi oldukça büyük önem taşımaktadır. Doğal antioksidanların alımının kanser, kardiovasküler hastalıklar diabet gibi diğer hastalıklar ve yaşlanma riskinin azaltılması ile ilgili olduğuna dair bilgiler mevcuttur (Hertog ve ark. 1995).

Yapılan çalışmalarda bitkisel ekstraktların antioksidan kapasitelerinin sentetik antioksidanlardan daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Pokorny 1991). Bitkilerin bu antioksidan etkinliği, yapısındaki sekonder metabolitlerin miktarıyla yakından ilişkilidir. Bu metabolitlerin miktarı bireysel (morfogenetik, ontogenetik ve ekolojik faktörler), genetik ve genom farklılıklarından dolayı bitkiden bitkiye değişmektedir (Sellapan ve ark. 2002).

Yağlar insan ve hayvanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Vücutta enerji kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra, yağlar yağda eriyen vitaminlerin emilmesi, esansiyel yağ asitleri kaynağı olması, hücre membranlarının yapısında yer alması ve eikosanoid sentezinde de ön madde olarak fonksiyon göstermesi bakımından önemlidir (Murray ve ark. 2004). İnsanlar için oldukça önemli olan yağların en önemli kaynaklarından birisi de bitkilerdir. Bitkisel yağlar sahip oldukları yağ asitlerinin çoğunlukla doymamış yağ asitleri olmasından dolayı insan sağlığı için oldukça büyük öneme sahiptir ve bu nedenle günümüzde özellikle bitkilerin yağ asidi bileşimi belirlenmesine yönelik çalışmalar bu yönleriyle oldukça dikkat çekicidir.

Türkiye'nin ekolojisindeki büyük farklılıklara bağlı olarak tıbbi ve aromatik bitkilerin çeşitliliği oldukça fazladır. Fitocoğrafik olarak Anadolu'nun konumu ve tür endemizminin yüksek oluşu da bu bitki çeşitliliğini sağlamıştır. Ülkemizde doğal

olarak yaklaşık 9000 kadar bitki türü yayılış göstermektedir ve endemik bitki oranı %34'tür (Kaya ve Aksakal 2005). Avrupa ülkeleriyle karşılaştırıldığında bu oranın çok yüksek olduğu görülmektedir. Avrupa'da endemik tür sayısı 2800'dür (Ekim 2006).

Türkiye florasının en büyük familyası olarak 1186 türle temsil edilen Asteraceae (Compositae) familyası kabul edilmektedir. Bu familyaya ait *Centaurea* cinsi dünya üzerinde yaklaşık 500 türle, Türkiye'de ise yaklaşık 179 türle temsil edilir ve bunun yaklaşık 111 tanesi endemiktir (Wagenitz 1975). *Centaurea* bu sayı ile *Astragalus* ve *Verbascum*'dan sonra en fazla endemik tür içeren üçüncü cins konumundadır (Uzunhisarcıklı ve ark. 2005). Bitkinin toprak üstü kısımları peygamber çiçeği, zerdali dikeni, çoban kaldıran, timur dikeni, boğa dikeni gibi isimlerle anılmaktadır. *Centaurea* cinsine ait birçok tür uzun zamandan beri geleneksel tıpta kullanılmış ve hala çok sayıda tür Anadolu'da halk hekimliğinde kullanılmaktadır (Baytop 1999).

Bu tez çalışmasında Türkiye florası açısından oldukça önemli olan *Centaurea* cinsine ait altı türün biyokimyasal özelliklerinin araştırılarak bu türlerin farmakolojik ve sağlık açısından önemlerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir (Halliwell 1991).

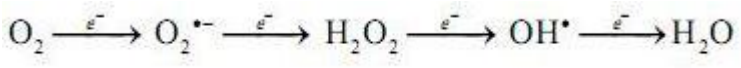
Serbest radikaller genellikle kararsız bir yapıya sahiptir ve bazı maddelerle kolayca reaksiyona girerek toksik etkisi yüksek yeni bileşikler meydana getirebilirler (Abe ve Berg 1998).

Oluşan bu radikaller;

1- Serbest oksijen radikalleri
   a. Süperoksit radikali ($\cdot O_2^-$)
   b. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)
   c. Peroksil radikali
   d. Alkoksil radikali
   e. Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2)
2- Serbest azot radikalleri
   a. Nitrik oksit
   b. Nitrojendioksit
3- Serbest klor radikalleri olarak sınıflandırılabilir.

Canlı organizmalarda bu serbest radikallerin büyük çoğunluğunu serbest oksijen radikalleri oluşturur. Serbest oksijen radikalleri özellikle oksijenli solunum sırasında elektronların son elektron alıcısı olan oksijene taşınması sırasında teşekkül eder. Oksijen tam olarak indirgendiğinde meydana gelen son ürün sudur. Ancak oksijen tam olarak indirgenemez ise serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit, iki elektron

alarak indirgenmesi ile hidrojen peroksit, üç elektron alarak indirgenmesi ile hidroksil radikali oluşur (Winston 1991).



Serbest radikallerin oluşumu oksidasyon süreci gibi endojen kaynaklı olabileceği gibi başlıca sigara, alkol, çevresel kirlenme, ozon ve ilaçlar gibi ekzojen kaynaklı da olabilir. Serbest radikaller doku hasarı ve patolojik olgularda önemli rol oynamaktadır. Tüm radikallerin biyolojik sistemlerde birikmesi oksidatif zararlara neden olur (Şekil 2.1). Aerobik koşullarda aşırı doymamış yağ asidi içeren lipitler, proteinler, nükleik asitler ve karbohidratlar serbest radikallerin rol oynadığı reaksiyonlarla okside olurlar. Bu durum kanser başta olmak üzere kalp hastalıkları, artrit, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olmaktadır (Hou ve ark. 2003). Serbest radikaller aynı zamanda gıdaların bozulmasını ve besinsel içeriği azaltarak kalitesini etkilemektedir (Vichi ve ark. 2001).

Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir. Oksidatif zararla parçalanmış kan hücrelerinin arter duvarına yapışması ve kolesterolun yükselmesi arterlere zarar vermektedir. Bu oluşumların tümü damar sertliğinin ilerlemesine sebep olmaktadır. Daha ileri safhalarda ise kalp ile beyne giden kan ve oksijen azalmakta oksijenden mahrum kalan dokular hastalığın gelişimini ve kalp krizi risk artırmaktadır. Serbest radikaller aynı zamanda hücrenin genetik materyali olan DNA'yı da etkilemektedir. Hücrelerin genetik kodları değiştiğinde ölmekte, aşırı hücre ölümü ise erken yaşlanmaya yol açmaktadır. Ayrıca hücrelerin genetik kodları değiştiğinde kanser ve benzeri hastalıkları destekleyen hücre grupları meydana gelebilmektedir (Floyd 1990).



Şekil 2.1. Serbest radikallerin oluşumu ve etkileri (Lachance ve ark. 2001)

Bununla birlikte aerobik organizmalarda bu oksidatif hasara karşı koruyucu bir sistem mevcuttur. Bu sistem süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimleri içermektedir (Fridovich 1995). Bu doğal koruyucu sistem ile serbest radikallerin zararlı etkileri en aza indirgenmektedir ancak bazı dış faktörler bu dengeyi bozmaktadırlar. Eğer bu enzim sistemi serbest radikalleri tamamen etkisiz hale getiremez ise bu durumda diet ile antioksidanların alımı oldukça büyük önem kazanmaktadır (Halliwell 1994).

Oksidatif stres, antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki dengenin bozularak oksidanların hasara yol açması olup bu durum ise yaşlanma ve çeşitli hastalıklara yol açar. Modern batı tıbbında antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki denge sağlıklı biyolojik sistemlerde sürdürülen kritik bir durum olarak kabul edilmektedir (Ahmad 1995). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi yaşamı tehdit eden serbest radikalleri reaktif olmayan forma çevirirler.

Antioksidan teriminin çok sayıda tanımı olmasına karşılık genel olarak serbest radikalleri nötralize ederek oksitlenebilir substratların oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren moleküllerdir (Antolovich ve ark. 2002). Antioksidanlar genel olarak doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Sentetik antioksidanlar ticari olarak üretilmektedir bunlar BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), TBHQ (tersiyerbutil hidrokinon) ve PG (propilgallat)' dir. Doğal antioksidanların en önemlileri ise tokoferoller, askorbik asit, flavonoidler, fenolik asitler, karetonoidler, polifenoller ve selenyumdur. Son

zamanlarda özellikle sentetik antioksidanların toksik etkilerine bağlı olarak bu doğal antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır (Jadhav ve ark. 1996).

Antioksidanlar etkilerini dört yolla gösterirler. Bunlar:

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidan molekülleri daha zararsız olan moleküllere dönüştürerek fonksiyon gösterirler.

2. Söndürme etkisi (Quеching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirirler.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Oksidan molekülleri kendilerine bağlayarak etkisiz hale getirirler.

4. Onarma etkisi (Repair): Hasara uğramış olan biyomolekülü onararak oksidan moleküllerin zararlı etkilerini ortadan kaldırır (Gökpınar ve ark. 2006).

Yapılan çalışmalarla serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve antioksidan bileşiklerin sadece insan sağlığı üzerine olumlu etkiler yapmadığı aynı zamanda gıdaların raf ömrünü uzattığı belirtilmektedir. BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanların çok etkili olmaları ve gıdaların işlenmesi sırasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen bunların insan sağlığı için toksik ve bazı yan etkileri vardır (Ito ve ark. 1986). Bu sebeple doğal antioksidan kaynağı olarak bitkilerin araştırılması oldukça ilgi çekicidir.

Bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin esas kaynağını oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar bitki ekstraklarının antioksidan kapasitelerinin sentetik antioksidanlardan daha güçlü olduğunu ortaya koymuştur (Bandoniene ve ark. 2002). Bu duruma uygun olarak diyette yüksek düzeyde sebze ve meyve tüketiminin dejeneratif hastalıklara örneğin kanser ve koroner kalp hastalıklarına yakalanma ve ölüm oranlarında azalışa neden olduğu belirtilmektedir (Doll 1990).

2.2. Fenolik Bileşikler

Bitkisel ekstrakların antioksidan özelliklerinin gösterilmesi insan sağlığı açısından olduğu kadar, gıda bileşeni ve farmakolojik açıdan da oldukça ilgi çekicidir. Bitkiler aleminde antioksidanlar geniş bir dağılıma sahiptir. Bununla birlikte bunların çoğundan faydalanabilmek için yeterli bilgi yoktur. Bitki sekonder metabolitleri içinde antioksidan fenolik bileşikler genellikle çeşitli meyveler, sebzeler ile otlarda bulunur ve serbest radikaller ile okside edici ajanların neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağlar (Matkowski 2006). Çok sayıda bitkisel infüzyonlar fenolik bileşiklerden özelliklede fenolik asitler ve flavonoidlerden dolayı antioksidan ve farmakolojik özelliklere sahiptir ve sıklıkla halk hekimliğinde kullanılmaktadır. Polifenollerin oksidatif bozulmaya karşı yağ asitlerini koruma yetenekleri olduğu bilinmektedir ve örneğin rosmarinik asitten zengin bitkiler değerli gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır.

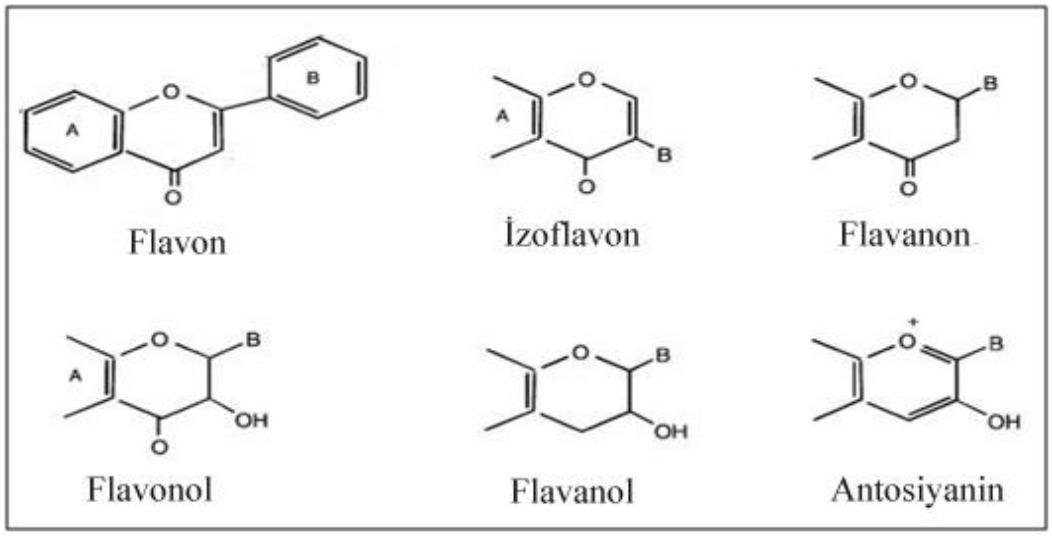
Bitkisel fenolik maddeler insan sağlığı açısından olduğu kadar bitkiler açısından da oldukça önemlidir. Özellikle bitkilerin mikrobial ataklara karşı koymasında bu bileşikler büyük öneme sahiptir. Bitkisel polifenoller aromatik hidroksilli bileşikler olup diette bulunan biyolojik etkinliğe sahip en güçlü bileşiklerdir (Bennick 2002).

Son zamanlarda doğal antioksidanlar bilimsel araştırmaların odak noktalarından biridir (Demo ve ark. 1998). Sentetik antioksidanlar konusundaki kaygılar ve doğal antioksidanların etkinliği, meyveler, baharatlar ve sebzeler gibi elde edilebilir doğal antioksidan kaynaklarına olan ilgiyi artırmıştır. Bu durumun sonucu olarak doğal antioksidan kaynakları tercih edilmektedir.

Sekiz binin üzerinde doğal olarak meydana gelen fenolik bileşik bilinmektedir (Balasundram ve ark. 2006). Bu bileşikler en azından bir aromatik halka ile buna bağlı bir veya daha fazla –OH grubu ile ek diğer grupları içermektedir ve bunlar çok sayıda yapısal sınıfa ayrılabilir (Harborne ve Simmonds 1964). Bu sınıfların başlıcaları şu şekilde gruplandırılabilir; C_6 basit fenoller (resorsinol), C_6-C_1 fenolik asitler (p-hidroksibenzoik asit), C_6-C_2 asetofenon ve fenilasetik asit, C_6-C_3 hidroksisinnamik asit (kaffeik asit), C_6-C_4 hidroksiantrakinonlar, C_6-C_2-C_6 stilbenler

(resveratrol), C_6-C_3-C_6 flavonoidler (kuersetin), $(C_6$-$C_3)_2$ lignanlar (mateiresinol), $(C_6$-C_3-$C_6)_2$ bioflavonoidler (agatisflavon), $(C_6$-$C_3)_n$ ligninler, $(C_6$-C_3-$C_6)_n$ ve taninler (prosiyanidin) (Robards ve Antolovich 1997).

Flavonidler bitkiler aleminde geniş bir dağılıma sahip olup oldukça önemli fenolik bileşikleridir. Genel olarak halkasal yapı ve özel hidroksil grupları içermektedir. Flavonoidler yapılarına göre altı grupta toplanabilirler (Şekil 2.2). Bunlar: Flavanollar, Flavononlar, Flavonollar, Flavonlar, İzoflavonlar ve Antosiyaninlerdir (Feredioon ve ark. 1992, Rice Evans ve ark. 1996).



Şekil 2.2. Flavonoid grupları

Kimyasal olarak flavonoidlerin güçlü antioksidan özellikleri üç özellikten kaynaklanır; aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler. Bu sayede serbest radikalleri yok edebilirler. Aromatik heterosiklik ve çoklu doymamış bağlardan oluşan yapılarıyla dayanıklı bir kimyasal yapı oluştururlar. Metal şelatlama kapasitesine sahip yapısal grupları vasıtasıyla hidroksil ve süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl 2003, Naczk ve Shahidi 2004).

Yapılan çalışmalarda fenolik bileşiklerin lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde kısıtladığı belirtilmektedir. LDL, plazmadan arterlere girerek oksidatif strese bağlı olarak lokal olarak okside olmaktadır. Çeşitli antioksidanlar özellikle LDL oksidasyonunu engelleyerek kalp krizine yakalanma ve ölüm riskinin azaltılmasında

görev almaktadır. Yapılan çalışmalarda sebze ve meyvelerin tüketimi ile koroner kalp rahatsızlıklarının ters orantılı olduğu belirtilmiştir ve bu durumunun bitkilerde bulunan antioksidan vitaminler ile diğer antioksidan maddelerden kaynaklandığı belirtilmektedir. Yine yapılan epidemiyolojik çalışmalar Akdeniz dietinin kardiovasküler hastalıkların ve bazı kanser türlerinin görülme oranındaki düşüklükle bağlantılı olduğunu göstermiştir (Artajo ve ark. 2006).

Fenolik asitlerin antimutagenik, antiproliferatif ve antikarsinojenik etkileri rapor edilmiş olup besinsel antioksidanlar olmalarından dolayı da alımları oldukça önemlidir (Shahidi ve Naczk 1995). Örneğin, ferrulik asit antioksidan ve antiinflamatuvar etkili olup ayrıca karsinogeneze karşı katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Ou ve Kwok 2004).

Bitkilerden türevlenen gıdalarının çeşitli hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda kanseri inhibe etme özelliğinde olduğu tespit edilmiştir (Pezzuto 1997). Yapılan çalışmalar sebze ve meyvelerden zengin dietin (günlük 400 g'dan fazla) genel olarak kanser riskini yaklaşık olarak %20 daha azaltabileceğini göstermiştir. Sebze ve meyvelerin tüketiminin farinks, özofagus, mide, kolon, rektum, gibi gastrointestinal kanserler riskini azaltması ile ilgili de çok sayıda kanıt mevcuttur. Bu duruma uygun olarak dünya genelinde birçok ülkede tedavi yöntemleri çeşitli dozlarda farmakolojik ve fizyolojik etkilerinden dolayı bitkisel ürünlere dayanmaktadır (Kondratyuk ve Pezzuto 2004).

2.3. Antioksidan Kapasite Tayin Metotları

Bitkilerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Antioksidan kapasite için çok sayıda metot olmasına rağmen kullanışlı ve antioksidan kapasiteyi tümüyle yansıtan standart bir metot henüz geliştirilememiştir.

Bitkilerde antioksidan kapasite, test sisteminin şartları ve ekstrakların komposizyonu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Araştırıcılar bu yüzden bitkilerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi

çalışmalarında tek bir metotun antioksidan kapasiteyi tümüyle yansıtmadığını ve birkaç farklı antioksidan kapasite tayin metodu kullanarak bu durumun doğrulanması gerektiğini belirtmektedirler (Wong ve ark. 2006). Günümüzde kullanılan antioksidan kapasite tayin testleri genellikle serbest radikalleri içermektedir. Kullanılan serbest radikalin özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (Prakash 2001).

Antioksidan kapasite tayin testleri genel olarak elektron transferine dayalı testler ile hidrojen atomu transferine dayalı testler olarak gruplandırılır. Elektron transferine dayalı testler antioksidan ile oksidanın reaksiyonunda oksidanın indirgenmesi sonucu oluşan renk değişimi esasına dayanır. Elektron transferine dayalı testlere Folin-Ciocalteu ve DPPH yöntemleri örnek olarak verilebilir ve bu testlerin esası aşağıdaki reaksiyonda özetlenebilir:

$$\text{Oksidan} + e^{-}(\text{antioksidan'dan}) \longrightarrow \text{İndirgenmiş oksidan} + \text{okside olmuş antioksidan}$$

Hidrojen transferine dayalı testlerde ölçüm, antioksidanların hidrojen atomu vererek serbest radikalleri yakalama aktivitesine dayanmaktadır. Bu testlerin mekanizması ise peroksit radikallerinin antioksidan ve substrat arasında kompetitif bir reaksiyon göstermesi şeklindedir ve şu şekilde özetlenebilir:

$$ROO + ArOH\ (\text{fenolik bileşik}) \longrightarrow ROOH + ArO$$

β karoten/linoleik asit emülsiyon yöntemi hidrojen transferine dayalı testlere örnektir (Apak ve ark. 2007).

2.3.1. Folin-Ciocalteu yöntemi (Toplam fenolik madde tayini)

Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler antioksidan kapasiteye katkıda bulunan en önemli bileşiklerdendir (Apak ve ark. 2007). Folin-Ciocalteu metodu bitkisel ekstraktların toplam fenolik madde içeriğini ortaya koymaktadır. Yöntemde suda ve organik çözücülerde çözünmüş olan fenolik bileşiklerin folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleksler oluşturması esasına dayanır (Singleton ve Rossi 1965).

Metot kolaylığı, tekrarlanabilirliği ve diğer metotlarla gösterdiği korelasyondan dolayı oldukça sık uygulanmaktadır. Ancak folin reaktifini sadece fenolik maddeler indirgemezler, nonfenolik bir grup bileşik de indirgeyebilir. Bu nedenle bu metot spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir. Bu duruma uygun olarak metotun total fenolik içeriği tümüyle yansıtmadığı belirtilmektedir. Metot sonuçları standart bir fenolik madde, genellikle de gallik asit ve kateşine eş değer olarak verilmektedir.

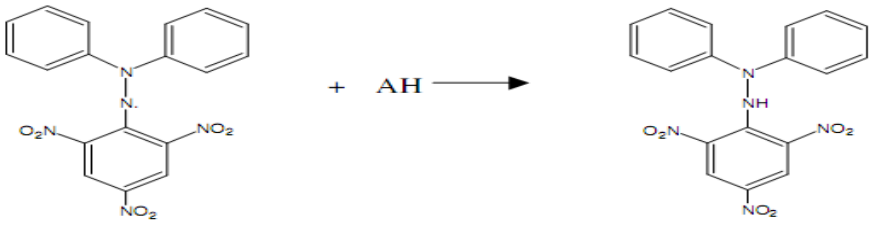
2.3.2. Total antioksidan kapasite testi (Fosfomolibdat testi)

Bu metot aynı zamanda fosfomolibdat metodu olarak da isimlendirilir. Metodun esası fenolik bileşiklerin asidik ortamda Mo (VI)'yı Mo (V)'e indirgemesi ve bunu takiben oluşan yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır. Oluşan bu kompleks 695 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. Bu testin sonuçları antioksidan etkinliği bilinen maddelere eşdeğer olarak (mg/g, mg/ml) verilmektedir. Bu amaçla özellikle askorbik asit ve α-tokoferol kullanılmaktadır. Bu metot özellikle basitliği ve kullanılan reaktiflerin ucuzluğundan dolayı total antioksidan kapasitenin tayininde alternatif bir metot olarak kullanılmaktadır (Prieto ve ark. 1999).

2.3.3. DPPH yöntemi (Serbest radikal süpürme etkinliği)

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) azot köprüsünde eşleşmemiş bir elektron taşıyan stabil bir serbest radikaldir (Eklund ve ark. 2005). DPPH metodu, DPPH'ın kullanıldığı bir metottur. Yöntemde antioksidan kapasitesi tayin edilecek ekstrakta DPPH çözeltisi ilave edilir. DPPH serbest radikali bir hidrojen aldığı zaman sarı renkli difenilpikrilhidrazine dönüşür. DPPH çözeltisine antioksidan ilave edildiğinde absorbansda bir düşüş meydana gelir ve renk sarıya döner. Yöntemin sonunda IC_{50} adı verilen ve ekstrakın DPPH radikalinin yarısını süpürebildiği konsantrasyon elde edilir. Bu IC_{50} değeri ekstrakların serbest radikal süpürme etkinliğini gösterir (Brand-

Williams ve ark. 1995). IC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin oldukça güçlü olduğunu gösterir.



Difenilpikrilhidrazil (DPPH) Radikali Difenilpikrilhidrazin

DPPH yöntemi antioksidanların radikalleri süpürme kabiliyetlerini gösteren kolay ve geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Sanchez ve ark. 1998). Ancak metot reaktif oksijen ve azot türlerinin fizyolojik şartlarda süpürülme yeteneğini bire bir yansıtmaz.

2.3.4. CUPRAC testi

Antioksidan kapasite tayin testlerinden bir diğeri de bakırın kullanıldığı CUPRAC metotudur. Metodun esası Cu (II)'nin Cu (I)'e indirgenmesine dayanmaktadır. CUPRAC metodunda fenolik bileşiklerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neukuproin kompleksine indirgenmesine bağlı olarak antioksidan kapasite tayin edilmektedir. Bu durum aşağıdaki reaksiyonda özetlenmektedir:

$$Cu(Nc)_2^{+2} + Ar(OH)_n \rightleftharpoons nCu(Nc)_2^{+} + Ar(=O)_n + nH^{+}$$

Metotun uygulanmasında Cu (II) klorür çözeltisi %96'lik etil alkolde hazırlanan neokuproin çözeltisi, amonyum asetat ve analiz edilecek ekstrakt çözeltisi son hacim 4.1 ml olacak şekilde hazırlanır ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon sonucunda 450 nm'de absorbsiyonları okunur. Bu metot hem suda hem de yağda eriyen antioksidan bileşiklerin fizyolojik pH şartlarında bakır(II)-Nc kompleksini bakır(I)-Nc kompleksine indirgemesi bakımından son zamanlarda oldukça fazla kullanılan bir metottur. Ayrıca reaksiyonun fizyolojik pH'a oldukça yakın pH'da

gerçekleşmesinden dolayı metodun sonuçlarının fizyolojik koşulları yansıtma olasılığı oldukça fazladır (Apak ve ark. 2007).

2.3.5. β-karoten/linoleik asit emülsiyon sistemi

β-karoten/linoleik asit sistemi yüksek sıcaklıkta linoleik asitin oksidasyonu sırasında meydana gelen peroksit radikallerinin β-karoten molekülünde renk açılımına neden olması durumuna dayanır (Taga ve ark. 1984). Ölçümler sonucunda linoleik asidin oksidayonunu inhibe etme oranının yüksek olması bu numunenin güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu gösterir. β-karoten/linoleik asit sistemi esas olarak hidrojen transferine dayanan antioksidan kapasite testlerinden biri olup çözücü ve pH'dan etkilenmeden oldukça kısa sürede gerçekleşmektedir (Apak ve ark. 2007).

2.3.6. İndirgeme gücü

Antioksidan kapasite tayininde kullanılan diğer bir metot olan indirgeme gücünde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir. Metotta asidik ortamda antioksidan fenolik bileşiklerin [$K_3Fe(CN)_6$] içindeki Fe (III)'ün Fe(II)'ye indirgenmesine dayanmaktadır. İndirgeme reaksiyonu sonucu oluşan Prusya mavisi renkli kompleks 700 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. Antioksidan maddelerin etkinliğine bağlı olarak Prusya mavisi renk yeşil ile mavi arasında değişmektedir. Absorbansın artması indirgeme gücünün yüksekliğini gösterir (Mathew ve Abraham 2006).

2.4. Bitkisel yağlar

Karbohidrat, protein ve yağlar organizmada yapının teşekkülü ile hayatın sürdürebilmesi için çok önemli enerji eldesinde kullanılan biyomoleküllerdir. Yağlar doğal olarak meydana gelen suda çözünmeyen lipit adı verilen bir gruba ait bir organik bileşiktir. Bunlar suda çözünmemesine karşılık eter, kloroform, benzen gibi organik çözücülerde çözünmektedir. Dünyadaki yağların büyük çoğunluğu bitkisel

kaynaklı (%68.1) olup geri kalan kısmın ise hayvansal kaynaklı (%32) olduğu belirtilmektedir (Fox ve Cameron 1984).

Yağlar, insan ve hayvanların diyetlerinde oldukça önemli bir bileşendir. Yağlar birim ağırlıkta en yüksek enerjiyi veren biyomoleküllerdir ve organizmada enerjinin ekonomik bir biçimde depolanmasında görevlidir. Sadece yüksek enerji kaynağı olmayıp yağda çözünen vitaminleri bulundurarak ve bunların emilmesinde görev almaları, lipoproteinleri oluşturmaları ve kan lipit düzeylerinde rol oynamaları diğer önemli fonksiyonlarındandır. Ayrıca organizmada sentezlenemeyen ancak alınması zorunlu olan esansiyel yağ asitlerinin kaynağı olması bakımından da ayrıca öneme sahiptir.

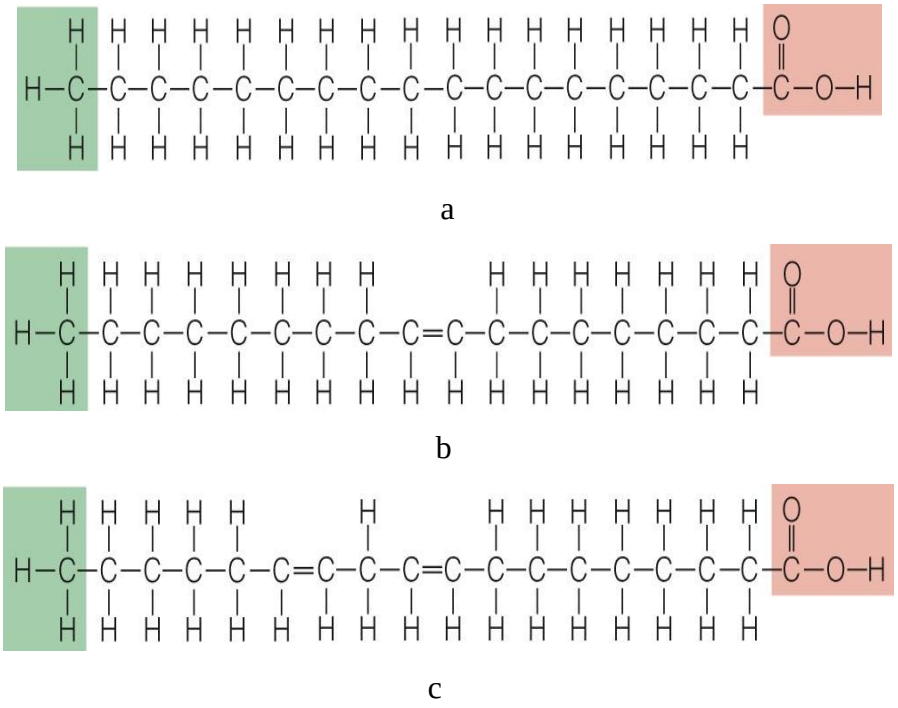
Yağı meydana getiren temel öğeler gliserol ve yağ asitleridir. Bu öğelerden gliserol her zaman aynı özellikte olduğu için bir yağın özellikleri yağ asitlerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Yağlarda yağ asitlerinin dağılımı, pozisyonu, niteliği ve tipi lipitin kimyasal, fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini belirler. Yağ asidi, karboksil grubu (-COOH) ihtiva eden düz bir hidrokarbon zincirinden meydana gelmiştir. Yağ asitleri hidrokarbon zincirini meydana getiren karbon atomların sayılarına, karbon atomları arasında doymamış bağ bulunup bulunmamasına, doymamış bağ varsa yeri ve sayısı gibi özellikler açısından birbirlerinden farklıdırlar.

Yağ asitleri genel olarak doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki şekilde gruplandırılmaktadır (Şekil 2.3).

Doymuş yağ asitleri: Karbon atomları arasında tek bağdan oluşan hidrokarbon zincirine sahip (Nas ve ark. 2001) ve genellikle katı olan yağ asitleridir. Laurik asit (C 12:0), miristik asit (C 14:0), palmitik asit (C 16:0), stearik asit (C 18:0) bitkisel yağların önemli doymuş yağ asitleridir.

Doymamış yağ asitleri: Hidrokarbon zinciri üzerinde karbon atomları arasında bir veya daha fazla sayıda çift bağ içeren yağ asitleridir. Bu yağ asitleri yapısında bulunan çift bağın sayısına bağlı olarak ikiye ayrılır. Yapılarında bir çift bağ içeren doymamış yağ asitlerine tekli doymamış yağ asitleri veya monoenoik yağ asitleri adı verilir. Zeytin, kolza, kabuklu yemişlerin yağları tekli doymamış yağ asitlerince zengindir. Yapısında birden fazla sayıda çift bağ ihtiva eden doymamış yağ asitleri ise çoklu doymamış yağ asitleri veya polienoik yağ asitleri şeklinde adlandırılmaktadır. Bu gruba giren linoleik asit (C 18:2 ω6), linolenik asit (C 18:3

ω3), arakidonik asit (C 20:4 ω6) esansiyel yağ asitleri şeklinde nitelendirilmekte ve insanlar tarafından sentezlenemeyip dışarıdan mutlaka alınmaları gerekmektedir.



Şekil 2.3. a) Doymuş bir yağ asidi b) Tekli doymamış bir yağ asidi c) Çoklu doymamış bir yağ asidi

Bugün klinik ve epidemiyolojik çalışmalar birçok kronik hastalığın diyetteki yağ asidi tipine bağlı olduğunu göstermiştir (WHO 2003). Diette tüketilen yağ asitleri kardiovasküler hastalıklar, kanser, diabet ve dejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunan önemli bir faktördür. Doymamış yağ asitlerinin tüketiminin artışı ile doymuş ve trans yağ asitlerin azaltılması ile sağlık arasında pozitif bir bağıntı vardır (Lemaitre ve ark. 2006). Aşırı doymamış yağ asitlerini doymuş yağ asitlerinden daha fazla içerdiğinden bitkilerin yağ asidi komposizyonu sağlıklı olarak kabul edilir. Aşırı doymamış yağ asitleri içerisinde ω3 ve ω6 yağ asitleri olarak bilinen önemli yağ asitleri mevcuttur. ω6 yağ asitlerinin ana kaynağı özellikle linoleik asit içeren mısır ve soya fasulyesi yağları gibi bitkisel yağlardır.

ω3 yağ asitleri ise keten tohumu, ceviz ve özellikle planktonlar ile yağlı balıklar gibi su ürünlerinde bulunur (Stoll 1999).

ω6 yağ asitleri organizmada oldukça önemli rolleri olan eikosanoidlerin öncül molekülü olması bakımından önemlidir. ω3 yağ asitleri balık yağlarının karakteristik yağ asitleri olup büyüme ve gelişmede, beyin gelişiminde, kardiovasküler hastalıkların önlenmesinde büyük öneme sahiptirler. Balıklar ve diğer deniz ürünleri bu yağ asitlerinin önemli kaynakları olmasına rağmen diğer kaynakların bulunması da oldukça dikkat çekicidir (Friedmann ve ark. 2006). Bu duruma bağlı olarak özellikle bitkilerin yağ asidi komposizyonun tespitine yönelik çalışmalar oldukça hız kazanmıştır. Bitkilerinin yağ asitleri kompozisyonunun da sabit olmayıp; genetik, ekolojik, morfolojik, fizyolojik ve kültürel faktörlere bağlı olarak değiştiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Baydar 2000).

2.5. Asteraceae Familyası ve *Centaurea* Cinsi

Türkiye, ikliminin ılıman olması, üç floristik bölgesinin ortasında bulunması ve yükselti farklarının fazla olması gibi faktörlere bağlı olarak zengin bir bitki biyoçeşitliliğine sahiptir. Türkiye'de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısının Avrupa kıtasının tamamında yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına çok yakın olduğu ve bu bitki türlerinin büyük kısmının da endemik olduğu belirtilmektedir (Erik ve Tarıkahya 2004**).** Türkiye florasında 63 familyaya ait yaklaşık 3000 endemik bitki türü bulunmaktadır ve Türkiye florasının endemizm oranı yaklaşık %34 civarındadır (Kaya ve Aksakal 2005).

Ülkemizde yaklaşık 133 cins ve 1186 tür içeren Asteraceae familyası Türkiye florasının en fazla tür ihtiva eden familyası olup dünyada yaklaşık 1535 cins ve 23000 tür ile tohumlu bitkilerin en geniş familyalarındandır (Uysal 2006). Familyanın bu özelliği türlerin ekolojik hoşgörülerinin yüksek olması ve tohumlarının kolayca dağılmasına bağlı olarak oldukça geniş sahalara yayılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu familya yaklaşık 430 endemik türü ile ülkemizde en fazla endemik tür ihtiva eden familya konumundadır (Seçmen 1996).

Asteraceae familyasının *Centaurea* cinsi dayanıklı, otsu, tek, iki veya çok yıllık yaklaşık 500 tür içerir ve Asya, Avrupa ve Kuzey Amerikanın birçok kısmında dağılım gösterir (Clapham ve ark. 1952). Ülkemizde bu cins 179 türle temsil edilir ve bu türlerden 111 tanesi endemik olup endemizm oranı %61'dir. Bu endemizm oranı ile Türkiye florasında bünyesinde en çok endemik tür bulunduran 3. cins konumundadır ve bu durum bitkinin gen merkezinin Türkiye olduğunun bir göstergesidir. Bu cinse ait birçok tür geleneksel halk hekimliğinde kullanılmaktadır. Örneğin, *C. drabifolia, C.pulchella* ve *C. solsitalis* abse, hemoroid ve soğuk algınlığı tedavisinde,*C. aspera* kan şekerini düşürücü, *C. behen* sarılık tedavisinde ve afrodizyak olarak, *C.calcitrapa* diüretik, temizleyici, tonik etkili ve sarılık ile soğuk algınlığı tedavisinde, *C.cyanus* ise diüretik, kan durdurucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, *C. acaulis, C. centaurium, C. cyanus, C. monantha, C. nigra, C. salonitana* ve *C. scabiosa* anti-kanser ve anti-tümor özelliklere sahiptir (Grieve 2002, Sezik ve ark. 2001). *Centaurea* cinsine ait bazı türlerin çeşitli kısımlarının fitokimyasal ve biyolojik aktiviteleri bilimsel çalışmalarla ortaya konulmuştur (Sarker ve ark. 1997).

Centaurea cinsine ait bazı türlerin halk hekimliğinde bu şekilde yoğun olarak kullanılmasından dolayı bu cinse ait olan diğer türlerin biyolojik özelliklerinin tespiti bu bakımdan oldukça dikkat çekicidir. Ayrıca bu türlerin etken maddelerinin izole edilerek farmakolojik olarak değişik amaçlarla kullanılan hazır ürünler halinde üretilebileceği belirtilmektedir (Arif ve ark. 2004).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışmada Kullanılan *Centaurea* Türleri ve Özellikleri

Çalışmada kullanılan *Centaurea* türleri Konya ve çevresi ile Ankara (Gölbaşı)'dan çiçeklenme dönemlerinde toplanılmıştır. Bu türlerin üç tanesi endemik olup özellikleri aşağıda verilmiştir (http://www.eski.tubitak.gov.tr/tubives).

1. *Centaurea drabifolia* Sm. subsp. *detonsa* (Bornm.) Wagenitz

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Haziran
Son çiçeklenme zamanı	Ağustos
Habitat	Kayalar, çalılık, taşlık yamaç, step
Minimum yükseklik	800
Maksimum yükseklik	1900
Endemik	Endemik
Element	?
Türkiye dağılımı	Orta Anadolu
Genel dağılımı	Türkiye

2. *Centaurea kotschyi* (Boiss. et Heldr.) Hayek var. *persica* (Boiss.) Wagenitz

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Haziran
Son çiçeklenme zamanı	Ağustos
Habitat	?
Minimum yükseklik	980
Maksimum yükseklik	1480
Endemik	-
Element	İran-Turan
Türkiye dağılımı	Orta Anadolu
Genel dağılımı	İran

3. *Centaurea patula* DC.

Ömür	Tek yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Mayıs
Son çiçeklenme zamanı	Temmuz
Habitat	Step, tarla
Minimum yükseklik	400
Maksimum yükseklik	1400
Endemik	-
Element	İran-Turan
Türkiye dağılımı	Karasal Anadolu
Genel dağılımı	Kuzey İran

4. *Centaurea pulchella* Ledeb.

Ömür	Tek yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Mayıs
Son çiçeklenme zamanı	Temmuz
Habitat	Step, nadas tarla
Minimum yükseklik	900
Maksimum yükseklik	1900
Endemik	-
Element	İran-Turan
Türkiye dağılımı	Karasal Anadolu
Genel dağılımı	Transkafkasya, İran, Afganistan, Orta Asya

5. *Centaurea tchihatcheffii* Fisch. et Mey.

Ömür	Tek yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Mayıs
Son çiçeklenme zamanı	Haziran
Habitat	Step, tarla
Minimum yükseklik	900
Maksimum yükseklik	1000
Endemik	Endemik
Element	?
Türkiye dağılımı	Orta Anadolu
Genel dağılımı	Türkiye

6. *Centaurea urvillei* DC. subsp. *hayekiana* Wagenitz

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
İlk çiçeklenme zamanı	Haziran
Son çiçeklenme zamanı	Temmuz
Habitat	Kayalık yamaç, step
Minimum yükseklik	900
Maksimum yükseklik	2000
Endemik	Endemik
Element	İran-Turan
Türkiye dağılımı	Doğu Anadolu, Güney Doğu Anadolu
Genel dağılımı	Türkiye



Şekil 3.1. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*
http://ww2.bgbm.org/herbarium



Şekil 3.2. *C. kotschyi* var. *persica*
http://ww2.bgbm.org/herbarium



Şekil 3.3. *C. patula*
http://ww2.bgbm.org/herbarium



Şekil 3.4. *C. pulchella*
http://ww2.bgbm.org/herbarium



Şekil 3.5. *C. tchihatcheffii*



Şekil 3.6.*C. urvillei* subsp. *hayekiana*

3.2. Bitkisel Ekstrakların Hazırlanması

Bitkisel örnekler toplanıp gölgede kurutulduktan sonra değirmende iyice toz haline getirildi. Toz haline gelen örneklerden yaklaşık 15 g tartılıp öncelikle yağından arındırılması için sokslet aparatında 6-8 saat süreyle dietil eter ile ekstraksiyona tabii tutuldu. Elde edilen yağ, bitkilerin yağ asidi komposizyonun belirlenmesinde kullanıldı. Yağından arındırılmış olan bitkisel örnekler literatürlerde en sık karşılaşılan çözücü olan metanol ile manyetik karıştırıcıda 40°C antioksidan kapasite testleri için ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işleme metanol tamamen renksiz hale gelinceye kadar devam edildi ve ilk olarak 3 saat sonunda daha sonra ise her saat başı olmak üzere karışım süzüldü. Süzüntüler birleştirildi ve daha sonra rotary evaporatorde 40°C'de metanol tamamen buharlaştırıldı. Evaporasyon sonrasında kalan kısım liyofilize şişelerine alındı ve çözücünün tamamen uzaklaştırılması için liyofilize edildi. Daha sonra ele geçen ekstrakt antioksidan kapasite testleri uygulanıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.3. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesinde Uygulanan Metotlar

3.3.1. Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi)

Bitki ekstraklarının konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Bunun için 10 mg bitki tartılıp 10 ml metanolde çözüldü. Standart olarak kullanılacak olan gallik asidin ise 100 µg/ml konsantrasyonu stok olarak hazırlandı ve bu konsantrasyondan seyreltme ile beş farklı konsantrasyon elde edildi. Bitkisel drogların her bir konsantrasyonundan 200 µl ayrı deney tüpülerine alındı. Daha sonra her bir tüpe 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. Ardından her bir tüpe 2 ml %7.5'lik Na_2CO_3 çözeltisinden eklendi ve toplam hacim 7 ml olacak şekilde saf su ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra 765 nm'de absorbansları ölçüldü. Tüm antioksidan kapasite tayin testlerinde spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-1800 spektrofotometre cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Aynı işlemler standart olarak kullanılan gallik asit için de tekrarlandı. Bitkilerin fenolik madde içeriği gallik asit eş değeri olarak verildi (mg GAE/g) (Slinkard ve Singleton 1977).

3.3.2. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Metodun esası Mo(VI)'nın Mo(V)'e indirgenmesi ve asidik ortamda yeşil renkli fosfat/Mo(V) kompleksinin oluşumuna dayanır. Metotta öncelikle bitki ekstraklarının konsantrasyonları 1 mg/ml olacak şekilde çözeltileri hazırlandı. Standart olarak ise askorbik asit 0.5 mg/ml ile 0.0375 mg/ml arasında beş farklı konsantrasyonda kullanıldı. Metotta kullanılacak reaktif çözeltisi aşağıdaki gibi hazırlandı:

0.6 M H_2SO_4 çözeltisi: 0.83175 ml H_2SO_4 alınır ve 24.18825 ml saf su üzerine sızdırılarak ilave edildi

28 mM $Na_2HPO_4.12H_2O$ çözeltisi: 0.025 gr $Na_2HPO_4.12H_2O$ tartılıp hacmi saf su ile 25 ml'ye tamamlandı.

4 mM Amonyum molibdat çözeltisi: 0.123585 gr amonyum molibdat tartılıp hacmi saf su ile 25 ml'ye tamamlandı.

Bu şekilde hazırlanan çözeltiler bir mezürde karıştırılarak reaktif çözeltisi hazırlanmış olur. 1 mg/ml konsantrasyonunda bitkisel çözeltilerden 0.3 ml bir tüpe alınır ve bunun üzerine reaktif çözeltisinden 3 ml eklendi. Tüpler kuvvetlice karıştırılıp 95°C'de 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda çözeltilerin absorbansı 695 nm'de okundu. Aynı işlemler standart antioksidan olarak kullanılan askorbik asit için de yapıldı. Antioksidan aktivite askorbik asit eşdeğeri (mgAE/g) olarak hesaplandı (Prieto ve ark. 1999).

3.3.3. DPPH süpürme etkinliği

Bitkisel drogların farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Bunun için öncelikle 0.4 mg/ml konsantrasyonluk çözelti hazırlandı. Bu konsantrasyon seyreltme ile beş farklı konsantrasyonda çözelti hazırlandı (0.4-0.025 mg/ml). Sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT ise 0.05 mg/ml ile 0.00039 mg/ml konsantrasyonları arasında beş farklı konsantrasyonda hazırlandı. DPPH çözeltisi ise $6x10^{-5}$ M konsantrasyonda hazırlandı ve bundan seyreltme ile kalibrasyon eğrisi için beş farklı konsantrasyon elde edildi.

Farklı konsantrasyonlardaki bu bitkisel çözeltilerden 0.5 ml alınıp bunun üzerine $6x10^{-5}$ M konsantrasyondaki DPPH çözeltisinden 3 ml ilave edildi. Tüpler ağızları kapatılıp kuvvetlice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda absorbanslar 517 nm'de okundu. Bitkisel çözeltilerin ve standart maddelerin inhibisyonu aşağıdaki denklemden hesaplandı:

$$\text{İnhibisyon}(\%)=((A_{\text{kontrol}}-A_{\text{örnek}})/ A_{\text{kontrol}})x100$$

Bitkisel çözeltiler ve standart maddelerin konsantrasyon inhibisyon grafiği çizilerek buradan DPPH radikalinin yarısını süpürebilen konsantrasyon hesaplandı (IC_{50}). IC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksek oluşunu göstermektedir (Sarıkürkçü ve ark. 2008).

3.3.4. β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sistemi

Bitkisel materyal ve standart antioksidanlar 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı. Metotta öncelikle emülsiyon çözeltisi hazırlandı. Bunun için 1 mg β-karoten 2 ml kloroformda çözüldü. Bu karışıma 50 µl linoleik asit ve 200 mg Tween 40 eklendi. Karışım iyice karıştırıldı. Kloroform rotary evaporatörde 40°C'de iyice uçuruldu. Kalan kısım üzerine 200 ml saf su eklendi. Böylece emülsiyon çözeltisi hazırlanmış oldu.

1 mg/ml konsantrasyonundaki bitkisel droglar ve standart maddelerden 350 µl alındı ve bunların üzerine 2.5 ml emülsiyon çözeltisinden ilave edildi. Emülsiyon çözeltisi eklenir eklenmez absorbansları 490 nm'de okundu. Daha sonra tüpler 50°C'de 120 dakika inkübe edildi. Ayrıca bitkisel materyalin yerine 350 µl metanol eklenip bunun üzerine de 2.5 ml emülsiyon çözeltisi ilave edilerek kontrol çözeltisi hazırlandı. Kontrol çözeltisinin absorbansı da emülsiyon çözeltisi eklenir eklenmez okundu ve aynı şekilde 50°C'de 120 dakika inkübe edildi (Sökmen ve ark. 2004).

120 dakika sonunda renk açılım oranı hesaplandı.

$R=\ln(A/B)/t$ A:Başlangıç absorbansı

B:120 dakika sonundaki absorbansı

t:120 dakika

Bu eşitlikten inhibisyon değeri yani antioksidan aktivite hesaplandı.

İnhibisyon değeri= $((R_{kontrol}-R_{örnek})/ R_{kontrol})x100$

Ayrıca her bir bitkisel drog ve BHT için bağıl antioksidan aktivite de hesaplandı.

Bağıl antioksidan aktivite (BAA)=Bitkisel drogların 120. dakikadaki absorbansı/ BHA'nın 120. dakikadaki absorbansı şeklinde hesaplandı.

3.3.5. CUPRAC metodu

10^{-2} M Cu(II) klorür çözeltisi;. $CuCl_2.2H_2O$'den 0.4262 g tartılarak su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Amonyum asetat tamponu; 1 M (pH=7). NH_4Ac'dan 19.27 g tartılarak su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Neokuproin çözeltisi: $7.5x10^{-3}$ M, Neokuproin (2,9 dimethyl 1-10 phenantroline)'den 0.039 g tartılarak %96'lık etil alkolle 25 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Bitki ekstraklarının 0.4 mg/ml ile 0.025 mg/ml arasındaki beş farklı konsantrasyonları kullanıldı. Metotta öncelikle her bir deney tüpüne 1 ml $CuCl_2.2H_2O$, 1 ml amonyum asetat, 1 ml neokuproin çöeltileri ile 0.6 ml saf su eklenir. Daha sonra her bir tüpe bitkisel çözeltilerden 0.5 ml eklenip iyice karıştırıldı. Tüpler ağızları kapalı bir biçimde oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika beklendi. Aynı işlemler aynı konsantrasyonlarda hazırlanan askorbik asit çözeltileri içinde yapıldı. Bu süre sonunda absorbansları 450 nm'de okundu (Apak ve ark. 2006).

3.3.6. İndirgeme gücü (Reducing power)

Bu metotta bitkisel ekstrakların 0.4 mg/ml ile 0.0125 mg/ml konsantrasyonları kullanıldı. Standart olarak aynı konsantrasyonlarda BHT hazırlandı. Farklı konsantrasyonlardaki bitkisel çözeltilerden 2.5 ml alındı. Bunun üzerine 0.2 M pH 6.6 2.5 ml fosfat tamponu ve %1'lik 2.5 ml potasyum ferrisiyanür eklendi. Tüpler 50°C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüplerin üzerine 2.5 ml %10'luk TCA ilave edildi. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra üst kısımlarından 2.5 ml başka bir tüpe aktarıldı. Bu tüpün üzerine de 2.5 ml saf su ve 0.5 ml %0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisi eklendi.

Çözeltilerin absorbansları 700 nm'de okundu (Oyaizu 1986). Absorbans arttıkça indirgeme gücü de artış göstermektedir. Bitkilerin ve BHT'nin EC_{50}

değerleri ayrı ayrı hesaplandı. EC_{50} değeri absorbansın 0.5 olduğu etkin konsantrasyonu ifade etmektedir ve EC_{50} değerinin düşük olması indirgeme gücünün yüksekliğini göstermektedir.

3.4. Bitkilerin Yağ Asidi Komposizyonlarının Belirlenmesi

3.4.1. Bitkilerden yağın ekstrakte edilmesi

Öğütülmüş ve toz haline getirilmiş bitkisel materyal öncelikle sokslet aparatında 6-8 saat dietil eter ile ekstraksiyona tabii tutuldu. Ekstraksiyon sonunda çözücünün evaporatörde uçurulmasından sonra kalan kısım yağ asidi analizlerinde kullanıldı.

3.4.2. Yağ asitlerinin metil esterlerinin hazırlanması

Yağ örneklerinden 0.1-0.2 gram kadar balonlara aktarıldı. Yağ örneklerinin üzerlerine 4 ml %2'lik NaOH çözeltisinden eklenerek sabunlaşmanın gerçekleşmesi için 10 dakika kaynatıldı. Sabunlaşma tamamlandıktan sonra 5 ml %14 BF_3-metanol kompleksi eklendi ve 5 dakika kaynatıldı. Daha sonra karışım üzerine 2 ml n-heptan eklendi ve bir dakika kaynamaya bırakıldı. Kaynama tamamlandıktan sonra 4 ml doymuş NaCl çözeltisinden eklendi. Balonlar iyice karıştırıldıktan sonra faz ayrımı için ayırma hunilerine aktarıldı ve 5-10 dakika beklendi. Bu süre sonunda alttaki sulu kısım atıldıktan sonra üstteki sarı renkli faz viallere aktarılarak analiz edilinceye kadar -20 C°'de saklandı (IUPAC 1979).

3.4.3. Numunelerin gaz kromatografi cihazında analiz koşulları

Gaz kromatografik analizler HP (Hewlett Packard) Agilent marka 6890 N model FID (Flame Ionization Detector: Alev iyonlaştırma dedektörü) dedektörlü ve otomatik injektörlü gaz kromatograf ile gerçekleştirildi. Analizlerde 100 metrelik

HP–88 kapiller kolon kullanıldı. Gaz kromatografta injektör bloğu sıcaklığı 240˚C, dedektör bloğu sıcaklığı ise 250˚C olarak ayarlandı. Kolona sıcaklık programı uygulandı. Kolonun başlangıç sıcaklığı 160˚C olarak ayarlandı. Bu sıcaklıkta 2 dakika bekletildi daha sonra dakikada 4˚C artarak 185˚C'ye ulaşıldı. Bu sıcaklığı takiben dakikada 1 ˚C artarak 200˚C 'ye ulaşıldı ve bu sıcaklıkta 56.75 dakika bekletildi. Sonuçta analizler 80 dakikada tamamlandı. Gaz kromatografın gaz akış hızları hidrojen: 30 ml/dk., kuru hava: 300 ml/dk. ve taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyum: 1 ml/dk. olarak ayarlandı.

Yağ asiti metil esterleri standartları Alltech ve Accu firmalarından elde edildi. Standartların bağıl alıkonma zamanları (relative retantion time) gaz kromatografi cihazında aynı koşullarda analizlenerek belirlendi. Böylece elde edilen standartların bağıl alıkonma zamanları yardımı ile kromatogramlardaki piklere karşılık gelen yağ asitleri belirlendi. Üç tekrarlı olarak elde edilen kromatogramlardaki piklerin yüzde alanlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak Tablo 4.20'de verildi.

4. SONUÇLAR

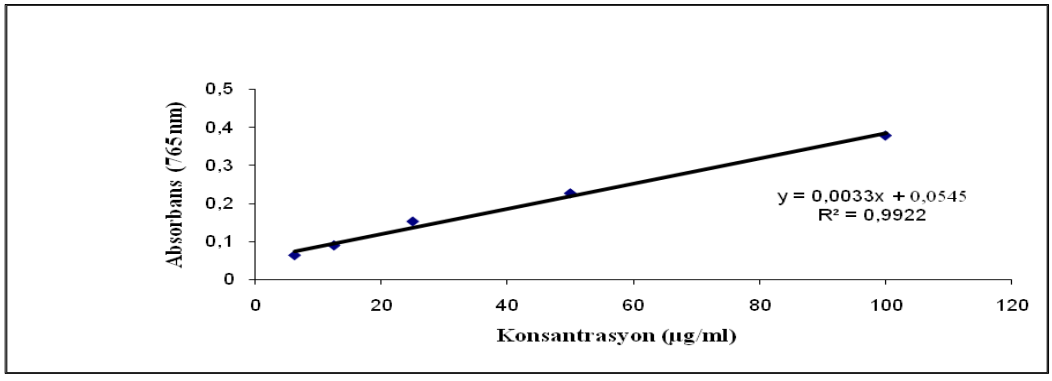
4.1. Antioksidan Kapasite Metotlarına Ait Sonuçlar

4.1.1. Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi)

Bitkilerin toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde en sık kullanılan metot olan Folin yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde bitkilerin fenolik madde içeriği standart bir fenolik madde kullanılarak ona eş değer olarak verilir. Çünkü bitkilerde oldukça fazla sayıda fenolik madde bulunduğu için her birini tek tek hesaplamak imkansızdır. Bu nedenle bitkilerin fenolik madde içeri standart bir fenolik madde kullanılarak hesaplanır. Bu metotta gallik asit standart fenolik madde olarak kullanıldı. Gallik asidin çeşitli konsansantrasyonlardaki absorbansı ve değerlerden ele geçen kalibrasyon eğrisi çizildi (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Gallik asidin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık absorbansları

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (765 nm)
100	0.379
50	0.227
25	0.153
12.5	0.09
6.25	0.064

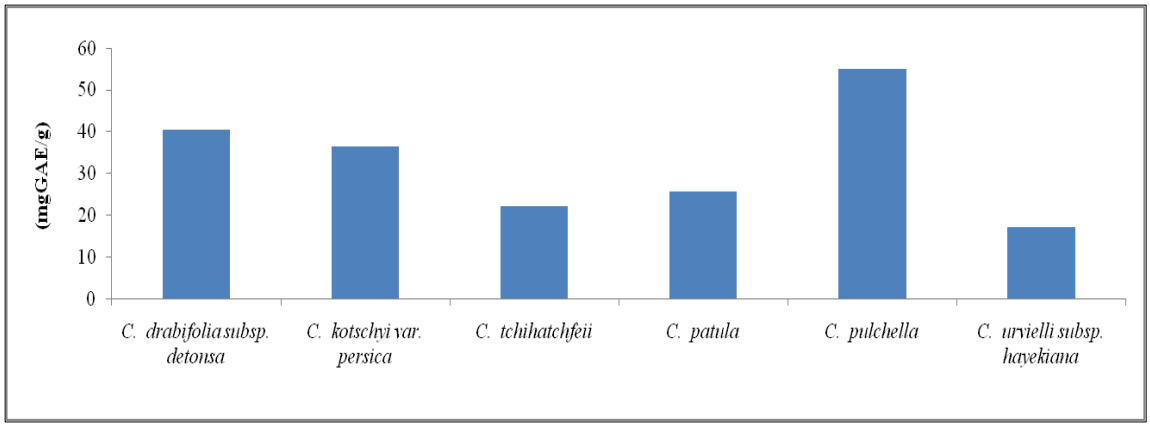


Şekil 4.1. Gallik asidin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.2. *Centaurea* türlerine ait ekstraktların 765 nm'de absorbansları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları (mg/g)

***Centaurea* türleri**	**Absorbans**	**GAE (mg/g)**
C. drabifolia subsp. *detonsa*	0.188	40.45
C. kotschyi var. *persica*	0.175	36.52
C. patula	0.139	25.61
C. pulchella	0.236	55.00
C. tchihatchfeii	0.128	22.27
C. urvielli subsp. *hayekiana*	0.111	17.12

Bitki ekstarklarının absorbansları ve bu absorbanslara karşılık gelen gallik aside eş değer (GAE) fenolik madde içerikleri hesaplandı (Tablo 4.2). Bu sonuçlara göre çalışılan *Centaurea* türleri içinde en fazla fenolik madde içeriğine sahip olan türün *C. pulchella* (55.00 mgGAE/g) olduğu belirlemiştir. Bu türü sırasıyla *C. drabifolia* subsp. *detonsa* (40.45 mgGAE/g), *C. kotschyi* var. *persica* (36.52 mgGAE/g), *C. patula* (25.61 mgGAE/g), *C. tchihatchfeii* (22.27 mgGAE/g) ve *C. urvielli* subsp. *hayekiana* (17.12 mgGAE/g) takip etmektedir (Şekil 4.2).



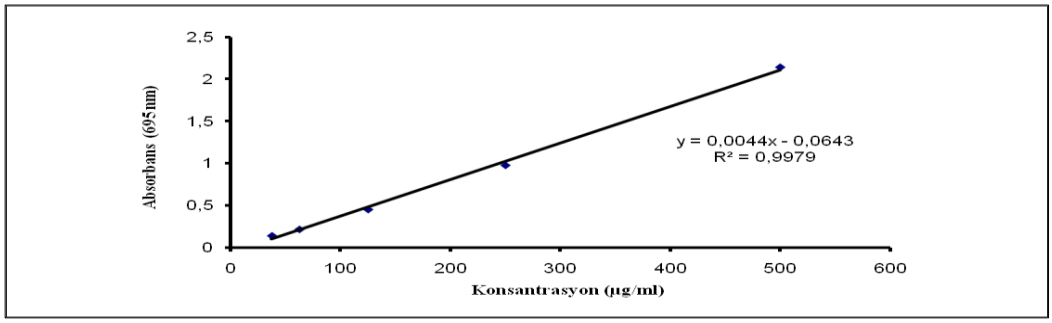
Şekil 4.2. *Centaurea* türlerinin gallik aside eş değer (mg/g) toplam fenolik madde içeriği

4.1.2.Toplam antioksidan kapasite

Bitkilerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde fosfomolibdat testi denilen metot uygulanmıştır. Metodun esası Mo(VI)'nin Mo(V)'e indirgenmei ve bu arada oluşan yeşil renkli fosfat/Mo(V) kompleksinin 695 nm'de absorbansının ölçülmesine dayanır. Bu metotun sonuçları antioksidan aktivitesi bilinen bir maddeye eşdeğer olarak verilir ve genellikle antioksidan madde olarak askorbik asit kullanılır. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan askorbik asitin absorbansları ölçülmüş ve kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3). Bitkilerin ve gallik asidin 695 nm absorbansları ve buna karşılık gelen askorbik asit eşdeğeri antioksidan kapasiteleri değerlendirildiğinde en yüksek antioksidan kapasiteye sahip tür olarak *C. drabifolia* subsp. *detonsa* (100.84 mgAE/g) karşımıza çıkmaktadır (Tablo 4.4). Bu türü sırasıyla *C. kotschyi* var. *persica* (74.93 mgAE/g), *C. pulchella* (56.52 mgAE/g), *C. patula* (43.80 mgAE/g), *C. tchihatcheffii* (41.30 mgAE/g) ve *C. urvillei* subsp. *detonsa* (39.70 mgAE/g) izlemektedir (Şekil 4.4). Etkin bir fenolik madde olan gallik asidin ise toplam antioksidan kapasitesi bitki türlerinden yüksek olarak 147.20 mgAE/g olarak bulunmuştur.

Tablo 4.3. Askorbik asidin çeşitli konsantrasyonlarının 695 nm'de absorbansları

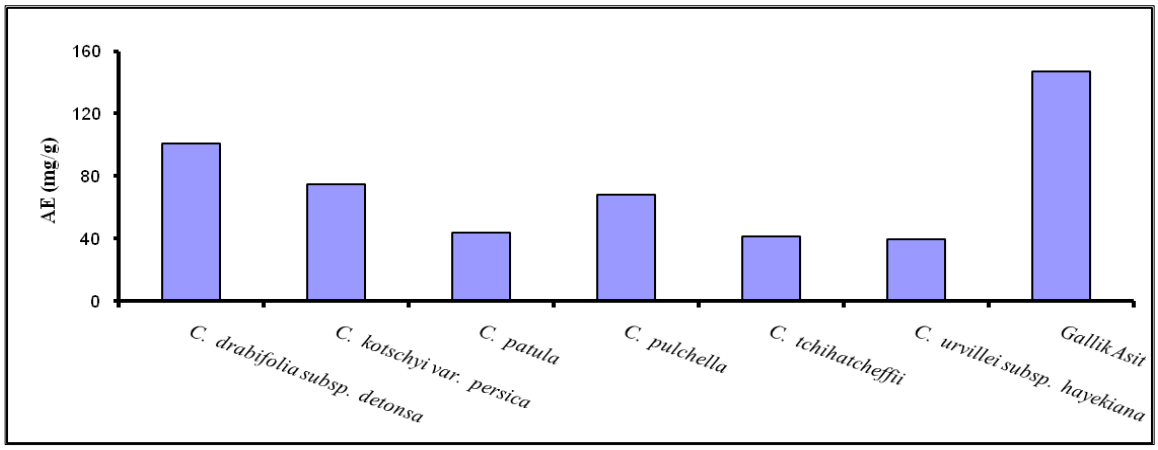
Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (695 nm)
500	2.138
250	0.975
125	0.451
62.5	0.216
37.5	0.14



Şekil 4.3. Askorbik asidin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.4. *Centaurea* türleri ve gallik asidin absorbansları ve askorbik asit eşdeğer toplam antioksidan kapasiteleri

***Centaurea* türleri ve Gallik asit**	**Absorbans**	**AE (mg/g)**
C. drabifolia subsp. *detonsa*	0.508	100.84
C. kotschyi var. *persica*	0.394	74.93
C. patula	0.257	43.80
C. pulchella	0.363	67.89
C. tchihatcheffii	0.246	41.30
C. urvillei subsp. *hayekiana*	0.239	39.70
Gallik Asit	0.712	147.20



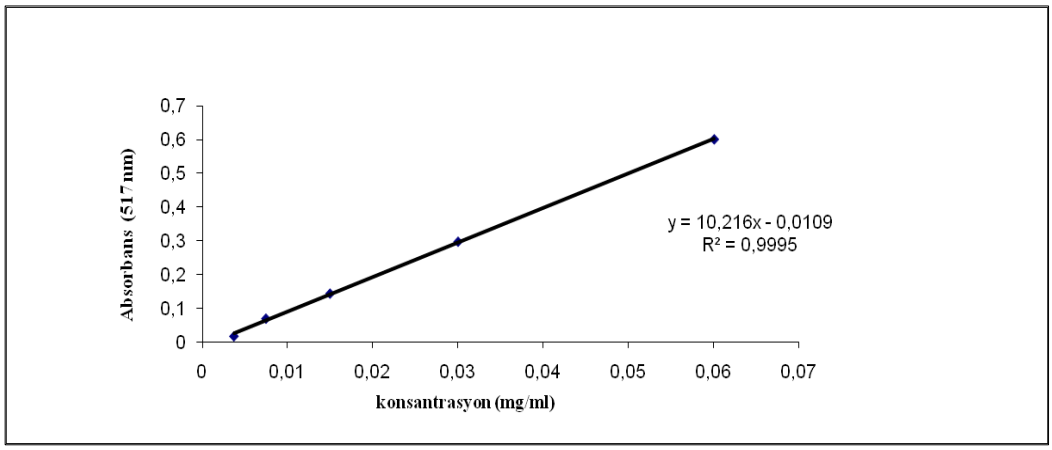
Şekil 4.4. *Centaurea* türleri ve gallik asidin askorbik asit eşdeğer total antioksidan kapasiteleri

4.1.3. DPPH süpürme etkinliği

DPPH testinde kalibrasyon için öncelikle farklı konsantrasyonlarda DPPH çözeltisi hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. DPPH radikalinin farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleri ve bunlar kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi Tablo 4.5 ve Şekil 4.5'de verilmiştir.

Tablo 4.5. DPPH radikalinin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık absorbansları

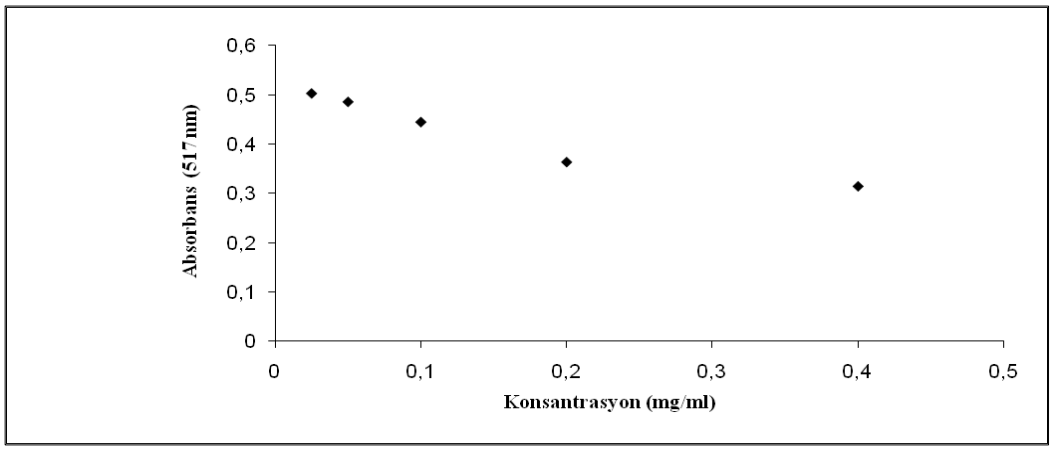
Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**
0.00375	0.019
0.0075	0.071
0.015	0.145
0.03	0.298
0.06	0.6



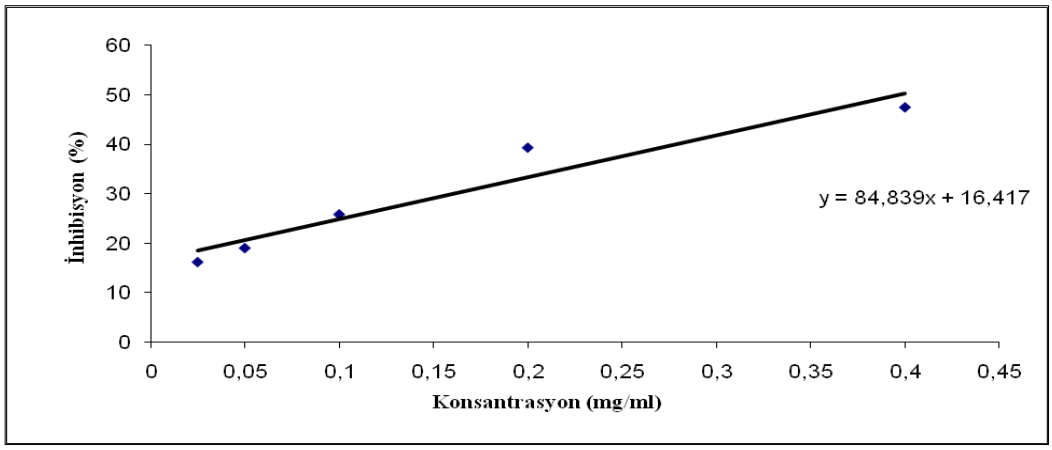
Şekil 4.5. DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.6. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**	**İnhibisyon (%)**
0.025	0.503	16.17
0.05	0.486	19.00
0.1	0.445	25.83
0.02	0.364	39.33
0.04	0.315	47.50



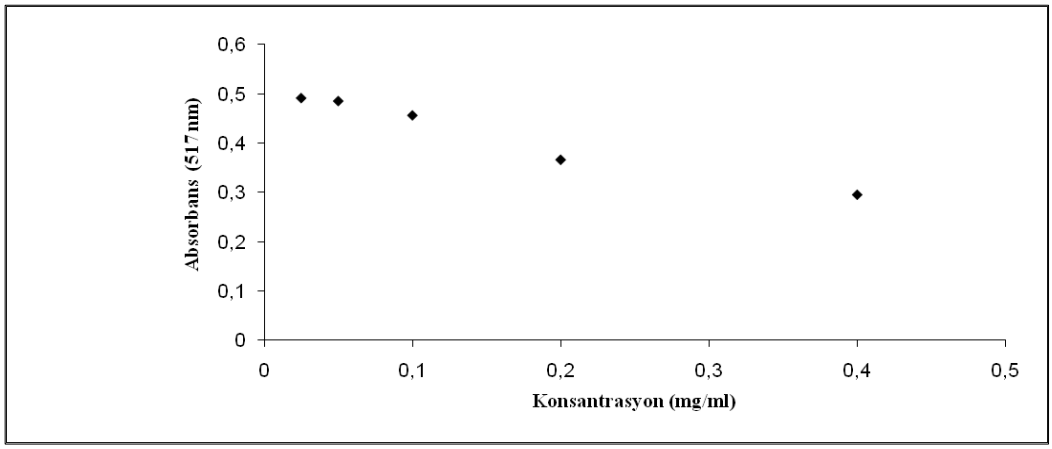
Şekil 4.6. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* konsantrasyon-absorbans grafiği



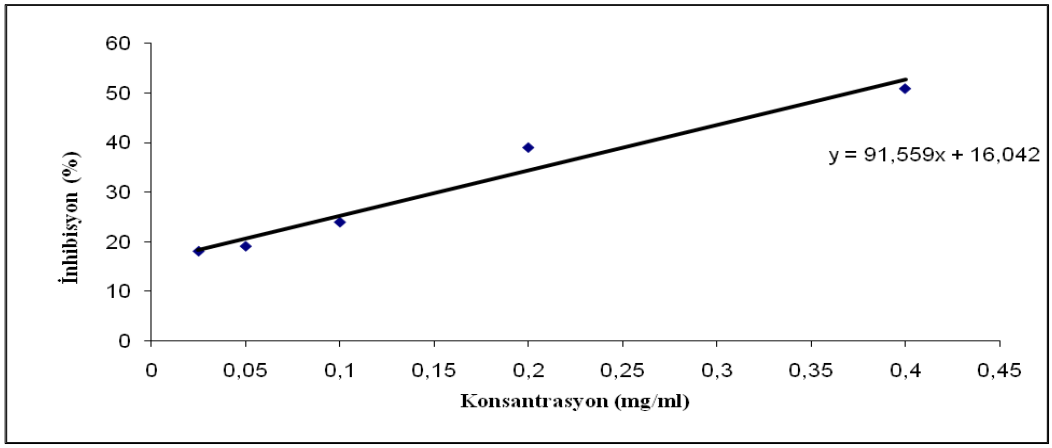
Şekil 4.7. *C. drabifolia* subsp. *detonsa*'nın konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.7. *C. kotschyi* var. *persica'nın* çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**	**İnhibisyon (%)**
0.025	0.491	18.17
0.05	0.485	19.17
0.1	0.456	24.00
0.02	0.366	39.00
0.04	0.295	50.83



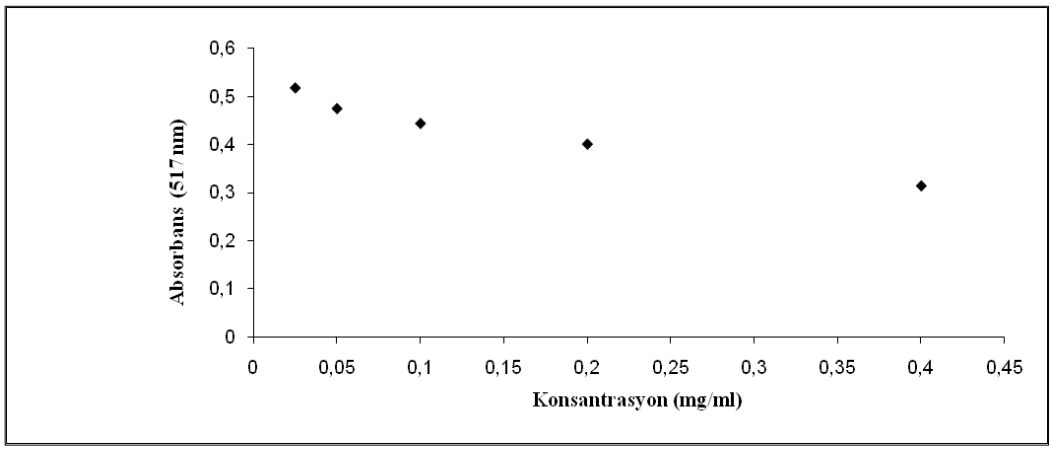
Şekil 4.8. *C. kotschyi* var. *persica* konsantrasyon-absorbans grafiği



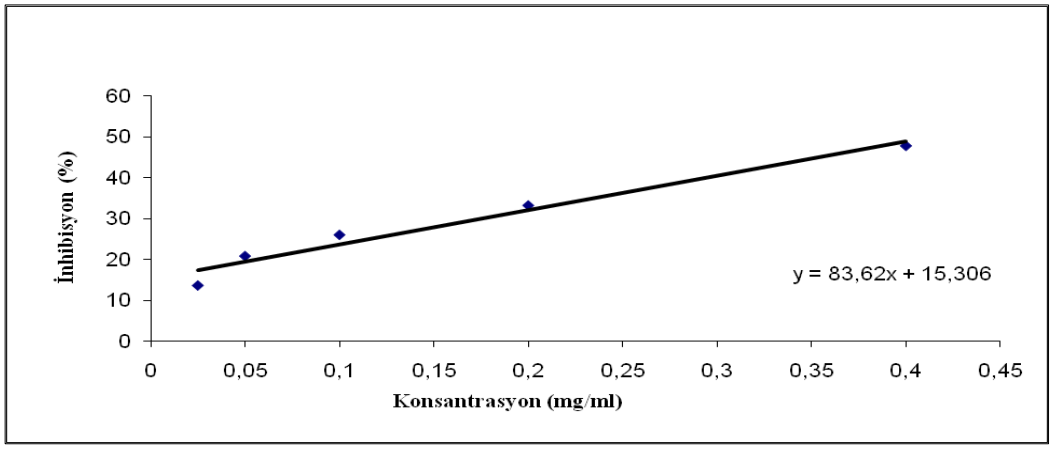
Şekil 4.9. *C. kotschyi* var. *persica* konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.8. *C. patula*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**	**İnhibisyon (%)**
0.025	0.518	13.67
0.05	0.475	20.83
0.1	0.444	26.00
0.02	0.401	33.17
0.04	0.314	47.67



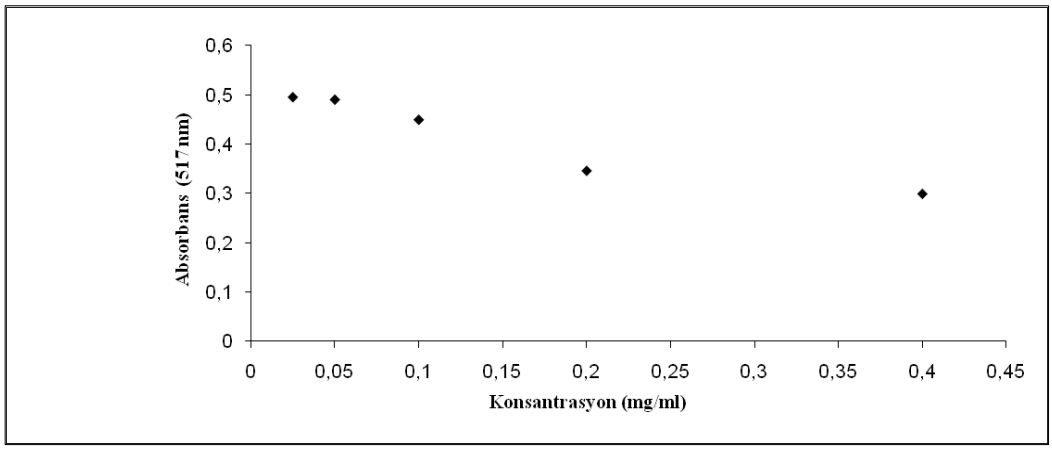
Şekil 4.10. *C. patula* konsantrasyon-absorbans grafiği



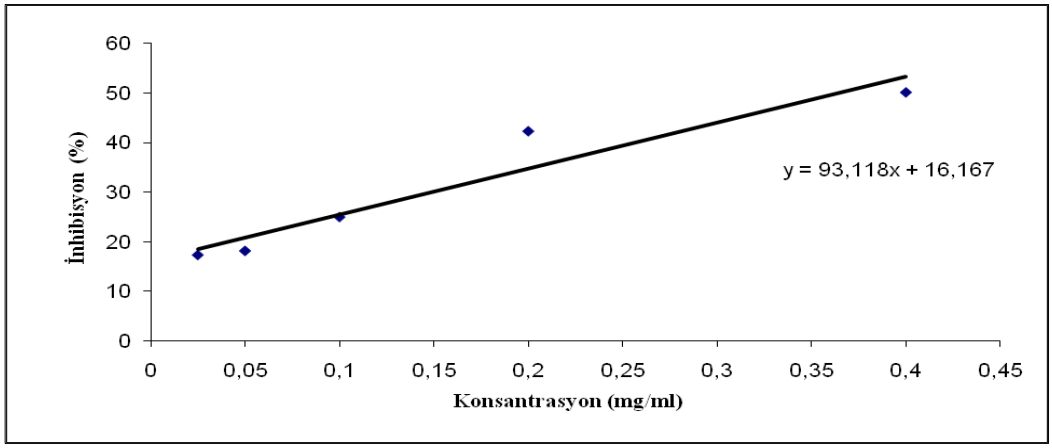
Şekil 4.11. *C. patula*'nın konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.9. *C. pulchella*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**	**İnhibisyon (%)**
0.025	0.496	17.33
0.05	0.491	18.17
0.1	0.450	25.00
0.02	0.346	42.33
0.04	0.299	50.17



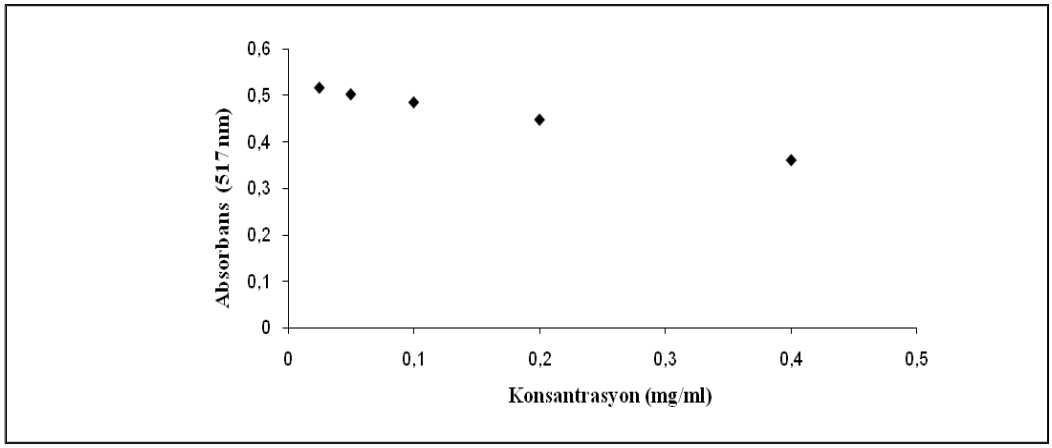
Şekil 4.12. *C. pulchella* konsantrasyon-absorbans grafiği



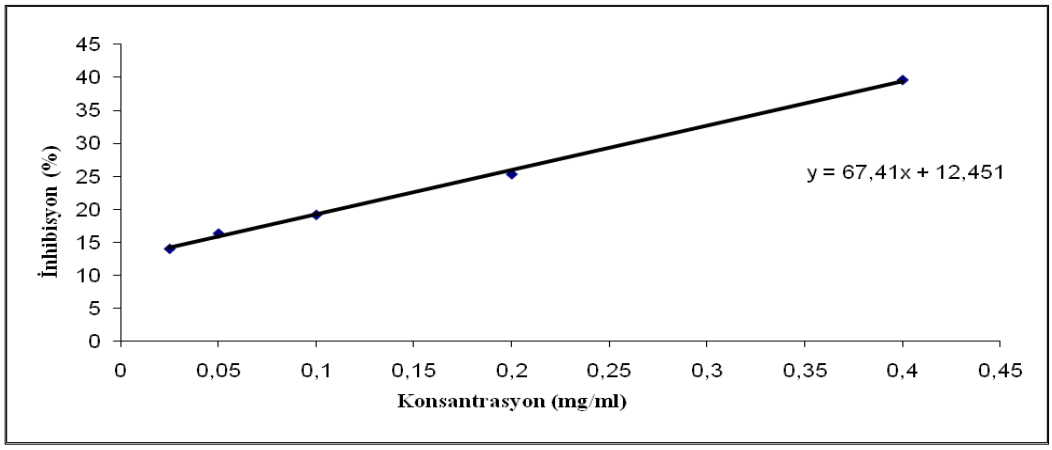
Şekil 4.13. *C. pulchella* konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.10. *C. tchihatcheffii*'nin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans (517 nm)**	**İnhibisyon (%)**
0.025	0.516	14.00
0.05	0.502	16.33
0.1	0.485	19.17
0.02	0.448	25.33
0.04	0.362	39.67



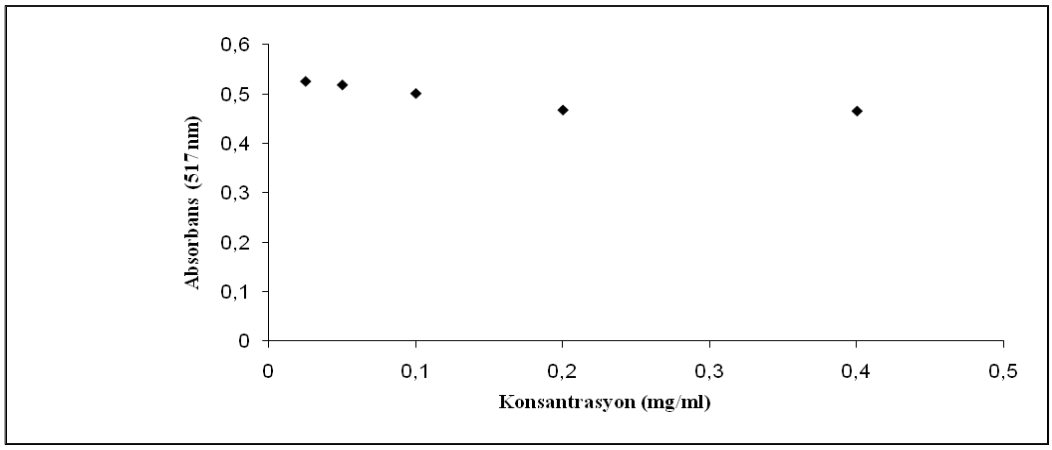
Şekil 4.14. *C. tchihatcheffii* konsantrasyon-absorbans grafiği



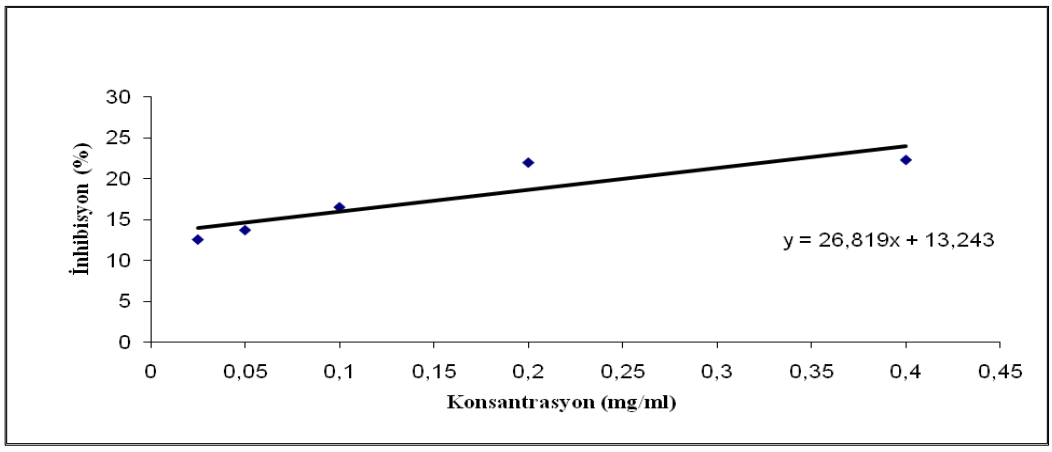
Şekil 4.15. *C. tchihatcheffii* konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.11. *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'nın çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon oranları

Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans (517 nm)	İnhibisyon (%)
0.025	0.525	12.50
0.05	0.518	13.67
0.1	0.501	16.50
0.02	0.468	22.00
0.04	0.466	22.33



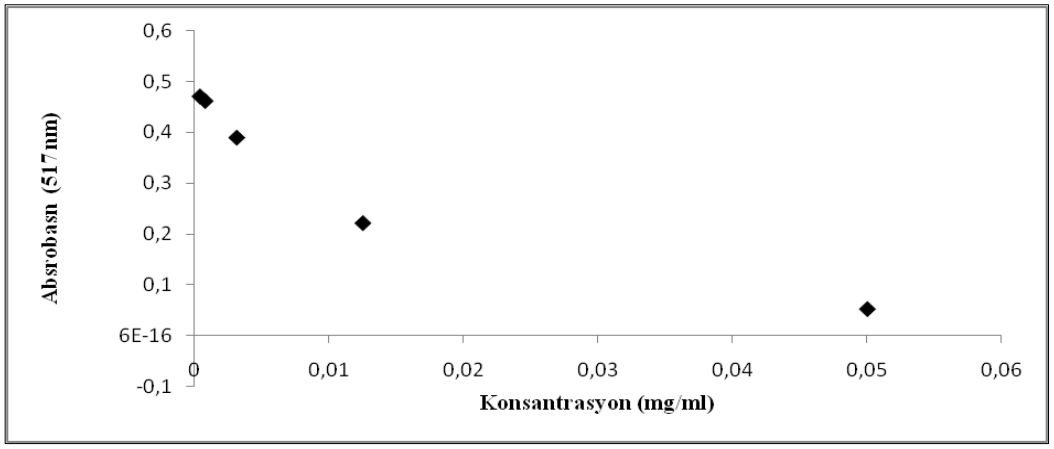
Şekil 4.16. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* konsantrasyon-absorbans grafiği



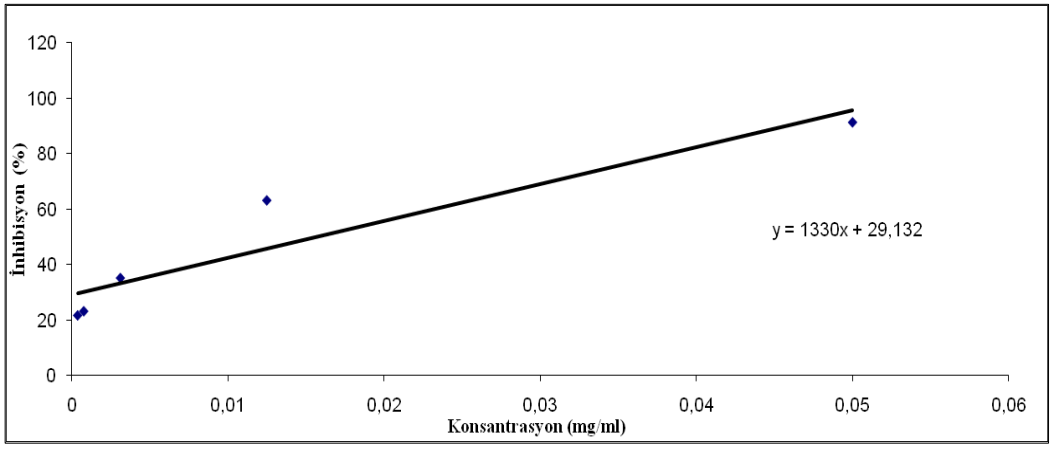
Şekil 4.17. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* konsantrasyon-inhibisyon grafiği

Tablo 4.12. BHA'nın çeşitli konsasntrasyonlarına karşılık inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans (517 nm)	İnhibisyon (%)
0.00039	0.470	21.67
0.0078	0.461	23.17
0.00312	0.389	35.17
0.00125	0.221	63.17
0.05	0.052	91.33



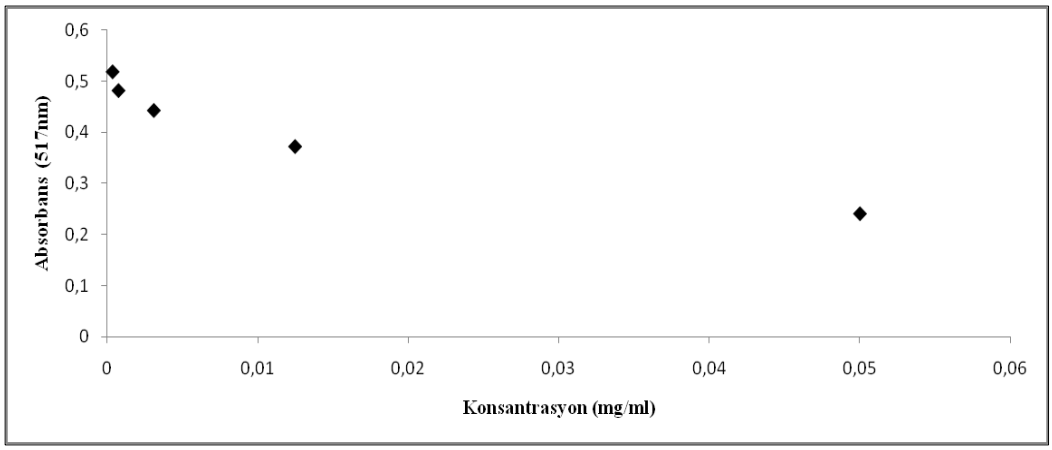
Şekil 4.18. BHA konsantrasyon-absorbans grafiği



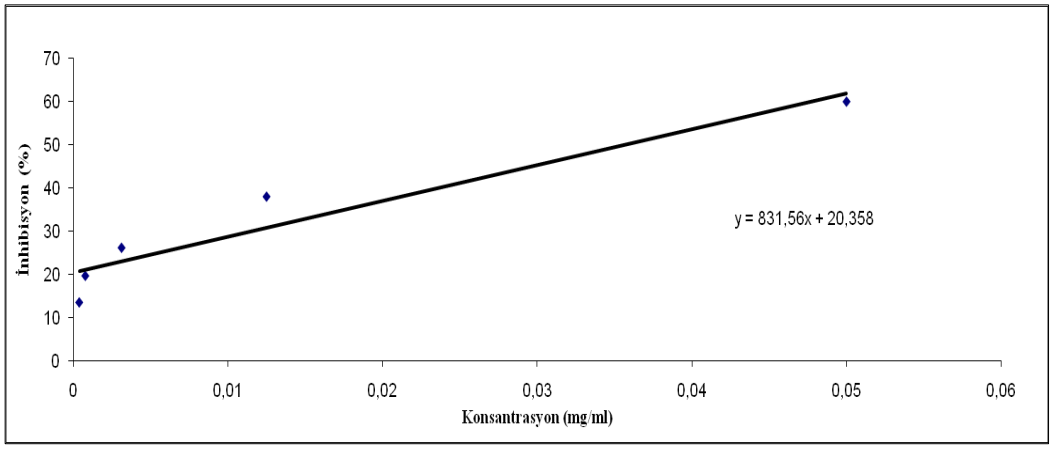
Şekil 4.19. BHA'nın konsantrasyon- inhibisyon grafiği

Tablo 4.13. BHT'nin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans (517 nm)	İnhibisyon (%)
0.00039	0.519	13.5
0.0078	0.482	19.67
0.00312	0.443	26.17
0.00125	0.372	38
0.05	0.240	60



Şekil 4.20. BHT konsantrasyon-absorbans grafiği



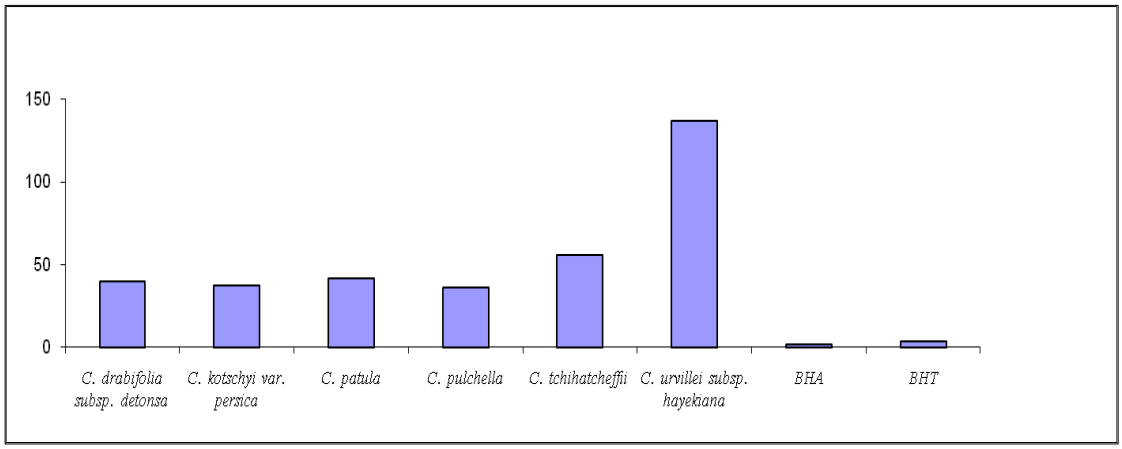
Şekil 4.21. BHT'nin konsantrasyon-inhibisyon grafiği

DPPH radikalinin yarısının süpürüldüğünü gösteren IC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksekliğini gösterir. Çalışmamızda kullanılan bitkilerin IC_{50} değerine göre *C. pulchella*'nın serbest radikal süpürebilme aktivitesinin diğer bitkilere kıyasla nispeten yüksek olduğu görülmüştür. Bu türü sırasıyla *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. drabifolia* subsp. *detonsa* izlemektedir. *C.*

urvillei subsp. *hayekiana* ise oldukça yüksek IC_{50} değerine sahip olmasından dolayı çalışılan türler içinde serbest radikal süpürme etkinliği en düşük tür olarak karşımıza çıkmaktadır (Tablo 4.14). Kullanılan standart antioksidan maddeler olan BHA ve BHT'nin IC_{50} değerlerinin çalışılan bitki türlerine göre oldukça düşük olması bu maddelerin oldukça güçlü antioksidan maddeler olduklarının bir göstergesidir (Şekil 4.22). Ancak bu güçlü antioksidan etkinliklerine karşılık sağlık açısından yan etkilerinin bulunması bu maddelerin kullanımını sınırlamaktadır.

Tablo 4.14. *Centaurea* türleri ve standart antioksidanları IC_{50} değerleri

***Centaurea* türleri ve standart antioksidanlar**	**IC_{50} (µg/ml)**
C. drabifolia subsp. *detonsa*	39.58
C. kotschyi var. *persica*	37.09
C. patula	41.49
C. pulchella	36.33
C. tchihatcheffii	55.70
C. urvillei subsp. *hayekiana*	137.06
BHA	1.57
BHT	3.56



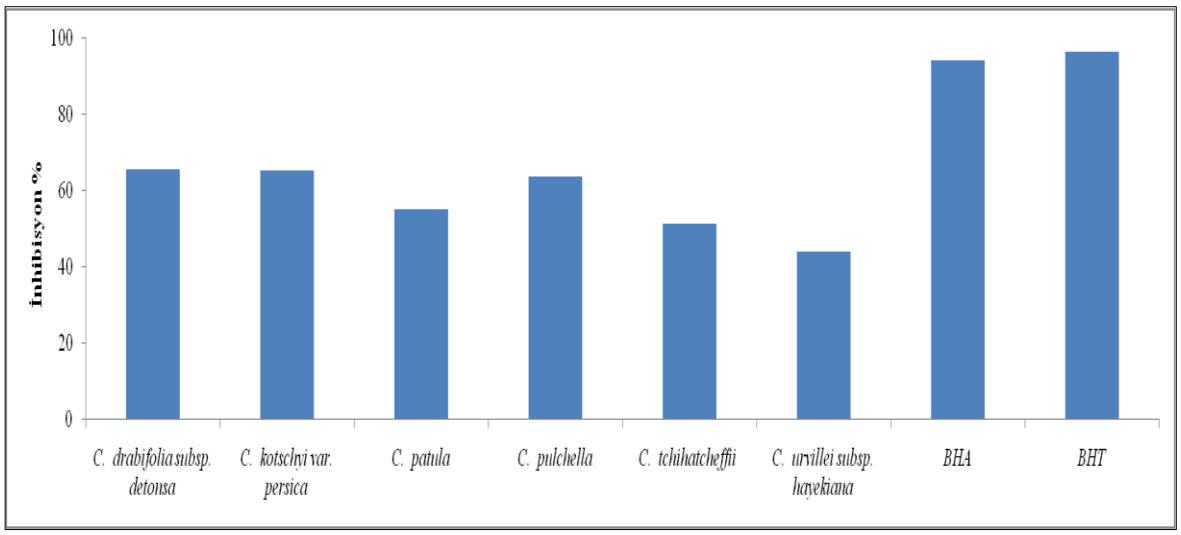
Şekil 4.22. *Centaurea* türleri ve standart antioksidanları IC_{50} değerleri

4.1.4. β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sistemi

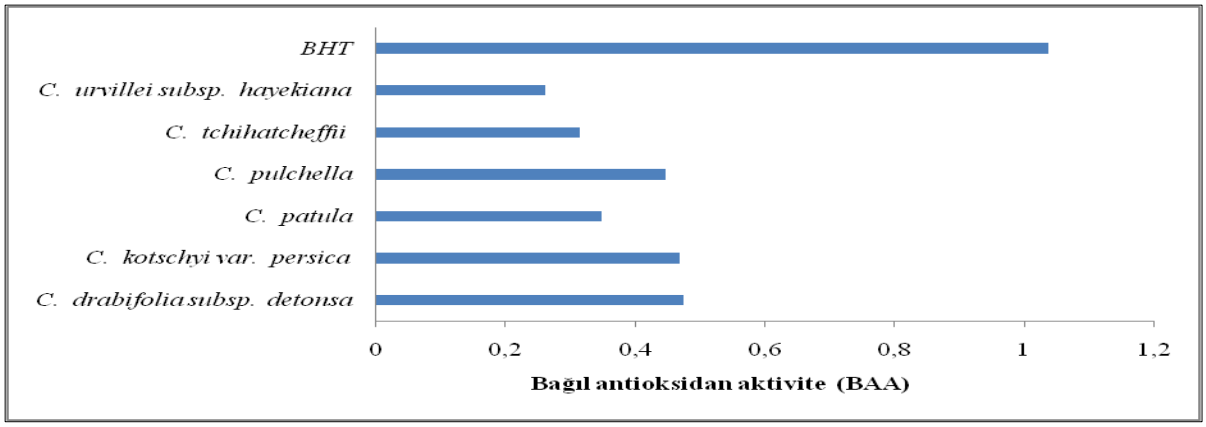
β-karoten/Linoleik asit metodu yüksek sıcaklıkta linoleik asidin oksidasyonu sırasında meydana gelen peroksit radikallerinin β-karoten molekülünde renk açılımına neden olması ve bu durumun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır. Metotta numunelerin absorbansı 490 nm'de başlangıçta, 60 ve 120 dakikalık inkübasyon sonunda ölçülür. Ölçümler sonucunda linoleik asidin oksidasyonunu inhibe etme oranının yüksek olması bu numunenin güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu gösterir (Tablo 4.15). Buna göre araştırılan bitkiler içinde inhibisyon yüzdesi en yüksek olan *C. drabifolia* subsp. *detonsa* (%65.64)'nın antioksidan kapasitesi diğer türlerden daha yüksektir. Bu türü takiben *C. kotschyi* var. *persica* (%65.22) ve *C. pulchella* (%63.60) diğer türlere göre linoleik asid oksidasyonunu inhibe etme yüzdeleri dolayısıyla antioksidan kapasiteleri diğer türlerden belirgin olarak fazladır (Şekil 4.23). Ancak sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT'nin inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %94.05 ve %96.39 olarak belirlenmiş olup bu sonuçlar göre sentetik antioksidanlar çalışılan türlerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptirler. Bu üç türün diğer metotlarda da nispeten diğer türlere göre antioksidan kapasitelerinin yüksek çıkması metotlar arasında bir korelasyon olduğunun göstergesidir. Ayrıca her bir tür ve BHT için inkübasyon sonundaki (T_{120}) absorbansların BHA'nın absorbansına bölünmesiyle bağıl antioksidan aktivite de hesaplanmıştır. Bağıl antioksidan aktivite açısından yine *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella'*nın diğer türlere kıyasla yüksek olduğu görülür (Şekil 4.24).

Tablo 4.15. *Centaurea* türlerinin β-karoten/Linoleik asit emülsiyon sisteminde absorbansları, inhibisyonları ve bağıl antioksidan aktiviteleri

Bitkiler	**Absorbans (490 nm) T_0**	**Absorbans (490 nm) T_{60}**	**Absorbans (490 nm) T_{120}**	**İnhibisyon (%)**	**Bağıl antioksidan aktivite**
C. drabifolia subsp. *detonsa*	1.908	1.03	0.776	65.64	0.474
C. kotschyi var. *persica*	1.904	1.01	0.766	65.22	0.468
C. patula	1.851	0.825	0.571	55.08	0.349
C. pulchella	1.901	0.980	0.733	63.60	0.448
C. tchihatcheffii	1.848	0.812	0.514	51.13	0.314
C. urvillei subsp. *hayekiana*	1.859	0.690	0.429	44.00	0.262
BHA	1.912	1.777	1.636	94.05	1
BHT	1.865	1.778	1.697	96.39	1.037
Kontrol	1.810	0.235	0.132	-	-



Şekil 4.23. *Centaurea* türlerinin ve standart antioksidanların linoleik asit oksidasyonu inhibisyon grafiği



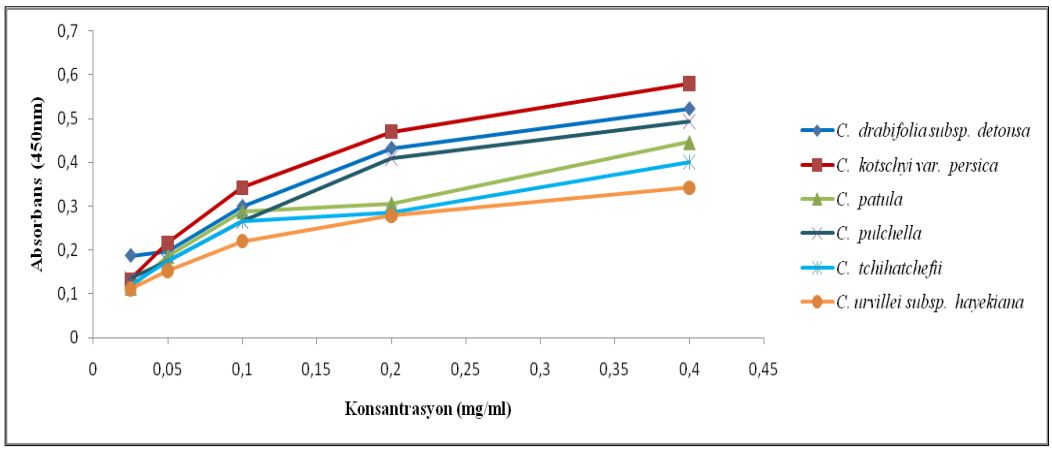
Şekil 4.24. *Centaurea* türlerinin ve BHT'nin BHA'ya göre bağıl antioksidan aktiviteleri

4.1.5.CUPRAC metodu

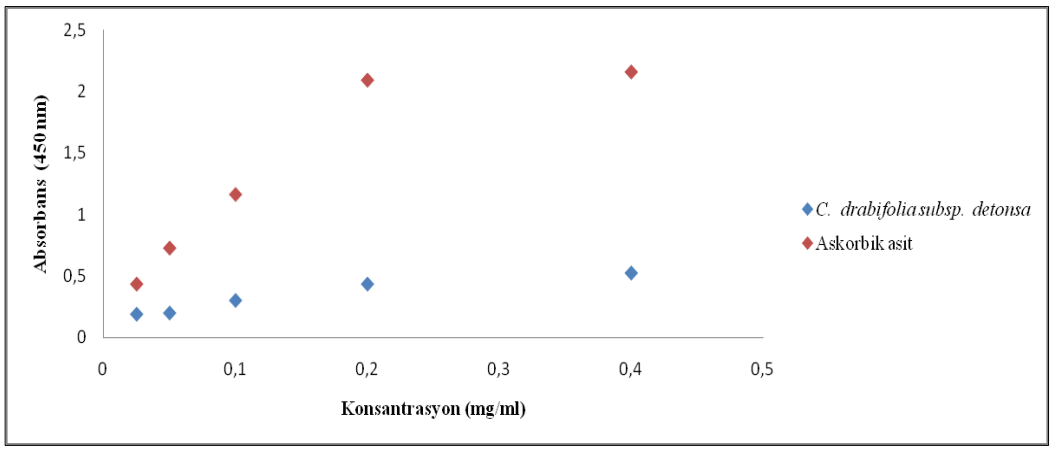
Bu metot özellikle son zamanlarda bitkisel ekstrakların antioksidan kapasitelerin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Metodun esasını fenolik bileşiklerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neukuproin kompleksine indirgemesi ve kompleksin 450 nm'de maksimum absorbans göstermesine dayanır. Metotta yüksek aborbans yüksek antioksidan kapasiteyi göstermektedir (Tablo 4.16). Buna göre çalışılan türler içinde *C. kotschyi* var. *perscia, C. drabifolia* subsp. *detonsa* ve *C. pulchella* diğer metotlarda olduğu gibi diğer türlere göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptirler (Şekil 4.25).

Tablo 4.16. *Centaurea* türlerinin ve askorbik asitin 450 nm'de absorbansları

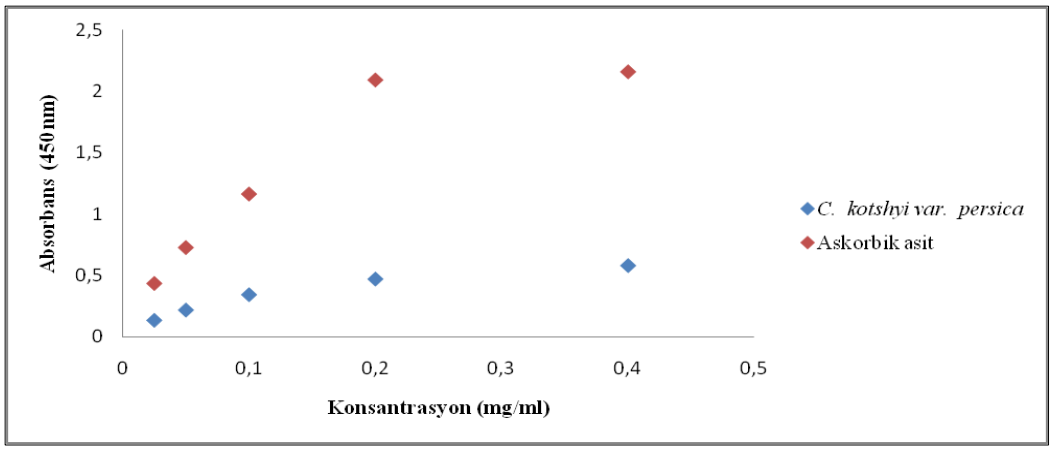
Konsantrasyon (mg/ml)	*C. drabifolia* subsp. *detonsa*	*C. kotschyi* var. *persica*	*C. patula*	*C. pulchella*	*C. tchihatcheffii*	*C. urvillei* subsp. *hayekiana*	Askorbik asit
0.025	0.187	0.132	0.113	0.136	0.120	0.111	0.436
0.05	0.197	0.216	0.186	0.174	0.175	0.153	0.728
0.1	0.299	0.342	0.288	0.266	0.266	0.220	1.163
0.2	0.432	0.470	0.306	0.409	0.286	0.278	2.090
0.4	0.522	0.580	0.446	0.494	0.4	0.342	2.156



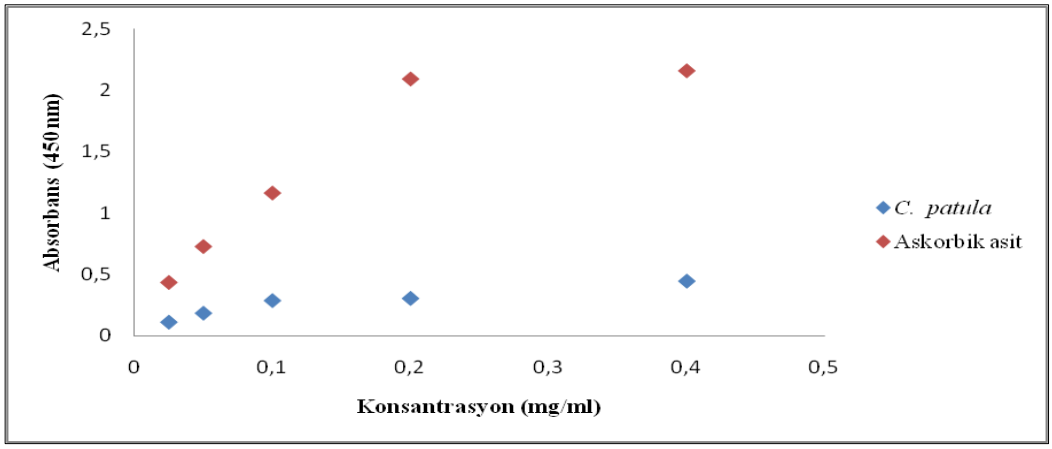
Şekil 4.25. *Centaurea* türlerinin bakır iyonunu indirgeme yeteneklerinin karşılaştırılması



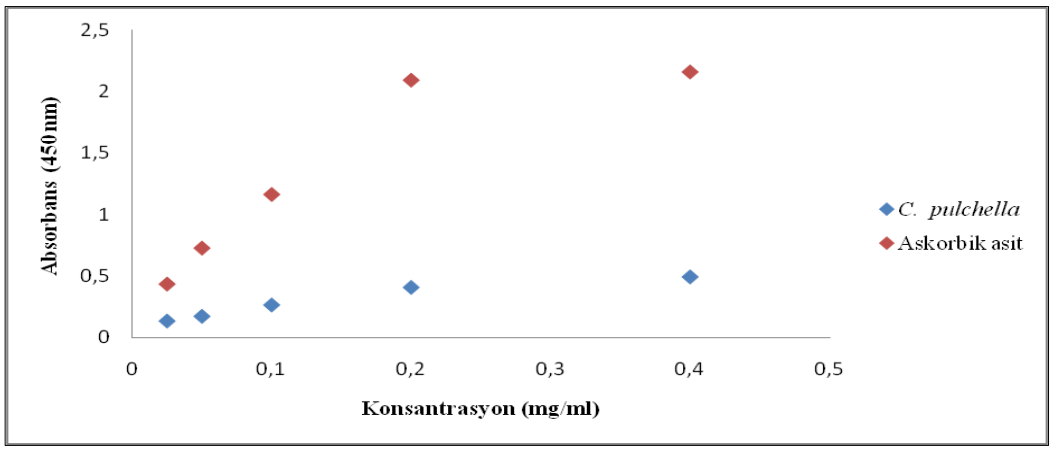
Şekil 4.26. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



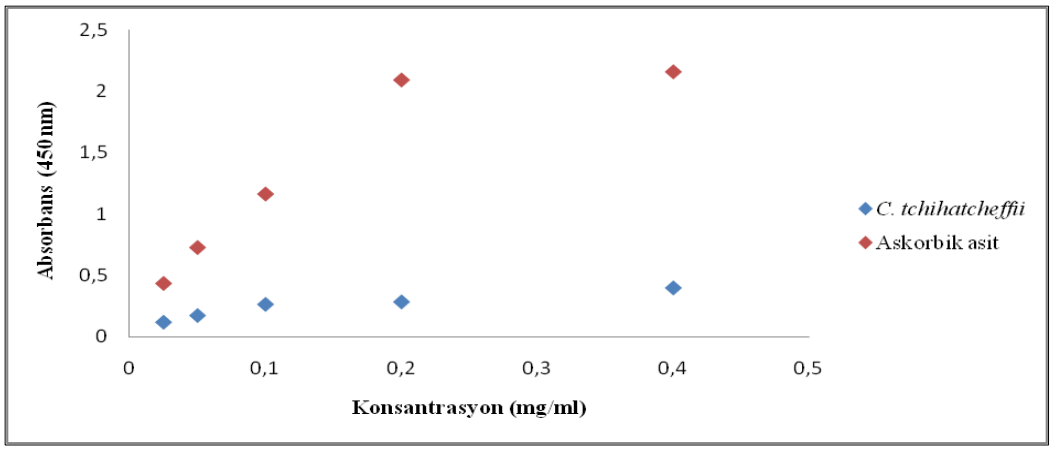
Şekil 4.27. *C. kotschyi* var. *persica* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



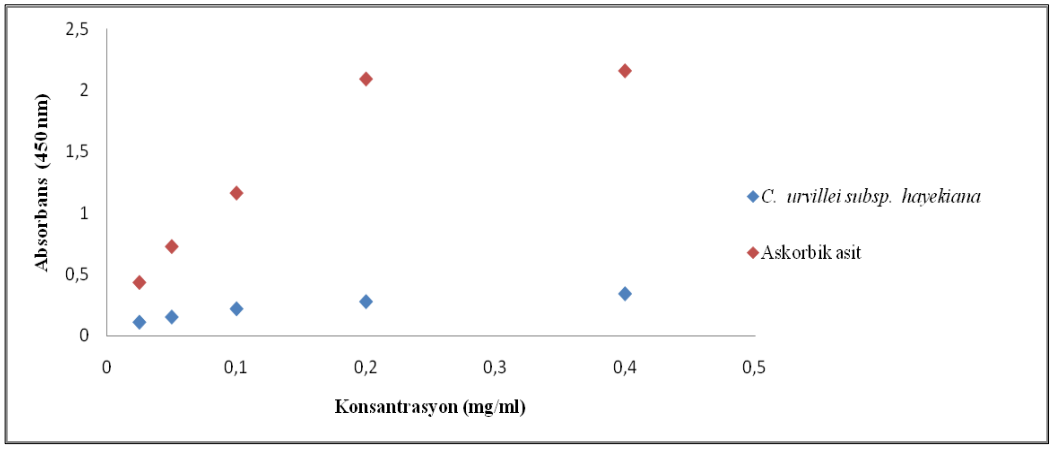
Şekil 4.28. *C. patula* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.29. *C. pulchella* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.30. *C.tchihatcheffii* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



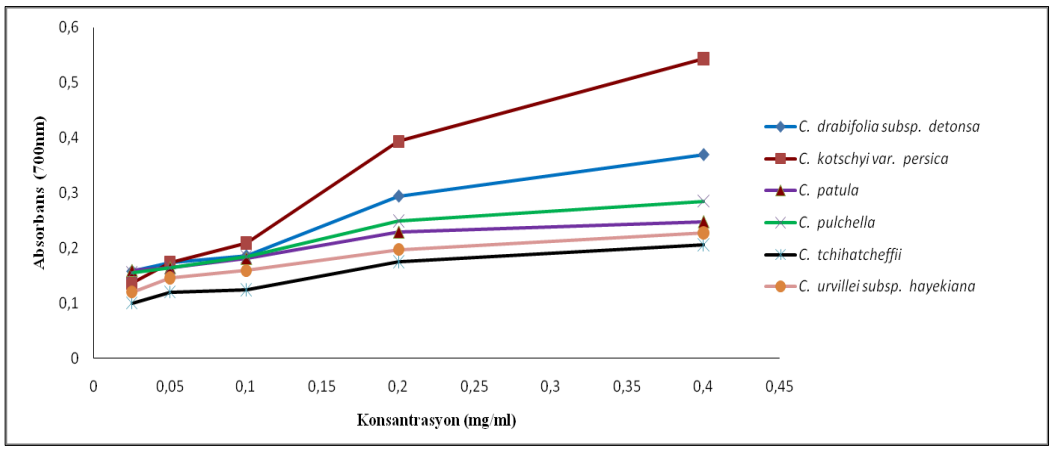
Şekil 4.31. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* ile askorbik asitin Cu(II)'yi indirgeme güçlerinin karşılaştırılması

4.1.6.İndirgeme gücü

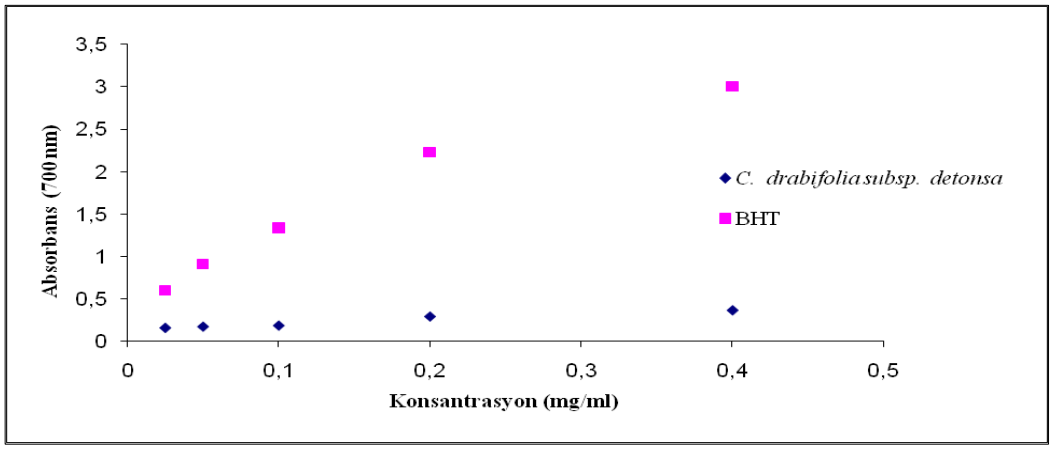
Fe (III) iyonun indirgeme kapasitesi sıklıkla elektron verme yeteneğinin bir göstergesi olarak kullanılır. Bu durum fenolik antioksidanların önemli bir mekanizması olup diğer antioksidan özellikler ile güçlü bir korelasyon gösterir (Dorman 2003). İndirgeme gücünde absorbansın artması ile antioksidan kapasite doğru orantılıdır. En yüksek konsantrasyonda bitki ekstraklarının absorbanslarına bakıldığında diğer metotlarla uygun olarak sırasıyla *C.kotschyi* var. *persica, C.drabifolia* subsp. *detonsa* ve *C. pulchella'*nın indirgeme gücünün diğer bitkilere kıyasla daha yüksek olduğu görülür (Tablo 4.17). Bitkileri indirgeme güçlerine göre *C. kotschyi* var. *persica*> *C. drabifolia* subsp. *detonsa*> *C. pulchella*> *C. patula*> *C. tchihatcheffii* > *C. urvillei* subsp. *hayekiana* şeklinde sıralayabiliriz (Şekil 4.32). Sentetik bir antioksidan olan BHT'nin indirgeme gücü çalışılan türler ile kıyaslandığında türlerin BHT'ye göre oldukça düşük indirgeme gücüne sahip oldukları görülür. İndirgeme gücünün sayısal olarak ifadesi ise EC_{50} (absorbansın 0.5 olduğu konsantrasyon) şeklinde belirtilmektedir. EC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksekliğini gösterir. *Centaurea* türlerinin EC_{50} değerlerine bakıldığında en düşük EC_{50} değerine sahip olan *C. kotschyi* var. *persica* en güçlü antioksidan kapasiteye sahip tür olarak karşımıza çıkmaktadır (Tablo 4.18). Ancak BHT'nin EC_{50} değerinin oldukça düşük olması bu maddenin oldukça güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğunun bir göstergesidir (Şekil 4.39).

Tablo 4.17. *Centaurea* türlerinin ve BHT'nin 700 nm'deki absorbansları

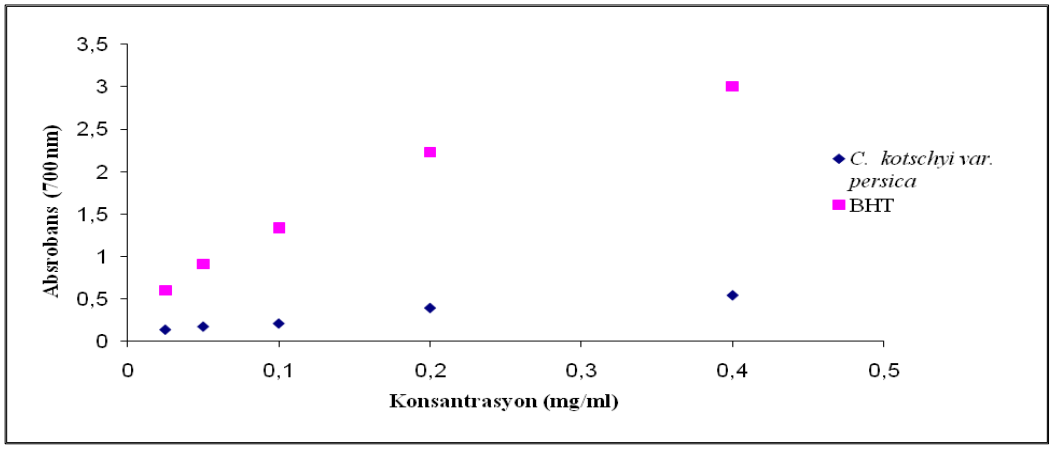
Konsantrasyon (mg/ml)	*C. drabifolia* subsp. *detonsa*	*C. kotschyi* var. *persica*	*C. patula*	*C. pulchella*	*C. tchihatcheffii*	*C. urvillei* subsp. *ha yekiana*	BHT
0.025	0.158	0.136	0.159	0.155	0.100	0.120	0.599
0.05	0.173	0.173	0.164	0.164	0.120	0.146	0.908
0.1	0.186	0.209	0.181	0.184	0.124	0.159	1.338
0.2	0.294	0.393	0.229	0.249	0.175	0.197	2.229
0.4	0.369	0.543	0.248	0.285	0.206	0.227	3.004



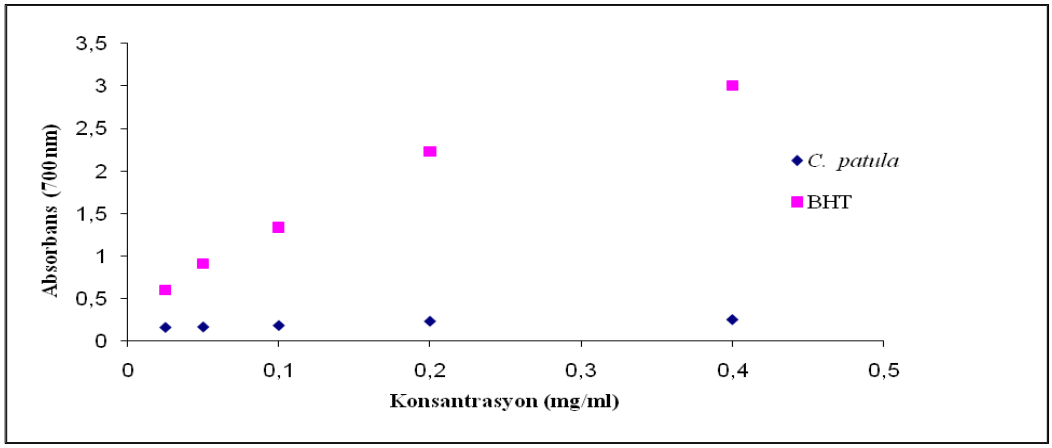
Şekil 4.32. *Centaurea* türlerinin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



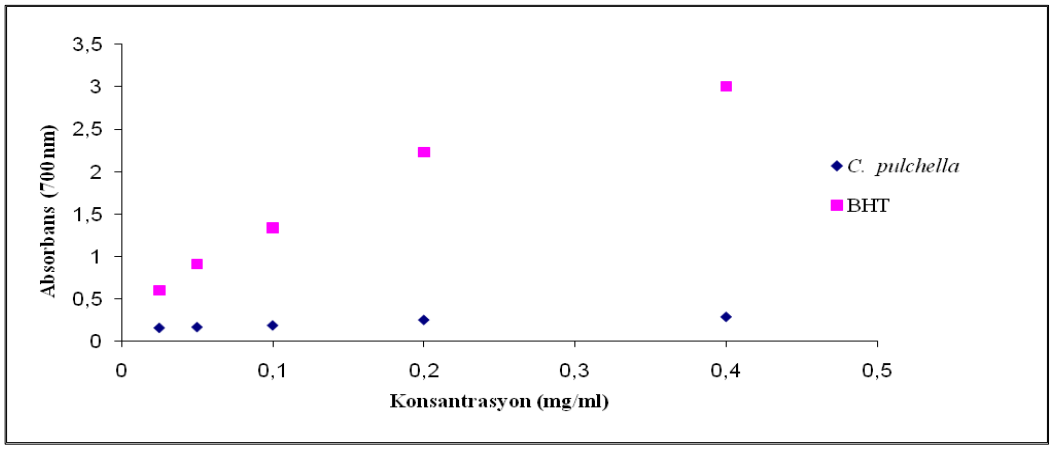
Şekil 4.33. *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



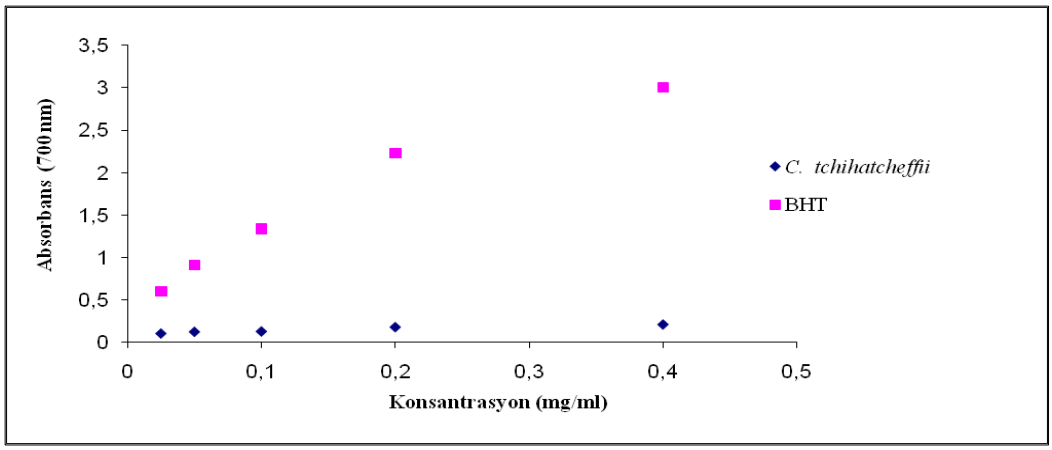
Şekil 4.34. *C. kotschyi* var. *persica* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



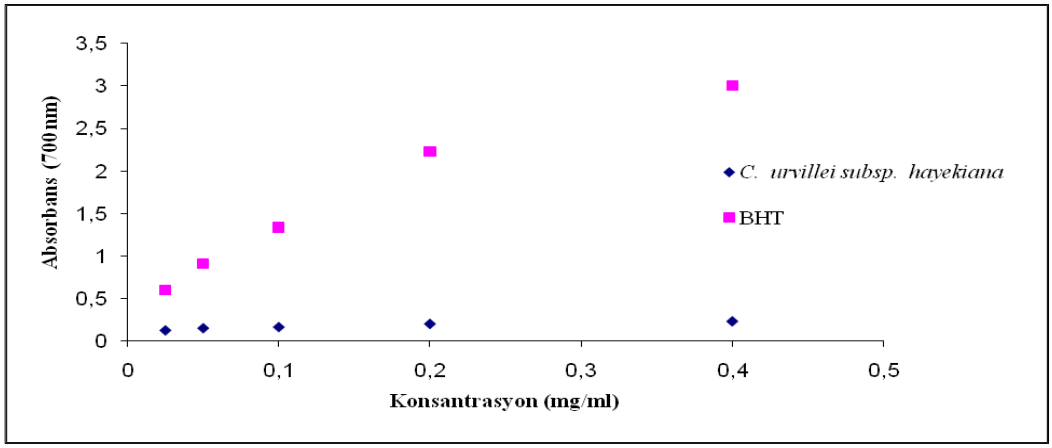
Şekil 4.35. *C. patula* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.36. *C. pulchella* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



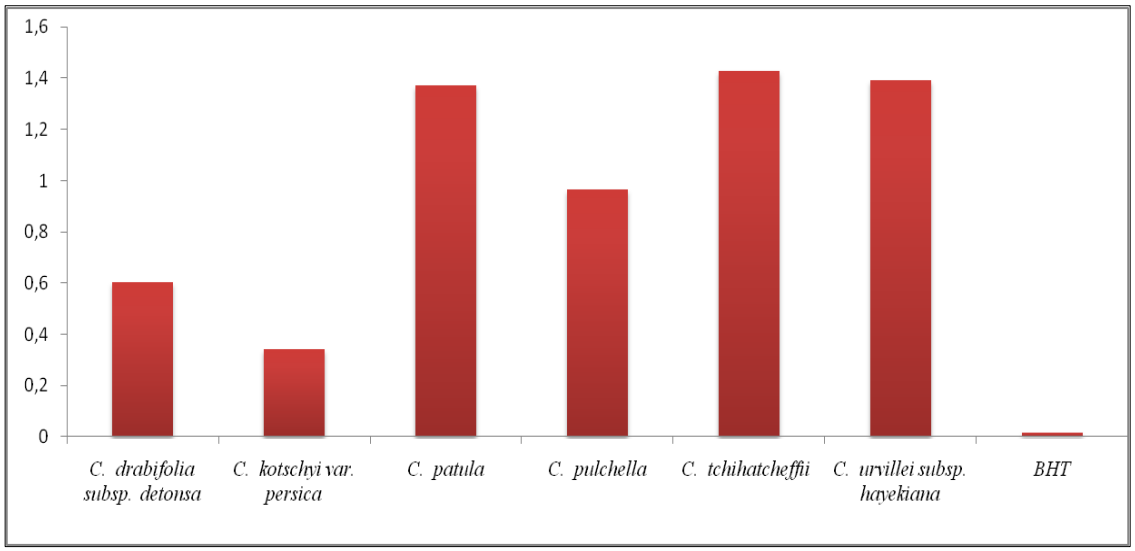
Şekil 4.37. *C. tchihatchefii* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.38. *C. urvillei* subsp. *hayekiana* ile BHT'nin indirgeme güçlerinin karşılaştırılması

Tablo 4.18. *Centaurea* türleri ile BHT'nin EC_{50} değerleri

***Centaurea* türleri ve BHT**	**EC_{50} (mg/ml)**
C. drabifolia subsp. *detonsa*	0.60
C. kotschyi var. *persica*	0.34
C. patula	1.37
C. pulchella	0.97
C. tchihatcheffii	1.43
C.urvillei subsp. *hayekiana*	1.39
BHT	0.02



Şekil 4.39. *Centaurea* türleri ve BHT'nin EC_{50} değerlerinin karşılaştırılması

4.2.Yağ Asidi Analizlerine Ait Sonuçlar

Tablo 4.19. *Centaurea* türlerinin yağ asidi bileşimde bulunan yağ asitleri

Karbon Sayısı	**Yaygın ve Sistematik Adı**
C 8:0	Kaprilik asit (Oktanoik asit)
C 10:0	Kaprik asit (Dekanoik asit)
C 11:0	Andesilik asit (Andekanoik asit)
C 12:0	Laurik asit (Dodekanoik asit)
C 13:0	Tridesilik asit (Tridekanoik asit)
C 14:0	Miristik asit (Tetradekanoik asit)
C 14:1 ω5	Miristoleik asit (cis-9-Tetradekanoik asit)
C 15:0	Pentadesilik asit (Pentadekanoik asit)
C 15:1 ω5	Pentadekanoik asit (cis-10-Pentadekanoik asit)
C 16:0	Palmitik asit (Hekzadekanoik asit)
C 16:1 ω7	Palmitoleik asit (cis-9-Hekzadekanoik asit)
C 17:0	Margarik asit (Heptadekanoik asit)
C 17:1 ω8	Margaroleik asit (cis 10-Heptadekanoik asit)
C 18:0	Stearik asit (Oktadekanoik asit)
C 18:1 ω9	Oleik asit (cis-9-Oktadekanoik asit)
C 18:1 ω7	cis-vaksenik asit (cis-11-Oktadekanoik asit)
C 18:2 ω6	Linoleik asit (cis-9-12-Oktadekadienoik asit)
C 18:3 ω6	γ-Linolenik asit (cis-6-9-12- Oktadekatrienoik asit)
C 18:3 ω3	Linolenik asit (α-linoleik asit.ALA)(cis-9-12-15- Oktadekatrienoik asit)
C 19:0	Nondesilik asit (Nonadekanoik asit)
C 20:0	Arakidik asit (Eikosanoik asit)
C 20:1 ω9	Gadoleik asit (cis -11 Eikosenoik asit)
C 20:2 ω6	cis-11,14- Eikosadienoik asit
C 20:4 ω6	Arakidonik asit (cis-5-8-11-14 Eikosatetraenoik asit)
C 20:5 ω3	EPA (cis 5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik)
C 21:0	Heneikosanoik asit
C 22:0	Behenik asit
C 22:1 ω9	Erusik asit (cis-13 Dokosanoik asit)
C 22:2 ω6	cis-13, 16- Dokosadienoik asit
C 22:6 ω3	Dokosaheksaenoik asit (DHA) (cis- 4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoik)

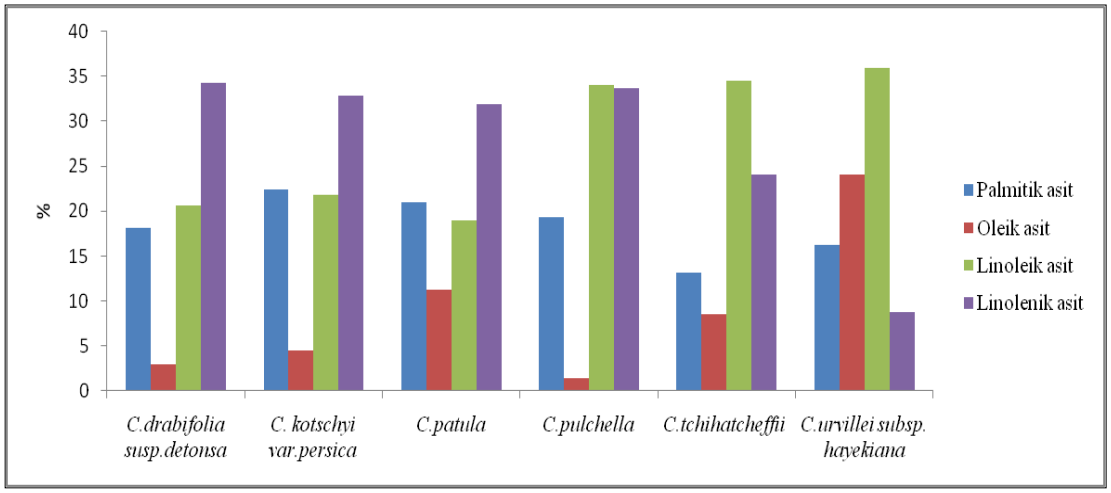
Araştırılan *Centaurea* türlerinin yağ asidi bileşiminin analizleri sonucunda toplam 30 adet yağ asidinden oluştuğu belirlenmiştir (Tablo 4.19). Bu yağ asitlerinin karbon sayıları 8 ile 22 arasında değişmektedir. *Centaurea* türlerinde major yağ asidi olarak üç türde C 18:2ω6, linoleik asit diğer üç türde ise C 18:3ω3, α-linolenik asit tespit edilmiştir (Tablo 4.20). *C. urvillei* subsp. *hayekiana* en yüksek linoleik asit, *C. drabifolia* subsp. *detonsa* en yüksek linolenik asit içeriğine sahip türler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Centaurea türlerinde linoleik asit ve linolenik asitten sonra en yüksek yüzdeye sahip yağ asidi C 16:0, palmitik asit tespit edilmiştir. Palmitik asit türler arasında %13.22-22.37 arasında değişim göstermektedir. Palmitik asit *C. tchihatchfeii'*de en düşük, *C. kotschyi* var. *persica'da* ise en yüksek yüzdede bulunmuştur (Şekil 4.40). *Centaurea* türleri arasında toplam doymuş yağ asitleri (SFA) içinde palmitik asitten sonra en yüksek yüzdeye sahip yağ asitleri genel olarak sırasıyla C 18:0, stearik asit, C 14:0, miristik asit ve C 12:0, laurik asit olarak belirlenmiştir. Bu yağ asitlerinin türler arasındaki dağılımı sırasıyla %2.19-5.60, %0.83-3.39 ve %0.52-1.80 olarak tespit edilmiştir.

Centaurea türlerinin toplam tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) içeriğinin büyük bir kısmını C 18:1ω9 oleik asit oluşturmaktadır. Oleik asit türlere göre %1.44-24.10 arasında değişim göstermektedir. Oleik asit en yüksek düzeyde *C.urvillei* subsp. *hayekiana*'da en düşük düzeyde ise *C. pulchella*'da tespit edilmiştir. Oleik asitten sonra MUFA'lar içinde C 18:1ω7, cis-vaksenik asit ve C 20:1ω9, gadoleik asit yüksek yüzdelere sahip yağ asitleridir ve bunlar türler arasında sırasıyla %0.21-0.78 ve %0.17-0.66 arasında dağılım göstermektedir. MUFA'lar içinde bu yağ asitlerinin haricinde diğer yağ asitleri küçük yüzdelerde tespit edilmiştir.

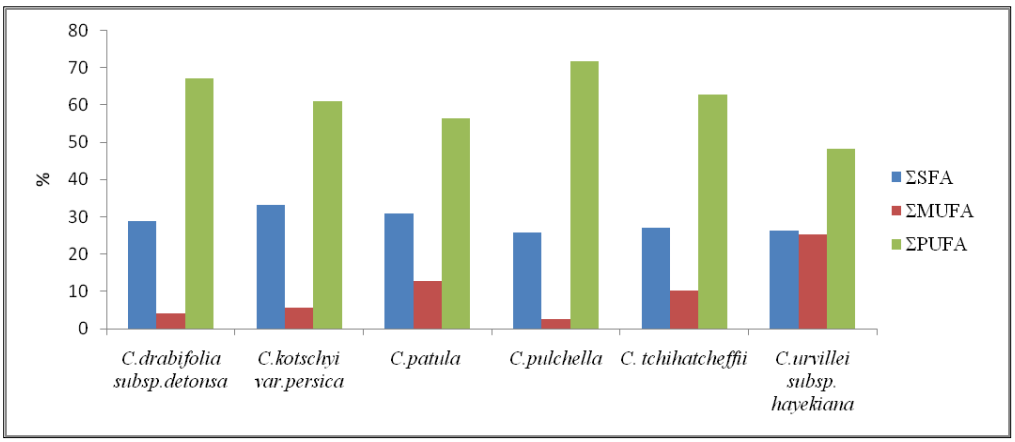
Araştırılan *Centaurea* türlerinin çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeriğinin büyük bir kısmını linoleik asit ile α-linolenik asit teşkil etmektedir. Linoleik asit yüzdesi türler arasında %18.92 ile 35.92 arasında α-linolenik asit ise %8.73 ile %34.22 arasında dağılım göstermektedir. Bu iki yağ asidinden başka PUFA'lar içerisinde yüksek yüzdeye sahip yağ asitleri C 18:3ω 6, γ-linolenik asit, C 20:4ω6, arakidonik asit ve C 22:6ω3, dokosahekzaenoik asit(DHA) olup bu yağ

asitlerinin türler arasındaki düzeyleri sırasıyla %1.31-%4.82, %1.25-%5.28 ve %0.56-%1.82 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.40. *Centaurea* türlerinin major yağ asitleri

İncelenen tüm türlerin yağ asidi içeriklerinde toplam PUFA'ların, toplam MUFA ve SFA'lardan daha yüksek düzeye sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.41). Ayrıca türler arasında toplam SFA içeriğinin de toplam MUFA'dan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Toplam PUFA, SFA ve MUFA içerikleri türler arasında sırasıyla %48.22-71.76, %26.39-33.25, %2.55-25.40 değerleri arasında belirlenmiştir. Türler arasında PUFA en yüksek *C. pulchella*'da en düşük *C. urvillei* subsp. *hayekiana'da,* SFA en yüksek *C. kotschyi* var. *persica*'da en düşük *C. pulchella*'da ve MUFA en yüksek *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'da en düşük ise *C. pulchella'*da tespit edilmiştir.



Şekil 4.41. *Centaurea* türlerinin ΣSFA, ΣMUFA ve ΣPUFA içerikleri

Tablo 4.20. *Centaurea* türlerinin yağ asidi komposizyonu (%)

YAĞ ASİTLERİ	*C.drabifolia* subsp.*detonsa*	*C.kotschyi* var.*persica*	*C.patula*	*C.pulchella*	*C.tchihatcheffii*	*C.urvillei* subsp.*hayekiana*
C 8:0	0.25±0.01**	0.04±0.01	0.43±0.01	0.16±0.01	0.54±0.01	0.13±0.01
C 10:0	0.18±0.01	0.13±0.01	0.13±0.01	0.34±0.01	0.19±0.01	0.04±0.01
C 11:0	0.21±0.01	0.39±0.01	0.13±0.01	0.30±0.01	0.53±0.10	0.25±0.01
C 12:0	1.36±0.04	1.20±0.01	0.95±0.01	0.52±0.01	1.80±0.01	0.92±0.01
C 13:0	0.17±0.04	0.12±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.26±0.01	0.05±0.01
C 14:0	1.61±0.04	3.39±0.07	0.83±0.01	1.29±0.04	1.13±0.06	1.11±0.01
C 15:0	2.17±0.13	1.44±0.08	0.67±0.25	0.34±0.01	1.44±0.02	1.72±0.02
C 16:0	18.12±0.13	22.37±0.20	21.02±0.08	19.37±0.06	13.22±0.39	16.24±0.05
C 17:0	1.22±0.06	0.54±0.15	0.58±0.14	0.42±0.01	3.45±0.40	1.26±0.04
C 18:0	2.69±0.06	2.87±0.02	5.60±0.04	2.19±0.01	3.56±0.11	3.93±0.03
C 19:0	0.09±0.01	0.10±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01	0.09±0.01
C 20:0	0.23±0.04	0.23±0.01	0.26±0.14	0.32±0.01	0.68±0.06	0.41±0.04
C 21:0	0.45±0.04	0.44±0.01	0.18±0.01	0.36±0.01	0.13±0.01	0.23±0.03
C 22:0	0.09±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.04±0.01
ΣSFA*	**28.81±0.05**	**33.25±0.24**	**30.85±0.07**	**25.70±0.01**	**26.95±0.16**	**26.39±0.13**
C 14:1 ω5	0.08±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.18±0.01	0.15±0.01	0.05±0.01
C 15:1 ω5	0.10±0.01	0.14±0.02	0.04±0.01	0.09±0.01	0.25±0.12	0.06±0.01
C 16:1 ω7	0.13±0.01	0.23±0.01	0.03±0.01	0.14±0.04	0.24±0.01	0.11±0.01
C 17:1 ω8	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01	0.05±0.01	0.03±0.01	0.12±0.01
C 18:1 ω9	2.95±0.01	4.46±0.05	11.30±0.05	1.44±0.01	8.54±0.25	24.10±0.10
C 18:1 ω7	0.55±0.01	0.58±0.01	0.63±0.01	0.21±0.01	0.57±0.02	0.78±0.02
C 20:1 ω9	0.25±0.02	0.17±0.01	0.66±0.01	0.35±0.02	0.42±0.26	0.18±0.01
C 22:1 ω9	0.07±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.10±0.06	0.07±0.01	0.01±0.01
ΣMUFA*	**4.15±0.01**	**5.66±0.09**	**12.75±0.04**	**2.55±0.07**	**10.25±0.13**	**25.40±0.12**
C 18:2 ω6	20.60±0.05	21.82±0.20	18.92±0.01	34.06±0.07	34.55±0.94	35.92±0.12
C 18:3 ω3	34.22±0.04	32.86±0.64	31.86±0.06	33.62±0.18	24.01±0.92	8.73±0.57
C 18:3 ω6	4.82±0.01	1.99±0.01	2.33±0.03	1.31±0.01	1.71±0.06	1.50±0.01
C 20:2 ω6	0.07±0.01	0.04±0.01	0.17±0.10	0.12±0.01	0.07±0.01	0.02±0.01
C 20:4 ω6	5.28±0.01	2.14±0.03	1.99±0.01	1.55±0.01	1.64±0.02	1.25±0.14
C 20:5 ω3	0.36±0.01	0.41±0.01	0.16±0.05	0.33±0.05	0.26±0.03	0.23±0.01
C 22:2 ω6	0.07±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01
C 22:6 ω3	1.64±0.12	1.82±0.06	0.97±0.02	0.77±0.13	0.56±0.03	0.56±0.04
ΣPUFA*	**67.05±0.06**	**61.09±0.34**	**56.39±0.03**	**71.76±0.06**	**62.81±0.02**	**48.22±0.25**

*SFA: Doymuş yağ asidi. MUFA: Doymamış yağ asidi. PUFA: Aşırı doymamış yağ asidi

**Aritmetik ortalama ± Standard sapma

5. TARTIŞMA

5.1. Antioksidan Kapasite

Tüm antioksidan kapasite tayin metotlarında *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella* türlerinin diğer türlere kıyasla daha etkin antioksidan özellik gösterdikleri görülmüştür. Alali ve ark. (2007), Lübnan'daki bazı bitkilerin antioksidan kapasiteleri üzerine yaptıkları çalışmada *Centaurea ammocyanus*'un total fenolik içeriğini metanolik ekstrakta ise 10.9 mgGAE/g olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada Asteraceae familyasına ait diğer bitkilerin total fenolik içeriğinin metanolik ekstrakta 7.3-43.9 mgGAE/g arasında dağılım gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışmanın sonuçları araştırdığımız *Centaurea* türleri ile kıyaslandığında *Centaurea* türlerinin toplam fenolik içeriğinin 17.12-55.00 mg GAE/g arasında değiştiği görülür. En yüksek toplam fenolik içerik *C. pulchella'*da, en düşük toplam fenolik içerik ise *C. urvillei* subsp. *hayekiana'*da belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan tüm *Centaurea* türlerinin toplam fenolik içeriğinin *Centaurea ammocyanus*'un metanolik ekstraktının fenolik içeriğinden daha yüksek olduğu görülmüştür.

Karamenderes ve ark. (2007), sekiz *Centaurea* türünün antioksidan kapasitesi ve fenolik içerikleri üzerine yaptıkları çalışmada total fenolik içeriğin metanolik ekstrakta 43.44-120.90 mgGAE/L arasında değiştiğini ve bu türlerden total fenolik içeriğin en fazla *C. cariensis* subsp. *maculiceps*'de, en düşük ise *C. hierapolitana'da* olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada genel olarak kloroform ve hekzan ekstraktlarının total fenolik içeriğinin metanolik ekstraklarından daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum fenolik bileşikler için metanolün uygun bir solvent olduğunu gösterir. Tekeli (2008) yaptığı çalışmada 12 *Centaurea* türünün çeşitli biyokimyasal özelliklerini araştırmış ve türlerin antioksidan kapasitesini farklı yöntemler kullanılarak belirlemiştir. Çalışmada kullanılan *Centaurea* türlerinin toplam fenolik içeriğinin 0.0505-1.2320 mgGAE/ml arasında dağılım gösterdiği ve bu türlerden *C. urvillei* subsp. *urvillei*'nin en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Li ve ark. (2008)'nın 45 tıbbi bitki üzerine yaptıkları çalışmada bitkilerin total fenolik içeriğinin 1.17-40.27 mgGAE/g arasında değiştiğini bulmuşlardır. Çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinden özellikle *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ve *C. pulchella*'nın total fenolik içeriğinin tüm bu 45 tıbbi bitkiden daha yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu görülür. Kırca ve Arslan (2008), Türkiye'deki bazı bitkilerin toplam fenolik içeriklerinin 1.27-117.20 mgGAE/g arasında dağılım gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu bitkilerden Asteraceae familyasına ait olan *Cnicus benedictus*'un total fenolik içeriği 16.40 mgGAE/g olarak bulunmuştur. Bu türün toplam fenolik içeriğinin çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türleri ile kıyaslandığında altı *Centaurea* türünün de toplam fenolik içeriğinden daha düşük olduğu görülür.

Yunanistan'da bazı tıbbi bitkiler üzerine yapılan çalışmada farklı familyalara ait bitkilerin toplam fenolik içeriğinin 2.9-28.2 mgGAE/g aralığında belirlenmiştir (Proestos ve ark. 2006). Bu bitkilerin toplam fenolik içeriğinin çalışmamızda kullanılan türlerden *C. urvillei* subsp. *hayekiana* hariç diğer türlerden daha düşük olduğu görülür. Vitalini ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Asteraceae familyasına ait üç türün total fenolik içeriğini 88.12-110.42 mgGAE/g arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada en yüksek fenolik içerik *Achiella distans*'a aittir. Bu üç türün toplam fenolik içeriği çalışmamızda kullanılan altı *Centaurea* türünden de yüksek olarak bulunmuştur. Fenolik maddelerin antioksidan kapasiteye olan katkılarından dolayı total fenolik içerik antioksidan kapasite hakkında oldukça önemli bir göstergedir.

Kumaran ve Karunakaran (2007), Hindistan'daki beş *Phyllanthus* türünün antioksidan özelliklerini araştırdıkları çalışmada türlerin toplam antioksidan kapasitelerinin 245-376 mgAE/g arasında değiştiğini bulmuşlardır. Bu değerler çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinden oldukça yüksektir. *Centaurea* türlerinden en yüksek toplam antioksidan kapasitenin 100.84 mgAE/g ile *C. drabifolia* subsp. *detonsa*'da, en düşük ise 39.70 mgAE/g ile *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'da olduğu belirlenmiştir. Albayrak ve ark. (2010) Asteraceae familyasından on altı *Helichrsyum* türünün toplam antioksidan kapasitesinin bizim çalışmamızdaki değerlerden yüksek olarak 110.03-194.63 mgAE/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Antioksidan kapasite testlerinde serbest bir radikal kullanarak bitkisel ekstrakların bu radikali indirgeme yeteneğinin ölçülmesi oldukça sık kullanılmaktadır. Bu tekniklerden en sık kullanılanlardan biri DPPH yöntemidir. Tekeli (2008) 12 *Centaurea* türünün IC_{50} değerlerinin 0.5890-9.4965 mg/ml arasında değiştiğini belirlemiştir. Bu değerlere göre çalışmamızda kullanılan türlerin daha güçlü serbest radikal süpürme etkinliğine sahip olduğu söylenebilir. Benzer şekilde Conforti ve ark. (2008) *Centaurea centaurium* metanolik ekstraktının IC_{50} değerini çalışmamızda kullanılan türlerden daha yüksek (179 µg/ml) belirlemişlerdir. *Centaurea bornmuelleri, C. huber-morathii* ve *C. schiskinii* tohumlarının metanolik ekstraklarının IC_{50} değerleri sırasıyla 0.63, 0.031 ve 0.15 mg/ml olarak bulunmuştur (Sarker ve ark. 2005). Bu türlerden *C. huber-morathii* hariç diğer türlerin serbest radikal süpürücü etkisi çalışmamızda kullanılan altı *Centaurea* türünden daha zayıftır.

C. urvielli subsp. *armata* ve *C. mucronifera*'nın metanolik ekstraklarının DPPH test sisteminde IC_{50} değeri sırasıyla 51.6 mg/ml ve 53.6 mg/ml olarak belirlenmiştir (Shoeb ve ark. 2007). Bu sonuçlar çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türleri ile karşılaştırıldığında çalışılan tüm türlerin *C. urvillei* subsp. *armata* ve *C. mucronifera'*dan daha güçlü serbest radikal süpürücü etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan *C. urvillei*'nin başka bir alt türü olan *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'nın IC_{50} değeri 137.06 µg/ml olarak bulunmuştur. *C. calcitrapa*'nın 2.5 mg/ml konsantrasyondaki ekstraktının DPPH radikalini yaklaşık %40 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir (Pieroni ve ark. 2002). Bizim çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinin konsantrasyonu, bu konsantrasyondan oldukça düşük (0.4 mg/ml) olmasına rağmen özellikle *C. drabifolia* subsp. *detonsa, C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella'*nın DPPH inhibisyon oranı *C. calcitrapa'*dan daha yüksektir. Bu durum çalışmamızda kullanılan bu üç türün *C. calcitrapa'*dan daha etkin serbest radikal süpürme aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir.

Tekeli (2008), yaptığı çalışmada *Centaurea* türlerinin β-karoten/linoleik asit test sisteminde linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranlarının %13.40-66.98 arası dağılım gösterdiğini belirlemiş ve en düşük inhibisyon oranını *C. triumfettii*'de, en yüksek inhibisyon oranını ise *C. calolepis*'de bulmuştur. *C. mucronifera*'nın linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranı ise %35.2 olarak belirlenmiştir (Tepe

ve ark. 2006). Bu iki çalışmanın sonuçlarına göre, genel olarak çalışılan altı türün linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranı bu çalışmalarda kullanılan *Centaurea* türlerinden daha yüksektir. Çalışmamızda kullanılan altı türün inhibisyon oranları ise %44.00-65.40 arasında dağılım göstermektedir ve türlerin inhibisyon oranları sırasıyla *C. drabifolia* subsp. *detonsa*>*C. kotschyi* var. *persica*>*C. pulchella*>*C. patula*>*C. tchihatcheffii*>*C. urvillei* subsp. *hayekiana* şeklindedir.

Asteraceae familyasına ait olan dört *Helichrysum* türünün antioksidan kapasitesileri üzerine yapılan bir çalışmada linoleik asit oksidayonu inhibe etme yüzdelerinin %50-60, yine aynı türlerin IC_{50} değerleri de 40.5-48 µg/ml arasında belirlenmiştir (Tepe ve ark. 2005). *Centaurea* türlerinden özellikle *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella* türlerinin linoleik asid oksidasyonunu inhibe etme yüzdeleri ile serbest radikal süpürme yetenekleri *Helichrysum* türlerinden daha yüksektir. *Centaurea* gibi Asteraceae familyasına ait *Achiella biebersteinii*'in biyolojik özellikleri üzerine yapılan çalışmada bu türün metanolik ekstraktının IC_{50} değerinin 89.90 µg/ml, linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranı ise %22.7 olarak belirlenmiştir (Barış ve ark. 2006). Bu sonuçlara göre *Centaurea* türlerinden *C. urvillei* subsp. *hayekiana* hariç diğer türlerin serbest radikal süpürücü etkisinin ve tüm *Centaurea* türlerinin linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranı *A. bieberstenii*'den daha yüksektir.

Sarıkürkçü ve ark. (2008), *Marribium globosum* subsp. *globosum*'un antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmada metanolik ekstraktın EC_{50} değerini polar ve non-polar fraksiyonları için sırasıyla 625.63 µg/ml ve 1054.37 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinin EC_{50} değerleri ile kıyaslandığında özellikle *C. kotschyi* var. persica ve *C. drabifolia* subsp. *detonsa* türlerinin EC_{50} değerinin daha düşük olduğu, buna bağlı olarakda daha etkin bir indirgeme gücüne sahip olduğu söylenebilir. Özsoy ve ark. (2008), *Smilax excelsa* yapraklarının farklı solvetler kullanarak antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmada etil asetat, su, infuzyon ve etanolik ekstrakların EC_{50} değerleri sırasıyla 3.63 mg/ml, 1.60 mg/ml, 1.44 mg/ml ve 1.18 mg/ml olarak belirlemişlerdir. Bu değerlere göre indirgeme potansiyeli en yüksek etanolik ekstrakttadır. Çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinden *C. kotschyi* var. *persica*, *C. drabifolia* subsp. *detonsa* ve *C. pulchella*'nın EC_{50} değerleri *S. excelsa*'nın etanolik

ekstraktından daha düşük olup daha etkin indirgeme gücüne sahiptir. Çalışmamızda kullanılan türler indirgeme güçlerine göre *C. kotschyi* var. *persica*>*C. drabifolia* subsp.*detonsa*>*C. pulchella*>*C. patula*>*C.urvillei* subsp. *hayekiana*>*C.tchihatcheffii* şeklinde sıralanmıştır.

5.2.Yağ Asidi Bileşimi

Centaurea türlerinin yağ asidi komposizyonun büyük bir kısmını aşırı doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır. Tekeli (2008), yaptığı çalışmada 12 *Centaurea* türünün yağ asidi komposizyonunda tüm türlerin major yağ asidi olarak linoleik asidi bulmuştur. Bu yağ asidi *Centaurea* türleri arasında %23.92-47.44 arasında dağılım göstermektedir. Linoleik asit yüzdesi en yüksek tür olarak *C. urvillei* subsp. *urvillei*, en düşük tür olarak *C. cariensis* subsp. *microlepis* bulunmuştur. Aynı çalışmada türlerin toplam SFA, MUFA ve PUFA içeriklerinin ise sırasıyla %16.85-39.79, %9.01-31.05 ve %41.02-60.52 olduğu görülür. SFA, MUFA ve PUFA içeriği en yüksek türler olarak sırasıyla *C. virgata, C. triumfettii* ve *C. kotschyi* var. *kotschyi* şeklindedir. Bu çalışmada linoleik asitten sonra yüksek oranda görülen yağ asitleri genel olarak palmitik asit, oleik asit, α-linolenik asit ve stearik asit şeklindedir. Bu yağ asitlerinin yüzdeleri ise sırasıyla %11.89-28.41, %7.98-28.47, %2.06-27.36 ve %2.59-7.18 arasında dağılım göstermektedir. Bu duruma uygun olarak bizim çalışmamızda da toplam PUFA içeriklerinin SFA ve MUFA içeriklerinden daha yüksek olduğu ve %48.22-71.76 arasında dağılım gösterdiği görülür. Çalışmamızda kullanılan türlerden üç türde major yağ asidi linoleik asit, üç türde de α-linolenik asittir ve genel olarak bu yağ asitlerini palmitik asit ile oleik asit izlemektedir. Araştırılan türlerden *C. kotschyi* var. *persica* toplam SFA içeriği, *C. patula* toplam MUFA içeriği ve *C. pulchella* ise toplam PUFA içeriği en yüksek türlerdir.

Yıldırım ve ark. (2009), 16 *Centaurea* türünün biyokimyasal ve moleküler özelliklerini araştırdıkları çalışmada, türlerden *C. aggregata* hariç diğerlerinde major yağ asidi olarak palmitik asit bulunmuştur. Palmitik asit türler arasında %31.51-67.86 arasında dağılım göstermektedir. Oleik asit palmitik asitten sonra genel olarak en yüksek orana sahip yağ asidi olup türler arasında %14.49-68.49 arasında belirlenmiştir. *C. glastifolia* en yüksek palmitik asit, *C. aggerata* ise en yüksek oleik

asit içeriğine sahip türler olarak belirtilmiştir. Aynı çalışmada *C. pulchella*'nın yağ asidi komposizyonunun büyük çoğunluğunu palmitik asit (%64.89) ve oleik asit (%19.69) oluşturmaktadır. Çalışmamızda ise aynı türün yağ asidi komposizyonunda linoleik asit (%34.06) ile α-linolenik asit (%33.62) major yağ asitleri olup, palmitik asit (%19.37) ve oleik asit (%1.44) ise bu çalışmaya kıyasla daha düşük düzeydedir.

Curt ve ark. (2002), farklı lokasyonlardan toplanan Asteraceae familyasından *Cynara cardunculus* türlerinin yağ asidi komposizyonları üzerine yaptıkları çalışmada tüm lokasyonlarda linoleik asidin major yağ asidi olduğunu ve bu yağ asidini sırasıyla oleik asit ve palmitik asit izlediğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde araştırılan *Centaurea* türlerinin üç tanesinde major yağ asidi olarak linoleik asit belirlenmiş ve tüm türler içinde bu yağ asidi *C. patula*'da %18.92 ile en düşük, *C. urvillei* subsp. *hayekiana*'da %35.92 ile en yüksek orandadır. Kökdil ve Yılmaz (2005), 10 *Nigella* türü üzerine yaptıkları çalışmada türlerin yağ asidi komposizyonlarında major yağ asidi olarak linoleik asidi belirlemişler ve bu yağ asidinin türler arasında %31.21-69.50 arasında dağılım gösterdiğini bulmuşlardır.

Akpınar ve ark. (2008), beş *Nepeta* türünün yağ asidi komposizyonları üzerine yaptıkları çalışmada tüm türlerde major yağ asidi olarak α-linolenik asidi belirlemişlerdir ve bu yağ asidinin %48.20-61.62 arasında dağılım gösterdiğini bulmuşlardır. Bu yağ asidini sırasıyla linoleik asit (%15.66-22.33), oleik asit (%10.47-19.85) ve palmitik asit (%4.34-5.80) takip etmektedir. Benzer şekilde Sadubak ve ark., (2009) beş *Trifolium* türünün yağ asidi komposizyonları ve antioksidan kapasiteleri üzerine yaptıkları çalışmada beş türün major yağ asidi olarak α-linolenik asidi belirlemişler ve türler arasında bu yağ asidinin %16.1-31.1 arasında dağılım gösterdiğini bildirilmişlerdir. Çalışılan *Centaurea* türlerinden *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. patula*'nın yağ asidi komposizyonunda da major yağ asidi olarak α-linolenik asit bulunmuştur. Bu yağ asidi tüm türler arasında %8.73-34.22 arasında dağılım göstermektedir. Tsevegsüren ve ark. (1997), Asteraceae familyasına ait yedi *Saussurea* türüne ait tohumların yağ asidi komposizyonlarını belirledikleri çalışmada major yağ asidi olarak linoleik asidi tespit etmişlerdir ve diğer birçok çalışmada olduğu gibi genel olarak linoleik asidi oleik asit ve palmitik asit takip etmektedir. Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak γ-linolenik asit türlerin yağ asidi komposizyonlarında belirlenmiştir ve türler içinde bu

yağ asidi %1.7-11.2 arasında dağılım göstermektedir. Araştırılan *Centaurea* türlerinin γ-linolenik asit içeriği *C. pulchella*'da %1.31 ile en düşük, *C.drabifolia* subsp.*detonsa*'da ise %4.82 ile en yüksek düzeyde bulunmuştur.

Dubois ve ark. (2007), 80 bitkinin yağ asidi komposizyonları üzerine yaptıkları çalışmada bitkilerin büyük bir çoğunluğunun toplam MUFA ve PUFA içeriklerinin SFA'ya kıyasla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Araştırılan bitkilerin çok az bir kısmında toplam SFA içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum bitkilerin yağ asidi komposizyonlarının büyük bir çoğunluğunu doymamış yağ asitlerinin oluşturduğunu doğrular niteliktedir. Bitkilerin genel yağ asidi komposizyonlarına uygun olarak çalışmamızda da toplam PUFA içeriklerinin MUFA ve SFA'ya kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda kullanılan *Centaurea* türlerinin hepsinin antioksidan etkinliğe sahip olduğu ve bu türlerden özellikle *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschyi* var. *persica* ve *C. pulchella'*nın antioksidan kapasitelerinin uygulanan bütün test yöntemlerinde diğer türlere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle sentetik antioksidanların toksik etkileri göz önüne alındığında bu üç türün doğal antioksidan kaynağı olarak farmakoloji ve gıda endüstrisi alanında etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca türlerin içerdikleri yüksek linoleik asit ve α-linolenik asit içeriği, bu türlerin esansiyel yağ asitlerinin bir kaynağı olabileceğini göstermektedir. Bu açıdan çalışmamızın sonuçları bu türler üzerine yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

6. KAYNAKLAR

Abe, J., Berg, B.C., 1998. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular diseases. Trend in Cardiovascular Medicine 8: 59-64.

Ahmad, S. 1995. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology, New York: Chapman & Hall.

Akpınar, N., Akpınar, A.M., Görgün, S., Dirmenci, T., Aktumsek A. 2008. Fatty acid composition of the seeds of five *Nepeta* species from Turkey. Chemistry of Natural Compounds 44(1): 90-92.

Alali, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S.J., Wheaton, W.D., Fakilham, J.O., Oberlies, N.H. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous a methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG Project. Natural Product Research 21(12): 1121-1131.

Albayrak, S., Aksoy, A. Sagdıç, O., Hamzaoğlu, E. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. Food Chemistry 119: 114-122.

Alkofahi, A.S., Abdelaziz, A., Mahmoud, I., Abuirjie, M., Hunaiti, A., El-Oqla, A., 1990. Cytotoxicity, mutagenicity and antimicrobial activity of forty jordanian medicinal plants. International Journal of Crude Drug Research 28(2): 139-144.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mcdonal, S., Robards. K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. The Analyst 127: 183-198.

Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E., Ercag, E. 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. International Journal of Food Sciences and Nutrition 57(5/6): 292-304.

Apak, R., Kubilay, G., Demirata, B., Özyürek, M., Celik, E.S., Bektaşoğlu, B., Berker, I.K., Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. Molecules 12: 1496-1517.

Arif, R., Küpeli, R., Ergun, F. 2004. The Biological activity of *Centaurea* L. species. G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi 17(4): 149-164.

Artajo, L.S., Romero, M.P., Morelloa, J.R., Motilva, M.J., 2006. Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds; evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 6079–6088.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry 99: 191-203.

Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. 2002. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods. European Food Research and Technology 214: 143–147.

Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kılıç, H., Özkan, H., Sökmen, M., Özbek, T. 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). Turkish Journal of Biology 30: 65-73.

Baydar, H., 2000. Bitkilerde yağ sentezi, kalitesi ve kaliteyi artırmada ıslahın önemi. Ekin Dergisi 11: 50-57.

Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), Nobel Tıp Kitabevleri. Istanbul.

Bennick, A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine 13: 184-196.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 28(1): 25-30.

Cam, M., Hışıl, Y. 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.

Ceylan, A. 1995. Tıbbi bitkiler I, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın no: 312. İzmir.

Clapham, A.R., Tutin, T.G., Warburg, E.F. 1952. Flora of the British Isles. Cambridge University Press, UK.

Conforti, F., Menichini, F., Loizzo, M.R., Stattii, G., Rapisarda, A., Menichini, F., Houghton, P. J. 2008. Antioxidant, a-amylase inhibitory and brine-shrimp toxicity studies on *Centaurea centaurium* L. methanolic root extract. Natural Product Research 22(16): 1457-1466.

Curt, M.D., Sanchez, G., Fernandez, J. 2002. The potential of *Cynara cardunculus* L. for seed oil production in a perennial cultivation system. Biomass and Bioenergy 23: 33-46.

Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., Boskou, D. 1998. Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. Food Research International 31: 351-354.

Dimayuga, R.E., Garcia, S.K. 1991. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. Journal of Ethnopharmacology 31(2): 181-192.

Doll, R. 1990. An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. Proceedings of the Nutrition Society 49:119–131.

Dorman, H. J., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J. 2003. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chemistry 83: 255-262.

Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M. 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. European Journal of Lipid Science and Technology 109: 710-732.

Ekim, T. 2006. Anadolu'da bitki çeşitliliği. Gölbaşı Mogan Gölü, Andezit Taşı, *Centaurea tchihatcheffii*. Boşgelmez A. (ed), Bizim Büro Basımevi, Ankara. 315-325.

Eklund, P.C., Langvik, O.K., Warna, J.P., Salmi, T.O.,Willfor, S.M., Sjoholm, R.E. 2005. Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. Organic and Bimolecular Chemistry 21: 3336–3347.

Erik, S., Tarıkahya, B. 2004. Türkiye florası üzerine. Kebikeç 17: 139-163.

Feredioon, S., Janitha, P.K., Wanasundara P.D. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 32(1): 67-103.

Floyd, R. 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB Journal 4: 2587-2597.

Fox, B.A., Cameron A.G. 1984. Food Science – A Chemical approach 4th ed. Holder and Stoughton, London.

Fridovich, I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. Annual Review of Biochemistry 64: 97–112.

Friedman, A.N, Moe, S.M., Perkins, S.M., L,i Y., Watkins, B.A. 2006. Fish consumption and omega-3 fatty acid status and determinants in long-term hemodialysis. American Journal of Kidney Diseases 47: 1064–1071.

Gökpınar, S., Koray, T., Akcicek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. 2006. Algal antioksidanlar. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi 23: 85-89.

Grieve, M. 2002. A Modern Herbal. Available on-line at-http://botanical.com/botanical/mgmh/c/centau46.html.

Halliwell, B. 1991. Drug antioxidant effects. Drugs 42(4): 569 - 605.

Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. Lancet 344: 721– 724

Harborne, J.B., Simmonds, N.W. 1964. The natural distribution of the phenolic aglycones. In: Biochemistry of phenolic compounds. Harborne J.B (ed.), Academic press, New York, pp.77-127.

Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Archives of Internal Medicine 155 (11): 281–286.

Hou, W.C., Lin, R.D., Cheng, K.T., Hung, Y.T., Cho, C.H., Chen, C.H., Hwang, S.Y., Lee, M. H. 2003. Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. Phytomedicine 10:170–175.

Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. Food and Chemical Toxicology 24: 1071-1082.

IUPAC. 1979. Standards methods for analysis of oils, fats and derivatives. Paquot, C. (ed.), 6th edn, Oxford Pergamon Press, pp. 59–66.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C. 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test sistemi ile araştırılması. Turkish Journal of Botany 18: 117-122.

Karamenderes, C., Konyalıoğlu, S., Khan, S., Khan, I.A. 2007. Total phenolic contents, free radical scavenging activities and inhibitory effects on the

activation of NF-kappa B of eight *Centaurea* L. Species. Phytotherapy Research 21: 488-491.

Kaya, Y., Aksakal, O. 2005. Endemik Bitkilerin Dünya ve Türkiye'deki Dağılımı. Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi 7(1): 85-99.

Kırca, A., Arslan, A. 2008. Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. International Journal of Food Science and Technology 43:2038-2046.

Kökdil, G., Yılmaz, H. 2005. Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (Ranunculaceae) in Turkey. Biochemical Systematics and Ecology 33: 1203-1209.

Kondratyuk, P.T., Pezzuto, M.J. 2004. Natural product polyphenols of relevance to human health. Pharmaceutical Biology 42: 46-63.

Kranl, K., Schlesier, K., Bitsch, R., Hermann, H., Rohe, M., Böhm, V. 2005. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products- use of different assays. Food chemistry 93: 171-175.

Kumaran, A., Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT-Food Science and Technology 40: 344-352.

Lachance, A.P., Nakat Z., Jeong W. 2001. Antioxidants: An integrative approach. Nutrition 17: 835-838.

Lemaitre, R.N., King, I.B., Mozaffarian, D., Sotoodehnia, N., Rea, T.D., Kuller, L.H., Tracy, R.P., Siscovick, D.S. 2006. Plasma phospholipid trans fatty acids, fatal ischemic heart disease, and sudden cardiac death in older adults. The cardiovascular health study. Circulation 114: 209–215.

Li, H., Wong, C., Cheng, K., Chen, F. 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. LWT-Food Science and Technology 41: 385-390.

Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D., Madhavi, D.L. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems in food antioxidants. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K. (ed), Marcel Dekker, New York, pp 5-65.

Mathew, S., Abraham, T.E. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. Food Chemistry 94: 520-528.

Matkowski, A. 2006. Plant phenolic metabolites as antioxidants and antimutagens. In Y. Blume, P. Smertenko, & D. J. Durzan (Eds.). NATO Life Science Monographs, Amsterdam, IOS Press, 376: 129–148.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwel, V.W. 2004. Harper'ın Biyokimyası (Çev. Ed. : Dikmen, N., Özgünen, T.), Barış Kitabevi, İstanbul.

Naczk, M., Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A 1054: 95-111.

Nas, S., Gökalp, Y.H., Ünsal, M. 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası, 322s.

Ou, S., Kwok, K.C. 2004. Review: Ferulic acid: Pharmaceutical function, preparation and applications in foods. Journal of The Science of Food and Agriculture 84: 1261-1269.

Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition 44: 307-315.

Özsoy, N., Can, A., Yanardağ, R., Akev, N. 2008. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. Food Chemistry 110: 571-583.

Pezzuto, J.M. 1997. Plant-derived anticancer agents. Biochemical Pharmacology 53:121–133.

Pieroni, A., Janiak, V., Dürr, C. M., Lüdeke, S., Trachsel, E., Heinrich, M. 2002. In vitro Antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in southern Italy. Phytotheraphy Research 16: 467-473.

Pokorny, J. 1991. Natural antioxidants for food use. Trends in Food Science and Technology 9: 223-227.

Prakash, A. 2001. Antioxidant activity. Medallion Laboratories Analytical Progress 19(2); www.medlabs.com/file.aspx.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269: 337–341.

Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E., Komaitis, M. 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry 95: 664-671.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of favonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine 20(7): 933-956.

Robards, K., Antalovich, M. 1997. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. Analyst 122: 11-34.

Sabudak, T., Özturk, M., Gören, C.A., Kolak, U., Topçu G. 2009. Fatty acids and other lipid composition of five *Trifolium* species with antioxidant activity. Pharmaceutical Biology 47(2): 137-141.

Sanchez, M.C., Larrauri, J.A., Saura, C.F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture 76: 270-276.

Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Harmandar, M. 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum subsp. globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. Bioresource Technology 99: 4239–4246.

Sarker, S.D., Kumaramsy, Y., Shoeb, M., Celik, S., Yucel, E., Middleton, M., Nahar, L. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of three Turkish species of the genus *Centaurea*. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine 5(3): 1-5.

Sarker, S.D., Savchenko, T., Whiting, P., Sik, V., Dinan, L.N. 1997. Moschamine, cis-moschamine, moschamindole and moschamindolol: four novel indole alkaloids from *Centaurea moschata*. Natural Product Letters 9: 189-199.

Seçmen, Ö. 1996. Türkiye Florası, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Teksirler serisi No: 120.

Sellapan, S., Akoh, C.C ., Krewer, G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 2432-2438.

Sezik, E., Yesilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T. 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. Journal of Ethnopharmacology 75: 95–115.

Shahidi, F., Naczk, M. 1995. Food phenolics. Lancaster and Basel: Technomic Publishing, Lancaster, 566 s.

Shoeb, M., Mac Manus, S.M., Jaspars, M., Lin, P., Nahar, L., Celik, S., Sarker, S.D. 2007. Bioactivity of two Turkish endemic *Centaurea* species, and their major constituents. Brazilian Journal of Pharmacognosy 17(2): 155-159.

Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.

Slinkard, K., Singleton, V.L. 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture 28: 49–55.

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F. 2004. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control 15: 627-634.

Stoll, A.L. 1999. Omega-3 fatty acids in bipolar disorder, Archives of General Psychiatry 56: 407-412.

Taga, M.S., Miller, H.E., Pratt, D.E. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Journal of the American Oil Chemists'Society 61: 928–931.

Tekeli, Y. 2008. Konya bölgesinde bazı *Centaurea* türlerinin bazı kimyasal ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesi, S.Ü. Fen Bil. Ens. Doktora Tezi, Konya, 134s.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, A. H., Sokmen, A. 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. Food Chemistry 90: 685-689.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, A. H., Yumrutas, O., Sokmen, A. 2006. Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch.&Mey., *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* DC. and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora. Food Chemistry 98: 9-13.

Tsevegsüren, N., Aitzetmüller, K., Vosmann, K. 1997. Unusual fatty acids in Compositae: γ-linolenic acid in *Saussurea* spp. seed oils. Journal of High Resolution Chromatography 20: 315-320.

Uysal, T. 2006. Türkiye *Centaurea* (Asteraceae) cinsi *Cheirolepis* (Boiss.) O. Hoffm. seksiyonunun morfolojik, karyolojik ve moleküler revizyonu. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 184s.

Uzunhısarcıklı, M.E., Teksen, M., Dogan, E. 2005. *Centaurea marashica* (Asteraceae), a new species from Turkey. Annales Botanici Fennici 42(4): 309-312.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 4113-4117.

Vichi, S., Zitterl-Eglseer, K., Jugl, M., Franz, C. 2001. Determination of the presence of antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal fat by means of assessment of the radical scavenging capacity by photochemiluminescence analysis. Nahrung 45: 101–104.

Vitalini, S., Grande, S., Visioli, F., Agradi, E., Fico, G., Tome, F. 2006. Antioxidant activity of wild plants collected in Valsesia, an Alpine region of northern Italy. Phytotherapy Research 20: 576-580.

Wagenitz, G. 1975. Centaurea L. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Davis P.H. (ed.), Edinburgh University Press, Edinburgh.

WHO. 2003. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultaton: Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO, Geneva.

Winston G.W. 1991. Oxidant and antioxidants, in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology 100: 173-176.

Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry 99: 775-783.

Yıldırım, N., Sunar, S., Agar, G., Bozari, S., Aksakal, O. 2009. Biochemical and molecular characterization of some *Centaurea* species growing in the Eastern Anatolia Region of Turkey. Biochemical Genetics 47: 850-859.