T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELILOTUS OFFICINALIS (L.) DESR. (FABACEAE)'İN *İN VİTRO* ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

NURCAN SEREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

MAYIS -2015
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELILOTUS OFFICINALIS (L.) DESR. (FABACEAE)'İN İN VİTRO ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

NURCAN SEREN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

Yıl, 2015, 36 Sayfa

Jüri

Başkan	Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Danışman	Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Üye	Doç. Dr. Murad Aydın ŞANDA
Üye	Doç. Dr. Gökalp Özmen GÜLER

Melilotus officinalis Anadolu geleneksel halk hekimliğinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada *M. officinalis*'in metanolik ekstraktının antioksidan özellikleri; toplam antioksidan, serbest radikal süpürme etkinliği (DPPH testi), β- karoten /linoleik asit metodu, demir ve bakır indirgeme güçlerini içeren farklı kimyasal test sistemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içerikler belirlenmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içerik sırasıyla 26.52 mgGAE/g ve 56.42 mgRE/g olarak tespit edilmiştir. DPPH yönteminde 1 mg/ml konsantrasyonda 44.01 etkinlik gözlenmiştir. β-karoten/ linoleik asit test sisteminde, 2 mg/ml konsantrasyon linoleik asit oksidasyonu %80.65 oranında inhibe edilmiştir. Demir ve bakır indirgeme güçleri ise konsantrasyona bağlı bir durum sergilemektedir. Bu sonuçlar *M. officinalis*'in doğal antioksidanların bir kaynağı olarak gıda ve farmakoloji endüstrilerinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Fenolik içerik, Serbest radikal, *Melilotus officinalis*, Türkiye.

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF *INVITRO* ANTIOXIDANT PROPERTIES OF *MELILOTUS OFFICINALIS* (L.) DESR. (FABACEAE)

NURCAN SEREN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Abdurrahman AKTUMSEK

2015, 36 Pages

Jury
Advisor Prof. Dr. Abdurrahman AKTUMSEK
Member Doç Dr.Murad Aydın ŞANDA
Member Doç.Dr. Gökalp Özmen GÜLER

Melilotus officinalis is used in Anatolian folk medicine for the treatment of various ailments. In the present study, The antioxidant properties of methanolic extract obtained from *M. officinalis* was evaluated by different chemical assays, including total antioxidant, free radical scavenging activity (DPPH method), β-carotene/linoleic acid test system, ferric and cupric reducing power. Total phenolic and flavonoid content were also determined. Total phenolic and flavonoid content were detected as 26.52 mgGAE/g and 56.42 mgRE/g, respectively. The free radical scavenging activity was observed as 44.01% at 1 mg/ ml concentration in DPPH method. In β-karoten/ linoleik asit system, the extract exhibited 80.65 % inhibition against linoleic acid oxidation. Moreover, the ferric and cupric reducing powers were concentration-dependent manner. The results indicated that *M. officinalis* can be exploited as a source of natural antioxidants in food and pharmacological industry.

Keywords: Antioxidant, Free radical, *Melilotus officinalis*, Phenolic content,, Turkey.

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuarı'nda yürütülmüş olan bu tez çalışmasında, Türkiye florası için oldukça önemli bir tür olan *Melilotus officinalis*'in metanolik extraktının antioksidan kapasitesi belirlenmiştir.

Bu tür ile yürütülmekte olan çalışmaların bir bölümünü bana tez olarak veren danışman hocam Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK'e teşekkür ederim. Tez çalışmasının her aşamasını gerçekleştiren, bitkileri toplayan, analizleri yapan ve tezi yorumlayan Arş. Gör. Dr. Gökhan ZENGİN'e ve de Doktora öğrencisi Şengül UYSAL'a çok teşekkür ederim.

Bu araştırma projesini 14201005 nolu projeyle maddi olarak destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğüne (BAP) de teşekkür ederim.

NURCAN SEREN
KONYA-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET **1**

ABSTRACT **2**

ÖNSÖZ **3**

İÇİNDEKİLER **4**

1.GİRİŞ **5**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **7**

2.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar 7
2.2. Fabaceae Familyası ve Melilotus cinsi 10

3.MATERYAL VE YÖNTEM **11**

3.1. *Melilotus officinalis* Hakkında Taksonomik Bilgiler 11
3.2. Bitki Ekstraktın Hazırlanması 12
3.3. Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi) 12
3.4. Total Flavonoid Tayini 13
3.5. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi 13
3.6. DPPH süpürme etkinliği 14
3.7. β-karoten/Linoleik asit test sistemi 15
3.8. Bakır indirgeme gücü (CUPRAC testi) 15
3.9. Demir indirgeme gücü (Fe(III)→Fe(II)) 16

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **16**

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **26**

KAYNAKLAR **27**

ÖZGEÇMİŞ **33**

1. GİRİŞ

Bitkiler içerdikleri maddelerle beslenmenin yanısıra çeşitli insan hastalıkları tedavisinde büyük önem taşımaktadırlar. Son yıllarda sentetik ilaçların çeşitli yan etkilere sahip olması, bu alana duyulan ilginin ve bilimsel araştırmalar üzerine yapılan çalışmaların artmasına neden olmuştur. Sentetik ilaçların yerine bitkisel kökenli ham maddelerin bulunmasına yönelik araştırmalar popüler hale gelmiştir (Baytop, 1999).

Dünya Sağlık Örgütü yaptığı çalışmada, 20. yüzyılda tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısının yaklaşık 20000 civarına ulaştığı rapor edilmiştir. (Kalaycıoğlu ve Öner 1994). Dünyanın farklı bölgelerinde eski çağlardan beri geleneksel olarak kullanılan bitkisel ilaçlar batı tıbbında alternatif tıp olarak kabul edilir. Afrika ve Asya gibi dünyanın pek çok bölgesinde tıp ve sağlık alanında geleneksel olarak kullanılan bitkiler geçmişte olduğu kadar bugün de büyük öneme sahiptir (Clark, 1996; Farombi, 2003). Sentetik ilaçların çeşitli yan etkilere sahip olması, bitkisel ilaçların daha ucuz ve kolay temin edilmesi tıbbi bitkileri ilgi odağı haline getirmiştir (Baytop,1999).

Radikal terimi dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron içeren atomik veya moleküler olan radikaller bu eşlenmemiş elektrondan dolayı oldukça reaktif moleküller olup birçok molekül ile reaksiyona girerek bunları da radikal formuna dönüştürürler (Valko ve ark., 2007). Organizmada oksijenli solunum sırasında elektronların oksijene aktarılması esnasında reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan bir grup serbest radikal oluşmaktadır. Yaygın reaktif oksijen türleri; süperoksit, hidroksil, hidrojen peroksit radikalleridir. Oksijen türlerinin yanı sıra azot ve sülfür türevli radikaller de oluşabilir (Evans ve Halliwell, 2001). Reaktif oksijen türleri başta DNA ve lipidler olmak üzere biyomoleküller üzerine zararlı etkilere sahiptir ve sonuçta kanser, kalp ve damar hastalıkları, yaşlanma gibi birçok kronik ve dejeneratif hastalıklara sebep olur. Bununla birlikte organizmada bu bileşikleri etkisiz hale getirebilecek çeşitli koruyucu mekanizmalar mevcuttur. Eğer bu mekanizmalar düzenli bir şekilde çalışmazsa besinsel kaynaklı antioksidanların diyetle alımı büyük önem taşımaktadır. Bitkilerde serbest radikalleri etkisiz hale getiren fenolik bileşikler, azotlu bileşikler, vitaminler, terpenler

gibi güçlü antioksidan aktiviteye sahip çeşitli bileşikler mevcuttur (Velioğlu ve ark. 1998).

Antioksidanlar, yağlı gıdaların korunmasında önemli role sahiptir. Bu durumdan dolayı yağlı gıdaların işlenmesi sırasında BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), olmak üzere çeşitli sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak son çalışmalar bu sentetik antioksidanların karsinojenik, mutajenik ve karaciğer hasarı gibi etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir ve bu durumdan dolayı sentetik antioksidanların yerine sağlık açısından güvenli doğal antioksidan kaynakları büyük öneme sahiptirler (Ito ve ark., 1986).

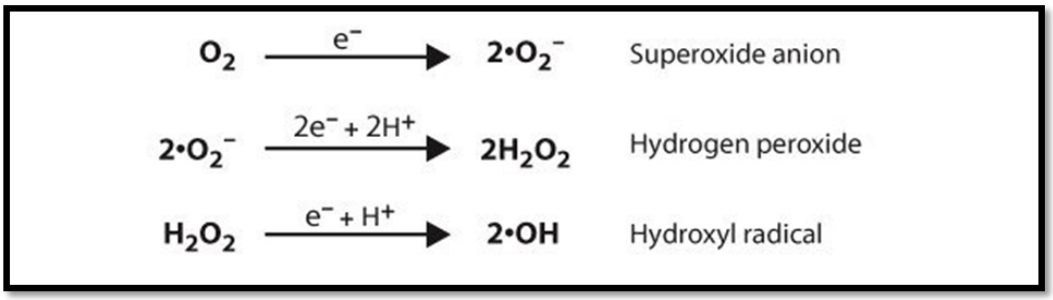
Fabaceae familyası 269 cinse ait 5100 tür ile Dünya'da en geniş bitki familyalarındandır (Mabberley, 1997). Bu familya Türkiye'de 68 cins ve 900 tür ile temsil edilir (Davis, 1988; Guner ve ark., 2000). *Melilotus* 20 tür içeren bir cinstir ve tüm dünyada geniş yayılış göstermektedir (Zhao ve ark. 2010). *Melilotus officinalis* sarı yonca veya tatlı yonca olarak bilinir. Avrupa ve Asya'ya özgü iki yıllık aromatik bir bitkidir (Felter ve Lloyd, 1898). *M. officinalis* bütün türleri çiçeklendiği zaman kendine özgü hoş bir kokusu vardır. Karakteristik hoş kokusu kumarin içeriğinden kaynaklanmaktadır. Tıbbi olarak, *Melilotus officinalis* popülerliği çok eskiye dayanmaktadır. Örneğin eski Mısırlılar barsak solucanları ve kulak ağrısı tedavisinde *Melilotus*'u çay olarak kullanılmıştır. *Melilotus officinalis* yaraların iyileşmesinde, ödem, flamasyon ile ülser semptomlarının azaltılmasında olumlu etkilere ve antikoagülan, antibakterial, antispazmotik gibi pek çok özelliklere sahiptir (Grossberg ve Fox, 2007).

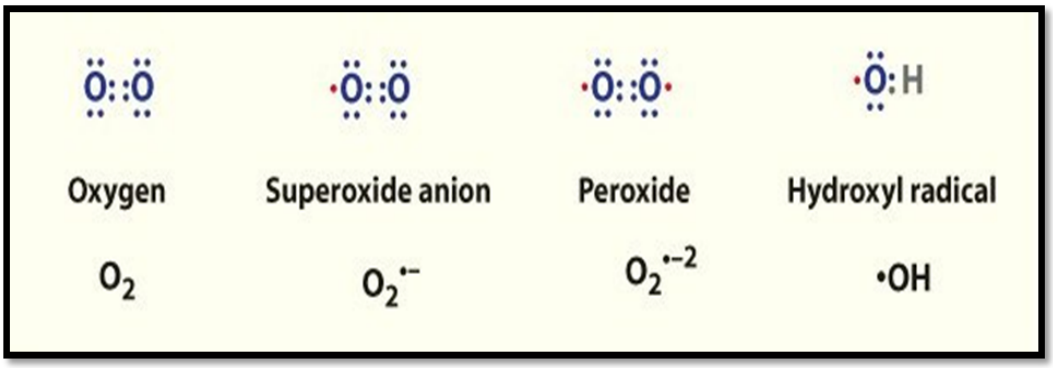
Bu tez çalışmasında tıbbi açıdan önemli bir bitki olan *Melilotus officinalis* türünün antioksidan aktivitesi araştırılarak gıda ve farmakoloji endüstri açısından hammadde kaynağı olup olmayacağı amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir (Halliwell 1991). Serbest radikaller genellikle kararsız bir yapıda olup bazı maddelerle kolayca reaksiyona girerek toksik etkisi yüksek yeni bileşikler meydana getirebilirler (Abe ve Berg 1998). Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin önemli bir kısmını serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadır ve genellikle reaktif oksijen türleri olarak isimlendirilirler. Serbest azot ve kükürt radikalleri de canlı sistemlerde bulunan radikallerdir. Elektron transpot zinciri serbest oksijen radikallerinin biyolojik sistemlerdeki temel kaynağıdır. Elektron transport zincirinde son elektron alıcısı olan oksijenin tam olarak indirgenmesi sonucu su oluşur. Ancak çeşitli faktörlere bağlı olarak eğer bu mekanizma bozulacak olursa oksijen tam olarak indirgenemez ve radikal türler meydana gelmektedir. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit, iki elektron alarak indirgenmesi sonucu hidrojen peroksit, üç elektron alarak indirgemesi ile hidroksil radikali meydana gelmektedir.(şekil 1) (Tandon ve ark., 2005; Bandyopadhyay ve ark.,1999; Sinclair ve ark.,1990).





Şekil 1. Reaktif Oksijen Türleri

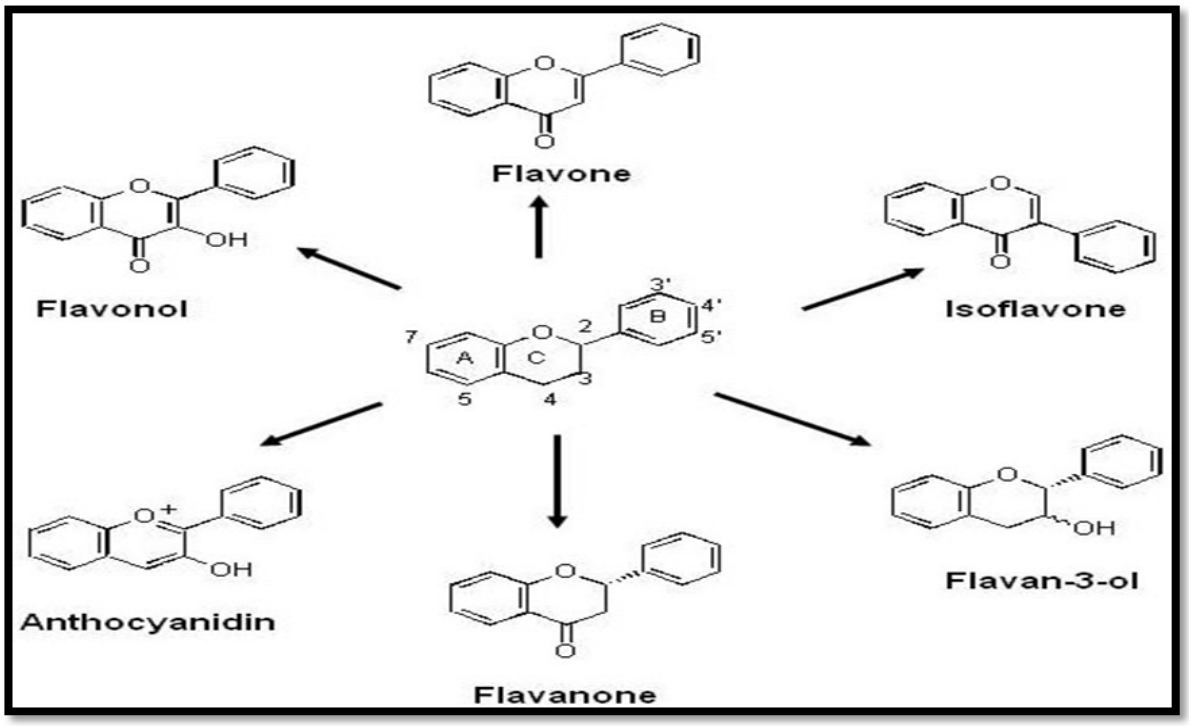
Biyolojik sistemlerde mevcut reaktif oksijen türlerinin mitokondrial elektron transferi, endoplazmik retikulum oksidasyonu gibi endojen ve alkol, sigara dumanı, kirleticiler gibi ekzojen olmak üzere iki önemli kaynağı vardır (Hou ve ark. 2003). Serbest radikaller yüksek konsantrasyonlarda nükleik asitler, lipidler ve proteinlerde hasar meydana gelmesinde rol oynarlar (Valko ve ark., 2006). Bu durum kanser, kalp hastalıkları, Parkinson ve Alzheimer gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. (Hou ve ark. 2003). Antioksidanlar, biyolojik moleküllerin oksidiyonunu engellemek ya da geciktirmek için serbest radikallerle reaksiyona girme yeteneğine sahip olan kimyasallardır (Zelko ve ark. 2002). Antioksidanlar, aktif türlerin oluşumunu baskılama, metal şelatlama, aktif serbest radikalleri süpürme, hasarı temizleme ya da tamir etme gibi farklı mekanizmalarla etkilerini gösterirler. (Tiwari, 2004).

Bütün organizmalar serbest radikallerin meydana getirdiği zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması için bir savunma sistemi gelişmiştir (Cadenas, 1997). Enzimlerin oluşturduğu sistemi süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) meydana getirmektedir. Enzimatik olmayan bileşikler albumin, indirgenmiş gulutatyon, Vitamin C, E ve β-karoten gibi moleküllerden oluşur (Jacob 1995, Fang ve ark., 2002) Normal koşullarda bu savunma sistemi ve serbest radikal üretimi arasındaki denge sağlıklı bir yaşamın sürdürülmesi açısından çok büyük önem taşımaktadır. Ancak radikal üretimi bu savunma sisteminin kapasitesini aşarsa bu durumda diyetle antioksidanların alımı büyük önem kazanır (Valko ve ark., 2007).

Antioksidanlar genel olarak doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Sentetik antioksidanlar en yaygınları 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 (Jadhav ve ark. 1996). Bununla beraber yapılan toksikolojik çalışmalar insan gıdalarında kullanılan sentetik antioksidanların kanser ve diğer hastalıklara sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumdan dolayı sentetik antioksidanların kullanımları birçok ülkede yasaklanmıştır. Dolayısıyla bitkilerden elde edilen yeni doğal antioksidanların belirlenmesi çekici konular arasındadır (Huang ve Wang, 2004).

Bitkisel sekonder metabolitleri içinde fenolik bileşikler çeşitli biyolojik etkinliğe sahip olmalarından dolayı oldukça ilgi çekici konumdadır. Fenolik bileşikler veya daha yaygın olarak kullanılan ismi ile polifenoller; genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip farklı yapı ve fonksiyonlardaki sekonder bitki metabolitleridir. (Balasundram ve ark., 2006). Fenolik bileşikler; basit fenoller, fenolik asitler, kumarinler, flavonoidler, stilbenler, hidrolizlenebilir ve kondanse tanenler, lignan ve ligninleri kapsamaktadır (Shahidi, 2004). Bitkisel fenolik bileşikler için önemli antioksidan, antitümöral, antiviral ve antibiotik aktivitelere sahip oldukları sıklıkla belirtilmektedir (Fuhrman ve ark., 1995). Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Flavonoidler; flavonlar, flavonollar, flavononlar, isoflavonlar, flavanollar ve antosiyaninler olmak üzere altı gruba ayrılmaktadır. (Stewart ve ark., 2000).



Şekil 2. Flavonoid grupları

2.2. Fabaceae Familyası ve *Melilotus* cinsi

Türkiye florası dünya üzerinde biyoçeşitlilik açısından oldukça önemli bir konumdadır. Fabaceae familyası beslenme, süs ve tıbbi özelliğe sahip çeşitli türleri bulundurmasından dolayı oldukça önemlidir. Fabaceae familyası 269 cinse ait 5100 tür ile Dünya'da en geniş bitki familyalarındandır (Mabberley, 1997). Bu familya Türkiye'de 68 cins ve 900 tür ile temsil edilir (Davis, 1988; Guner ve ark., 2000). *Melilotus* türleri genel olarak İç Anadolu bölgesinde geniş yayılışa sahiptir. Melilotus officinalis ülkemizde koçboynuzu, pireotu, tıbbi kokulu yonca ve eşek yoncası gibi isimlerle bilinmektedir (Baytop 1999; Baytop 2007).

Melilotus türleri geleneksel Anadolu halk hekimliğinde şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır. Örneğin, Çakılcıoğlu ve ark (2010), yaptıkları etnofarmakolojik çalışmada *Melilotus officinalis* türünün Elazığ civarında romatizma ağrılarını hafifletmek için kullanıldığını rapor etmişlerdir. Yine yapılan bir çalışmada *M. elegans*'ın böbrek rahatsızlıkları için kullanıldığı belirtilmiştir (Şığva ve Seçmen,

2009). Farmakolojik açıdan *Melilotus* türlerinin, özellikle *M. officinalis* ve *M. altissima*'nın etkileri daha çok damar sistemi üzerine olduğu belirtilmektedir (Wagner,1995). *Melilotus* türleri üzerine yapılan çalışmalarda türlerin kumarinler yönünden oldukça zengin olduklarını ve farmakolojik etkilerinin bu bileşenlerden kaynaklanabileceği yönünde bilgiler bulunmaktadır (Weiss,1991; Wagner, 1995; Sutiashvili 1999; Khodakov, 2010).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. *Melilotus officinalis* Hakkında Taksonomik Bilgiler

Bu tez çalışmasında kullanılan *Melilotus officinalis* (Şekil 3.1) Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Murad Aydın ŞANDA tarafından taksonomik olarak teşhis edilmiştir.



Şekil 3.1. *M. officinalis*

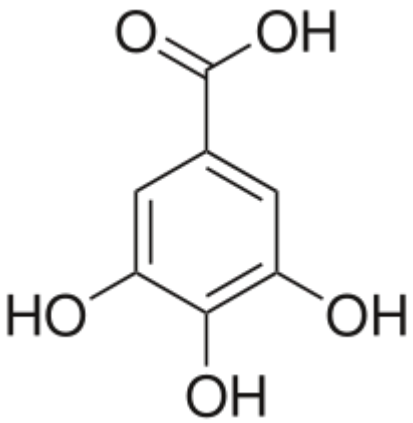
3.2.Bitki Ekstraktın Hazırlanması

Bitkisel örnekler toplanıp gölgede kurutulduktan sonra değirmende iyice toz haline getirildi. Toz haline gelen örneklerden yaklaşık 15 g tartılıp sokslest düzeneğinde 6 saat süreyle sırasıyla metanol ekstraksiyonuna tabii tutuldu. Ekstraksiyon sonunda ekstraklar filtre kağıdından (Whatman mavi band) süzüldü. Daha sonra çözücü rotary evaporatörde 40°C'de tamamen buharlaştırıldı. Ele geçen ham ekstraklar antioksidan kapasite testleri uygulanıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.3. Toplam fenolik madde tayini (Folin yöntemi)

Bitki ekstraktının konsantrasyonu 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Bunun için 20 mg bitki tartılıp 10 ml metanolde çözüldü. Bitkisel droglardan 200 µl ayrı deney tüpülerine alındı. Daha sonra her bir tüpe 1.5 ml su ve 0.5 ml %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden eklendi. 3 dakika beklendikten sonra 0.1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta iki saat bekletildikten sonra 760 nm'de absorbansları ölçüldü. Tüm antioksidan kapasite tayin testlerinde

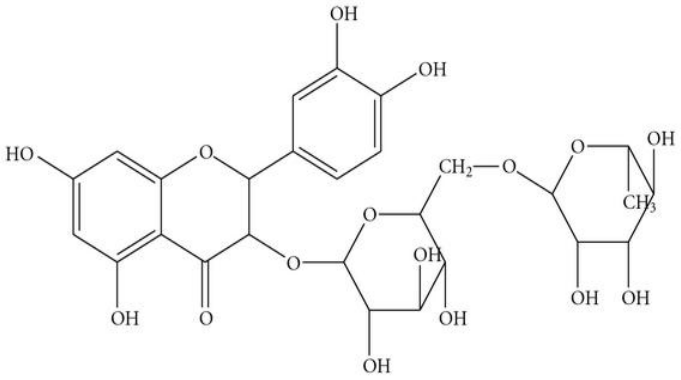
spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-1800 spektrofotometre cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Aynı işlemler standart olarak kullanılan gallik asit için de tekrarlandı (Şekil 3.3). Bitkilerin fenolik madde içeriği gallik asit eş değeri olarak verildi (mg GAE/g) (Singleton ve Rossi, 1965).



Şekil 3.3. Gallik asit

3.4. Total Flavonoid Tayini

2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan bitki ekstraktı (1 ml) aynı miktarda %2'lik $AlCl_3$ ile karıştırıldı ve daha sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Örneklerin absorbansları 415 nm'de okundu. Aynı işlemler standart olarak kullanılan rutin içinde yapıldı (Şekil 3.4). Örneklerin flavonoid içerikleri rutine eşdeğer olarak hesaplandı (mg RE/g) (Arvouet-Grand ve ark., 1994).



Şekil 3.4. Rutin

3.5. 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 ekstraktın konsantrasyonları 2 mg/ml olacak şekilde çözeltileri hazırlandı. Standart olarak ise askorbik asit 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 oldu. 2 mg/ml konsantrasyonunda bitkisel çözeltiden 0.3 ml bir tüpe alındı 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 (mg AE/g) olarak hesaplandı (Prieto ve ark., 1999).

3.6. DPPH süpürme etkinliği

Bitkisel ekstraktın ve sentetik antioksidanların farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Farklı konsantrasyonlardaki bu bitkisel çözeltilerden 1 ml alınıp bunun üzerine 1 ml konsantrasyondaki DPPH çözeltisinden (final konsantrasyonu 0.2 mM) 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 (BHA ve BHT) inhibisyonu aşağıdaki denklemden hesaplandı (Sarikurkcu ve ark. 2009). Kontrol çözeltisi olarak ekstrak yerine metanol eklendi.

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

3.7. β-karoten/Linoleik asit test sistemi

Bitkisel materyalin 4.2 ve 1 mg/ml konsantrasyonları 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.

Farklı konsantrasyonundaki bitkisel droglardan 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 2 saat inkübe edildi. (Dapkevicius ve ark., 1998; Sokmen 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.

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

3.8. Bakır indirgeme gücü (CUPRAC testi)

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 0.2, 0.4 ve 1 mg/ml arasındaki 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 BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), çözeltileri içinde yapıldı. Bu süre sonunda absorbansları 450 nm'de okundu (Apak ve ark. 2006).

3.9. Demir indirgeme gücü (Fe(III)→Fe(II))

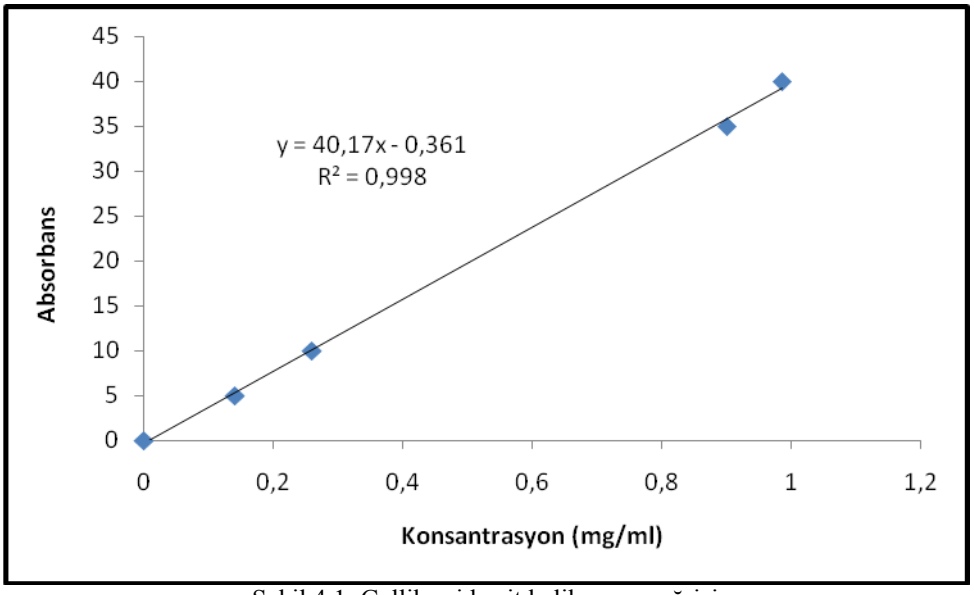
Bu metotta bitkisel ekstrakların 0.2, 0.4 ve 0.8 mg/ml konsantrasyonları kullanıldı. Farklı konsantrasyonlardaki bitkisel çözeltilerden 2.5 ml alındı. Bunun üzerine 0.2 M pH 6.6 2.5 ml fosfat tamponu ve %1'lik 2.5 ml potasyum ferrisiyanür eklendi. Tüpler 50°C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon 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. Aynı işlemler BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), içinde tekrarlandı. Çözeltilerin absorbansları 700 nm'de okundu (Oyaizu 1986). Absorbans artması indirgeme gücündeki artışı göstermektedir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

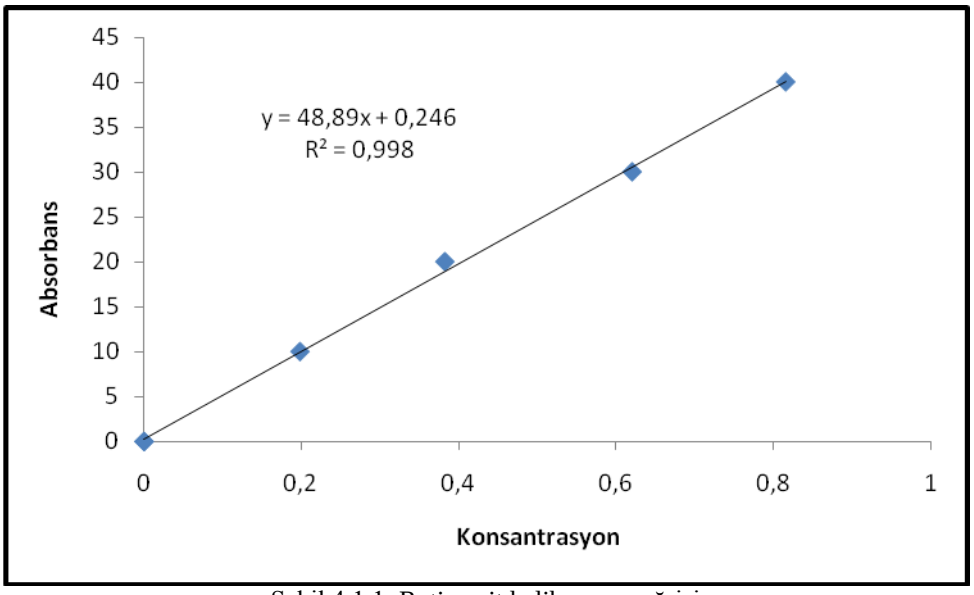
Bitkisel kimyasalların kompleks yapısı, ekstraksiyon çözücüsü, süresi gibi çok sayıda faktör antioksidan kapasiteyi etkilemektedir. Bundan dolayı tek bir metot yerine farklı test sistemlerinin kullanılmış olması antioksidan kapasite üzerine daha doğru yorum yapabilmeyi sağlamıştır. Bu amaçla *Melilotus officinalis*'in antioksidan özellikleri farklı test sistemleri kullanılarak yorumlanmıştır.

4.1.Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde İçeriği

Bitkisel sekonder metabolitleri içerisinde fenolik bileşikler oldukça güçlü antioksidan özelliklere sahiptirler ve yapılan birçok çalışmada fenolik içerik ile antioksidan kapasite arasında güçlü bir korelasyon gözlenmiştir. Fenolik içeriğin belirlenmesinde basitliği ve özel bir ekipman gerektirmemesinden dolayı Folin Yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. *M. officinalis* metanol özütünün fenolik bileşik tayininde Gallik asidin farklı konsantrasyonlarına karşı absorbanslar ölçülerek kalibrasyon grafiği elde edilmiştir (Şekil 4.1.). Toplam fenolik içerik 26,52 mgGAE/g olarak bulunmuştur. Miliauskas ve ark. 2004 yaptıkları çalışmada *Melilotus officinalis* metanol özütünün fenolik içeriği (4.3 mgGAE/g) bizimkine kıyasla daha düşük olarak rapor edilmiştir. Fabeaceae üyesi olan bazı türlerde toplam fenolik içerikler şu şekilde tespit edilmiştir; *Onobrycihis scardica* (115.23 mgGAE/g) (Godevac ve ark. 2008), *Genista vuralii* (212.24 mgGAE/g), *G. sandrasica* (166.94 mgGAE/g) (Orhan ve ark., 2011). Flavonoid içerik ise rutine eşdeğer verildi ve bu amaç için rutinin bir kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.1.1). Flavonoid içerik 56,42 mgRE/g olarak tespit edilmiştir.



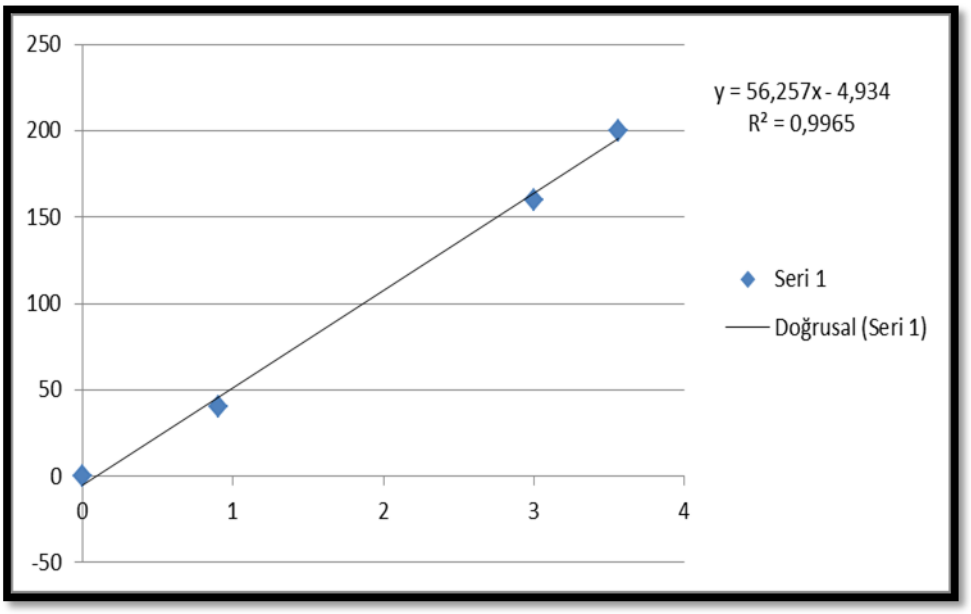
Şekil 4.1. Gallik aside ait kalibrasyon eğrisi



Şekil.4.1.1. Rutine ait kalibrasyon eğrisi

4.2.Toplam Antioksidan Kapasite

Bitkilerin toplam antioksidan kapasitesini belirlemesinde fosfomolibdat denilen metot kullanılmıştır. Fosfomolibdat veya fosfomolibdenum testi, antioksidan bileşikler tarafından Mo(VI), Mo(V) e indirgemesi ve sonra yeşil renkli fosfat/Mo(V) kompleksinin oluşması ve oluşan bu kompleksin 695 nm'de absorbansının ölçülmesi temeline dayanır**.** Bu amaçla askorbik asitin farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 4.2.). *Melilotus officinalis*'in metanolik özütünün toplam antioksidan kapasitesi 22,73 mgAE/g olarak belirlenmiştir.

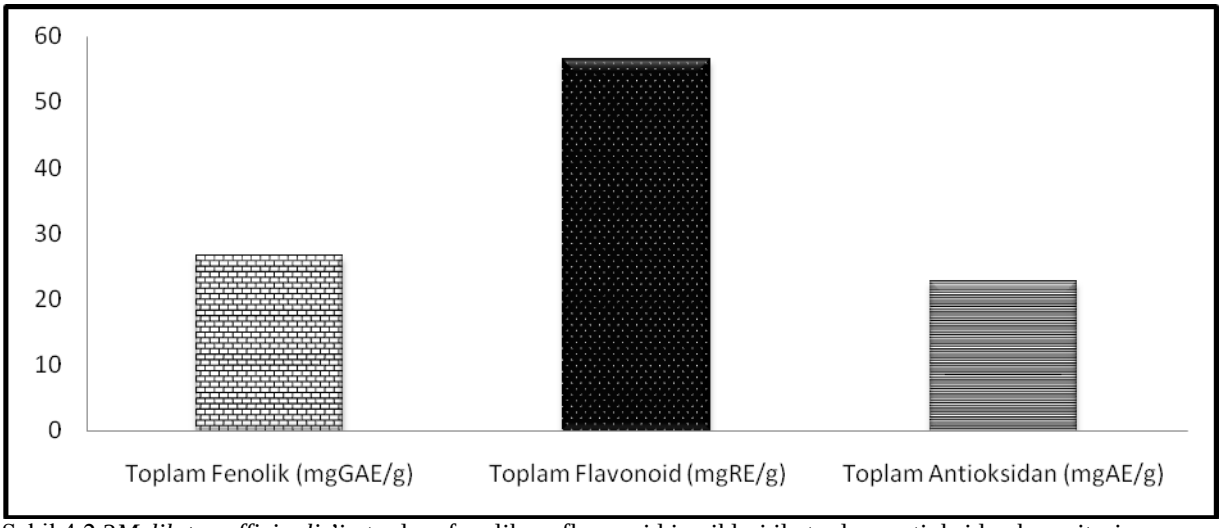


Şekil.4.2. Askorbik asidin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.2.1. *M. officinalis* özütlerinin toplam fenolik, flavonoid içerikleri ve toplam antioksidan kapasitesi

Testler	Metanol
Toplam Fenolik (mgGAE/g)	26.52±1.51*
Toplam Flavonoid (mgRE/g)	56.42±1.73
Toplam Antioksidan (mgAE/g)	22.73±4.29

*Aritmetik ortalama±S.S



Şekil.4.2.2*Melilotus officinalis*'in toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi

4. 3. DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkinliği

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), antioksidanların serbest radikal süpürme aktivitelerini belirlemede yaygın olarak kullanılan metotlardan en önemlilerindendir. Bu test sistemlerinin ortak özelliği çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan radikal çözeltilerine bitkisel özüt ilave edilir ve meydana gelen renk değişimi spektrofotometrik olarak belirlenir.

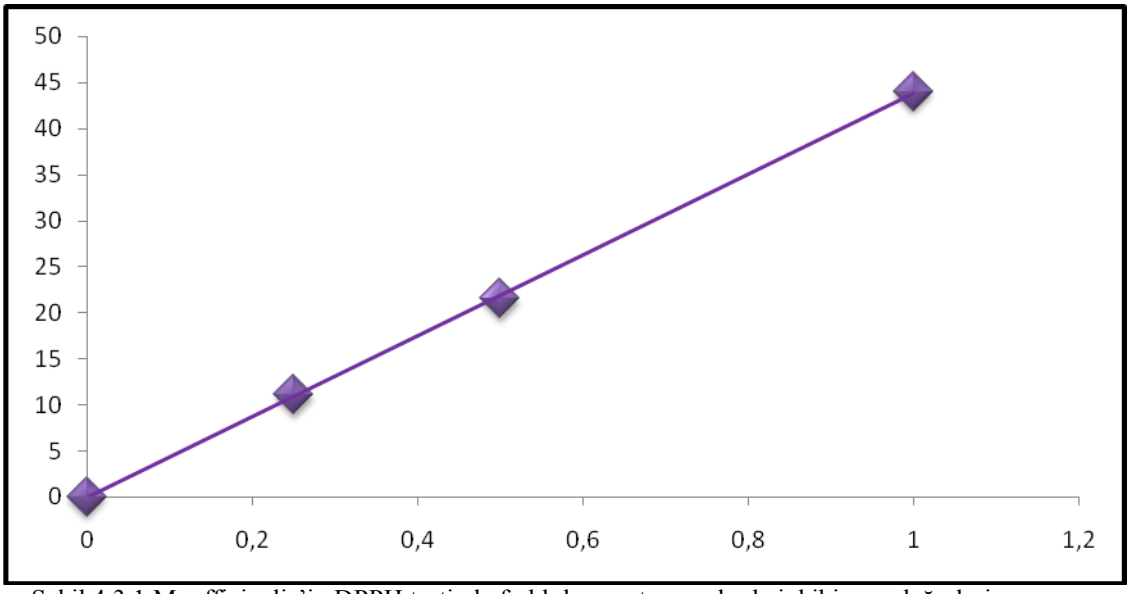
Farklı konsatrasyonlarda hazırlanan metanolik özütlerin DPPH radikali üzerine etkisi Çizelge 4.3 gösterilmiştir. Konsantrasyona bağlı olarak bitkisel özütlerin konsantrasyonu arttıkça radikal süpürme aktivitesi de artmıştır. Bitkisel özütlerin en düşük konsantrasyonu olan 0.25 mg/ml'de radikal süpürme oranı %11.06olarak tespit edilmiştir. Özütün 1 mg/ml'lik çözeltisinde ise etkinlik

%44.01'e kadar yükselmiştir (Şekil 4.3.1. , Şekil 4.3.2.). Yapılan bir çalışmada *M. officinalis*'infarklı özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi % 8.1 (etilasetat), % 7.6 (aseton)ve % 75.9(metanol) olarak rapor edilmiştir (Miliauskas ve ark.).*Viciasativa* ssp. *nigra* var. *nigra*'nın DPPH süpürme aktivitesi 0.5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonda sırasıyla %8.7 ve %15.4 olarak belirlenmiştir (Orhan ve ark., 2009). Bizim sonuçlarımız ile kıyaslandığında *M. officinalis* daha güçlü radikal süpürme aktiviteye sahiptir.

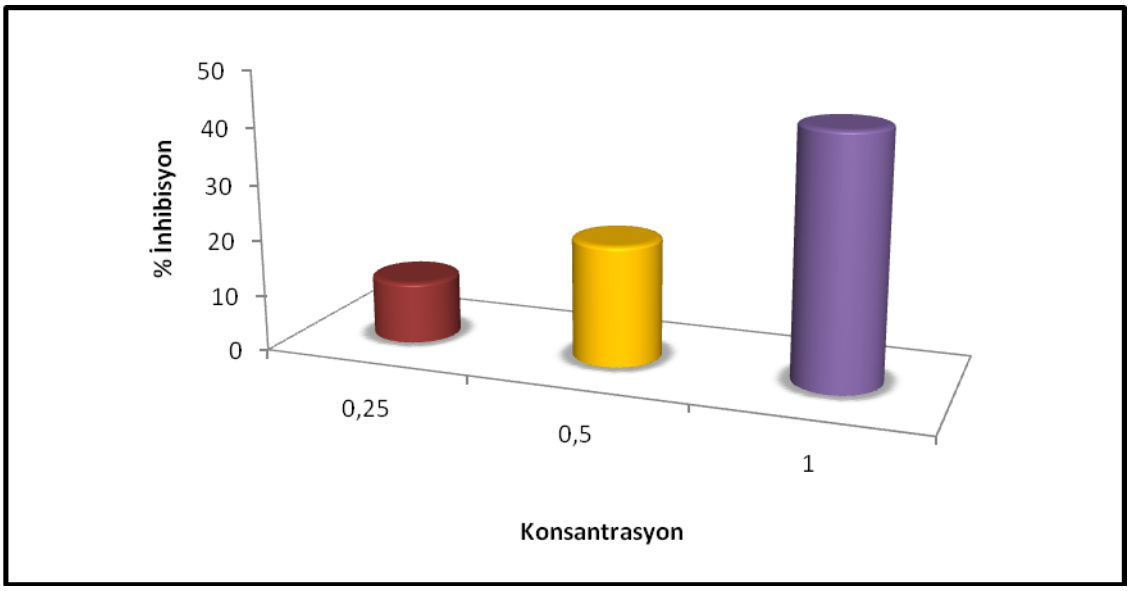
Tablo.4.3. *M. officinalis*'in DPPH testinde farklı konsantrasyonlarda inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	**%İnhibisyon**
0,25	11.06±0.27*
0.5	21.49±0.43
1	44.01±1.62

*Aritmetik ortalama±S.S



Şekil 4.3.1.M. officinalis'in DPPH testinde farklı konsantrasyonlarda inhibisyon değerleri



Şekil 4.3.2 *M. officinalis*'in DPPH testinde farklı konsantrasyonlarda inhibisyon değerleri

4.4. Demir İndirgeme Gücü

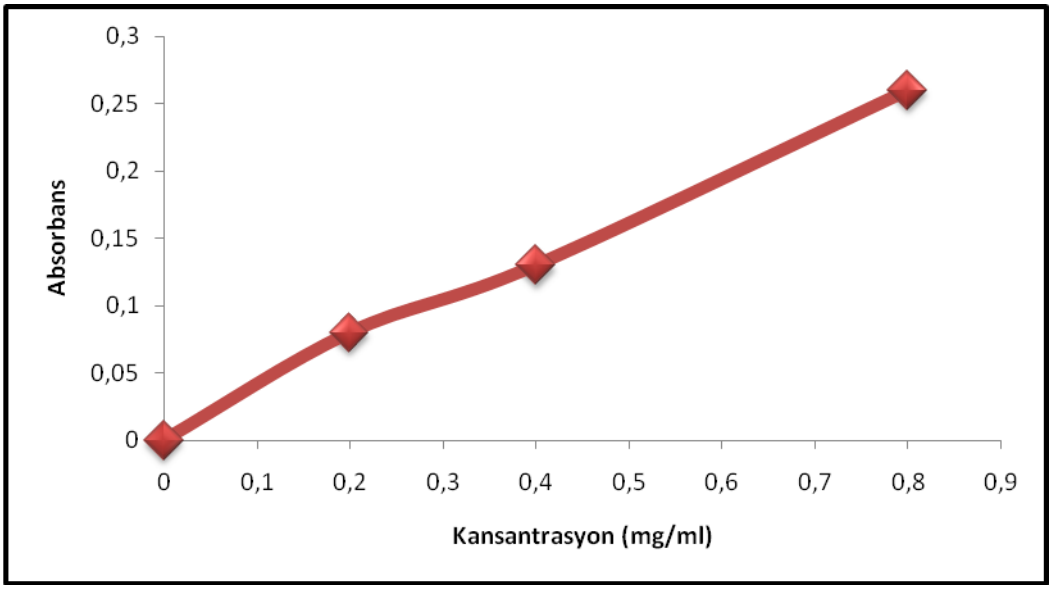
Özellikle indirgeme gücü testleri antioksidan bileşiklerin elektron verme yeteneklerinin bir göstergesidir. Bu amaçla tez kapsamında *M. officinalis*'in bakır ve demir indirgeme gücü araştırıldı. Metot, ortamdaki antioksidanlar tarafından $Fe3^{+}$ iyonlarının $Fe2^{+}$ indirgemesi ve 700 nm de maksimum absorbans göstermesi esasına dayanır. Örneklerin indirgeme gücü çeşitli konsantrasyonlar kullanılarak belirlenmiştir. Bu test sisteminde yüksek absorbans yüksek demir indirgeme potansiyelini göstermektedir. Testin sonuçlarında konsantrasyon arttıkça absorbans da artış göstermektedir.Çalışılan M. officinalis'in konsantrasyona bağlı olarak demir indirgeme gücü sonuçları Tablo 4.4 ve Şekil 4.4.1 , Şekil 4.4.2'de gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Fabaceae üyesi olan *Viciasativa* sup. *nigra* var. *nigra*'nın 1 mg/ml'lik konsantrasyonda demir indirgeme gücü 0.230±0.1 olarak belirlenmiştir (Orhan ve ark., 2009).Buna göre *M. officinalis*'in metanol ekstraktı daha düşük konsantrasyonda daha güçlü demir indirgeme potansiyeline sahiptir.

Tablo 4.4. *M. officinalis*'in demir indirgeme gücü

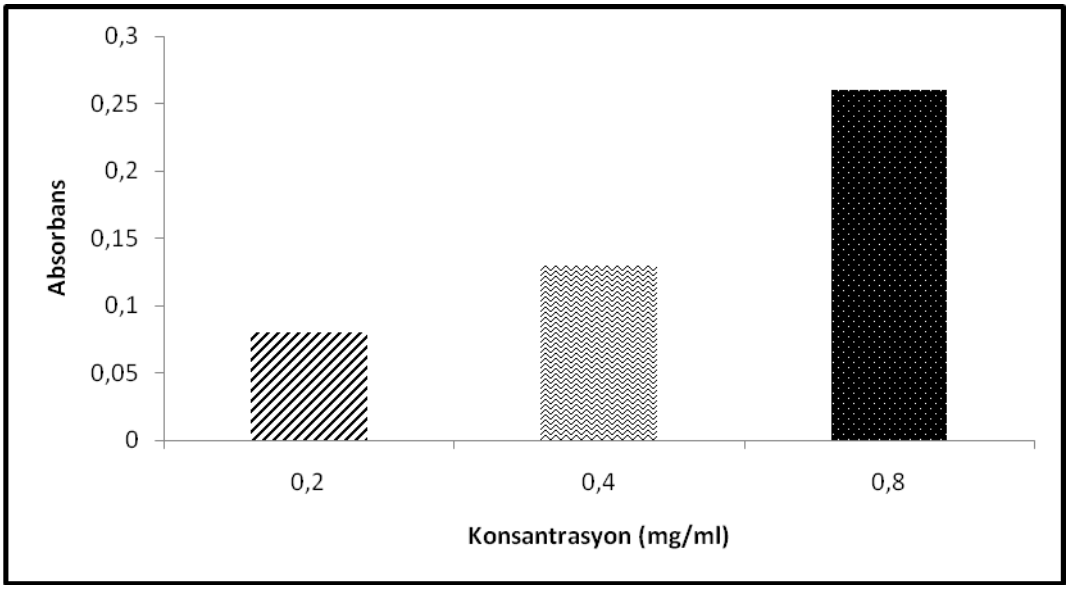
Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans**
0.2	0.08±0.02

0.4	0.13±0.01
0.8	0.26±0.01

*Aritmetik ortalama±S.S



Şekil 4.4.1 M. officinalis'in demir indirgeme gücü



Şekil 4.4.2. *M. officinalis'in* demir indirgeme gücü

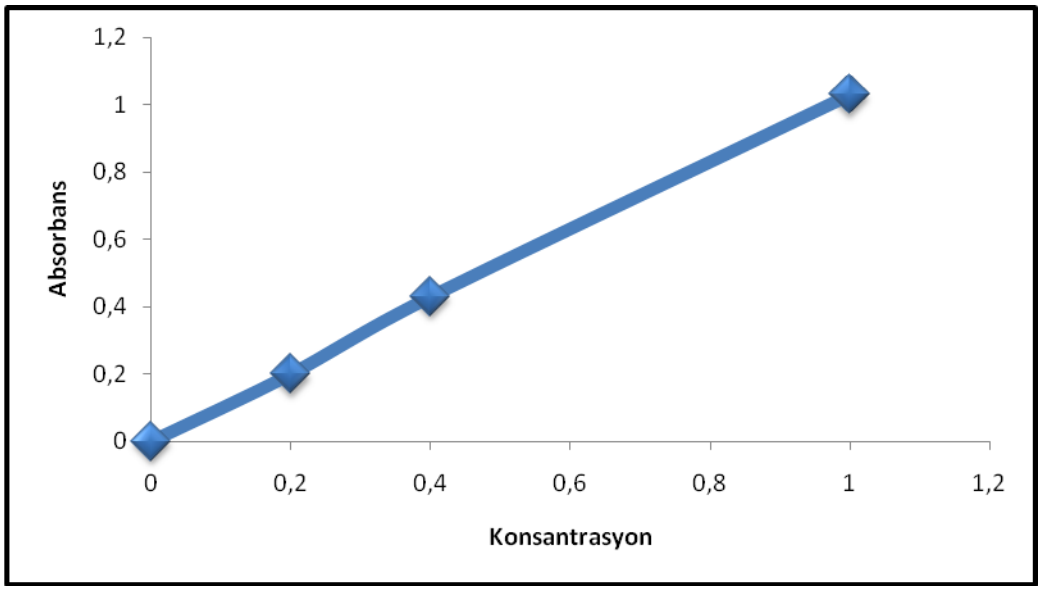
4.5. Bakır İndirgeme Gücü (CUPRAC Testi)

Metodun esasını fenolik bileşiklerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neukuproin kompleksine indirgemesi ve kompleksin 450 nm'de maksimum absorbans göstermesine dayanır. Demir indirgeme gücünde olduğu gibi CUPRAC testide bitkisel özütlerin bakır iyonlarını indirgeme yeteneklerini ortaya koymaktadır. Demir indirgeme gücünde olduğu gibi yüksek absorbans yüksek indirgeme gücünü göstermektedir. Yapılan çalışmalarda CUPRAC test sistemi ile serbest radikal süpürme, toplam antioksidan kapasite ve β-karoten/linoleik asit gibi çeşitli antioksidan testleri arasında pozitif bir bağlantı rapor edilmiştir (Öztürk ve ark., 2007). *M. officinalis*'in Bakır indirgeme gücü absorbansları 0.20 (0.2 mg/ml), 0.43 (0.4 mg/ml) ve 1.03 (1 mg/ml) olarak belirlenmiştir ve sonuçları Tablo 4.5 ve Şekil 4.5.1 , Şekil 4.5.2'de gösterilmiştir.

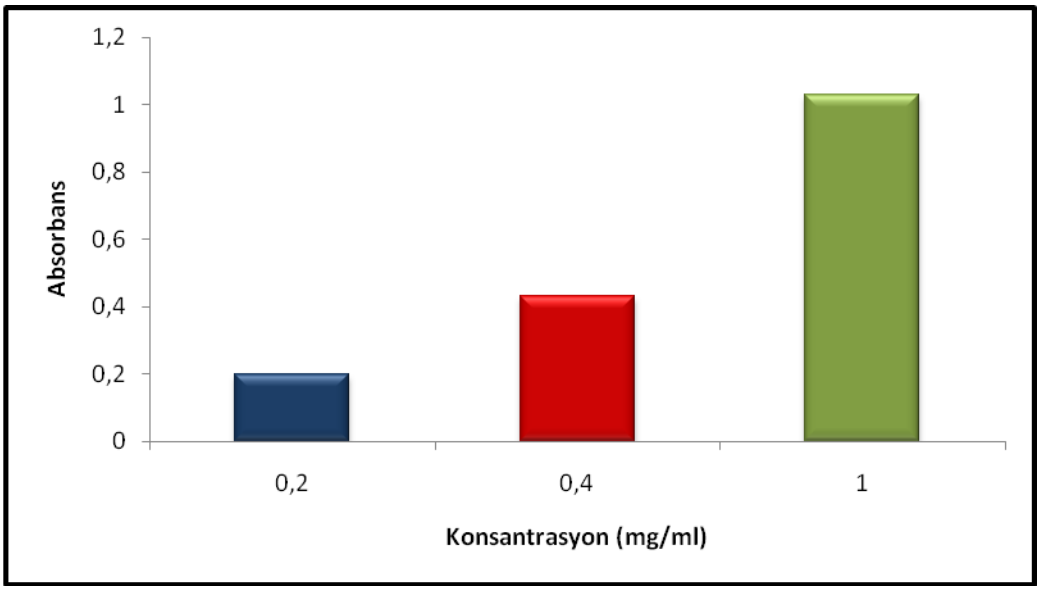
Tablo 4.5 .*M. officinalis*'in bakır indirgeme gücü

Konsantrasyon(mg/ml)	**Absorbans**
0.2	0.20±0.01
0.4	0.43±0.01
1.0	1.03±0.03

*Aritmetik ortalama±S.S



Şekil 4.5.1 *M. officinalis*'in bakır indirgeme gücü



Şekil 4.5.2 . *M. officinalis*'in bakır indirgeme gücü

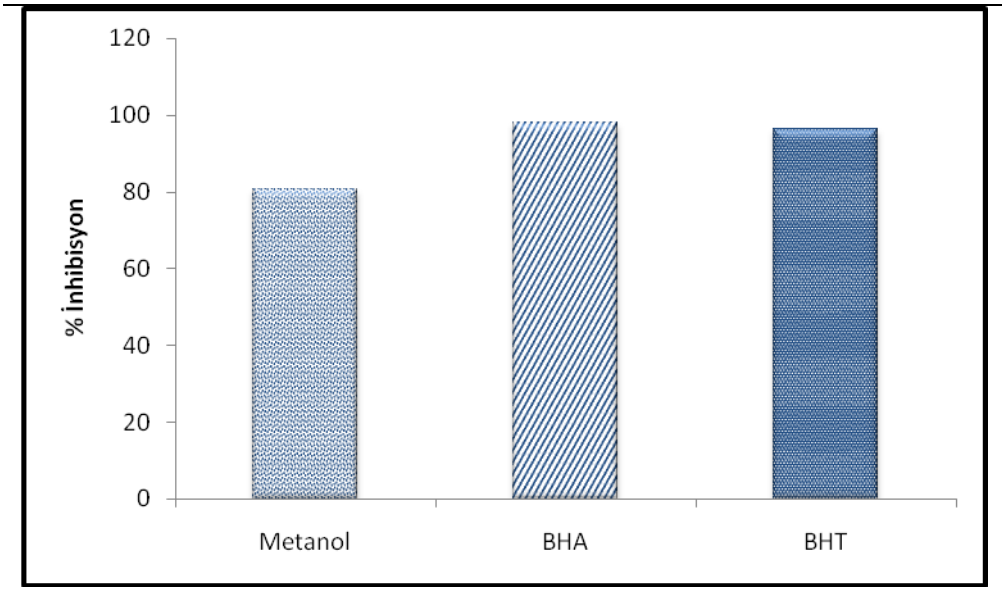
4.6. β-karoten/Linoleik Asit Test Sistemi

Bu yöntem, β- karotenin linoleik asit oksidayonu sonucu oluşan peroksit radikallerinin bu molekülde meydana getirdiği renk açılımını antioksidanların hangi oranda inhibe ettiğinin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır. Dolayısıyla test sonucunda absorbansı en yüksek olan örnekler en güçlü aktivite göstermektedir. *M. officinalis*'in β-Karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen toplam antioksidan aktivitesi Tablo 4.6 ve Şekil 4.6.1'de verilmiştir. *M. officinalis*'in metanolik ekstraktı, BHA ve BHT sırasıyla %80.65, %97.94 ve %96.40 oranında linoleik asit oksidasyonunu inhibe etmiştir. Sentetik antioksidanlar BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), ise 2 mg/ml konsantrasyonunda linoleik asit oksidasyonu inhibe etme yetenekleri oldukça fazladır. Bununla birlikte sentetik antioksidanların sağlık üzerine olumsuz etkilerinden dolayı, *M. officinalis*'in doğal antioksidanların kaynağı olarak gıda

endüstrisinde yağ asidi oksidasyonunu engellemek için kullanılabilecek niteliktedir. Fabaceae üyesi olan *Sesbania sesban*'ın 1 mg/ml metanolik ekstraktı linoleik asit oksidasyonunu %49.80 oranında inhibe etmiştir (Pastor-Cavado ve ark., 2009).

Tablo 4.6. *M. officinalis*'in linoleik asit oksidasyonun inhibe etme yeteneği

ÖRNEKLER	% İnhibisyon
Metanol	80.65±4.13
BHA	97.94±0.82
BHT	96.40±1.41



Şekil.4.6.1..*M. officinalis*'in linoleik asit oksidasyonun inhibe etme yeteneği

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada *M. officinalis*'in invitro antioksidan özellikleri: toplam antioksidan, serbest radikal yakalama, β-karoten/linoleik asit, bakır ve demir indirgeme güçlerini içeren beş farklı kimyasal test sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içerik de belirlenmiştir. Bu test sistemlerinin sonuçları ile toplam fenolik ve flavonoid içerik değerlendirildiğinde *M. officinalis*'in orta düzeyde antioksidan etkinliğe sahip olduğu belirtilebilir.

5.2. Öneriler

Günümüzde yeni antioksidan kaynaklarının belirlenmesine yönelik çalışmalar bilim dünyasında ilgi çekici konularından biri haline getirmiştir. Bu nedenle bitkilerden yeni doğal antioksidan kaynaklarının belirlenmesi oldukça hız kazanmıştır. Bu çalışma ile *M. officinalis*'in antioksidan özellikleri ilk defa ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma ile bu türün daha fazla ilgi çekmesi sağlanacaktır. Günümüzde başta gıda ve farmakoloji alanında doğal antioksidanlar için yeni hammadde kaynaklarının tespiti büyük önem taşıdığı için *M. officinalis'in* doğal antioksidanların bir kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilebilir. Ayrıca bu tez çalışması bu tür üzerine yapılacak yeni çalışmalara temel oluşturacak ve ışık tutacaktır.

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.

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.

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P., 1994, Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants, Journal de Pharmacie de Belgique, 49, 462-468.

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

Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R.K., 1999, Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis, Current Science, 77: 658-665.

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

Baytop, T., 2007, Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Türk Dil Kurumu, 3. baskı, Ankara.

Cadenas, E. 1997. Basic mechanisms of antioxidant activity. Biofactors, 6, 391-397.

Cakilcioglu, U., Şengün M.T., Türkoğlu I. 2010. An ethnobotanical survey of medicinal plants of Yazıkonak and Yurtbaşı districts of Elazığ province, Turkey. Journal of Medicinal Plants Research, 4(7), 567-572.

Clark, A.M., 1996, Natural Products as a resource for new drugs, pharmaceutical research, 13(8), 1133-1141.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T.A., Linssen, P.H., 1998, Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania, Journal of the Science of Food and Agriculture, 77, 140–146.

Davis, P.H.1988. Flora of Turkey and the East Aegean Island, Vol 3, Edinburgh University Press, Edinburgh. 560-561.

Evans, P., Halliwell, B. 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. British Journal of Nutrition, 85(suppl 2), 67.

Fang, Y.Z., Yang, S. and Wu, G.Y., 2002, Free radicals, antioxidants and nutrition, Nutrition, 18:872–879.

Farombi, E. O. (2004). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. African Journal of Biotechnology, 2(12), 662-671.

Felter, H.W., Lloyd, J.U. 1898. History, description and uses of Melilotus. King's American Dispensatory. Cincinnati: Ohio Valley Company,

Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M. 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and LDL to lipid peroxidation. American Journal of Clinical Nutrition, 61, 549-554.

Godevac D., Zdunic G., Savikin K., Vajs V., Menkovic N. 2008. Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. Fitoterapia, 79, 185-187.

Grossberg, G.T., Fox, B. 2007. The Essential Herb-Drug-Vitamin Interaction Guide. New York: Broadway Books.

Guner, A., Ozhatay O., Ekim T., Baser K.H.C. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Island, Vol 11, Edinburgh University Press, Edinburgh, 98-99.

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

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.

Huang, H.L. and Wang, B.G., 2004, Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 4993–4997.

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.

Jacob, R.A.. 1995, The integrated antioxidant system, Nutrition Research, 15(5),755–766.

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

Khodakov, G.V. 2010. Triterpene and steroidal glycosides from the genus *Melilotus* and their genins. Chemistry of natural compounds, 46, 4, 572-575.

Mabberley, D., 1997. The Plant Book, Cambridge University Press, Cambridge.

Miliauskas G. Venskutonis , T.A. van Beek, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85 (2004)231-237

Orhan I., I., Kartal M., Abu-Asaker M., Şenol F.S., Yilmaz G., Şener B. 2009. Free radical scavenging properties and phenoli characterization of some edible plants. Food Chemistry, 114, 276-281.

Orhan I., Tosun F., Tamer U., Duran A., Alan B., Kok A.F. 2011. Quantification of genistein and daidzein in two endemic Genista species and their antioxidant activity. Journal of the Serbian Chemical Society, 76(1), 35-42.

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

Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M E., Topcu G., 2007, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (Rheum ribes): An edible medicinal plant, Food Chemistry, 103, 623-630.

Pastor-Cavado E., Juan R., Pastor J.E., Alaiz M., Vioque. 2009. Antioxidant activity of seed polyphenols in fifteen wild *Lathyrus* species from South Spain. LWT, 42, 705-709.

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.

Sarikurkcu, C., Arisoy, K., Tepe, B., Cakir, A., Abali, G., Mete, E. 2009. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of Vitex agnus castus L. fruits from Turkey. Food and Chemical Toxicology, 47, 2479-2483.

Shahidi, F. and Naczk, M., 2004, Phenolics in Food and Nutraceuticals:Sources, Applications and Health Effects, CRC Press, Boca Ra-ton, FL.

Şığva H.Ö., Seçmen, Ö. 2009. Ethnobotanic survey of Işıklı (Çarpın), Dağdancık and Tokdemir in Gaziantep, Turkey. IUFS Journal of Biology, 68, 1, 19-26.

Sinclair, A.J., Barnett, A.H., Lunec, J., 1990, Free radicals and antioxidant systems in health and disease, Journal of Hospital Medicine, 43(5): 334-344.

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.

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.

Stewart, A.J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G.I., Lean, M.E.J., Crozier, A. 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 2663-2669.

Sutiashvili, M.G., Alaniya, M.D. 1999. Flavonoids of Melilotus officinalis. Chemistry of natural compounds, 35, 5, 584

Tandon, V., Gupta, B.M., Tandon, R., 2005, Free radicals/Reactive oxygen species. JK-Practitioner, 12: 143-148.

Tiwari, A.K., 2004, Antioxidants: New-generation therapeutic base for treatment of polygenic disorders, Current Science, 86(8): 1092-1102.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.D., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. The International Journal of Biochemistry& Cell Biology, 2007, 39, 44-84.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. Chemico-Biological. Interactions, 160, 1-40.

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.

Wagner, H., Wiesenauer, M. 1995. Phytotherapie Gustav Fischer Verlag Stuttgart. Jena. New York 75, 79 - 80, 85.

Weiss, R.F. 1991. Herbal Medicine Hippokrates Verlag GmbH Stuttgart,189 – 191.

Zelko, I.R., Mariani, T.J., , Folz, R.J.2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the cuzn-sod (sod1), mn-sod (sod2), and ec-sod (sod3) gene structures, evolution, and expression, Free Radical Biology & Medicine, 33(3), 337-349.

Zhao, L., Tao, J.Y., Zhang, S.L., Jin, F., Pang, R., Dong, J.H. 2010. N-butanol Extract from Melilotus Suaveolens Ledeb Affects pro-and anti-inflammatory cytokines and mediators. Evidence-based Complementary And Alternative Medicine, 7:97–106.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : NURCAN SEREN
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : KONYA / 1976
Telefon : 05336171828
Faks :
e-mail : nurcandinc@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	**Atatürk Kiz Lisesi /Selçuklu / Konya**	**1993**
Üniversite	:	**Selçuk Üniversitesi / Selçuklu / Konya**	**1998**
Yüksek Lisans	:	**S.Ü. FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ**	
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
1999	**SAYHA BİSKÜVİ**	**ÜRETİM MÜD. SORUMLU MÜD., DANIŞMANLIK VE ISO 9001-2005 , ISO 22000 GIDA YÖNETİM SİSTEMİ UZMANLIĞI İŞ GÜVENLİĞİ UZMANLIĞI**
2001-2015	**GIDA SEKTÖRÜNDE**	
2013	**BİRÇOK FİRMADA**	

UZMANLIK ALANI : BİYOKİMYA

YABANCI DİLLER: İNGİLİZCE

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER:

YAYINLAR