

**YUKARI FIRAT HAVZASINDA YETİŞEN KENDER
(*Gundelia tournefortii* L.), GÜLLÜK (*Eremurus spectabilis* M.
Bieb.) VE IŞKIN (*Rheum ribes* L.) BİTKİLERİNDEKİ
POLİFENOLLERİN VE BAZI METALLERİN TAYİNİ**

Serhat YILDIZ

**Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ
ELAZIĞ–2014**

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YUKARI FIRAT HAVZASINDA YETİŞEN KENGER (*Gundelia tournefortii* L.),
GÜLLÜK (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) VE IŞKIN (*Rheum ribes* L.)
BİTKİLERİNDEKİ POLİFENOLLERİN VE BAZI METALLERİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Serhat YILDIZ

Anabilim Dalı: Kimya
Programı: Analitik

Danışman: Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 20 Haziran 2014

ELAZIĞ–2014

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YUKARI FIRAT HAVZASINDA YETİŞEN KENGER (*Gundelia tournefortii* L.),
GÜLLÜK (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) VE IŞKIN (*Rheum ribes* L.)
BİTKİLERİNDEKİ POLİFENOLLERİN VE BAZI METALLERİN TAYİNİ**

Yüksek Lisans Tezi

Serhat YILDIZ
(092117102)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih	:
Tezin Savunulduğu Tarih	:20/06/2014

Tez Danışmanı :	Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ (F.Ü)
Diğer Jüri Üyeleri :	Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ
	Prof. Dr. Habibe ÖZMEN

HAZİRAN -2014

ÖN SÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada ışkın, kenger, güllük bitkileri ve ışkın bitkisinin yaprağındaki fenolik asitler, flavonoidler ve bazı metallerin tayini yapıldı. Çalışmada fenolik asit tayini için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) , Diode Array Dedektörü (DAD), C₁₈ kolonu ile birlikte kullanıldı. Metal tayini için Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AAS) kullanıldı.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetimi (FÜBAP) tarafından FF.11.07 numaralı proje olarak desteklenmiştir. Bu çalışmada beni yönlendiren, çalışmalarım süresince yardımını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN ve Prof. Dr. Kazım ŞAHİN ve Kimya Mühendisliği Bölümünden Sayın Atilla ARSLAN' a AAS aşamasında tezime sağladıkları destek için teşekkürlerimi sunarım.

Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. ÖKKEŞ YILMAZ' a deneysel aşamasında ve HPLC çalışmalarında verdiği destekten dolayı şükranlarımı sunarım.

Ayrıca bu çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyesi Sayın Arş. Gör. Dr. Serhat KESER'e ve manevi desteğini esirgemeyen değerli eşim Rukiye YILDIZ' a teşekkürlerimi sunarım.

Serhat YILDIZ

ELAZIĞ–2014

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
TABLolar LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Kullanılan Numuneler	3
2.1.1. Işkın	3
2.1.2. Kenger	4
2.1.3. Güllük.....	5
2.2. Fenolik Asitler	6
2.2.1. Kafeik Asit	10
2.2.2. Rosmarinik Asit.....	10
2.2.3. Ferulik Asit.....	11
2.3. Flavonoidler	11
2.3.1. Resveratrol	13
2.3.2. Kuersetin	14
2.4.1. Eser Elementlerin Canlı Organizmaya Etkisi.....	14
2.4.2. Bazı Eser Elementlerin Genel Özellikleri	14
2.4.2.1. Demir (Fe)	14
2.4.2.2. Magnezyum (Mg).....	15
2.4.2.3. Kalsiyum (Ca)	15
2.4.2.4. Krom (Cr)	16
2.4.2.5. Çinko (Zn).....	16
2.4.2.6. Alüminyum (Al).....	17
2.4.2.7. Bakır (Cu).....	17
2.4.2.8. Kobalt(Co).....	17
2.5. Literatür Çalışmaları	18
ANALİZ YÖNTEMLERİ	20
3.1. Kromatografi	20
3.1.1. Kromatografinin Temel Prensibi.....	20
3.1.2. Kromatografinin Temel Kavramları.....	21
3.1.2.1.Sabit Faz	21
3.1.2.2. Mobil Faz	21
3.1.2.3. Alıkonma (Retention).....	21
3.1.2.4. Kromatogram	22
3.1.2.5. Lineer akış hızı (linear flow rate)	22
3.1.2.6. Çözünürlük (resolution)	22
3.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC)	23
3.2.1. HPLC’ nin Çalışma Prensibi	23
3.2.2. HPLC’ nin Temel Bileşenleri.....	24
3.2.2.1. Pompa.....	24
3.2.2.2. Enjektör	25
3.2.2.3. Kolon.....	25
3.2.2.4. Detektör	26

3.2.3. HPLC'nin Literatürdeki Yeri	27
3.3. Spektroskopi.....	27
3.3.1. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi	28
3.3.1.1. Işık Kaynakları	29
3.3.1.2. Atomlaştırıcı.....	29
3.3.1.3. AAS' de Monokromatör (Dalga Boyu Seçicisi)	30
3.3.1.4. Dedektör	30
3.3.1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler	30
3.3.1.2.1. Kimyasal Girişim	30
3.3.1.2.2. Fiziksel Girişim	31
3.3.1.2.3. İyonlaşma Girişimi	31
3.3.1.2.4. Spektral Girişimler	32
3.3.1.2.5. Zemin girişimi	32
4. METARYAL VE METOT.....	33
4.1. Kullanılan Cihazlar Ve Cam Malzemeler	33
4.2. Kullanılan Standart Çözelti ve Reaktiflerin Hazırlanması	33
4.2.1. HPLC İçin Standart Çözelti ve Reaktiflerin Hazırlanması	33
4.2.2. AAS İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması	34
4.3. Örneklerin Temini ve Analize Hazırlanması	34
4.3.1. Bitki Örneklerinin Fenolik Bileşik Tayini İçin Ekstraksiyonu	34
4.3.2. Kapalı Ortamda Mikrodalga Parçalama Yöntemi İle Bitki Örneklerinin	35
4.4. Flavonoid İçin Standart Kromatogram	35
4.5. Standart Grafiklerin Korelasyon Değerleri ve Denklemleri	36
4.5.1. Fenolik Asit ve Flavonoidlerin Standart grafiklerin Elde Edilmesi.....	36
4.5.2. Eser Element Standart Grafiklerin Elde Edilmesi.....	36
5. BULGULAR	38
5.1. HPLC Kromatogramları	38
5.1.1. Bitkiler İçin Elde Edilen Kromatogramlar	38
5.1.2. Bitkilerdeki Flavonoid Miktarları	44
5.2. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile İlgili Bulguları.....	47
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	50
7. KAYNAKÇA	52
8. EK.....	57
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 .enolik bileşiklerin oluşum yolu	9
Şekil 2.Kafeik asit.	10
Şekil 3. Rosmarinik asit.	10
Şekil 4.Ferulik asit.....	11
Şekil 5.Flavonoidlerin genel yapısı	13
Şekil 6. Resveratrol	13
Şekil 7. Kuersetin.	14
Şekil 8.Örnek Kromatogram Şeması.....	22
Şekil 9.HPLC Aletinin Şeması.....	23
Şekil 10.Elektromanyetik Dalga	27
Şekil 11.HPLC-DAD Flavonoid İçin Standart Kromatogram	35
Şekil 12.HPLC-DAD İle Işkın Yaprğındaki(Alacakaya) Flavonoid Kromatogramı	38
Şekil 13.HPLC-DAD İle Işkın Yaprğındaki(Palu) Flavonoid Kromatogramı.....	39
Şekil 14.HPLC-DAD İle Işkın Yaprğının(Pertek) Flavonoid Kromatogramı.....	39
Şekil 15. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Munzur) Flavonoid Kromatogramı	40
Şekil 16. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Ovacık) Flavonoid Kromatogramı	40
Şekil 17. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Palu) Flavonoid Kromatogramı	41
Şekil 18. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Karaca) Flavonoid Kromatogramı	41
Şekil 19. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Pertek) Flavonoid Kromatogramı	42
Şekil 20. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Yazıkönak) Flavonoid Kromatogramı	42
Şekil 21. HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Bingöl) Flavonoid Kromatogramı	43
Şekil 22.HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Nazmiye) Flavonoid Kromatogramı	43
Şekil 23. HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Ovacık) Flavonoid Kromatogramı	44

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Fenolik bileşikler sınıflandırılması	8
Tablo 2.Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alması gereken bazı eser element miktarları	17
Tablo 3. HPLC Pompa Sistemleri	25
Tablo 4. HPLC Enjektörleri	25
Tablo 5. Detektör Çeşitleri	26
Tablo 6. HPLC İle Yapılan Bazı Analizler	27
Tablo 7.Mikrodalga Isıtıcı Parametreleri	35
Tablo 8.Flavonoidler İçin Standart Grafiklerin Kolerasyon Değerleri (R^2) Ve Denklemleri	36
Tablo 9. Eser Element için standart grafiklerin kolerasyon değerleri (R^2) ve denklemleri....	37
Tablo 10.Işkın Bitkisindeki Flavonoid Miktarı	45
Tablo 11. Işkın Bitkisinin Yaprığındaki Flavonoid Miktarı	45
Tablo 12. Kenger Bitkisindeki Flavonoid Miktarı	46
Tablo 13. Güllük Bitkisindeki Flavonoid Miktarı	46
Tablo 14. Işkın Bitkisindeki Eser Element Miktarı	47
Tablo 15. Işkın Bitkisinin Yaprığındaki Eser Element Miktarı	48
Tablo 16.Kenger Bitkisindeki Eser Element Miktarı	48
Tablo 17.Güllük Bitkisindeki Eser Element Miktarı	49

KISALTMALAR

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
°C	: Santigrat Derece
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
mL	: Mililitre
N	: Normalite
mM	: Milimolar
ppm	: mg/kg, mg/L, µg/mL, µg/g
ts	: Tayin Sınırı
UV	: Ultra Viyole
n	: Analizi Yapılan Çözelti Sayısı

ÖZET

Bu çalışmada, Yukarı Fırat Havzası'nda doğal olarak yetişen kenger (*Gundelia tournefortii* L.), güllük (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) ve ıskın (*Rheum ribes* L.) bitkilerindeki bazı fenolik asit ve flavonoidler ile bazı önemli eser elementlerin (Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Co, Ni) tayininin yapılması amaçlandı. Bu maksatla bitkiler Diyarbakır, Elazığ, Tunceli, Bingöl illeri ve bu illerin bazı ilçe ve beldelerinden temin edildi. Fenolik asit ve flavonoidler HPLC cihazı ile, eser element tayinleri ise alevli AAS cihazıyla gerçekleştirildi. Ayrıca eser elementler için kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme yapıldı.

Analiz edilen bitkilerdeki fenolik asit ve flavonoid miktarları; rutin, en yüksek düzeyde ıskın bitkisi yaprağında 415,26 ppm kenger bitkisinde ise en düşük düzeyde 62,13 ppm ile bulundu. Mirisetin için en yüksek değer; güllük bitkisinde 172,22 ppm, en düşük değer kenger bitkisinde 2,50 ppm düzeyinde olduğu belirlendi. Resveratrol için en yüksek değer güllük bitkisinde 2,50 ppm düzeyinde olduğu halde ıskın bitkisinde bulunmadığı saptandı. Kampferol için en yüksek değer; ıskın bitkisi yaprağında 530,46 ppm, en düşük değer ise ıskın bitkisi gövdesinde 20,18 ppm değerinde olduğu tespit edildi.

Örneklerde bulunan ortalama eser element miktarları değerlendirildiğinde, Cu için en yüksek değer kenger bitkisinde 20,68 ppm, Fe için en yüksek değer ıskın bitkisinde 2710,38 ppm, Zn ve Mn için en yüksek değerlerin güllük bitkisinde olup sırasıyla 794,42 ppm ve 61,38 ppm olarak tayin edildi. Co metalinin incelenen bütün bitki örneklerinde bulunmadığı, Cr'nin ise ıskın bitkisi örneklerinde tayin sınırının altında kaldığından dolayı tayin edilemediği saptandı.

Elde edilen bütün sonuçlar değerlendirildiğinde, flavonoid bakımından en zengin bitkinin flavonoid türüne ve miktarına bağlı olarak değiştiği görülmüştür. Flavonoid türlerinin ve miktarının doğru orantılı olmadığı belirlenmiştir. Örneğin güllük bitkisinde tüm flavonoid türleri mevcut iken miktar olarak diğer bitkilerden daha eser oranda kalmıştır. Bitkilerdeki eser element miktarlarının her bitkide farklı olmakla beraber aynı eser elementlerin düzeyleri farklı bitkilerde bir birine yakın çıkmıştır.

Sonuç olarak bir bitkideki polifenolik antioksidan içeriği ile eser element miktarı bitkinin yetiştiği bölgeye ve toprak özelliğine bağlı olabilmektedir. Eser element miktarlarının fenolik bileşiklere göre daha az etkilendiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Polifenolik bileşikler, eser element, HPLC, AAS, Ni, Cu, Fe, güllük, kenger, ıskın

SUMMARY

DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND METALS IN THE KENGER (*Gundelia tournefortii* L.), GULLUK (*Eremurus tpectabilis* M. Bieb.) AND ISKIN (*Rheum ribes* L.) OF THE PLANT GROWN IN UPPER EUPHRATES BASIN

In this study, it was aimed that the determination of some phenolic acids, flavonoids and some important trace elements (Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Co, Ni) of kenger (*Gundelia tournefortii* L.), gulluk (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) and iskin (*Rheum ribes* L.) which naturally grown plants in the Upper Euphrates Basin. For this purpose, these plants were harvested from Diyarbakir, Elazig, Tunceli, Bingol and their around. The amounts of phenolic acids and flavonoids analyses were carried out by the HPLC equipment, the amounts of trace elements analyses were carried out by the AAS. Also, it was done that a closed environment microwave solubilization for trace elements.

When phenolic acids and flavonoids quantities are evaluated in the analyzed plants; for rutin, the highest value is 415.26 ppm in iskin leaves, the lowest value is 62.13 ppm in kenger; for myricetin, the highest value is 172.22 ppm in gulluk, the lowest value is 2.50 ppm in kenger; for resveratrol, the highest value is 2.50 ppm in gulluk; also the resveratrol amount could not be determined due to its amount is below the detection limit. It was calculated that the highest kaempferol value is 530.46 ppm in iskin leaves, the lowest value is 120.18 ppm in iskin.

Once the average trace element amounts are assessed in the samples; for Cu, the highest value is 20.68 ppm in the kenger; for Fe, the highest value is 2710.68 ppm in the iskin; for Zn and Mn, the highest values are 794.42 ppm and 61.38 ppm in the gulluk, respectively. In all the samples Co amount, in the iskin and iskin leaves Cr amount could not be determined due to their amounts are below the detection limit.

When all the results were considered it seems to the highest flavonoid amounts have changed depending on the type of plant flavonoid. It seems to the variety of flavonoid with its amount are not proportional. For example, all the flavonoid types are present in the gulluk, their quantities are trace amounts than other plant species in terms of quantity. The amounts of trace element are different in each plant, but the same trace elements came close to one another in different plants. Consequently, the polyphenolic antioxidant content and the amount of trace elements may be attached to the soil property and grown region of plant. It can be said that the trace element amounts are less affected according to the phenolic compounds.

Key words: Polyphenolic compounds, trace element, HPLC, AAS, Ni, Cu, Fe, gulluk, acanthus, iskin

1.GİRİŞ

Bitkiler kayıtlı tarihten çok önceki zamanlardan beri tedavi amacıyla kullanılmışlardır. Nesiller boyu deneme ve yanılmalar hangi bitkilerin hangi hastalıkların tedavisinde yararlı olacağını göstermiştir. Eski Yunanlılarda modern tıbbın babası olarak kabul edilen Hipokrat, günümüzde popüler olan yüzlerce bitkiyi günlük çalışmalarında kullanmıştır. Kısaca özetlersek bitkiler zamanla sınanmış tedavi araçlarıdır. Bu nedenle de bitkiler ile tedavi tüm dünyadaki çeşitli kültürler tarafından kullanılmaktadır [1].

Antioksidan özelliği olan bileşikleri içeren doğal ürünlerin araştırılması insan sağlığı açısından oldukça önem taşımaktadır. Çünkü vücudumuzda biriken toksik maddeleri atmak ve onların zararlı etkilerinden kurtulmak için antioksidan maddelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda kimyasal yapısında fenolik bileşikler içeren bitki türleri ile yapılan çalışmalar artmıştır [2].

Polifenoller; antosiyanin, fenolik asit, flavonoidleri ve stilbenleri içeren geniş bir antioksidan sınıfıdır. Polifenoller bitkilerin sekonder metabolitleridir ve radikal yok edici özelliklerinden dolayı çok etkili antioksidanlardır [3].

Flavonoidler, bitkilerdeki polifenolik sekonder metabolitlerin en yaygın grubundan olup metabolik hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal antioksidanlardır. Sebzelerde, meyvelerde, çay ve şarap gibi içeceklerde doğal olarak bulunan polifenolik antioksidanlardır. Kanseri, koroner kalp hastalığı vb. kronik hastalıklara karşı potansiyel koruyucu görev üstlenirler [4,5].

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda eser elementlerin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Metaller, eksikliğinde veya fazla alımında insanların ve diğer canlıların yaşamını olumsuz etkileyen maddelerdir. Canlı dokularda eser düzeyde bulunan metaller genellikle toksik elementlerdir. Bunlar toprakta birikerek gıdalara geçmekte ve böylece insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedirler. Bazı elementler ise bitkiler için gerekli ve faydalı mikro elementlerdir. Bazı ağır metallerin normal konsantrasyonları bitkilerin büyüme ve gelişmesinde için gerekli olan protein ve enzimlerin yapısında yer alırlar. Örneğin, anemi hastalığında saç ve serumda çinko düzeyinin düştüğü, demir eksikliğinde halsizliğin meydana geldiği bilinmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda kurşunun canlı organizmada birikerek çeşitli hastalıklara sebep olduğu belirtilmiştir [6,7].

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda insanın kansere yakalanma riski ile tüketilen meyve ve sebze oranı arasında ters bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur. Bu sebeple, bazı

kanser türlerindeki çalışmalara ışık tutması için meyve ve sebzelerin kimyasal parmak izinin çıkarılması son derece önemlidir [8].

Bu tez çalışmasında Yukarı Fırat Havzasında yetişen; kenger (*Gundelia tournefortii* L.), güllük (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) ve ıskın (*Rheum ribes* L.) bitkilerindeki bazı polifenollerin ve bazı eser elementlerin tayini amaçlanmıştır. Bu amaçla kenger bitkisi Pertek/Tunceli, Karaca/Diyarbakır ve Yazıkonak/Elazığ; güllük bitkisi Nazimiye/Tunceli, Ovacık/Tunceli ve Bingöl, ıskın yaprağı Alacakaya/Elazığ, Palu/Elazığ, Pertek/Tunceli, ıskın bitkisi ise Palu/Elazığ, Ovacık/Tunceli ve Munzur/Tunceli bölgelerinden temin edildi. Örneklerde fenolik asit ve metal derişimlerinin kıyaslanması yapılmıştır. Ayrıca metal tayini için kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme yapıldı. Fenolik bileşik analizi için çözücü olarak metil alkol, eser element için ise perklorik asir,nitrik asit ve hidrojen peroksit kullanılmıştır. Fenolik bileşik tayini için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), eser element tayini için ise Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) kullanıldı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kullanılan Numuneler

2.1.1. Işkın

Işkın (*Rheum ribes* L.) polygonaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitki olup İran-Turan bölge bitkisi. Filistin, Lübnan, Kuzey Irak ve İran gibi ülkeler ile yurdumuzun Yukarı Fırat Havzası bölümünde ilkbaharda kendiliğinden yetişmektedir [9]. Işkın, kayalık ve çakıl yamaçlarda yetişir. Boyları 40 cm 'ye kadar uzayabilir. Ayrıca alt kısımlarında yere yapışık ve yere paralel olan yaprakları varken, bunların ortasında çubuk şeklinde uzayan ve yapraksız gövde bulunmaktadır. Bitkinin yaprak ve gövdesinin mideyi kuvvetlendirdiği, kusmayı önlediği ve kabız etki gösterdiği bilinmektedir [10]. Hazımsızlık ve mide yanmaları dâhil pek çok rahatsızlığa iyi geldiği yöre halkı tarafından bizzat denenmiş ve ispatlanmış olan Işkın (*Ribes*) şeker hastaları tarafından da özellikle aranır. Yeni çıkmış genç sürgünleri yenildiği gibi toprak altında kalan kök kısmı da çıkarıldıktan sonra iyice yıkanır ve kaynatılarak süzülükten sonra çay olarak içilir. Sabahları aç karnına içilen ışkın çayı yüksek olan şekerin düşmesini ve dengelenmesini sağladığı yöre halkınca denenerek ispatlanmıştır. Ayrıca iştah açar, vücudu kuvvetlendirir. Mide ve bağırsak gazlarını giderir. Sarılık ve çocuk havalesi durumlarında da kullanılır. Işkın zengin vitamin ve mineral deposudur. Şimdiye kadar hiç bir yan etkisi görülmemiş bir bitkidir. Tıbbi olarak yaprak ve köklerinden faydalanılır. Kökler ayrıca güneşte kurutulup toz haline getirildikten sonra balla karıştırılıp mide ve bağırsak iltihaplarını tedavi etmede kullanılır. Kökü idrarı sarı ya da kırmızı renge boyayabilir. Ayrıca karaciğer sorunlarını çözer. Vücutta biriken suyun atılmasını sağlar. Bağırsakta su emilimini azaltır ve dışkıyı yumuşatarak müshil etkisi yapar. Etkisi yenildikten 5-10 saat sonra görülür, tahriş edici olmadığından çocuk ve yaşlılara tavsiye edilir. Müshil etkili pek çok bitki karın ağrısı yaparken ışkın bu tür bir etki göstermez. Diğer bir ilginç özelliği ise yüksek miktarlarda müshil özelliği varken düşük dozlarda ishal kesici tesiri olmasıdır. Az miktarda alındığında peklik verici ve sindirimi kolaylaştırıcı etki yapar. Çok alınırsa bu kez müshil etkisi gösterir. Böylece bağırsaklar iyice temizlenmiş olur. Ayrıca bitkinin bedeni güçlendirici etkisi vardır. Kurutulduktan sonra yoğurtla karıştırılıp yüze sürülürse sivilce ve lekeleri temizler. Işkın kökü suda kaynatılarak dinlenmeye bırakılıp içildiğinde mideye ve bağırsaklara kolaylık sağlar, şekeri düşürür. İngiliz bilim adamları yaptıkları araştırmada, Türkiye'de özellikle Elazığ, Bingöl, Tunceli, Erzincan, Siirt, Bitlis, Muş, Van, Ağrı ve Erzurum'da doğal olarak yetişen 'Işkın (*Ribes*) kanserle mücadelede çok

etkili olduğunu, bu bitkinin kanserli hücrelerin gelişmesini önlediğini ortaya çıkardı. Sheffield Hallam Üniversitesi'nin araştırmasına göre, Işkıda diğer kırmızı sebzelerde olduğu gibi kanseri önlemeye yardımcı olan kimyasal maddeler bulunuyor. Polifenol adlı bu kimyasal maddeler başta lösemi olmak üzere birçok kanser türünü önleyebiliyor. Araştırmayı yürüten Sheffield Hallam Üniversitesi Biyomedikal Araştırma Merkezi Başkanı Dr. Nikki Jordan-Mahy, Daily Telegraph gazetesine, “Araştırmalarımız Işkının özellikle pişirildiğinde polifenol miktarı bakımından oldukça zengin olduğunu gösterdi. Bu bitkiden elde edeceğimiz polifenollerle oluşturulacak bir ilaç da kanserle mücadelede kullanılabilir” diye konuştu. İngiltere’de oldukça popüler olan ışkın sapları ve kökleri tüketiliyor. Ülkede bu bitkinin, pastası, tartı ve kokteyli yapılıyor.



2.1.2. Kenger

Kenger (*Gundelia tournefortii* L.) bitkisi ilkbaharın ortalarında doğada kendiliğinden yetişen ve vitamin bakımından zengin olan bir bitkidir. 70-80 cm 'ye kadar boylanabilen, dikenli ve sütlü, otsu bir bitkidir. Sakız otu ismiyle de bilinen kenger otunun köklerinden kenger sakızı elde edilir. Kenger otu, Nisan-Mayıs aylarında çiçek açan, 40-50 cm boyunda, tüylü, çok yıllık, sütlü, dikenli ve otsu bir bitkidir. Yaprakları ise derimsi, damarlı beyazımsı tüylü, gövdedekiler sapsızdır. Çiçekler morumsu kırmızı renkte açar. Baş kısmı olgunlukta sarımsı yeşil bir renk alır. Ülkemizde yetiştiği yerler; Orta, Doğu, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgesi'dir.

- Kramp çözücüdür.
- Hazımsızlığı giderir.
- Sinirleri güçlendirir.

- Migrene karşı faydalıdır.
- İyi bir kan temizleyicidir.
- Terletir ve vücuda rahatlık verir.
- Kenger sakızı çiğnenirse iştahı açar.
- Damar tıkanıklığını önlemeye yardımcı olur.
- Dişleri temizler ve diş etlerini kuvvetlendirir.
- Antioksidan etkileri ile cilt ve prostat kanserine karşı koruyucudur.
- Karaciğer iltihabı dahil, aşırı alkol ve bazı ilaçların neden olduğu safra yolu iltihabı, siroz ve kronik karaciğer hastalıklarında olumlu katkılar sağlar.
- Soğuk kış günlerinde ya da fazla rüzgarlı ve cereyanlı ortamlarda bulunan insanlarda sıkça rastlanılan bir durum olan yüz felcini önlemede oldukça yararlıdır.
- Bunun yanında kenger sakızı çiğnemek çene gevşemesini giderebilir, patlamış kulak zarını düzeltebilir, safra kesesinde taş düşürmeye yardımcı olabilir, hazmı kolaylaştırabilir, şeker ve tansiyonu düşürebilir, kalp damarlarının gevşemesinde yardımcı olabilir. Oldukça sert ve tadı acı olan bu sakız şifa kaynağı olması bakımından oldukça rağbet görüyor[11].



2.1.3. Güllük

Güllük (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) kökünden hazırlanan merhem uyuz ve frengi tedavisinde kullanılır. Genç yaprakları pişirildikten sonra boğaz ve karın ağrılarına karşı kullanılır. Kökü çıkarılıp yıkandıktan sonra kaynatılır ve romatizma tedavisi için içilir. Bitkiden hazırlanan sıvı haricen egzama tedavisinde kullanılır. Bilinen diğer adları: Gullik, güllük, dağ pırasası, kiriş, sarı çiriş, sarızambak...



2.2. Fenolik Asitler

Polifenoller, birden fazla fenil grupları ile bu gruplara bağlı hidroksil yapıları içeren ve bitkilerde bulunan bileşik grubudur. Günümüzde yaklaşık olarak 8000–9000 polifenol türevli maddelerin tespit edildiği bilinmektedir. En basit fenollerden en karmaşık yapı olan taninlere kadar bu maddeler bitki yapılarında bulunmaktadır [12]. Fenolik maddeler doğal antioksidan maddelerinin en önemli gruplarını oluşturmaktadırlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik yapılardır. En yaygın bitkisel antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bu maddelerin besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir [13]. Fenolik bileşikler bitkilerde doğal olarak oluşan maddelerdir. Bir veya daha fazla aromatik benzen halkaları ile bir veya daha fazla hidroksil gruplarının (-OH) bir araya gelmesi ile oluşan bileşiklerdir. Fenolik bileşikler, asidiktir ve kolaca parçalanabilirler.

Fenolik bileşikler bitkileri ultraviyole ışıklardan, hastalık ve zararlardan korurlar. Renk ve aromaya katkıda bulunurlar, aynı zamanda büyümeye ve üretime yardım ederler [14]. Bütün fenolik bileşikler en az bir tane benzen halkası ve benzen halkasına bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahiptir. Metil, metoksil, amino grubu veya glikozil grupları ile farklılaşabilirler. Fenolik asitler; çay, kırmızı şarap, meyveler ve çeşitli tıbbi bitkiler gibi birçok bitki âleminde geniş çapta yayılım göstermektedir [15]. Fenolik bileşikler özellikle renk, koku ve tat ile bitkiyi dış etkenlere karşı koruyucu etkisi vardır. Tatları ve renkleri sebebiyle zararlı böceklere itici etkilere sahiptirler. Fenolik bileşiklerin bir başka etkisi ise insan sağlığıdır. Bu etki metabolizmadaki farmakolojik etki ile birlikte terapötik özelliği de vardır [16]. Fenolik bileşikler, farklı sebze ve meyvelerde farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar bileşiklerin yapısal karmaşıklığından kaynaklanan bir durum olabilir. Örneğin,

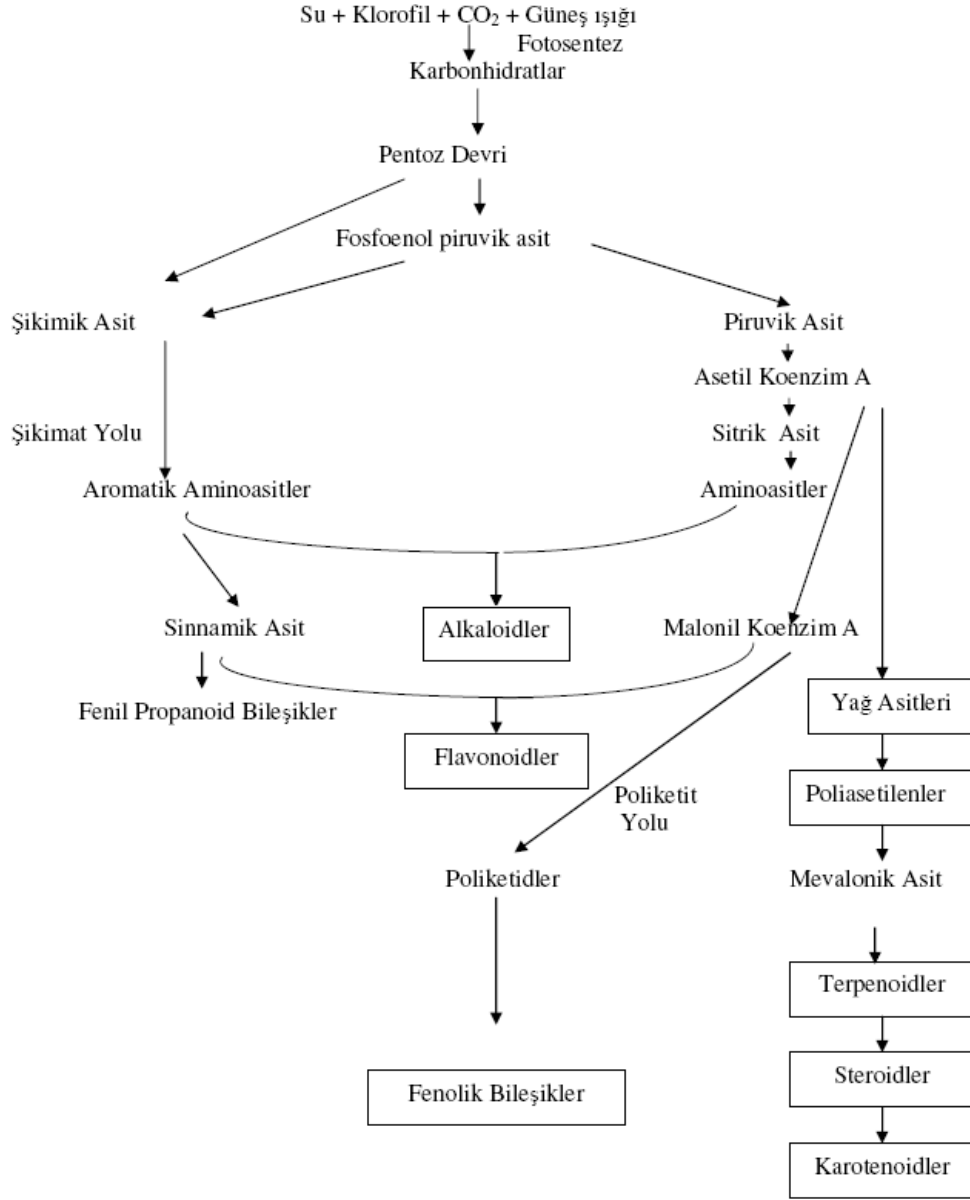
fenolik bileşikler meyve gruplarında hem bağlı hem de serbest halde bulunmaktadır. Ancak analiz yapılırken bu bileşiklerin bağlı yapıda bulunanlar alınmamaktadır. Bu nedenle analiz sonucu tespit edilen fenolik bileşik miktarı, meyvede bulunan toplam fenolik bileşik miktarının altında çıkmaktadır [17].

İnsan vücudunun enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki antioksidan mekanizması bulunmakta ve zararlı olan reaksiyonları elemine etmektedir. Enzimatik olan antioksidan mekanizmasında süperoksit, katalaz ve peroksidaz gibi enzimler etkili olmaktadır. Enzimatik olmayan mekanizmada ise vitaminler, polifenoller, proteinler ve bazı mineraller yer almaktadır. Gıdalar enzimatik olmayan mekanizmalarda antioksidanların ana kaynağını oluşturmaktadırlar. Gıda kaynaklı olup protein yapıdaki antioksidanlar özellikle besin değeri de taşımakta, fenolik yapıda olanlar ise kanser, felç gibi hastalıkların önlenmesinde rol oynamakla birlikte antimutajenik, antialerjik ve yaşlanmayı önleyici etki de gösterebildikleri belirtilmektedir [18,19].

Fenolik ve protein yapıdaki antioksidanlar bulundukları doğal ortam olan gıdalarda yapılarını koruyabilirken, sindirim yoluyla vücuda alındıklarında çeşitli yapısal değişikliklere uğrayabilmektedirler [20]. Meyve ve sebze türlerinin değişmesi bunların fenolik bileşik içeriklerini de değiştirebilmektedir. Bu farklılık fenolik bileşiklerinin karmaşıklığından kaynaklanıyor olabilir [21].

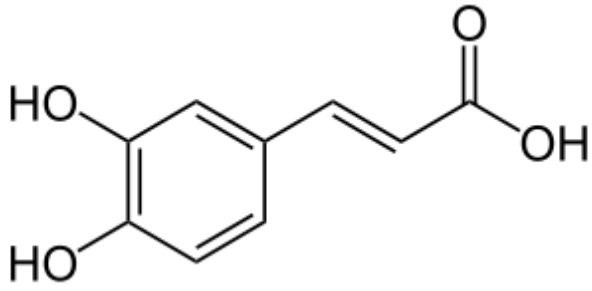
Karbon Atomu Sayısı	Temel İskelet	Sınıf	Örnekler
6	C ₆	Basit Fenoller Benzokinonlar	Kateşol, hidrokinon, 2,6-dimetoksi benzokinon
7	C ₆ -C ₁	Fenolik asitler	p-hidroksi benzoik asit, Salisilik asit
8	C ₆ -C ₂	Asetofenonlar Fenilasetik asitler	3-Asetil-6-metoksi benzaldehit p-hidroksi fenilasetik asit
9	C ₆ -C ₃	Hidroksisinnamik asitler Fenil propenler Kumarinler İzokumarinler Kromonlar	Kafeik asid, ferulik asid, mirisetin, eugenol, umbelliferon, aesculetin, bergenin, eugenin.
10	C ₆ -C ₄	Naftakinonlar	Juglon, plumbagin
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Ksantonlar	Mangiferin
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenler Antrakinonlar	Lunularik asit Emodin
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoidler İzoflavonoidler	Kersetin siyanidin Genistein
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanlar Neolignanlar	Pinoresinol Eusiderin
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoidler	Amentoflavon

Tablo 1. Fenolik bileşikler sınıflandırılması



Şekil 1 .Fenolik bileşiklerin oluşum yolu (Dey ve ark., 1989).

2.2.1. Kafeik Asit

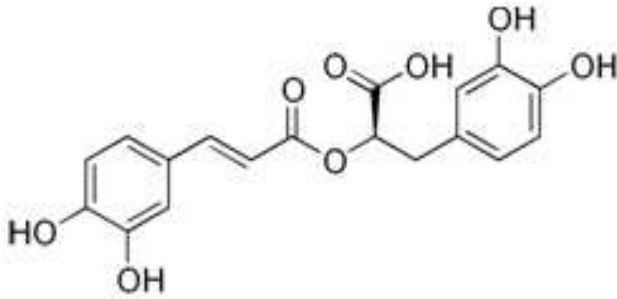


Şekil 2.Kafeik asit.

Molekül formülü (3,4-dihidroksi sinamik asit) $C_9H_8O_4$, molekül ağırlığı 180,16 g mol⁻¹'dür. Sarı kristalize şeklinde bulunur.

Elma, üzüm, erik, yulaf gibi çeşitli meyvelerde mevcuttur. Nitrite hızlı bir şekilde etkiederek nitrik oksite indirgemektedir (Huang ve ark., 1991).

2.2.2. Rosmarinik Asit

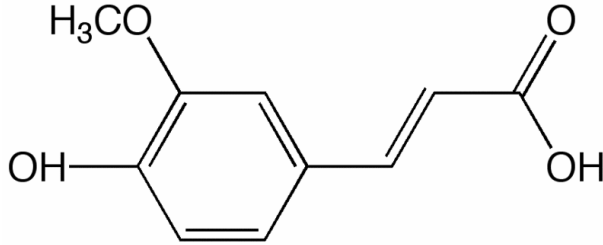


Şekil 3.Rosmarinik asit.

Rosmarinik asit lamiasae bitki familyasında bulunan doğal polifenol bir bileşiktir .Rosmarinik asit genellikle Lamiaceae familyasının Nepetoideae alt familyası ile Boraginaceae familyası üyelerinde bulunur. Rosmarinik aside ayrıca diğer bitki familyalarında da rastlanır. Örneğin; Blechnaceae familyasına ait eğreltiotlarında at kuyrukları gibi daha düşük yapılı bitkilerde, Zosteraceae familyasına ait deniz çimi benzeri monokotiledonlarda ve Potamogetonaceae ve

Cannaceae familyasına ait bitkilerde de Rosmarinik asit bulunduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Rawn ve ark., 1994).

2.2.3. Ferulik Asit



Şekil 4.Ferulik asit.

Ferulik asit kısaca $C_{10}H_{10}O_4$ formüllü bitki orijinli fenolik bir bileşiktir. Sistematik isimlendirmeye göre, ferulik asit 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil) propenoik asit olarak adlandırılır. Farmakolojik çalışmalar, ferulik asitin trombositlerin kümeleşmesine engel olduğu, koroner kan akış hızını artırdığı, düz kasların kasılıp gevşemesini sağladığı, anti-aritmik etkilere hükmettiği, oksit giderici, bağışıklığı teşvik edici, anti-inflamatuar vs. etkilerde bulunduğu göstermiştir (Lu ve ark., 2005).

2.3. Flavonoidler

Flavonoidler polifenolik bitki sekonder metabolitlerinin en geniş ve yaygın grubu olup bitkilerde biyolojik süreçte önemli roller üstlenirler. Flavonoidler yosunlardan angiospermlere kadar bitkiler âleminde bulunan düşük molekül ağırlıklı bir gruptur [22]. Flavonoidler doğadaki canlı sistemlerde çok geniş bir alanda fonksiyon gösterirler. Örneğin; çiçekler, meyveler ve tohumlar için pigmentasyonun sağlanmasında, tohum dağıtıcılar ve tozlaştırıcıların cezbedilmesinin sağlanmasında, ultraviyole ışığa karşı korumada, patojenik mikroorganizmalara karşı bitki savunmasında, bitkilerde verimlilik ve polen çimlenmesinde, bitki-mikrop etkileşimlerinde sinyal molekülü olarak rol oynamaktadırlar. Flavonoidler aynı zamanda antioksidan özellik gösterirler.

Flavonoidler heterosiklik bir halkaya sıkıştırılmış ve ikinci bir aromatik halkaya bağlı olan halka oluşumudur. Aromatik halka üzerinde bulunan çok sayıdaki fenolik hidroksil grupları antioksidan aktiviteyi kazandırmaktadır [23]. Yine flavonoidlerin platelet

agregasyonunu ve adezyonu engelleyebildiği, lipid metabolizmasında gerekli enzimleri inhibe ettiği, endotelyum bağımlı damar genişlemesini indüklediği belirtilmiştir [18].

Fitoaleksinler flavonoidlerin alt gruplarından biridir. Fitoaleksinlerin sentezi bitkilerde aktif savunma mekanizmalarından birini kapsamaktadır. Bu fitoaleksinler Vitaceae, Pinaceae, Leguminosae ve Polygonaceae gibi birbirleriyle ilişkili olmayan bitki familyalarında sentezlenmektedir. Fakat buğday, arpa, mısır gibi önemli tahıllarda mevcut değildir. Stilbenler fitoaleksinlerin içinde yer alan gruplardan biridir. Stilbenlerin moleküler iskeletinde trans-resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) temel olarak kabul edilir ve en yaygın stilben resveratroidir [24].

Resveratrol (trans-3,4',5-trihidroksistilben) *Veratrum grandiflorum*'un reçinesinde 1940 yılında Michio Takaoka tarafından keşfedilmiştir[25].

Resveratrol cis- ve trans- izomerik formlarında bulunmaktadır (Şekil 2.1). Resveratrol çoğu bitki familyasında bulunan bir fenolik bileşik olup bitkilerin fungi patojenlerinin etkilerini inhibe eder ve bitki-parazit etkileşimini düzenler. Resveratrol *Polygonum cuspidatum*'un kökünde başlıca polifenol olarak bulunmuştur. Ancak bu madde asma bitkisinde *Polygonumcuspidatum*'dan daha fazla bulunmaktadır. Bu bitkinin kökü aterosklerozisin tedavisi ve diğer terapötik amaçlar için Kore, Çin ve Japonya'da halk arasında ilaç olarak kullanılmıştır [26]. Resveratrol gibi doğal stilbenoidler asma, yer fıstığı, çam ve leguminosae familyası bitkilerinde bol bulunmaktadır ve koroner kalp hastalıkları ile aterosklerozisten koruma gibi önemli biyolojik etkileri olduğu belirtilmiştir. Birçok çalışma resveratrol gibi doğal stilbenoidlerin güçlü antioksidan, anti-mutajenik, anti-inflamatuar ve karsinogeneziste etkili kanser kimyasal koruyucu etkilere sahip olduklarını göstermiştir.

Ayrıca resveratrolun insan oral skuamöz karsinoma, promiyelositik lösemi, göğüs, prostat ve kolon kanseri hücrelerini içeren çeşitli insan kanser hücre serilerinin tümörlerini inhibe ettiği belirtilmiştir [27]. Serbest oksijen radikallerini temizlemede C vitaminine yardımcı olmak, belleği ve derişim kapasitesini artırmak, alzheimer hastalığının oluşumunu engellemek, kan akımını sağlayan nitrik oksit düzeyini ayarlamak, hipertansiyonu engellemek, antikoagülan etkisi ile koroner ve serebrovasküler hastalıkları önlemek gibi yararlı etkiler göstermektedirler.

Flavonoidleri üç grupta incelemek mümkündür.

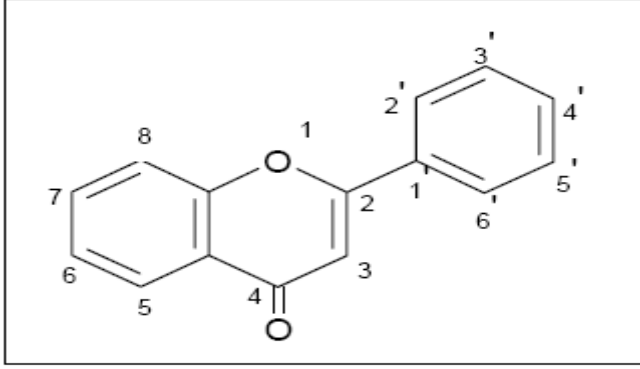
Bunlar; flavonoller (kuersetin, kaempferol vb) flavon-3-oller (kateşin ve türevleri, teafavinler vb), antosiyanidinler (siyanidin, peonidin, petunidin vb)'dir.

Flavonoidlerin başlıca fonksiyonlarını şöyle sıralayabiliriz.

- Bağışıklık işlevlerini artırmak

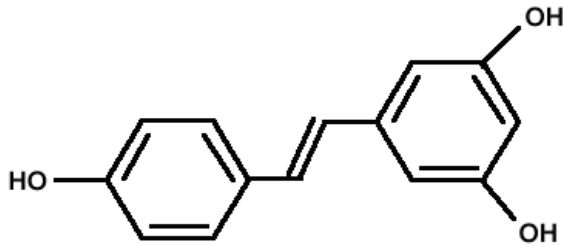
- Antibakteriyel, antiviral etki göstermek
- Enflamasyonu azaltmak
- Kanseri önlemek

En önemli flavonoidlerden olan kaempferol ve kuersetin'in molekül yapıları Şekil 2.1' de görülmektedir.



Şekil 5. Flavonoidlerin genel yapısı (Shahidi ve ark., 1995).

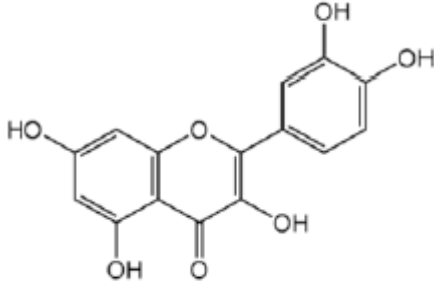
2.3.1. Resveratrol



Şekil 6. Resveratrol

Resveratrol (3,5,4-trihidroksistilben) doğada yaklaşık 72 bitki türünde bulunan bir fitokimyasaldır. En önemli resveratrol kaynağı, Çin ve Japonya'da ilaç olarak kullanılan yabani bir bitki olan *Polygonum cuspidatum*'dur. Okaliptüs ve ladin gibi ağaçlar da resveratrol içermektedir. Yenebilir bitkilerde yaygın değildir. Üzüm, yer fıstığı, yerfıstığı ezmesi ve şarap resveratrol içeren gıdalardır. Üzümde UV radyasyona ve *Botrytis cinerea*'ya karşı yaprak dokuları tarafından üretilen resveratrol, kabuk kısmında bulunur. İklim ve varyeteye bağlı olarak miktarı değişen resveratrol kırmızı üzümde beyaz üzüme göre daha fazladır (Hao ve ark., 2004).

2.3.2. Kuersetin



Şekil 7. Kuersetin.

Serbest radikalleri yakalama özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Bu özelliğiyle kardiyovasküler (kalp ve damarlarla ilgili) hastalıklardan koruduğu bilinmektedir (Bonaccorsi ve ark., 2008).

2.4. Eser Elementler

Canlı organizmada az miktarda bulunan ve aynı zamanda belirli standartların altında veya üstünde olmaları durumunda çeşitli hastalıklara sebep olan elementlere eser element denir.

2.4.1. Eser Elementlerin Canlı Organizmaya Etkisi

Canlı organizmada önemli roller üstlenen eser elementlerin farklı biyolojik ortamlardaki miktarlarının belirlenmesi ve hastalıklarla ilişkilerinin ortaya çıkarılması günümüzde birçok araştırmanın konusu olmuştur [28].

Enzimlerin aktive olmasını sağlayan, hücre içi ve dışı pek çok olayda etkin rol oynayan eser elementlerin organizmadaki düzeyleri birbirine bağlıdır. Bu elementleri içeren besinlerin yeteri düzeyde alınması sağlık açısından büyük önem arz etmektedir [29].

2.4.2. Bazı Eser Elementlerin Genel Özellikleri

2.4.2.1. Demir (Fe)

Doğada esmer renkli topraklarda bulunur. Dolayısıyla bu topraklarda yetişen bitkilerde de bol miktarda bulunur. Kana kırmızı rengi veren ve kanın akciğerlerden dokulara taşınmasını

sağlayan alyuvarların yapısında bulunan bir maddedir. Her bir hemoglobinin yapısında dört tane demir elementi bulunmaktadır. Hemoglobin'in yapısında bulunan Fe atmosferik oksijeni gevşek biçimde bağlayarak dokuların derinliklerine taşınmasını sağlar. Kasların myoglobininde bulunan Fe hemoglobin ile gelen oksijeni depolar. Sağlıklı bir insanın vücudunda 4–5 g demir bulunur. Kandaki demir düzeyinde düşme görüldüğü takdirde, anemi hastalığının nüksetmesine sebep olur. Bu tip anemide kan hücrelerinin sayısı azalır, hemoglobin sayısı düşer. Başlıca belirtileri dikkatsizlik, yorgunluk, çaba harcayınca kalp çarpıntısı, bazen ağrılı dil, dudak kenarlarında çatlaklar, yutma güçlüğü, konkav tırnaklardır. Çocuklarda iştahsızlık, yavaş büyüme ve enfeksiyona dirençsizlik de görülür. Demir eksikliğinden kaynaklanan anemi hastalığı genelde altı aylık çocuklarda ve 30-50 yaş arasındaki bayanlarda görülür. Yetişkin bir insanın günlük demir ihtiyacı 18 mg civarındadır. Demir eksikliğinden kaynaklanan anemide mide-bağırsak yolunda anormallikler ki bunlardan biri mide asidi azlığı görülür. Demir içeren başlıca besinler; ıspanak, yumurta sarısı, bazı kuru baklagiller ve deniz ürünleri sayılabilir [30]. Kısacası, demir eksikliği mide asidinin azalmasına ve bedende yetersiz demir emilimine yol açtığı gibi, bu iki rahatsızlık da demir anemisine neden olabilir[31].

2.4.2.2. Magnezyum (Mg)

Gebelikte yüksek tansiyonu engellemek amacıyla eskiden beri kullanılan bir elementtir. Birçok metabolik işlem için özellikle de sodyumun, potasyumun ve kalsiyumun hücre zarından doğru biçimde yayılmasını sağlayan hücresel pompalar için gereklidir. Eksikliğinde aşırı duyarlılık (tetani), aşırı kemikleşme, endokradium'da ve büyük damarlarda kireçlenmeler görülür. Sığırlarda ise çayır tetanisi (Hipomagnezemi) görülür [11].

2.4.2.3. Kalsiyum (Ca)

Kalsiyum, vücudun hemen hemen tüm işlevlerinde, iyonize bir şekilde tepkimelerde, kasların kasılma işlevlerinde, kanın pıhtılaşmasının sağlanmasında veya kompakt bir şekilde kemiklerin ve dişlerin yapısında önemli roller üstlenen yaşamsal bir maddedir. Her bireyin günlük belli miktarlarda kalsiyum alması gerekir.

Ancak özellikle kemik yapımının hızlı bir şekilde devam ettiği ergenlik döneminde, bebeğin rahim içinde gelişmekte olduğu gebelik döneminde, kadınlarda emzirme döneminde ve kemik yapılarının nispeten hızlı bir şekilde "erime" riskinin arttığı menopoz döneminde

bedenin kalsiyum dengesinin korunması olağanüstü önem taşımaktadır. Ancak günde 2,5 g kadar kalsiyum alan kişilerde herhangi bir yan etki gözlenmezken daha yüksek miktarlarda kalsiyum alan kişilerde kalsiyumun, demir, çinko ve diğer gerekli minerallerin emilimini azaltmasına bağlı bazı yan etkiler gözlenmiştir [32, 33].

2.4.2.4. Krom (Cr)

İnsan bedeninin kromu kullanabilmesi için kromun glikoz tolerans faktörü adı verilen ve B3 vitamini (nikotinik asit) ile üç spesifik aminoasitle bileşim oluşturduğu bir molekül formunda olması gerekmektedir. Kromun kan şekerinin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir. Krom miktarının vücutta belli bir seviyenin altına düşmesi durumunda eksiklik belirtileri ortaya çıkmakta ve kan şekeri düzeyinin denetimi azalarak bazı kronik dejeneratif bozukluklar meydana gelebilmektedir [34].

2.4.2.5. Çinko (Zn)

Maden yatakları ve toprakta başlıca çinkosülfür ve çinko karbonat şeklinde bulunur. Genelde Cd ile birlikte [35]. Çinko, birçok enzim ve hormonun yapısında bulunduğu gibi çoğu enzim ve hormonun da etkinlik kazanmasını sağlayan çok önemli bir biyokatalizördür. Çinko elementi, A vitamini metabolizması için oldukça gerekli bir mineraldir. Yetişkin bir insanın günlük çinko gereksinimi yaklaşık olarak 12–15 mg olduğu belirlenmiştir. Ayrıca birçok araştırmacıya göre gebelik ve emzirme döneminde bebeğin bağışıklık sisteminin tam olarak gelişebilmesi için yeteri miktarda çinko alması gerekmektedir. Çinko anne sütünde bolca bulunmaktadır. Bu nedenle bebekliğin ilk dönemlerinde (ilk altı ay) anne sütüne büyük önem verilmelidir. Kötü beslenme ile ortaya çıkan ve çok ender rastlanan bir deri hastalığı olan kalıtsal akrodermatit enteropatikaya yakalanan çocuklarda büyümenin sağlanması için çinko çok gereklidir [36]. Besinlerle yeterli alınmaması halinde kaşınma ve kaşınma sonucu cilt bozukluğu, lekeli tırnakla kolayca anlaşılan çinko eksikliği görülür. Bu eksiklik özellikle büyüme ve gelişme çağındaki çocuklarda gelişim bozukluğu, vücut zayıflığı, neşesiz ve durgunluk, tat alma bozukluğu, seksüel gelişmede durgunluk gibi oldukça önemli, ama karmaşık bozukluklara neden olur. Zn; anemi hastalığında saç ve serumda Zn düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. Ratlarda Zn yetersizliğinde kıl dökülmesi, gelişme bozukluğu, zayıflama, dermatitis ve alopecia görülmüştür [37-38].

2.4.2.6. Alüminyum (Al)

Alüminyum, vücut içine yiyecek, hava, su ve ilaçlar ile girer. Vücut içinde doku ve organlarda toplanır(Alfry ve ark.1976). Alüminyum, organ sistemleri içerisine kan, böbrek, kemik ve beyin gibi organlarda toksik etkisi olduğu belirtilmiştir.Bu toksik etkiden dolayı aşırı miktarda alınması durumunda merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkiler yarattığı belirlenmiştir. Bir başka önemli bulgu ise alzheimer hastalığının, vücutta aşırı miktarda alüminyum birikmesi sonucunda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Çünkü bu hastalığa yakalanan hastaların beyin dokularındaki alüminyum miktarı diğerlerinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir[39].

2.4.2.7. Bakır (Cu)

Yerkabuğundaki kayalarda doğal bakır veya bakır içeren sülfür(kalkopirit, kalkosit) ve karbonat mineralleri (malahit, azurit) halinde bulunur [40]. Bakırın vücuttaki rolü 1800’lü yıllardan beri bilinmektedir. Bakır, vücutta çok eser oranda bulunmasına rağmen vücut metabolizması için oldukça önemli bir elementtir. Örneğin birçok enzimin yapısında bulunur ve kanın, damarların, kırıların ve kemiklerin yapımında önemli görevler üstlenir. Yani, bakır metabolizmanın normal çalışması için gerekli olan bir elementtir. Ayrıca enzim aktivatörü görevi de yapmaktadır Normal bir yetişkinin bedeninde yaklaşık olarak 60–110 mg bakır bulunmalıdır. Bakırın kan kolesterolünün düzenlenmesinde rolü olduğuna dair kanıtlar vardır [41]. Cu depolama işini karaciğer üstlenmiştir. Karaciğer fazla bakırı safra yoluyla bedenden atar. Öyle ki, besinlerle aldığımız bakır miktarı yükselse bile bedendeki bakır miktarı aynı kalır. Bazı bakırlı enzimlerin beyin metabolizmasıyla ilgili olduğu bilinir. C vitamininin oksitlenmesinde de bakır rol oynar [42].

2.4.2.8. Kobalt(Co)

Doğada, bazı topraklarda yeterli miktarda bulunduğu halde bazılarında azdır. [43]. Kobalt, özellikle hayvanlar için önemli bir besin faktörü olan B₁₂ vitamininin yapısındaki porfirin halkasının ortasında merkez atom olarak bulunur ve siyanokobalamin adını alır. Bu vitaminin eksikliğinde anemi, gelişmede yavaşlama ve nörolojik hastalıklar oluşur [44].

Tablo 2.Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alması gereken bazı eser element miktarları [45].

Çinko	14 mg	Baryum	1,3 mg
Demir	10–28 mg	Kadmiyum	0,05 mg
Alüminyum	3–10 mg	Magnezyum	300 mg
Kalsiyum	500 mg	Bakır	2–3 mg

2.5. Literatür Çalışmaları

Yapılan literatür araştırmalarında, bu çalışmada yer alan kenger (*Rheum ribes* L.) hakkında doğrudan flavonoid analizlerinin yapılmadığı belirlenmiştir. Rheum(R.) cinsine ait bitkiler incelendiğinde *R. tataricum*, *R. wittrocki*, *R. emodi*, *R. officinale*, *R. rhaponticum*, *R. undulatum*, *R. australe*, *R. rhabarbarum* ve *R. nobile* türlerinin flavonoid analizlerinin yapıldığı ve bu bitkilerin flavonoid içeriği bakımından zengin oldukları belirlenmiştir.

Rheum australe bitkisinde yapılan çalışmada en yüksek oranda tayin edilen flovanoit kaempferol($40,55 \pm 3,44$ ppm) en düşük oranda tayin edilen flovanoit ise reveratrol($1,25 \pm 0,34$ ppm) flovanoitidir [46].

Rheum rhabarbarum bitkisinde yapılan çalışmada en yüksek oranda tayin edilen flovanoit Naringin($75,64 \pm 13,24$ ppm) en düşük oranda tayin edilen flovanoit ise cat($2,25 \pm 1,34$ ppm) flovanoitidir [47].

Rheum emodi bitkisinde yapılan çalışmada en yüksek oranda tayin edilen flovanoit Quarcetin($10,64 \pm 1,24$ ppm) en düşük oranda tayin edilen flovanoit ise Naringenin ($3,42 \pm 1,18$ ppm) flovanoitidir [48].

M. Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Rheum australe* ekstraktında yeni bir antioksidan flavon eldesi yapılmıştır. Bu çalışmada 6'-hydroxyhypolaetin 3'-methyl ether flavonu bulunmuş ve bir grup bilinen flavonoid tayin edilmiştir [49].

Gundelia ve Eremurus bitkilerinin ise hem cins hem de tür bazında falvonoid içeriklerinin daha önceki çalışmalara konu olmadığı yapılan literatür araştırmalarında açığa çıkmıştır.

Çiftçi ve arkadaşları *Pistacia terebinthus* kahvesinde yağ asitleri, vitaminler ve eser elementlerin (Cu, Ni, Fe, Zn, Co) tayinini yapmıştır. Sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda bu kahve çeşidinin iyi bir eser element ve yağ asidi kaynağı olduğu bulunmuştur. Kahvedeki bazı eser elementlerin miktarı şöyle bulunmuştur: Cu 4.84, Ni 1.25, Zn 14,5, Fe 62,2 ve Co 0.42 µg/g (Çiftçi ve ark., 2009).

Abdolkarim Chehregani ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada kenger bitkisinde tayin ettikleri bazı eser element miktarları şöyledir; Cu: 24.00 ± 3.8 ppm, Fe: 1952.00 ± 316 ppm, Ni: 8.40 ± 1.3 ppm, ve Zn: 820.00 ± 14.3 ppm olarak tayin etmişlerdir [50].

Atatürk üniversitesinde 2003 yılında kenger bitkisinde yapılan çalışmada Fe: 2.79ppm, Zn: 0.66ppm ve Cu: 0.086ppm düzeyinde tayin edilmiştir [51].

P:Sahiyamoorthy, P. Van Damme, M. Oven ve A. Goldhirsh tarafından güllük bitkisinde yapılan bir başka çalışmada Zn: 30,00ppm, Cu:14,00ppm, Fe: 3020,00ppm, Mn: 72,70ppm ve Ni: 3,80ppm olarak tayin edilmiştir [52].

3.ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.1. Kromatografi

Kromatografi 20. yüzyılın başlarında Rus botanikçi Mikhail Twsett tarafından bulunmuş ve onun tarafından isimlendirilmiştir. Twsett bu tekniği, toz CaCO_3 doldurulmuş bir cam kolondan bitki pigmentleri çözeltisini geçirerek klorofil ve ksantofil gibi birçok bitki pigmentini ayırmada kullanmıştır. Ayırmada maddeler kolonda renkli bantlar şeklinde gözüktüğünden yöntem için kromatografi adını kullanmıştır [53]. Önceleri düzlemsel yapıda sabit fazlar kullanılmış ve bu teknikler daha sonra kâğıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi olarak isimlendirilmiştir [54]. Modern sıvı kolon kromatografisi ise 1969 yılında HPLC'nin kullanıma girmeye başlamasıyla gelişme göstermiştir [55].

3.1.1. Kromatografinin Temel Prensibi

Kromatografi; birden fazla bileşenin bulunduğu bir karışımın, hareketli bir faz (çözücü) ile sabit bir faz (dolgu maddesi) içeren bir kolondan geçirilmesi ile yapılan ayırma işlemidir. Bu teknikte ayrılacak bileşenler sabit ve hareketli fazlarda farklı dağılma ve tutunma özellikleri gösterdiğinden kolonu farklı sürelerde terk ederler. Kolondaki farklı alıkonma sürelerinden faydalanılarak kolon çıkışına bileşenlerle orantılı sinyal üreten bir detektörün yerleştirilmesiyle hem nitel hem de nicel analiz yapan bir metot geliştirilmiştir [56].

Karışım → Sabit faz + Hareketli faz= Ayırma Kromatografisi

Kromatografik yöntemler temel olarak aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir

1. Kâğıt kromatografi
2. İnce tabaka kromatografi
3. Kolon kromatografi
4. Gaz-sıvı kromatografi
5. İyon kromatografi
6. Sıvı kromatografi(HPLC)

3.1.2. Kromatografinin Temel Kavramları

3.1.2.1. Sabit Faz

Mobil faz içerisinde gelen örneğe ait bileşenlerin etkileşime girdikleri ve belirli ölçüde alıkonuldukları fazdır. Kromatografi tekniğinin çeşidine göre tasarlanmış ve çok değişik materyallerden çok farklı ölçülerde imal edilmiş ve “kolon” olarak adlandırılmış sabit fazlar mevcuttur. Özellikle gaz ve sıvı kromatografileri için ticari boyutta oldukça fazla marka ve boyutta kolon üretimi yapılmaktadır.

Sıvı kromatografisinin bir çeşidi olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) uygulamalarında kullanılan kolonlar daha çok 30–300 mm uzunluğundaki yaklaşık 5 µm iç çapında metalik boru şeklinde olup iç yüzeyleri çok değişik özelliklerde kaplama materyalleri ile kaplanarak analizi yapılacak madde örnekleri için modifiye edilmektedir.

3.1.2.2. Mobil Faz

Örnek bileşenlerini; sabit faz (kolon) boyunca taşıyan, çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip çözeltiler veya çözücü karışımlarına denir.

Kullanılacak mobil fazın seçiminde; analizi yapılacak örnek madde bileşenlerinin özellikleri, kullanılacak sabit faz ve detektörün özellikleri vb. birçok parametreye dikkat edilmelidir.

3.1.2.3. Alıkonma (Retention)

Mobil faz içerisinde gelen analizi yapılacak maddeye ait bileşenlerin sabit faz ile etkileşip yavaşlaması ve böylece sabit fazı daha geç terk etmesi olayına denir. Bu özellikten yola çıkılarak belirli sabit analitik koşullar altında, her kimyasal madde için parmak izi niteliği taşıyan alıkonma zamanı (retention time- t_R) tanımı türetilmiştir. Bu kavram belirli sabit deneysel koşullarda analizi yapılan maddenin sabit fazı terk etmesi için geçen süreyi göstermektedir.

- t_0 = kolona ait ölü zaman (column dead time)
- t_R = alıkonma zamanı (retention time)
- t'_R = net alıkonma zamanı (net retention time)
- $t_R = t_0 + t'_R$

3.1.2.4. Kromatogram

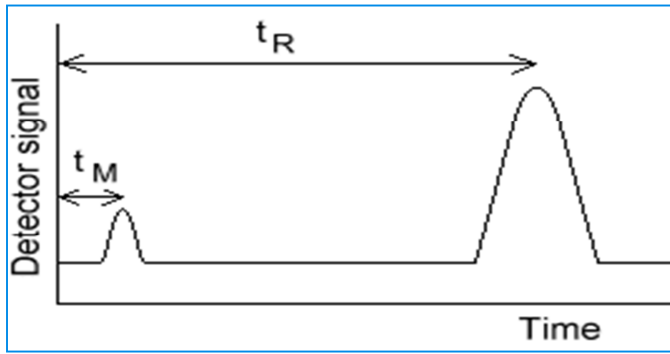
Kromatografik analiz sonucu elde edilen grafiklere *kromatogram* denir.

Y-ekseni, kullanılan dedektörün ölçtüğü fiziksel özelliği (absorbans, fluoresans, iletkenlik, akım, kırılma indisi vb.), X-ekseni ise zamanı göstermektedir (alıkonma zamanı için kolaylık olması bakımından genellikle dakika cinsinden). Zamana karşı Y-ekseninde ölçülen fiziksel özelliğin artıp tekrar azalması şeklinde oluşan pik şeklindeki eğrilerin her biri analizlenen maddeye ait bir bileşeni göstermektedir. Bu piklere ait değerler (pik alanı, yüksekliği, vb.) kullanılarak kalitatif ve kantitatif analizler yapmak olasıdır.

Kromatogramda yer alan piklerden faydalanılarak kalitatif ve kantitatif analiz yapılabilir.

Zaman eksenindeki piklerin yerleri, numune bileşenlerini tanımda kullanılabilir.

Pik alanları her bir bileşenin miktarının bir ölçüsüdür.



t_M : Ölü zaman

t_R : Alıkonma zamanı

Şekil 8. Örnek Kromatogram Şeması

3.1.2.5. Lineer akış hızı (linear flow rate)

Kolon uzunluğunun (L) kolon ölü zamanına (t_0) bölünmesiyle hesaplanır ve birimi cm/sn 'dir. Lineer akış hızı, kolonun enine kesitinden bağımsız olup çözücü moleküllerinin kolon boyunca hareketleri sırasındaki ortalama hızlarını gösterir.

U ile sembolize edilir. $U=L/t_0$

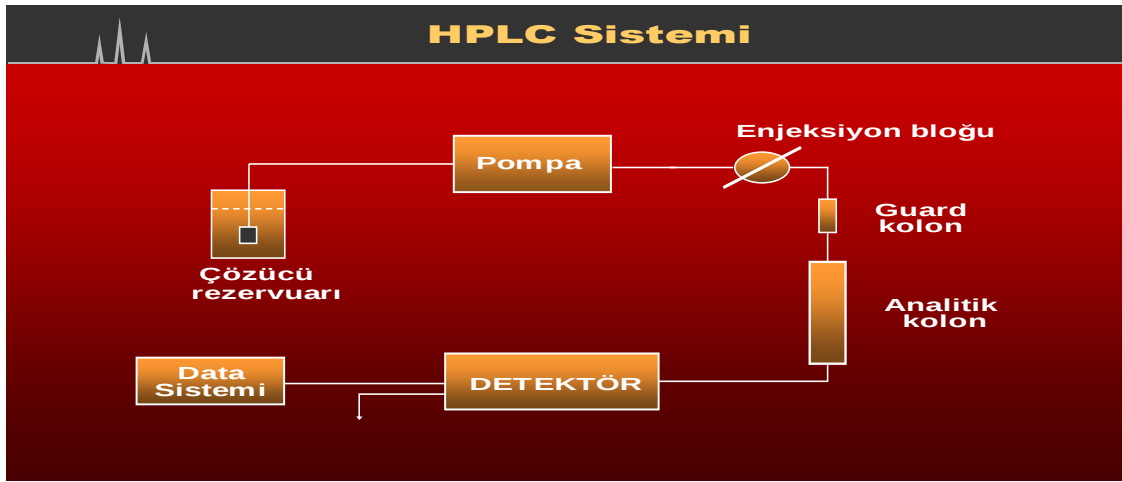
3.1.2.6. Çözünürlük (resolution)

Birbirini takip eden 2 adet bileşene ait piklerin birbirinden ayrımlarının başarısını (oranını) gösterir.

Takip eden piklere ait maksimaller arası mesafenin 2 pike ait genişliklerin (birimi dakika) toplamına bölünmesiyle hesaplanır. $R = [2(t_{R2} - t_{R1})] / W_1 + W_2$. Takip eden pikler için iyi bir çözünürlükten bahsedebilmek için hesaplanan R değerinin 1-1,5 civarında olması istenir. R ile sembolize edilir.

3.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC)

Standart HPLC donanımı temel olarak 4 bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla pompa, enjektör, kolon (sabit faz) ve detektördür.



Şekil 9.HPLC Aletinin Şeması

3.2.1. HPLC' nin Çalışma Prensibi

Sıvı kromatografisi yönteminin özel uygulaması olan HPLC yönteminde, sabit faz olarak kullanılan parçacık boyutlarını önemli ölçüde küçültülür. Çok sıkı doldurulmuş kolonda hareketli fazın belirli bir hızla geçebilmesi için bir basınç uygulanması gerekir. Bu yüksek verimli kolonların ve oldukça yüksek basıncın kullanıldığı HPLC, element türlendirilmesinde en yaygın kullanılan kromatografi türüdür. Sıvı kromatografisinde kolon veriminin dolguda kullanılan taneciklerin boyutunun küçültülmesi (normalde 100-250µm' den 1-15µm' ye) ile önemli derecede artmaktadır. Ancak tanecik çapı 3-10 µm' ye kadar küçük olan dolgu maddeleri 1960'lı yılların son dönemlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Tanecik çapıyla, kolon çapının küçültüldüğü ve yüksek basıncın uygulandığı sıvı kromatografisine yüksek

performanslı sıvı kromatografisi denir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi günümüzde en çok kullanım alanı bulan kromatografik metotlardandır[57].

Bunun nedenleri arasında:

- Duyarlılığının yüksek olması,
- Kantitatif tayinlerde kullanılabilmesi,
- Uçucu olmayan türlerin ve sıcaklıkla kolayca bozulabilen türlerin ayrılmasına uygun olması,
- Sanayinin birçok bilim dalının ve halkın birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliği sayılabilir. Bu maddelere örnek olarak; Amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar ve antibiyotikler sayılabilir.

Bir HPLC cihazı her biri 200-1000 ml çözücü içerebilen camdan veya çelikten yapılmış hazne içermektedir. Bazı cihazlarda bu hazneler kolonda ve detektör sisteminde gaz oluşturarak bozucu etkilere sebep olan çözünmüş gazların (genellikle oksijen ve azot) giderilmesi için bir cihazla donatılmıştır. Bu gaz kabarcıkları bant genişlemesine ve çoğu zaman da detektör performansında bozucu etkilere sahip olabilir. Cihazda bulunan ön kolon çözücü içinde bulunabilecek toz ve partikül halindeki maddelerin pompaya veya enjeksiyon sistemine zarar vermemesi veya kolonu tıkamaması için toz ve partikül halindeki maddeleri tutar. Böylece çözücü kaybı en aza indirilmiş olur.

Sabit bileşimdeki tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırma *izokratik elüsyon* olarak adlandırılır. Genellikle ayırma etkililiği *gradient elüsyonu* ile artırılır. Bunun için polariteleri birbirinden çok farklı, iki ya da üç çözücü sistemi kullanılır. Elüsyon başladıktan sonra, belli bir programa göre bazen sürekli olarak, bazen de seri basamaklar halinde çözücülerin oranı değiştirilir. Genellikle HPLC cihazları çözücülerin hacimleri oranı zamanla doğrusal olarak veya üstel olarak değiştirilebilecek nitelikte iki veya daha fazla hazneden aldığı çözücülerini bir karıştırma odasında sürekli olarak değişen hızlarda bir araya getiren sistemlerle donatılmıştır.

3.2.2. HPLC' nin Temel Bileşenleri

3.2.2.1. Pompa

Sıvı kromatografisinde, özellikle de HPLC donanımında temel bir bileşendir. HPLC uygulamalarında mobil fazı oluşturan çözücü karışımlarının; enjektör, kolon ve detektör içerisinde belirli, sabit veya değişken bir hızda, belirli basınç altında geçmesini sağlar.

HPLC donanımında yer alan pompalama sistemleri temel olarak 3 grupta toplanır.

Bir HPLC pompalama sistemi için gerekli şartlar şunlardır:

- 400 atm' ye kadar basınç üretimi
- 0,1–10 ml/dk aralığında akış hızları
- % 0,5 veya daha iyi bir bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü
- Korozyona dayanıklı parçalar

Sıvılar çok fazla sıkıştırılmadığından dolayı HPLC pompaları tarafından üretilen basınç bir patlama tehlikesi oluşturmaz. Böylece sistemin parçalarından herhangi birinde meydana gelecek bir çatlak, sadece çözücü dışarı sızmasına neden olur. Ama sızıntılar bir yangın tehlikesi oluşturabilir.

Tablo 3.HPLC Pompa Sistemleri

AKIŞ HIZINA GÖRE		YAPILDIĞI MALZEMEYE GÖRE		MOBİL FAZ İLETME MEKANİZMASINA GÖRE	
I	Microbore Pompa Sistemleri	I	Metalik	I	Şırınga Tip Pompalar
II	Standart BorePompa Sistemleri	II	Ametalik	II	Piston Pompalar
III	Preperatif Pompa Sistemleri				

3.2.2.2. Enjektör

HPLC donanımını oluşturan enjektör, örneğin sabit faz (kolon) öncesinde mobil faza enjekte edilmesi için kullanılır. Temel olarak iki kısma ayrılır.

Tablo 4. HPLC Enjektörleri

HPLC Enjektörleri		
Manuel Enjektörler(Manuel Injector)		Oto-enjektörler(Autosampler)
	I	XY Tipi
	II	Carousel

3.2.2.3. Kolon

Modern HPLC donanımının 4 temel yapı taşından birisi olan kolon, karmaşık örneklerde bileşenlerin birbirinden iyi çözünürlükle ayırımından sorumlu sabit fazdır. Kolon imalatında yapı materyali olarak 316 paslanmaz çelik, TEFLON, cam veya PEEK en sık tercih edilenlerdir. Kolonun ayırım gücü ve performansı yapıldığı materyalden çok, iç yüzeyine yapılan kaplamada kullanılan malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden etkilenmektedir. Kullanılan bu tür kaplama malzemeleri çok çeşitli olup, kullanılacak mobil

fazın ve uygulanacak HPLC metodunun özelliklerine ve analizi yapılacak örneğin bilinen kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre seçilmelidir.

Seçilecek kolonun HPLC uygulamasında kullanılacak akış hızı ve dolayısıyla oluşacak basınca dayanıklı olmasına dikkat edilmelidir. Birçok analitik kolonun iç çapı 2-5 mm aralığında değişmektedir. Kolon iç çapı arttıkça akış hızı ve iç doldurma hacmi artmakta ama oluşacak piklerin çözünürlüğü dolayısıyla duyarlılık azalmaktadır. Kolonların boyları (uzunluğu) çok çeşitli olup genellikle 30–300 mm aralığında değişmektedir. Kolon uzunluğu arttıkça örnek bileşenlerinin ayırımı daha iyi olmakta fakat analiz süresi uzadığı için daha fazla mobil faz harcanmaktadır. Kolon boyutlarının tanımlanmasına uluslararası standartlar getirilmiştir. Buna göre önce mm cinsinden uzunluk ve çap yazılmakta, bunu firma adı, sabit faz türü, A° türünden poroz yüzey çapı ve µm cinsinden partikül büyüklüğü izlemektedir. Örneğin, 250/4,6 Nucleosil C18 100 – 5 yazıldığında kolonun 250 mm uzunluk ve 4,6 mm iç çapa sahip olduğu anlaşılmaktadır. Kolonun firması (markası) Nucleosil olup sabit faz türü normal fazda kullanılan bir tür olan C₁₈ dir. Poroz yüzey çapı 100 A° olup dolgu materyaline ait partikül büyüklüğü 5 µm’ dur.

3.2.2.4. Detektör

Kolonda ayırımı yapılan analiz edilecek maddeye ait bileşenlerin alıkonma zamanlarına göre sırayla içerisinde geçerken miktar tayinlerinin yapıldığı HPLC donanımıdır. Detektör etkileşime girdiği bileşene uygun olarak pik üretir. Bu piklerden faydalanılarak karışımda hangi bileşenlerin olduğu ve bu bileşenlerin miktarlarının ne kadar olduğu tespit edilir. Pik yeri bileşenin türünü, pikin altında kalan alan ise bileşenin miktarını verir. HPLC donanımında 4 temel bileşenden birisi olan detektörler, örnek bileşenlerini tayin ederken ölçtükleri fiziksel özelliklere göre gruplara ayrılmaktadır.

Tablo 5. Detektör Çeşitleri

Detektör		Ölçtüğü Özellik
I	UV / Görünür Bölge Detektörü	Absorbans ölçülür
II	Fotodiyot Array Detektörü	Birden fazla elementin absorbansını, her bir element için farklı dalga boylarında eşzamanlı ölçebilir
III	Floresans Detektörü	Organik maddelerin oluşturduğu floresans ölçer
IV	İletkenlik Detektörü	İletkenlik ölçülür
V	Refraktif İndeks Detektörü	Kırılma indisi ölçülür
VI	Elektrokimyasal Detektör	Elektro aktif maddeler analiz edilebilir
VII	Kütle Detektörü	Örnek bileşenlerine ait çok özgün kromatogramlar elde edilir.

3.2.3. HPLC'nin Literatürdeki Yeri

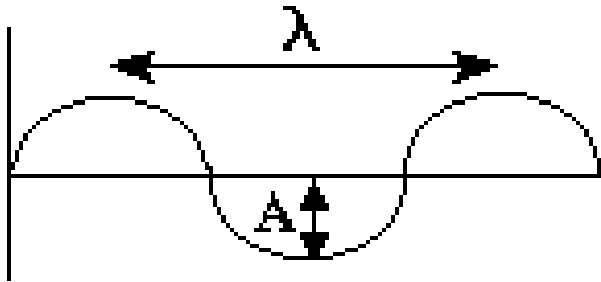
HPLC günümüzde kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp kimyası, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir araç olarak kabul edilmektedir [58]. Çevre sıcaklığında termal olarak kararsız bileşikler ve yüksek polarlıktaki bileşikler herhangi bir türevlendirme olmaksızın ayrılabilir ve analiz edebilir [59].

Tablo 6.HPLC İle Yapılan Bazı Analizler

Analizlenen Madde		Metot	Tayin Edilen Bileşen	Tayin Edilen Miktar
I	Erik	HPLC-MS	Fenolik asit	190,2 µg/g
II	İdrar	HPLC-MS/MS	S-Fenil markopturik asit	8 µg/g
III	İdrar	HPLC-FL and HPLC-MS/MS	Tramadol	4 mg/kg
IV	Üzüm	HPLC-MS/MS	Gallik asit	12,5 µg/g
V	Nar	HPLC-MS	Elajik asit	14,3 µg/g
VI	Izgara türü yiyecekler	HPLC-MS	Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)	10 µg/g

3.3. Spektroskopi

Spektroskopi, elektromanyetik radyasyon (ışın) ile atom ve moleküller arasındaki etkileşmeyi inceler. Elektromanyetik ışının dalga ve parçacık özelliği vardır. Dalga olarak ele alındığında; ışının yayılması için bir ortam gerekli olup bu dalga'nın boyu, frekansı, hızı ve şiddeti vardır.



Şekil 10.Elektromanyetik Dalga

► **Dalga boyu (λ):** Birbirini izleyen iki dalga tepesi arasındaki uzunluktur. Birimi uzunluk birimidir. Dalga boyu mikron (μ), milimikron ($m\mu$) veya Angstrom ($\text{\AA}$) olarak verilir.

$$1\text{\AA}^0 = 10^{-8}\text{cm} = 10^{-10}\text{m}, 1\text{nm} = 1m\mu = 10\text{\AA}^0 = 10^{-7}\text{nm}$$

► **Frekans (ν):** Belli bir noktadan belli bir zamanda geçen dalga sayısı olup birimi sn^{-1} dir. (1 Hertz=1 titreşim/sn). Işığın hızı ile frekansı ve dalga boyu arasında $c = \lambda \cdot \nu$ ilişki bulunur. (ışık hızı $=c= 3.10^{10}\text{cm/sn}$)

► **Dalga sayısı (ν):** Bir santimetredeki dalga sayısı olup birimi cm^{-1} dir.

$$\nu = 1/\lambda$$

Dalga şiddeti (A): Sinüsoidal hareket eden dalganın apsisten uzaklığıdır.

Dalga periyodu (τ): Tam bir devir için gereken zaman olup birimi sn/devir' dir.

Frekansın tersine eşittir.

$$\tau = 1/\nu$$

► Işığın madde ile girişimi, ışığın parçacık özelliği ile açıklanır. Her parçacığın (foton) belli bir enerjisi vardır. Einstein-Planck formülüne göre

$$E = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda \text{ dir.}$$

$$h = 6,63 \cdot 10^{-27} \text{joul.sn/parçacık}$$

Buna göre bir ışığın enerjisi dalga boyu ile ters, frekansı ile doğru orantılıdır.

Maddeye gönderilen ışığın bir kısmı madde tarafından absorplanarak uyarılmış duruma geçer. Buna *absorpsiyon* denir.

Eksite durumdaki maddenin içerdiği fazla enerjiyi ışıma şeklinde vermesine ise *emisyon* denir.

3.3.1. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi

Atom, iyon ya da moleküllerin bir katı yüzeyinde tutunmasına *adsorpsiyon*, tutulan katı taneciklerin yüzeyden ayrılmasına *desorpsiyon*, katıya *adsorplayıcı*, katı yüzeyinde tutunan maddeye ise *adsorplanan* adı verilir. Çeşitli maddelerin bir faz yüzeyinde değil de özümленerek o fazın yapısı içine girmesine ise *absorpsiyon* denir. Adsorpsiyon ve absorpsiyon birlikte oluyor ve ayırt edilemiyorsa, bu olaya da *sorpsiyon* denir. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS), temel düzeydeki element atomlarının kendilerine özgü dalga boylarında ışını absorblamalarına dayanır. Absorbsiyon büyüklüğü, temel düzeydeki atomların derişimi ve analit derişimine bağlıdır. Absorbsiyon ölçülmesi ile analit derişimi bulunabilir. Dengede bulunan bu sistemde uyarılmış düzeydeki atom sayısının temel

düzyeeki atom sayısı oranını Boltzmann eşitliği verilir. Atomların ışını absorblamaları, ilk kez 1814 yılında gözlenmiştir. Atomik absorpsiyon spektroskopisinin temel prensipleri ise 1860 yılında Kirchhoff tarafından kurulmuştur. Bununla birlikte, 1953' te Alan Walsh AAS' nin Ni element analizinde kullanılabileceğini göstermiştir. AAS analitik kimyada en yaygın kullanılan metotlardan biridir. AAS' nin genel şeması aşağıdaki gibidir.

Işık Kaynağı ⇒ Numune Kabı ⇒ Monokromatör ⇒ Detektör ⇒ Kaydedici

3.3.1.1. Işık Kaynakları

Atomik absorpsiyonu esas alan analitik yöntemler, elektronik geçiş enerjilerinin her elemente özgü ve atomik absorpsiyon çizgilerinin önemli derecede dar olması (0.002-0.005 nm) sebebiyle oldukça spesifiktir.

Diğer yandan, sınırlı çizgi genişliği moleküler spektroskopide karşılaşmadığımız bir problem getirir. Analitik sinyal (absorbans) ve derişim arasında doğrusal bir ilişki olması için ışık kaynağının bant genişliğinin bir absorpsiyon pikinden daha dar olması gerekir. İyi kalite monokromatörler dahi atomik absorpsiyon çizgilerinin genişliğinden önemli derecede geniş etkin bant genişliğine sahiptir. Sonuç olarak, atomik absorpsiyon ölçümleri, sürekli ışık kaynaklı yaygın spektrometrelerle yapıldığı zaman doğrusal olmayan kalibrasyon eğrileri kaçınılmazdır. Üstelik bu cihazlarla elde edilen kalibrasyon eğrilerinin eğimleri küçüktür. Çünkü monokromatör slitinden geçen ışının yalnızca küçük bir kesri numune tarafından absorplanır, sonuç düşük duyarlıktır. Atomik absorpsiyon piklerinin sınırlı genişliğinden oluşan problem, absorpsiyon piklerinden daha dar bant veren çizgi kaynaklarının kullanımıyla çözülmüştür. Başlıca ışık kaynakları;

- I. Oyuk Katot Lambaları
- II. Kaynak Modülasyonu
- III. Elektrotsuz Boşalım Lambaları şeklindedir.

3.3.1.2. Atomlaştırıcı

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde karşılaşılan numune atomlaştırma tekniklerinden en yaygın kullanılan teknikler;

- I. Alev atomlaştırma
- II. Elektrotermal atomlaştırma teknikleridir.

3.3.1.3. AAS' de Monokromatör (Dalga Boyu Seçicisi)

AAS' de monokromatör olarak prizmadan yapılmış düzenekler kullanılır. Prizmalarda dalga boyunun seçilmesi farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılması ilkesine dayanır. Prizma ışık kaynağına göre döndürülerek çeşitli dalga boyu değerlerine sahip ışığın bir aralıktan geçerek madde ile etkileşmesi sağlanır. *Cornu* tipi prizmalarda, prizma içinde kırılmaya uğrayan ışık, prizmanın öteki yüzünden çıkarak çeşitli dalga boylarına dağılır. Littrow prizmasında ise prizmanın bir yüzü Al ayna ile kaplıdır ve prizmaya giren ışık, aynı yüzden çeşitli dalga boylarına ayrılarak prizmayı terk eder.

3.3.1.4. Dedektör

Dedektör olarak foto çoğaltıcı tüpler kullanılır. Foto çoğaltıcı tüplerde foto katot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

3.3.1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde nicel tayinler referans madde ile karşılaştırma şeklinde yapıldığından, numune kabında atomlaştırıcıya kadar olan işlemlerde çözeltinin fiziksel özelliği ve atomlaşma esnasında ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleri, analiz elementinin soğurma sinyalini pozitif veya negatif yönde etkilemesi, örneğin referans maddesine göre herhangi farklı bir davranış sergilemesine yol açar. Bu şekilde sonucu etkileyen tüm etkenler girişim olarak adlandırılır.

3.3.1.2.1. Kimyasal Girişim

Kimyasal girişim, elementin nicel olarak atomlaşmasını önleyen herhangi bir oluşum olarak tanımlanır. Kimyasal girişimlerin ortaya çıkmasının başlıca iki nedeni vardır: Ya zor eriyen veya buharlaşan tuz oluşması ve bu moleküller tam olarak ayrışması ya da serbest atomlar ortamda bulunan öteki atom veya radikallerle tepkimeye girerek başka formlara dönüşürler. Alevde karşılaşılan kimyasal girişimlerden en önemlisi, serbest atomların ortamda

bulunan başka atom veya radikallerle kendiliğinden tepkimesidir. Serbest metal atomlarıyla alevin yanma ürünlerinin birleşmesi sonucu; oksitler, hidroksitler, karbürler veya nitrürler oluşur. Bu tür girişimin sonucu olarak 30 kadar metalik element hava/asetilen alevinde kararlı oksitler oluşturdıklarından tayin edilemezler. Örnek matriksinin neden olduğu kimyasal girişimler de söz konusudur. Eğer bir örnekte standarta göre daha az ayrışan moleküller oluşuyorsa incelenen metalin derişimi düşük bulunacaktır, buna karşılık standarta göre daha kolay ayrışan moleküller oluşuyorsa sinyal artışı gözlenecektir ve bunun sonucu olarak derişimde pozitif bir hata oluşacaktır. Birçok kimyasal girişim alev sıcaklığının yükseltilmesiyle uzaklaştırılabilir, bunun dışında girişimler kimyasal olarak da giderilebilir.

Girişim yapan iyonlar standart çözeltiye eklenip örnek matriksi ve standart çözeltiler birbirine benzetilebilir. Diğer bir şekilde oluşan girişimin giderilmesinde, girişimi yapan anyon örnek çözeltisine aşırı eklenen başka bir katyonla bağlanabilir veya tayin edilecek katyon kompleks içinde tutularak bu şekilde kimyasal girişim giderilebilir [60].

3.3.1.2.2.Fiziksel Girişim

Fiziksel girişimler; çözeltilerin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlığı gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans maddede farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Çözeltilerin sisleşme verimi; yüzey gerilimi, viskozite ve yoğunluğa bağlıdır. Çünkü bu özellik damlacık boyutunu tayin eder. Eğer bir çözeltinin fazla miktarda tuz eklemesiyle artarsa daha az örnek emilir ve damlacıklar büyür, aleve ulaşan örnek miktarı azalır. Organik çözücülerin viskozite ve özgül ağırlığı sudan daha az olduğu için bunların püskürtülmeleri kolay olur. Daha düşük yüzey gerilimi sisleşmenin daha iyi olmasını ve dolayısıyla birim zamanda daha fazla örneğin aleve ulaşmasını sağlar. Fiziksel girişimler örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek giderilebilir veya standart ekleme yöntemi uygulanarak bu problem giderilebilir.

3.3.1.2.3. İyonlaşma Girişimi

Özellikle sıcak alevlerde birçok element az veya çok iyonlaşır; bu durumu temel düzeydeki toplam atom sayısı da azalacağından duyarlık da azalır. İyonlaşma girişimi iki yolla giderilebilir. Atomlaşma, daha düşük sıcaklıktaki bir alevde yapılabilir. Örneğin alkali metalleri hava/asetilen alevinde önemli ölçüde iyonlaştıklarından daha soğuk olan hava/hidrojen alevinde iyonlaşmadan atomlaştırılabilirler. Ancak bu yöntem elementlerin

çoğu için uygun değildir. Çünkü soğuk alevde atomlaşma verimi azalır ve kimyasal girişimler ortaya çıkar. İyonlaşma girişimi giderilmesi için örnek ve standart çözeltileri potasyum ve sezyum kolaylıkla iyonlaşan elementler eklenebilir, bu şekilde iyonlaşma girişimi giderilebilir [61].

3.3.1.2.4. Spektral Girişimler

Oyuk katot kaynaklarının emisyon çizgilerinin çok dar olması nedeniyle çizgilerin örtüşmesinden ileri gelen girişim az görülür. Böyle bir girişimin oluşması için iki çizgi arasında $0,1 \text{ A}^\circ$ dan daha az fark olması gerekir. Örneğin, alüminyumun 3082.15 A° daki absorpsiyon çizgisine dayanan bir analizde, 3082.11 A° daki bir vanadyum çizgisi girişim yapar. Girişim, alüminyum için bu çizgisi yerine 3092.7 A° daki çizgisi kullanılarak önlenir. Spektral girişimler, ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden de ileri gelir. Her ikisi de gelen ışın gücünü zayıflatır ve pozitif analitik hataya yol açar.

3.3.1.2.5. Zemin girişimi

Zemin girişimlerinin iki önemli nedeni vardır. Birincisi katı ya da sıvı parçacıkların neden olduğu ışık saçılması ve bundan doğan spesifik olmayan absorpsiyonlar, ikincisi ise ışığın moleküler veya radikaller tarafından absorplanmasıdır. Işığın molekül ve radikaller tarafından absorplanması UV bölgedeki moleküler absorpsiyonudur. L'vov ve Koirtiyoham hat ve zemin sinyallerini aynı anda ölçebilmek için kanallı bir sistem geliştirmişlerdir [62]. AAS yöntemi seçimliliği ve spesifikliği yüksek bir yöntemdir. Çizgi ölçümlerinde özellikle grafit fırın kullanıldığında zemin ölçümü alevdekinden önemlidir. Bu tür zemin ölçümlerinde sürekli ışık kaynağı, özellikle döteryum lambası kullanılır.

4. METARYAL VE METOT

4.1. Kullanılan Cihazlar Ve Cam Malzemeler

Bu çalışmada fenolik asit ve flavonoit tayini için HPLC (Shimadzu), DAD (Shimadzu SPD-M10A VP) dedektörü, C₁₈ kolonu ile birlikte kullanılmıştır.

Eser element tayini için Perkin Elmer AA 800 Analyst Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ve kapalı ortamda mikrodalga parçalama metodu kullanıldı. Kapalı ortam mikrodalga ile çözünürleştirme için ve BERGHOF MWS-2 mikrodalga fırını kullanıldı.

Kullanılan diğer yardımcı malzemeler şunlardır:

1. Ultra saf su cihazı
2. C₁₈ kolonu
3. Elektronik tartı
4. Etüv
5. Isıtıcılı karıştırıcı
6. Otomatik pipet
7. Süzgeç kâğıdı (125 mm)
8. Kolon [Macherey Nagel (MN) EC 150/4,6 Nucleodur 100-5 C₁₈ ec]
9. Santrifüj (Hettich Zentrifugen Universal 320 R)
10. Vial tüp
11. Homojenizatör(Micra)
12. Teflon kap
13. Değişik büyüklükte pipet, beher, balon joje, mezür vb. cam malzemeler kullanıldı.

4.2.Kullanılan Standart Çözelti ve Reaktiflerin Hazırlanması

4.2.1. HPLC İçin Standart Çözelti ve Reaktiflerin Hazırlanması

Standart çözelti olarak kullanılan flavonoidlerin (Kuarsetin, Resveratrol) HPCL saflıkta 500 ppm’lik stok çözeltileri kullanıldı.

Mobil Faz: 10 mM H₃PO₄ (A) çözeltisi ile mutlak metanolün (B) hacimce 3/1 oranında alınarak mobil faz oluşturuldu. Mobil faz oluşturulurken geçiş hızı 1 mL/dk olarak belirlendi.

4.2.2. AAS İçin Standart özeltilerin Hazırlanması

Co Standart özeltisi: 1000ppm' lik Co' ın stok çözeltisinden (Merck) 1,2,3,4,5ppm' lik çözelti ler hazırlandı.

Cr Standart özeltisi: 1000ppm' lik Cr' un stok çözeltisinden (Merck) 1,2,3,4,5 ppm' lik çözelti ler hazırlandı.

Cu Standart özeltisi: 1000 ppm 'lik Cu'un stok çözeltisinden (Merck) 1,2,3,4,5 ppm'lik çözelti ler hazırlandı.

Fe Standart özeltisi: 1000ppm' lik Fe' ın stok çözeltisinden (Merck) 1,2,3,4,5ppm' lik çözelti ler hazırlandı.

Mn Standart özeltisi: 1000ppm' lik Mn' ın stok çözeltisinden (Merck) 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3 ppm' lik çözelti ler hazırlandı.

Zn Standart özeltisi: 1000ppm' lik Zn' ın stok çözeltisinden (Merck) 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5ppm' lik çözelti ler hazırlandı.

4.3. Örneklerin Temini ve Analize Hazırlanması

Yukarı Fırat Havzasında; kenger bitkisi Pertek/Tunceli, Karacadağ/Diyarbakır ve Yazıkonak/Elazığ; güllük bitkisi Nazimiye/Tunceli, Ovacık/Tunceli ve Bingöl, ışkın yaprağı Alacakaya/Elazığ, Palu/Elazığ, Pertek/Tunceli, ışkın bitkisi ise Palu/Elazığ, Ovacık/Tunceli ve Munzur/Tunceli bölgelerinden doğal yetişime ortamından ilkbahar döneminde temin edildikten sonra analizler gerçekleştirilene kadar -40°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi. İncelenen tüm bitkiler homojenize edilip yaş tartımlar alınarak, aşağıdaki yöntemler uygulanarak analiz için hazırlandı.

4.3.1. Bitki Örneklerinin Fenolik Bileşik Tayini İçin Ekstraksiyonu

Dipfrizde muhafaza edilen bitkiler analiz döneminde dipfrizden alınıp küçük parçalara bölündükten sonra homojenize edilip bitkilerden 50' şer gram tartıldı. Behere konulan örneklerin üzerine 250' şer mL metil alkol ilave edilip homejenizatör ile karıştırıldı.

Homojen haldeki ekstraktlar santrifüj edilip analiz için bekletildi. Örnekler daha sonra HPLC cihazına enjekte edildi.

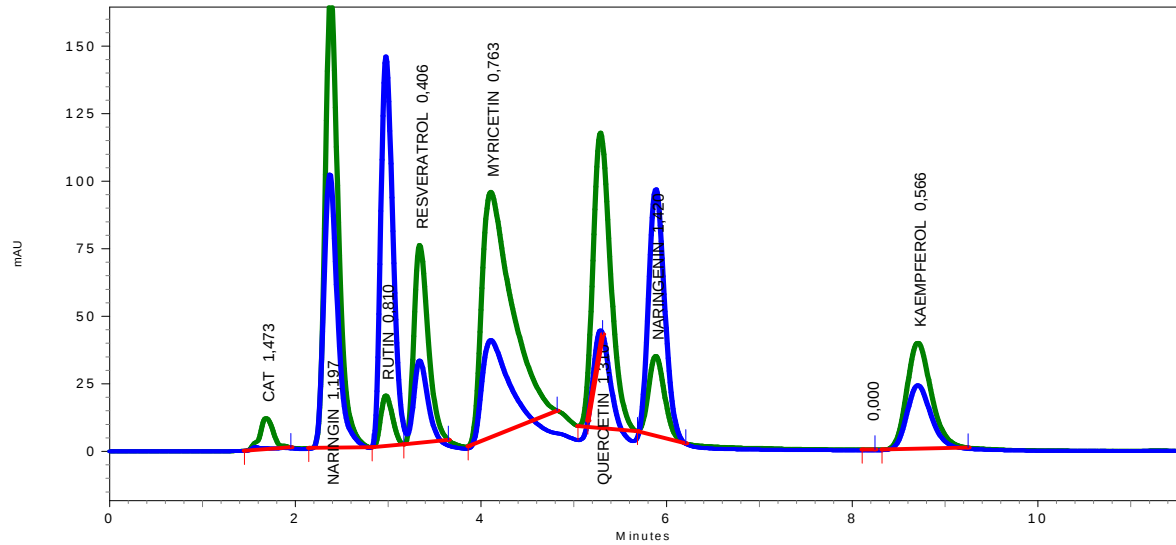
4.3.2.Kapalı Ortamda Mikrodalga Parçalama Yöntemi İle Bitki ÖrneklerininMetalTayini İçin Çözünürleştirilmesi

Dipfrizde muhafaza edilen bitkiler dipfrizde çıkartılıp küçük parçalara bölünen bitkiler homojenize edilip her birinden 1' er gram tartıldı. Örnekler teflon kap içerisine alınıp üzerine 2 mL nitrik asit, 2 mL perklorik asit ve 2 mL hidrojen peroksit ilave edilip 30 dk bekletildi. Örnekler mikrodalga fırına alındı. Mikrodalga ısıtıcı parametreleri Tablo 4.1. de gösterilmiştir. Seyreltme işlemi uygulanarak son hacim 25 mL' ye tamamlandı. Elde edilen çözeltiler AAS' de analiz edildi.

Tablo 7.Mikrodalga Isıtıcı Parametreleri

Step	1	2	3	4
T °C	145	175	120	120
Power%	80	80	80	80
Time min.	5	10	10	10

4.4. Flavonoid İçin Standart Kromotogram



Şekil 11.HPLC-DAD Flavonoid İçin Standart Kromotogram

4.5. Standart Grafiklerin Korelasyon Değerleri ve Denklemleri

4.5.1. Fenolik Asit ve Flavonoidlerin Standart grafiklerin Elde Edilmesi

Tayini yapılacak her bir fenolik asit ve flavonoidin standart kitleri kullanılarak farklı derişimlerinde çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler HPLC' ye (optimize şartlarda) enjekte edilerek elde edilen kromatogramlardan tablo 4.2. deki veriler elde edildi. Bu denklemlere göre hesaplamalar gerçekleştirildi.

Tablo 8. Flavonoidler İçin Standart Grafiklerin Korelasyon Değerleri (R^2) Ve Denklemleri

Flavonoid	Korelasyon Değeri (R^2)	Denklemi
Rutin	0,9431	$y=987,83x+1506$
Myricetin	0,9955	$y = 223x - 13682$
Quercetin	0,986	$y = 31,454x + 2248,5$
Kaempferol	0,9717	$y = 254,6x + 450$
Naringin	0,9901	$y=980,2x-789$
Naringenin	0,9793	$y = 906,52x + 568$
Resveratrol	0,9673	$y = 402x + 3243$

4.5.2. Eser Element Standart Grafiklerin Elde Edilmesi

Tayini yapılacak eser elementlerin standart stok çözeltilerinden her bir elementin lineer çalışma aralığı göz önüne alınarak farklı derişimlerdeki çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler AAS ile (optimize şartlarda) absorbansları ölçüldü. Derişim- absorbans grafiklerinden her elementin lineer doğrusu ve doğru denklemi bulunarak tablo 4.3.deki veriler elde edildi. Bu denklemlere göre her elementin hesaplamaları gerçekleştirildi.

Tablo 9. Eser Element için standart grafiklerin kolerasyon değerleri (R^2) ve denklemleri

Eser Element	Kolerasyon Değeri (R^2)	Denklemi
Cu	0,976	$y = 0,1817x$
Mn	0,9736	$y = 0,228x + 0,0438$
Ni	0,9958	$y = 0,0567x + 0,0129$
Cr	0,9967	$y = 0,012x - 0,0012$
Fe	0,9957	$y = 0,0586x + 0,0122$
Co	0,9975	$y = 0,0626x + 0,0053$
Zn	0,9984	$y = 0,1945x + 0,0041$

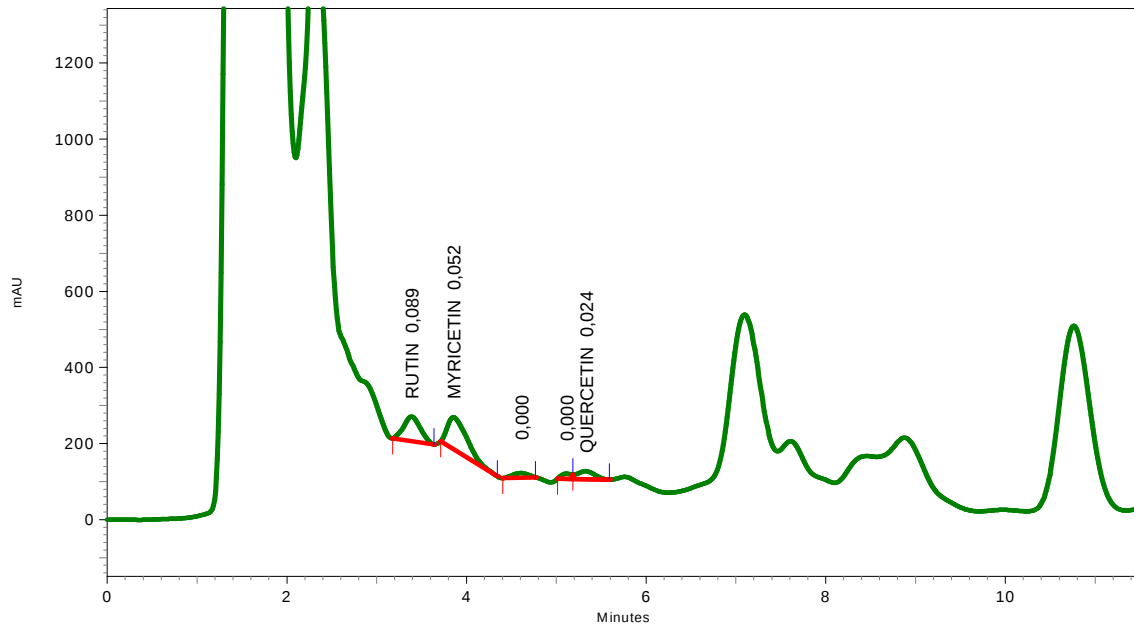
5. BULGULAR

5.1. HPLC Kromatogramları

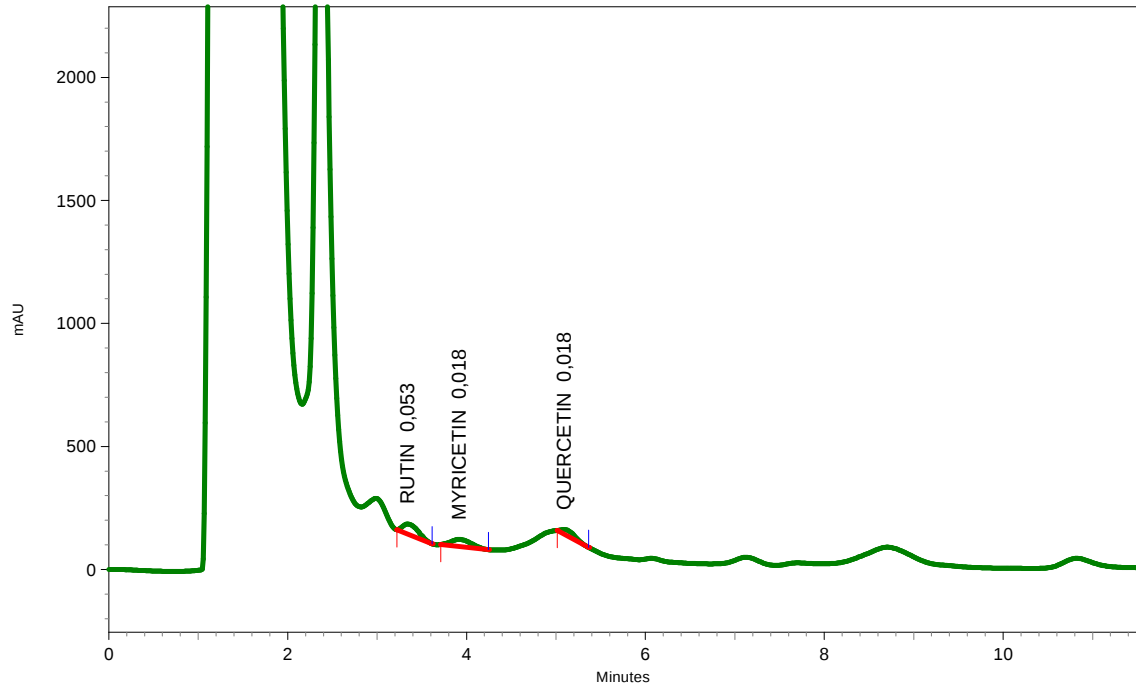
HPLC-DAD cihazında Class-VP HPLC programına (Shimadzu, Kyoto, Japan) göre veriler hesaplanmıştır.

5.1.1. Bitkiler İçin Elde Edilen Kromatogramlar

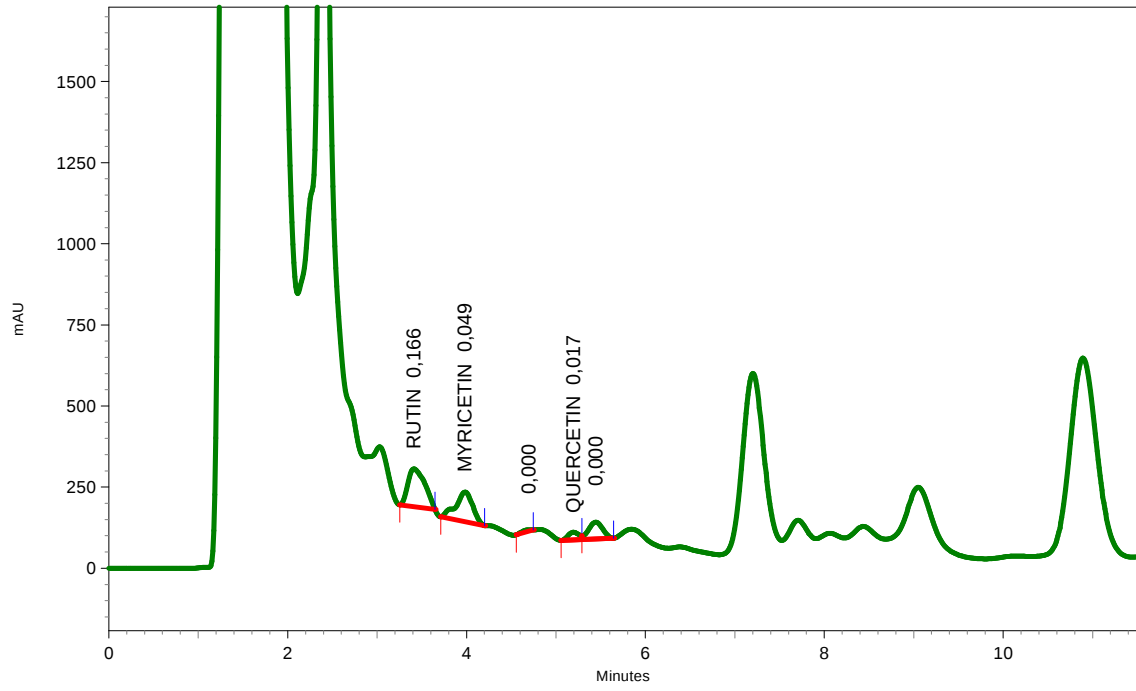
Bitkilerde bulunan flavonoidlerin kromatogramları aşağıdaki gibidir.



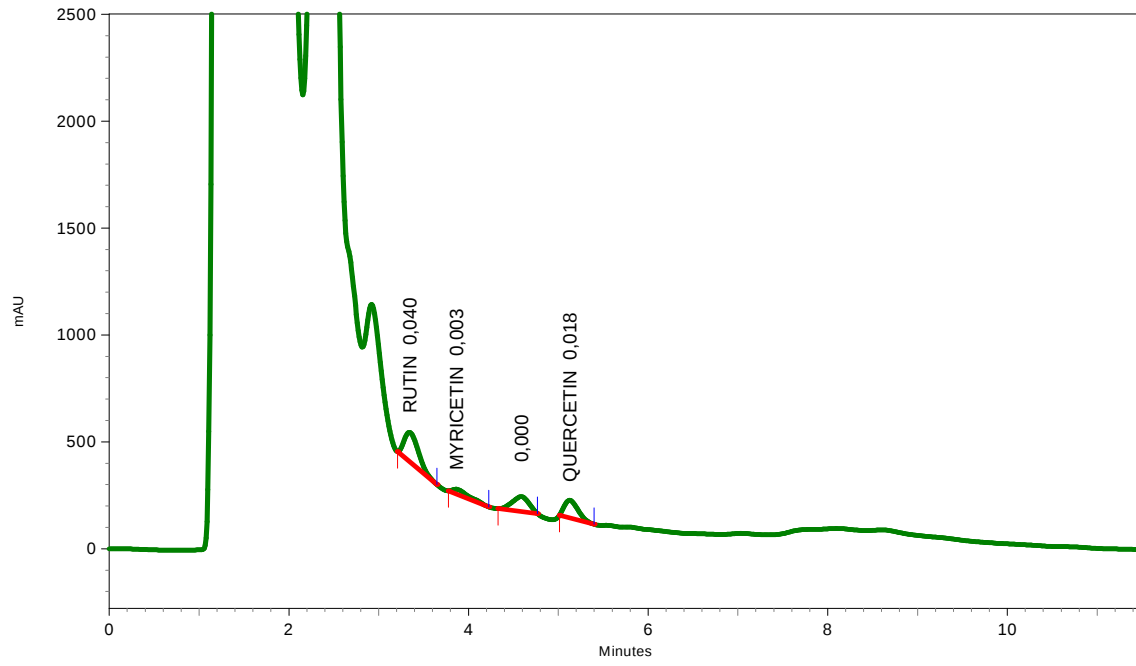
Şekil 12.HPLC-DAD İle Işkın Yaprğındaki(Alacakaya) Flavonoid Kromatogramı



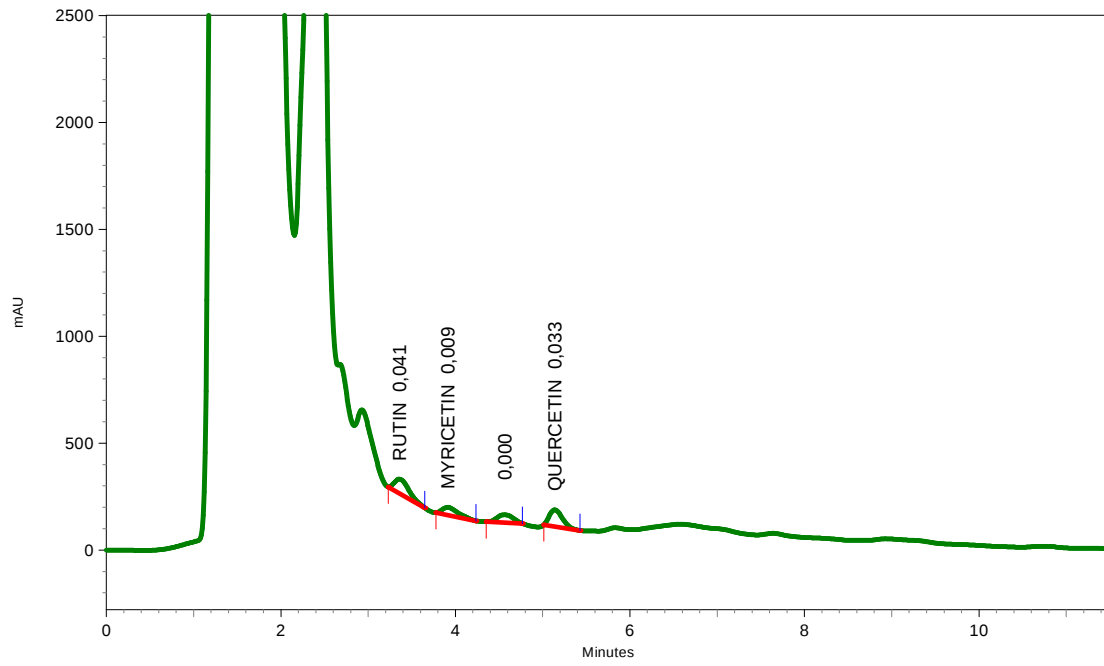
Şekil 13.HPLC-DAD İle Işkın Yaprakındaki(Palu) Flavonoid Kromatogramı



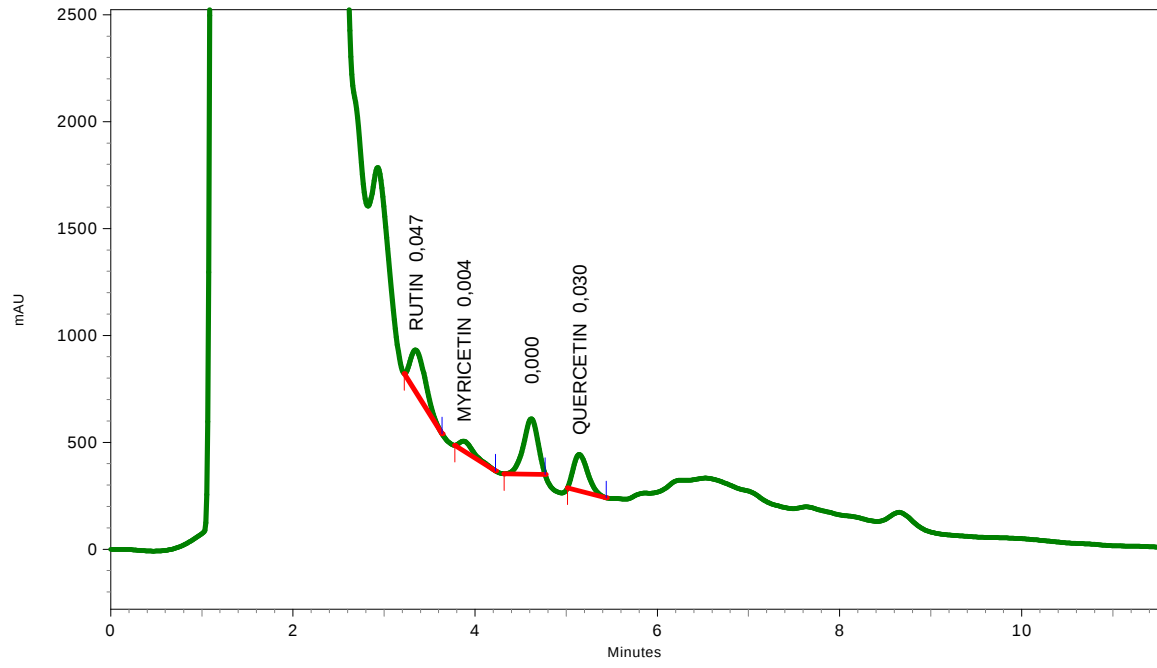
Şekil 14.HPLC-DAD İle Işkın Yaprakının(Pertek) Flavonoid Kromatogramı



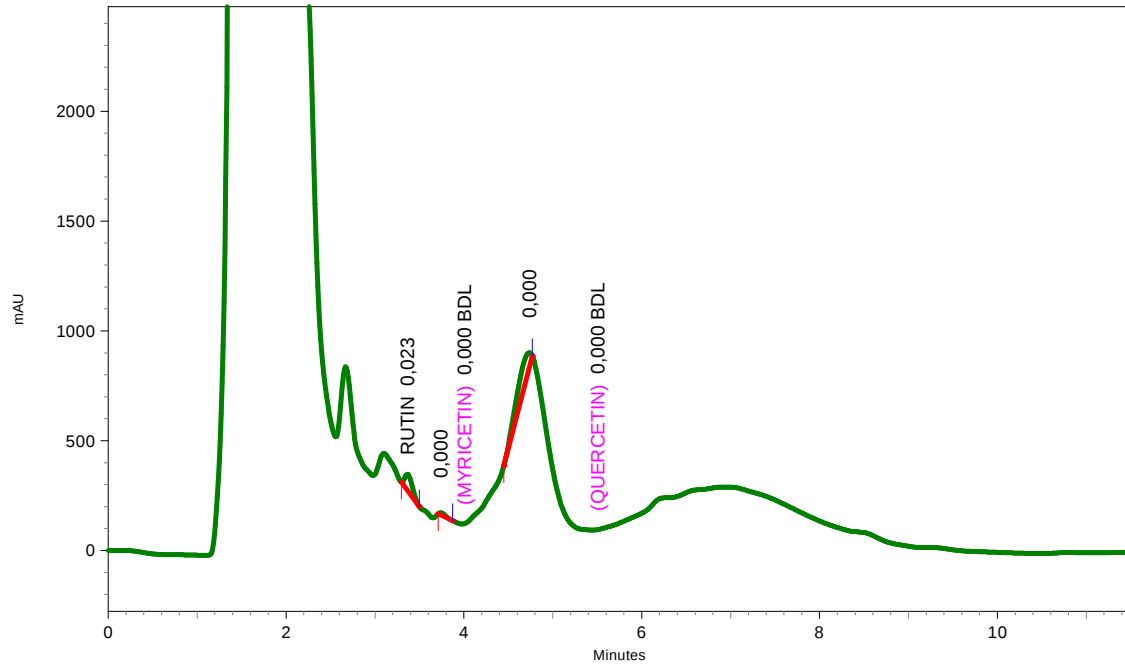
Şekil 15. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Munzur) Flavonoid Kromatogramı



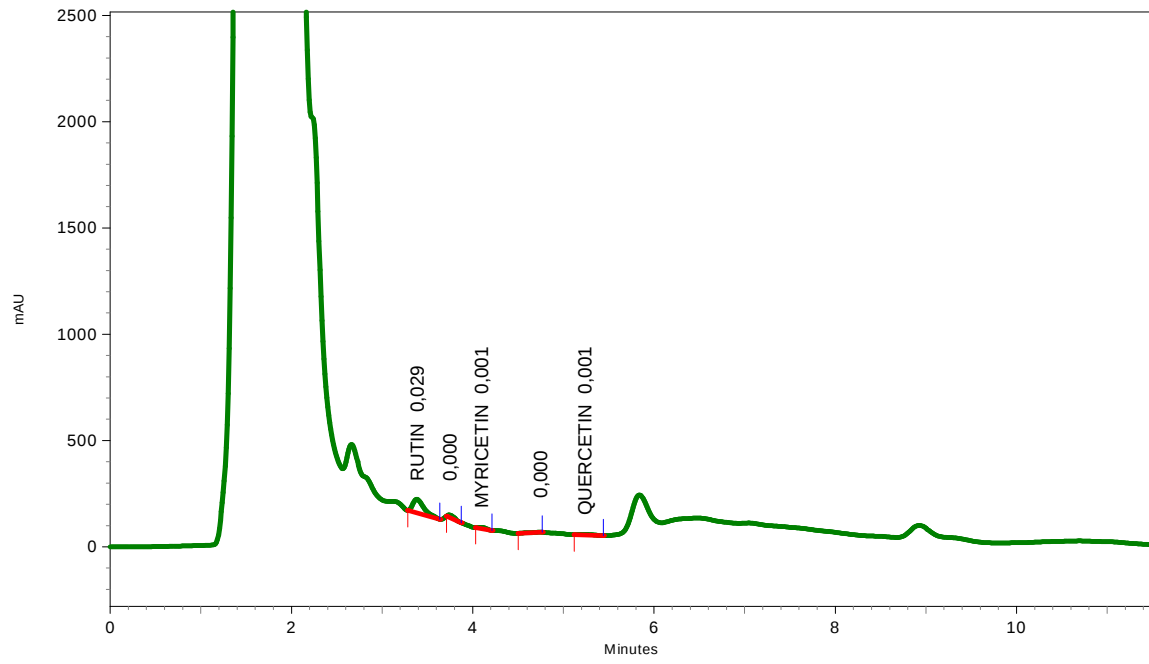
Şekil 16. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Ovacık) Flavonoid Kromatogramı



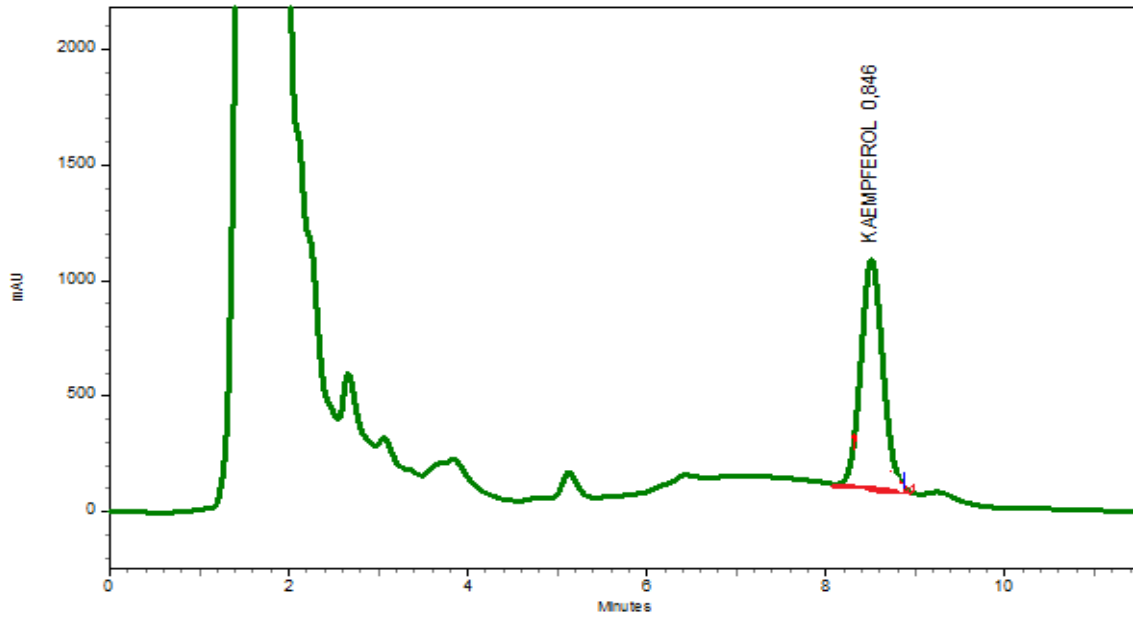
Şekil 17. HPLC-DAD İle Işkın Bitkisinin (Palu) Flavonoid Kromatogramı



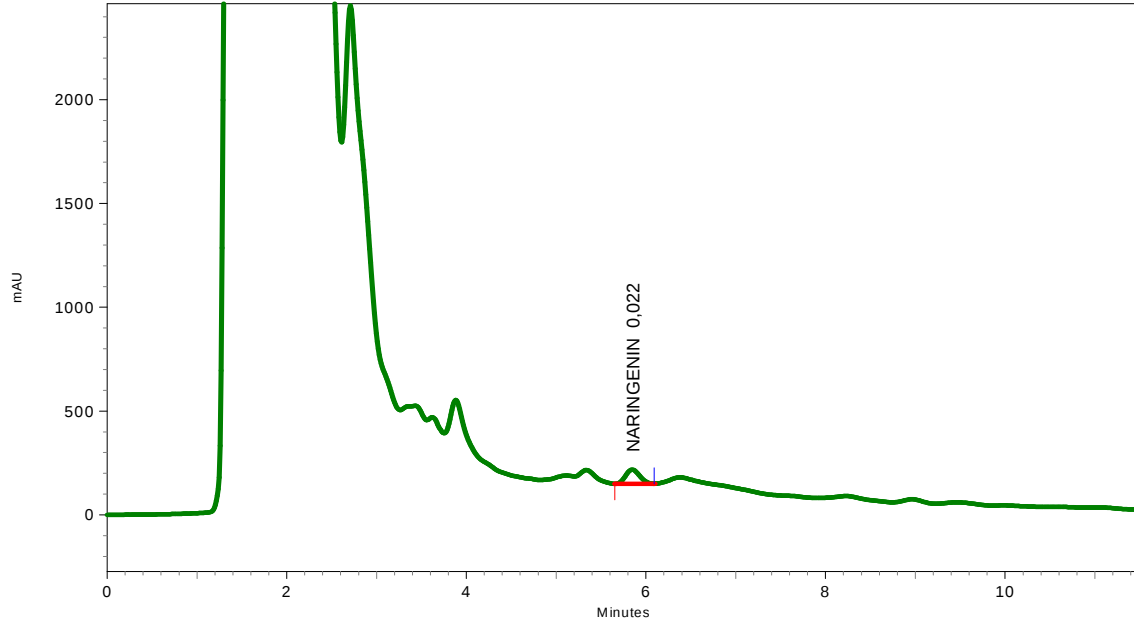
Şekil 18. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Karaca) Flavonoid Kromatogramı



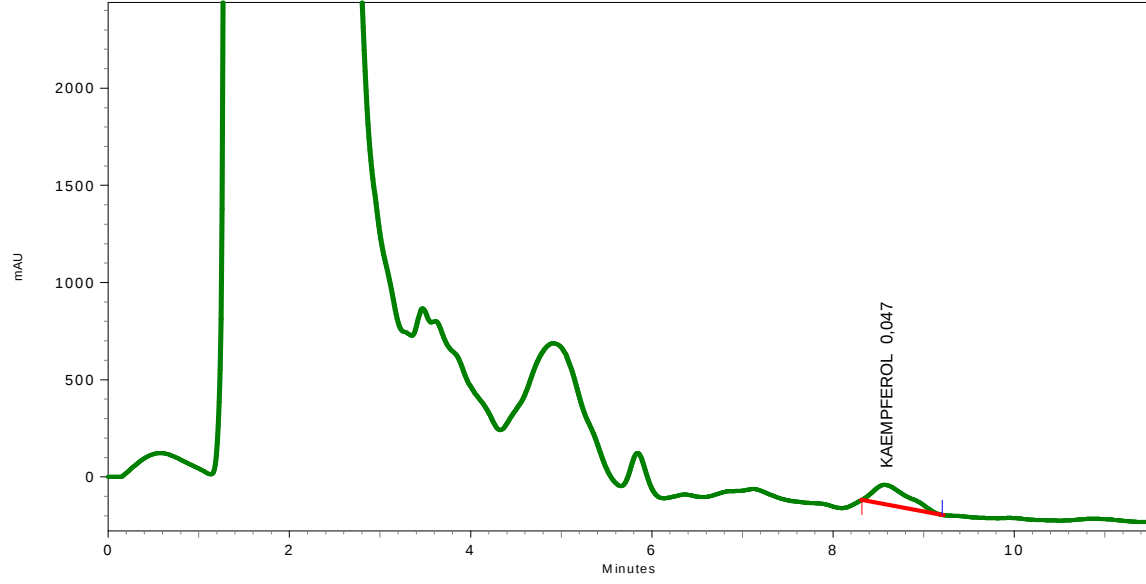
Şekil 19. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Pertek) Flavonoid Kromatogramı



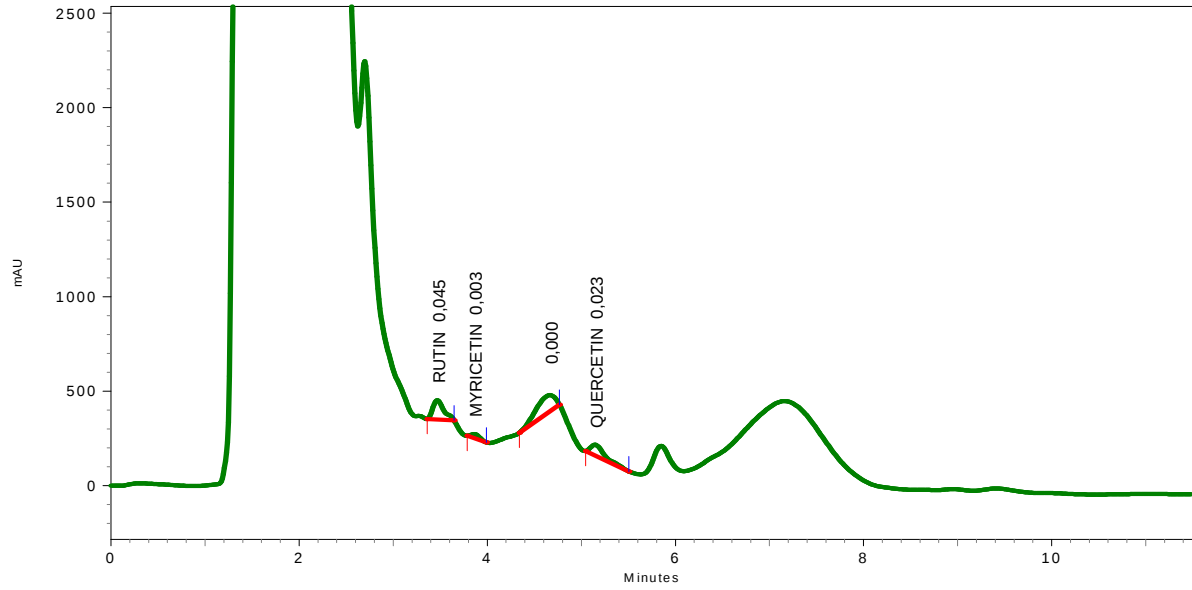
Şekil 20. HPLC-DAD İle Kenger Bitkisinin (Yazikonak) Flavonoid Kromatogramı



Şekil 21. HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Bingöl) Flavonoid Kromatogramı



Şekil 22.HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Nazmiye) Flavonoid Kromatogramı



Şekil 23. HPLC-DAD İle Güllük Bitkisinin (Ovacık) Flavonoid Kromatogramı

5.1.2.Bitkilerdeki Flavonoid Miktarları

Flavonoid tayini için analiz edilecek olan bitkilerden yaş halde 50 gramlık tartımlar alındı. Daha sonra 250 mL %96' lık metil alkol ile blendırda parçalanarak homojenize edildi. Elde edilen karışım sentrifüjlendi, çözelti posadan süzülerek ayrıldı. Bu çözeltiden 25 mL alındı, HPLC'ye 0,02 mL enjekte edilerek kromatogramlar elde edildi. Elde edilen kromatogramlardan her bir flavonoid miktarı tayin edildi. Bitkilerdeki her bir flavonoidin fenolik asit ve flavonoid miktarının hesaplanmasına örnek olarak Yazıkönak kenger bitkisinde bulunan myricetin miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır. Myricetin için kromatogramdan(Şekil 5.9.) elde edilen değer kullanılarak aşağıdaki gibi hesaplama yapılmıştır.

$$250 \text{ mL } \text{Lörn. } \text{çöz.} \times \frac{0,027 \mu\text{g Myrýcetin}}{0,02 \text{ mL } \text{Lörn. } \text{çöz.}} \times \frac{1 \text{ mg}}{10^3 \mu\text{g}} \times \frac{1}{50 \text{ g } \text{uşkı}} \times \frac{10^3 \text{ g}}{1 \text{ kg}} = 6,75 \frac{\text{mg Myrýcetin}}{\text{kg } \text{uşık}}$$

Ayrıca elde edilen kromatogramlar ve analiz sonuçları Ek-1' de verilmiştir.

Bitki örneklerindeki fenolik asit flavonoid miktarları aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 10.İşkın Bitkisindeki Flavonoid Miktarı (n=3)

Flavanoid	İşkın (mg/kg)		
	Palu	Ovacık	Munzur
Rutin	11,75±8,98	125,25±12,48	102,28±9,56
Myricetin	1,00±0,45	2,25±0,48	1,75±0,63
Quarcetin	7,50±2,45	8,25±2,17	4,50±1,72
Kaempferol	2,50±1,10	2,00±0,28	1,25±1,74
Naringin	19,35 ±8,16	22,45±2,43	20,95±6,42
Naringenin	1,75±0,56	2,25±1,08	1,75±0,48
Resveratol	1,25±0,48	<ts	<ts
Cat	<ts	<ts	<ts

Tablo 11.İşkın Bitkisinin Yaprığındaki Flavonoid Miktarı (n=3)

Flavanoid	İşkın Yaprığı(mg/kg)		
	Alacakaya	Pertek	Palu
Rutin	22.2±3.12	41,5±4,45	13,25±2,12
Myricetin	65.35±3.68	12,25±3,65	40,36±3,98
Quarcetin	6.64±1,18	4,25±1,38	4,12±0,65
Kaempferol	70.25±6.45	46,18±5,42	38,05±5,52
Naringin	54.51±3,42	72,24±6,46	118,25±17,45
Naringenin	<ts	1,25±0,18	<ts
Resveratol	<ts	1,18±0,12	<ts
Cat	<ts	<ts	<ts

Tablo 12. Kenger Bitkisindeki Flavonoid Miktarı (n=3)

Flavanoid	Kenger(mg/kg)		
	Pertek	Karaca	Yazıkonak
Rutin	7,50±2,52	5,75±2,18	2,25±0,65
Myricetin	1,25±0,24	1,25±0,19	6,75±1,22
Quarcetin	0,5±0,18	1,25±0,29	22,5±4,19
Kaempferol	11,25±4 ,46	10,86±2,78	21,8±5,48
Naringin	<ts	<ts	<ts
Naringenin	7,50±2,48	1,25±0,92	<ts
Resveratol	2,5±0,03	3,75±1,46	1,25±0,46
Cat	<ts	<ts	<ts

Tablo 13.Güllük Bitkisindeki Flavonoid Miktarı (n=3)

Flavanoid	Güllük(mg/kg)		
	Nazimiye	Bingöl	Ovacık
Rutin	6,25±2,65	2,5±1,16	11,25±3,35
Myricetin	0,25±0,05	9,50±5,64	0,75±1,82
Quarcetin	4,42±1,33	4,25±2,98	5,70±3,62
Kaempferol	11,75±3,46	2,50±0,24	1,25±0,45
Naringin	51,75±8,43	26,25±5,25	57,75±9,76
Naringenin	4,75±1,58	11,25±3,12	6,25±2,98
Resveratol	0,25±0,08	1,25±0,22	1,25±0,18
Cat	103±9,13	0,5±0,20	87,5±7,43

5.2.Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile İlgili Bulguları

Eser element tayini için analiz edilecek olan bitkilerden yaş halde 1' er g tartıldı. Teflon kap içerisine alınan örneklere 2' şer mL nitrik asit, perklorik asit ve hidrojen peroksit ilave edilip 30 dk bekletildi. Tam çözünme işlemi gerçekleştikten sonra çözeltiler 25 mL' ye seyreltildi. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisine enjekte edilen çözeltilerde eser element tayini yapıldı.. Bitkilerdeki her bir eser element miktarının hesaplanmasına örnek olarak Yazıkönak kenger bitkisinde bulunan yaklaşık demir miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$25\text{mLörn.çöz.} \times \frac{1,48\mu\text{gdemir}}{0,02\text{mLörn.çöz.}} \times \frac{1}{1\text{gkenger}} \times \frac{10^3\text{g}}{1\text{kg}} \times \frac{1\text{g}}{10^3\mu\text{g}} = 1820 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

Tablo 14.İşkın Bitkisindeki Eser Element Miktarı (n=3)

Eser Element	İşkın(mg/kg)		
	Palu	Ovacık	Munzur
Cu	19,56±1,84	15,84±1,18	21,24±1,62
Mn	50,75±4,98	51,75±4,53	45,62±3,67
Ni	3,12±0,29	2,45±0,28	2,88±0,24
Cr	<ts	<ts	<ts
Fe	2947,91±281,48	2710,38±259,42	2241,97±198,48
Co	<ts	<ts	<ts
Zn	25,23±2,28	29,45±2,66	28,78±2,43

Tablo 15.İşkın Bitkisinin Yaprğındaki Eser Element Miktarı (n=3)

Eser Element	<i>İşkın Yaprğı(mg/kg)</i>		
	Alacakaya	Pertek	Palu
Cu	16,72±1,55	18,13±1,68	19,72±1,81
Mn	58,25±5,53	57,35±5,34	56,21±5,44
Ni	2,94±0,19	2,13±0,14	3,43±0,271
Cr	<ts	<ts	<ts
Fe	2925,425±271,35	2328,981±209,62	2645,42±253,62
Co	<ts	<ts	<ts
Zn	650,422±63,82	894,54±79,61	792,456±78,41

Tablo 16.Kenger Bitkisindeki Eser Element Miktarı (n=3)

Eser Element	<i>Kenger(mg/kg)</i>		
	Karaca	Pertek	Yazıkönak
Cu	20,68±2,32	22,45±1,98	18,73±1,89
Mn	52,47±4,65	56,48±5,56	61,627±5,83
Ni	<ts	<ts	<ts
Cr	32,82±3,16	38,62±3,75	34,71±3,44
Fe	1825,425±173,46	1454,258±105,35	1850,42±191,62
Co	<ts	<ts	<ts
Zn	794,42±77,32	741,35±74,24	798,291±75,34

Tablo 17.Güllük Bitkisindeki Eser Element Miktarı (n=3)

Eser Element	Güllük(mg/kg)		
	Nazmiye	Bingöl	Ovacık
Cu	2,38±0,22	2,88±0,23	1,55±0,13
Mn	63,25±5,75	56,75±5,63	61,38±6,58
Ni	2,49±0,19	2,78±0,24	2,95±0,26
Cr	3,45±0,31	3,15±0,29	2,98±0,27
Fe	2925±28	1974±17	2652±25
Co	<ts	<ts	<ts
Zn	645,23±63,45	739,52±72,41	657,26±65,13

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; rutin, myricetin, quercetin, kaempferol, naringin, naringenin, resveratrol gibi fenolik bileşikler ve flavanoidlerin ve bazı eser elementlerin (Cu, Co, Mn, Fe, Zn, gibi) Yukarı Fırat Havzasında Yetişen; kenger, güllük ve ıskın bitkileri ile ıskın bitkisinin yaprağın türlerindeki konsantrasyonları araştırıldı. Flavanoit analizi için HPLC-DAD kullanıldı. Eser element analizi için Alevli AAS kullanıldı.

Flavonoid bileşiklerle ilgili yapılan çalışmalar bu bileşiklerin sağlık açısından azımsanamayacak kadar önemli olduklarını ortaya koymuştur. Özellikle antialarjik, anti-enflamasyon, antiviral, antiproliferatif özelliklere sahip oldukları ve koroner kalp rahatsızlıkları, felç, akciğer kanseri ve mide kanseri gibi hastalıkları azaltıcı etkilerinin olduğu saptanmıştır [1].

Behnaz ve arkadaşları Gebre otu bitkisi üzerinde yaptığı çalışmada bu bitkinin kök, gövde ve yapraklarında flavanoid konsantrasyonları sırasıyla Rutin: 1.02ppm, 1.95ppm, 25.82ppm ve Quercetin:6.63ppm, 8.82ppm, 10.4ppm olarak bulunmuştur [63].

Japon eriği bitkisinin kök ve yapraklarında yapılan çalışmada Rutin flavanoid konsantrasyonları sırasıyla 2.85ppm ve 3.08ppm olarak tayin edilmiştir [64].

Kırmızı üzümde yapılan çalışmada konsantrasyonları; Catechin 18.87 ± 0.6 ppm, Quercetin 22.37 ± 0.3 ppm, Rutin 17.17 ± 0.3 ppm, Resveratrol 2.47 ± 0.0 ppm olarak tayin edilmiştir [65].

Flavonoidler ile ilgili yapılan diğer çalışmalar da incelendiğinde de aynı bitki için farklı koşullarda flavonoid konsantrasyonlarının bir birine yakın olduğu görülmektedir. Örneğin Malatya'da yetişen ve şekerpare olarak adlandırılan kayısı türünün Darende ve Akçadağ ilçelerinden alınan örneklerindeki kamferol konsantrasyonları sırasıyla 0.52 ± 0.03 ppm ve 1.5 ± 1.00 ppm, olarak bulunmuştur [66].

Yapılan başka bir çalışmada da önemli polifenol içerikleri belirlenen yedi farklı çay örneğinde polifenol tayini yapılmıştır.İhtiva ettikleri toplam polifenol bakımından sıralaması, ıhlamur > ısırgan otu > papatya > adaçayı > rezene > senemaki > kuşburnu şeklindedir. Görüldüğü gibi toplam polifenol içeriği bakımından en zengin olan bitkisel çay ıhlamurdur. Ancak ısırgan otu da ıhlamur gibi polifenol içeriği bakımından zengindir. Senemaki bitkisi ise tayini yapılan polifenoller açısından diğer çay örneklerine göre daha fakirdir [67].

Bu çalışmada ıskın ve ıskın yaprağında en fazla bulunan fenolik bileşiğin tüm örneklerde *naringin* olduğu görülmektedir. Ayrıca bazı flavanoitlerin tayin sınırının altında kaldığı görülmektedir. Örneğin naringenin flavanoiti ıskın yaprağında tayin sınırının altında bulunmuştur.

Tablolardaki değerler incelendiğinde flovanoit miktarlarının kenger, güllük, ışkın ve ışkın yaprağında farklı oranlarda olduğu görülmektedir. Ayrıca bir bitkinin farklı koşullarda (sıcaklık, rüzgar, su, toprak türü) yetişmiş örnekleri incelendiğinde fenolik bileşik konsantrasyonlarında büyük bir farklılık olmadığı görülmektedir. Örneğin Palu, Ovacık ve Munzur'dan temin edilen ışkın bitkisindeki Quarcetin konsantrasyonları sırasıyla $75,00\pm6,45\text{ppm}$, $82,50\pm8,17\text{ppm}$, $65,50\pm6,7\text{ppm}$ değerindedir.

Eserelementler ile ilgili yapılan çalışmalar gösteriyor ki insan sağlığı için metaller büyük önem arz etmektedir. Örneğin bakır bağırsaklar için önemli iken demir anemi hastalığı için önem arz etmektedir. Ayrıca aşırı miktarda alüminyum alınması ise alzaimer hastalığına sebep olmaktadır[31].

Chehregani, Noori and Yazdi'nin İran' da kenger bitkisi üzerinde yaptığı çalışmada tayin ettikleri demir miktarı $1952,25\pm316,38\text{ppm}$ düzeyindedir [68]. Çalışmamızda kullandığımız ve Yukarı Fırat Havzasından yetişme döneminde temin ettiğimiz kenger örneklerindeki demir miktarları ise $1454,62\pm105,32\text{ppm}$ ile $1965,48\pm191,18\text{ppm}$ arasında değişmektedir. Kenger ve güllük bitkilerindeki Fe miktarı ise diğer eser elementlere göre daha büyük bir değişiklik bulunmaktadır.

Fernandez ve arkadaşlarının 2002' de yapmış oldukları benzer bir çalışmada yeşil çay ve siyah  aydaki Ca ve Mg içeriği 5-22ppm aralığında tayin edilmiştir [69].Yine aynı bitkide Lozak ve arkadaşlarının 2002' de yapmış oldukları bir çalışmada ise Mg ve Ca içerikleri sırasıyla 5778ppm ve 15331ppm olarak bulunmuştur [70].

Yapılan analizler sonucu elde edilen miktarlar Tablo 5.5, Tablo 5.6, Tablo 5.7 ve Tablo 5.8'de verildiği gibidir. Buna göre Cu, Ni, Cr, Cd, Co değerlerinin tayin sınırının altında bulunmuştur. Ayrıca bir bitkinin farklı ortamlarda yetişmiş örnekleri incelendiğinde eser element miktarlarında genellikle büyük bir farklılık olmadığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda görülüyor ki bir bitkideki antioksidan ve eser element miktarı yetişme bölgesine bağlı olarak büyük bir fark olmamakla beraber farklılık göstermektedir. Ayrıca aynı bölgede yetişen farklı bitkilerdeki antioksidan ve eser element miktarlarında da farklılık olduğu görülmektedir.

7.KAYNAKÇA

- [1]. **Baytop, T.**, Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, İstanbul, 122, 1984.
- [2]. **Bruinsma, K. and Taren, D.L.**, Chocolate: food or drug? *J. Am. Diet Assoc* 99, 1249-1256., 1999.
- [3]. **Wan, Y. and ark.**, Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 596-602, 2001.
- [4]. **Hertog, M.G., and ark.**, Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342, 1007-1011., 1993.
- [5]. **Le Marchand, L. Murphy, S.P. Hankin, J.H. Wilkens, L.R. and Kolonel, L.N.**, Intake of flavonoids and lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 154-160, 2000.
- [6]. **Ölçücü, A., Çağlar, P.**, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 6;141-145, 1993.
- [7]. **Skoog, D.A., Holler, F. J., Nieman, T. A.**, Instrumental Analysis, Bilim Yayıncılık, 5. Baskı , 674., 1998.
- [8]. **Karakaya, S., Kavas, A.**, “ Antimutagenic Activities of Some Foods ” Journal of the Science of Food and Agriculture, 79, 237-242, 1999.
- [9]. **Davis, P.H.**, Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 2. Edinburg, Edinburgh University Press, 268, 1966.
- [10]. **Baytop, T.**, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları No 3255 - Eczacılık Fakültesi No 40, 358, 1984.
- [11]. www.turkeyarena.com
- [12]. **Pazourek, J. Ve arkadaşları.**, Analysis of polyphenols in wines: correlation between total polyphenolic content and antioxidant potential from photometric measurements prediction of cultivars and vintage from capillary zone electrophoresis fingerprints using artificial neural network. *J. Of Chromatography A.* 1081, 48-54, 2005.
- [13]. **Mavlyanov, S.M., Islambekov, S.Y., and ark.**, Polyphenols of pomegranate Peels Show Marked Antitumor and Antiviral. *Khim Priir Soedin*, 33:124-126, 1997.
- [14]. **Frank, J.**, Dietary Phenolic Compounds and Vitamin E Bioavailability Model Studies in Rats and Humans. Doctoral Dissertation, ISSN 1401-6249, ISBN 91-576-6453-6, 2004.
- [15]. **Beckman, C.H.**, Phenolic-Storing Cells: Keys to Programmed Cell Death and periderm Formation in Wilt Disease Resistance and in General Defence Responses in plants? physiological and Molecular Plant Patology, 57:101-110, 2000.

- [16]. **Amaruka,Y., Okada,M., Tsuji, S. And Tonogai, Y.,** Determination of Phenolic Acids in Fruit Juices by Isocratic Column Liquid Chromatography, Journal of Chromatography A, 891:183-188,2000.
- [17]. **Anonim,** Bitkisel Tedavi internet, Şifalı Bitkiler ve yararları,2004.
- [18]. **Keskin, H.,** Besin Kimyası, İstanbul, 369-380, 1987.
- [19]. **Cemeroğlu, B. ve Acar, J.,** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Tekn. Derneği. Yayın No:6,513, 1986.
- [20]. **Arts M J. T. J., Haenen G R. M. M., Wilms L. C., Beetstra S. A. J. N., Heijnen C G. M., Voss H.,Bast A.,** Interactions between Flavonoids and Proteins: Effect on the Total Antioxidant Capacity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1184-1187, 2002.
- [21]. **Mauro, A.D., Fallico B., Passerini A., Rapisarda P., Maccarone E.,** Recovery of hesperidin from orange peel by concentration of Extract on styrene-divinylbenzene resin, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4391-4397, 1999.
- [22]. **Pinelo M., Manzocco L., Nunez M. J., Nicoli M. C.,** Interaction among Phenols in Food Fortification: Negative Synergism on Antioxidant Capacity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 1177-1180, 2004.
- [23]. **Lin, L. ve Ho, Y.S.,**Flavonoid-induced acute nephropathy. American J. Kidney Dis.,(1994) 23:433.
- [24]. **Koes, R.E. Quattrocchio, F. Mol, J.N.M.,** The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution, Bio Essays 16, 123-132, 1994.
- [25]. **Reed, J.,** Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 42, 301-316, 2002.
- [26]. **Gorham, J. Coughlan, S.J.,** Inhibition of photosynthesis by stilbenoids, Phytochemistry 19, 10, 2059-2064, 1980.
- [27]. **Takaoka, M.,**Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. fil.), J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. 3, 1, 1-16, 1940.
- [28]. **Shan, X.Q.,Aw, T.Y., Jones D.P.,** Glutathione-Dependent protection against oxidative injury, Pharmacology & Therapeutics 47, 1, 61-71, 1990.
- [29]. **Pace-Asciak, C.R., Hahn, S.E., Diamandis, E.P., Soleas, G., Goldberg, D.M.,** The red wine phenolics *trans*-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease, Clinica Chimica Acta 235, 207-219, 1995.
- [30]. **Ası ,T.,** Tablolarla Biyokimya, İstanbul, 1996.
- [31]. **Gözükara, E.,**Biyokimya , İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim,1994,

- [32]. **Çetin, M.**, Anemi Çeşitleri, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı Hematoloji Ünitesi, Ankara, 2005.
- [33]. **Wilkie, A. and Cordess, C.H.**, Ginseng: a root just like a carrot?, J.R. Soc. Med 87: 594, 1994.
- [34]. **Baysal, A.**, Beslenme, Ankara, 110-130, 258-260, 1996.
- [35]. **Kaya S., Pirinçci İ., Bilgi A.**, “ Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji ” Medisan Yayınevi Ankara, 212-221, 224-233, 235-239 ,2002.
- [36]. **Saldamlı, B.**, Gıda Kimyası, Ankara, 379-392, 1998.
- [37]. **Ziyadanoğulları, B., Aydın, E., ve Hamamcı, C.**,12. Ulusal KimyaKongresi, sf:15 Edirne1998.
- [38]. **Yenson, M.** , “İnsan Biyokimyası”, Güneş kitabevi, Ankara 1995.
- [39]. **Türk Tabipler Birliği Raporu**, İnsan Sağlığını Etkileyen Faktörler, 2004.
- [40]. **Goldschmidt V.,M.**, “ Geochemistry” Oxford University Pres. London 730,1958.
- [41]. **Onianwa, P.C., Adeyemo, O., Idowu, E. and Ogabiela, E.**, Copper And Zinc Contents Of The Nigerian Foods and Estimate Of Adult Dietary Intakes, Food Chemistry , 72 - 89-95, 2001.
- [42]. **Maruyamat, H., Watanabe, K., Yamamoto, I.**,Nutr.Canc.,15,221-228, 1991.
- [43]. **Güler, Ç. and Çobanoğlu, Z.**, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 43, T.C. Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 56, 1997.
- [44]. **Akgül, C.**,Eser Elementler,Önemleri ve Analiz Yöntemleri, Erciyes Üniversitesi,1978.
- [45]. **Ferreira ve arkadaşları**,Talanta 50, 1253-1259, 2000
- [46]. **Iwashina T., Omori Y., Kitajima J., Akiyama S, Suzuki T., Ohba H.**, Flavonoids in translucent bracts of the Himalayan *Rheum nobile* (Polygonaceae) as ultraviolet shields. J Plant Res, 117:101–107, 2004.
- [47]. **Rokaya M.B., Münzbergová Z., Timsina B., Bhattara K.R.**, *Rheum australe* D. Don: A review of its botany, ethnobotany, phytochemistry andpharmacology. Journal of Ethnopharmacology 141-761-774, 2012.
- [48]. **Krafczyk N., Kötke M., Lehnert N., Glomb M.A.**, Phenolic composition of rhubarb. Eur Food Res Technol,187–196-228, 2008.
- [49]. **Öztürk M., Öztürk F.A., Duru M.E., Topçu G.**, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. Food Chemistry 103-623-630, 2007.
- [50]. **Chehregani , A., Noori, M. and Yazdi, H. L.**, Phytoremediation Of Heavy-Metal-Polluted Soils: Screening For New Accumulator Plants İn Angouran Mine (Iran) and Evaluation Of Removal Ability 2009.

- [51]. **Turan, M., Kordali, S., Zengin, H., Dursun, A. ve Sezen, Y.,** Macro and Micro Mineral Content of Some Wild Edible Leaves Consumed in Eastern Anatolia 2010.
- [52]. **Sathiyamoorthy, P., Van Damme, P., Oven, M., and Golan-Goldhirsh, A.,** Heavy Metals In Medicinal And Fodder Plants Of The Negev Desert, 36-37, 2008.
- [53]. **Ateşler, F., Şahinkaya, Y.,** 23-25, Elazığ-2009.
- [54]. **L.K. Mahan and S. Stump, S.,** Krause's food, Nutrition and diet therapy, Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Company, 1996.
- [55]. **Skoog, D.A., Holler, F. J., Nieman, T. A.,** Instrumental Analysis, Bilim Yayıncılık, 5. Baskı , 674, 1998.
- [56]. **Snyder, L.R., Glacjch, J.L., Kirkland, J.J.,** Practical HPLC method development, John Wiley & Sons, ISBN 0-471-62782-8, 1-15, 1988.
- [57]. **Yıldız, A., Genç, Ö.,** Enstrümenal Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, ISBN : 975-491-028-6, 421-438, 1993.
- [58]. **Aygün S.F., ve arkadaşları,** Determination of benzo [a]pyrene in charcoal grilled meat samples by HPLC with fluorescence detection, Intern. Journ. Food Scien. Nutrition, 56(8), 581–585, 2005.
- [59]. **Yıldız, A., Genç, Ö., Bektas, S.,** Enstrümenal Analiz Yöntemleri , Hacettepe Yayınları, 417-422, 1997.
- [60]. **Yıldız, A. ve Genç, Ö.,** Enstrümenal Analiz, Ankara, 1-3, 1993.
- [61]. **Choi, D.W., Kim, J.Y., Choi, S.H., Jung, H.S., Chang, S.Y. and Kang, C.S.,** Identification of Steroid Hormones 2006.
- [62]. **Kılıç, E. ve Köseoğlu, F.,** Analitik Kimya, Ankara, 1-15, 1996.
- [63]. **Behnaz ve ark.,** Simultaneous Determination Of Rutin And Quercetin In Different Parts Of Capparis Spinosa, 2012.
- [64]. **Ashok P. K., Saini B.,** HPLC Analysis And Isolation Of Rutin From Stem Bark Of Ginkgo Biloba L., 2013.
- [65]. **Baldi M. ve ark.,** Catechin, Epicatechin, Quercetin, Rutin And Resveratrol In Red Grape: Content, In Vitro Antioxidant Activity And Interactions, 589– 598, 2008.
- [66]. **Özşahin, A.D. ,** Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm Ve Kayısı Çeşitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, 67, 2010.
- [67]. **Cai Y, Sun M, Xing J, Corke H.** Antioxidant phenolic constituents in roots of *Rheum officinale* and *Rubia cordifolia*: Structure-radical scavenging activity relationships. J. Agric. Food Chem. 2004, 52, 7884-7890.

- [68]. **Cai Y., Sun M., Xing J., Corke H.,** Antioxidant phenolic constituents in roots of *Rheum officinale* and *Rubia cordifolia*: Structure-radical scavenging activity relationships. J. Agric. Food Chem, 52, 7884-7890.2004.
- [69]. **Agarwal S.K., Singh S. S., Lakshmi V., Verma S., Kumar S.,** Chemistry and pharmacology of Rhubarb (*Rheum* species)- A review, Journal of Scientific & Industrial Research. 60, 2001.
- [70]. **Dogan M.,** Eser Elementler, Biyolojik Önemleri ve tayin Yöntemleri Ders Notları, Erciyes Üniversitesi, 1993.

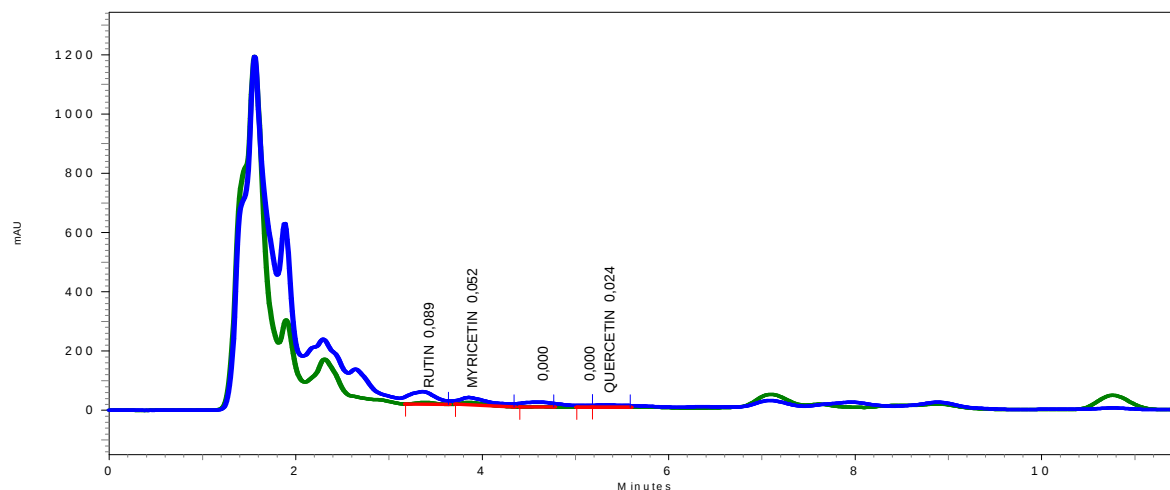
8.EK

Run time: 22.08.2011 16:06:20

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\ALACAISKINY Vial no: 3

Injection vol: 20

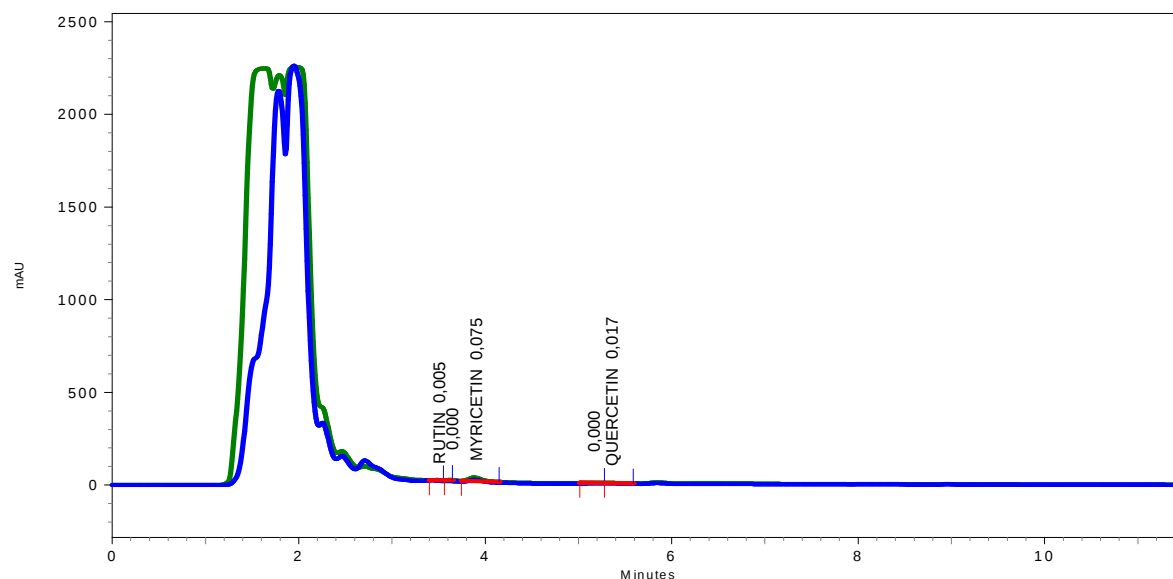


Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,381	82535	31,29	6425	33,01	0,089	ug
MYRICETIN	3,847	126732	48,05	8319	42,74	0,052	ug
QUERCETIN	5,322	28429	10,78	2119	10,89	0,024	ug
2: 264 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,892	403430	100,00	16543	100,00	0,281	ug
3: 280 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT						0,000 BDL	ug
NARINGIN	2,191	420959	70,19	21603	31,35	0,218	ug
4: 285 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N	5,992	371	100,00	53	100,00	0,000	ug
5: 306 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL						0,000 BDL	ug

Run time: 22.08.2011 17:00:10

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\BGÜLLÜK Vial no: 6 Injection
vol: 20



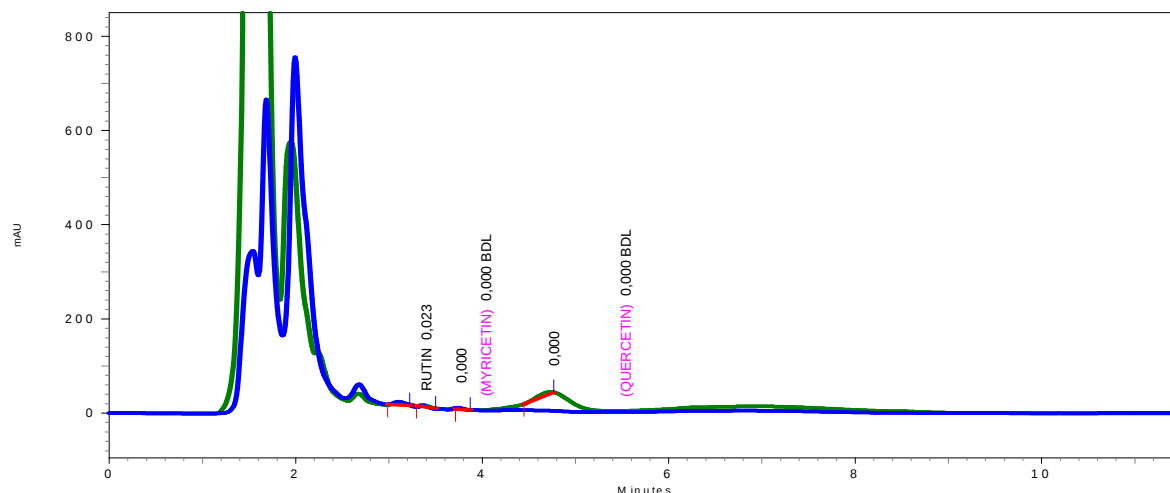
Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,479	4539	1,93	998	3,79	0,005	ug
MYRICETIN	3,877	183124	77,75	20442	77,64	0,075	ug
QUERCETIN	5,329	20422	8,67	2104	7,99	0,017	ug
2: 264 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,679	1556	22,57	180	28,51	0,001	ug
3: 280 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT						0,000 BDL	ug
NARINGIN	2,458	202623	11,64	34371	11,38	0,105	ug
4: 285 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N	5,842	37265	100,00	3419	100,00	0,022	ug
5: 306 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL						0,000 BDL	ug

Run time: 22.08.2011 17:13:37

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\KARACAKARGER Vial no: 7

Injection vol: 20



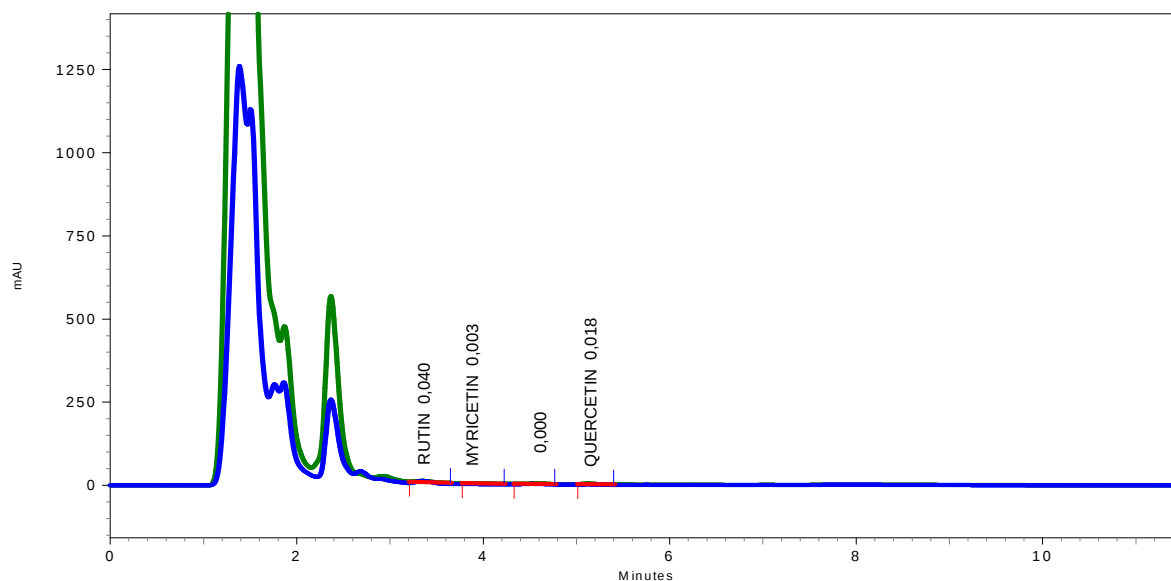
Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,360	21669	23,56	3562	45,75	0,023	ug
MYRICETIN						0,000 BDL	ug
QUERCETIN						0,000 BDL	ug
2: 264 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,459	5498	100,00	320	100,00	0,004	ug
3: 280 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT						0,000 BDL	ug
NARINGIN						0,000 BDL	ug
4: 285 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N						0,000 BDL	ug
5: 306 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL	3,100	51681	100,00	6743	100,00	0,015	ug

Run time: 22.08.2011 18:20:50

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\MUNZURISKIN Vial no: 12

Injection vol: 20

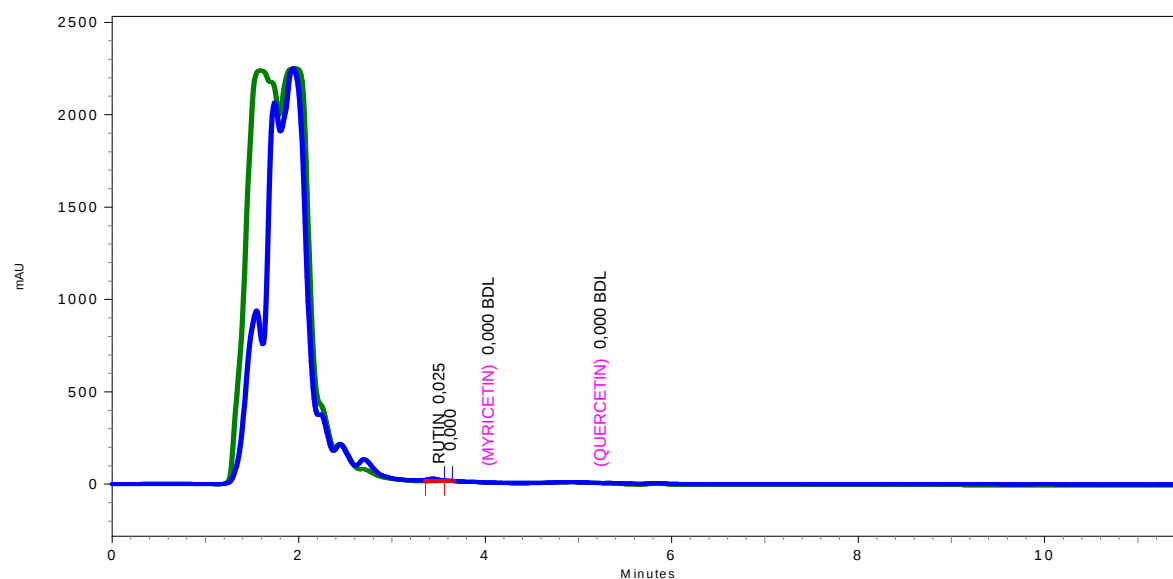


Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,336	37114	42,16	3373	43,84	0,040	ug
MYRICETIN	3,856	7180	8,16	541	7,03	0,003	ug
QUERCETIN	5,120	21495	24,42	2045	26,58	0,018	ug
2: 264 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,549	3494	100,00	93	100,00	0,002	ug
3: 280 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT	1,754	183474	7,53	60709	14,50	0,587	ug
NARINGIN	2,360	1616246	66,29	183159	43,76	0,838	ug
4: 285 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N	5,755	6303	100,00	563	100,00	0,004	ug
5: 306 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL						0,000 BDL	ug

Run time: 22.08.2011 16:19:48

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\NGÜLLÜK Vial no: 4 Injection
vol: 20



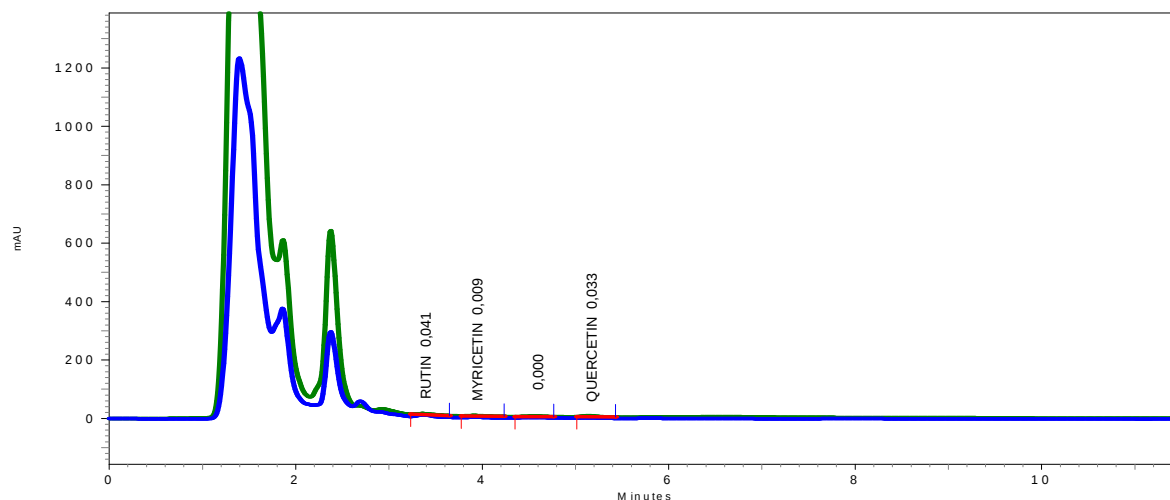
Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,473	23688	82,81	3221	71,56	0,025	ug
MYRICETIN						0,000 BDL	ug
QUERCETIN						0,000 BDL	ug
2: 264 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,566	67281	100,00	2470	100,00	0,047	ug
3: 280 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT	1,730	1343677	77,08	258925	81,80	4,302	ug
NARINGIN	2,440	399528	22,92	57609	18,20	0,207	ug
4: 285 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N	5,830	32974	100,00	2932	100,00	0,019	ug
5: 306 nm, 8 nm Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL						0,000 BDL	ug

Run time: 22.08.2011 17:53:55

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\OVACIKISKIN Vial no: 10

Injection vol: 20

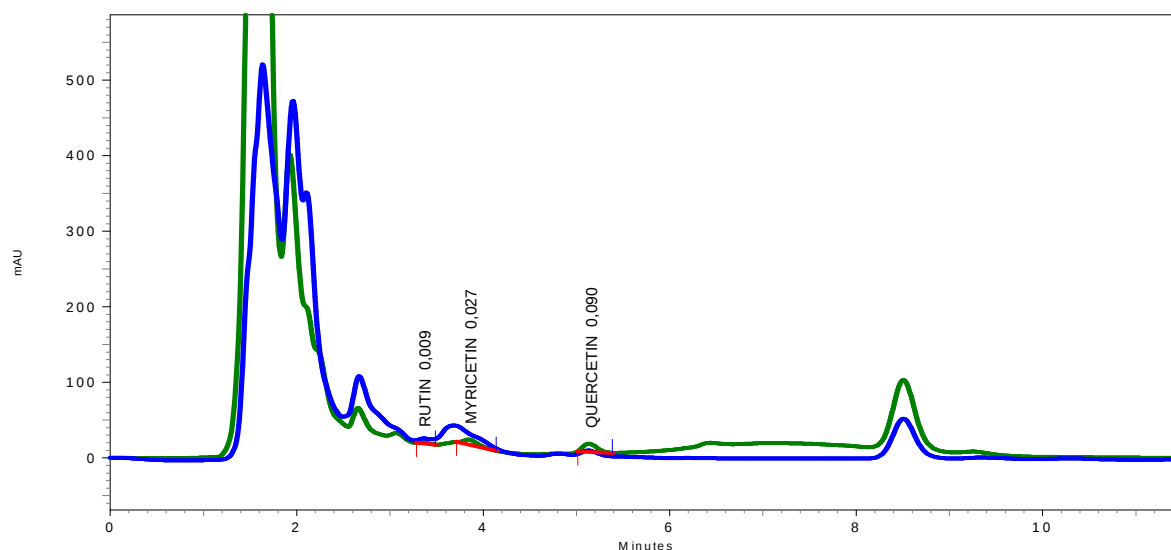


Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,352	38087	30,66	3265	30,22	0,041	ug
MYRICETIN	3,906	22353	17,99	1790	16,57	0,009	ug
QUERCETIN	5,134	40148	32,31	3893	36,03	0,033	ug
2: 264 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFER OL	8,958	12166	100,00	729	100,00	0,008	ug
3: 280 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT						0,000 BDL	ug
NARINGIN	2,369	1732099	49,98	204164	37,84	0,898	ug
4: 285 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENI N	5,776	16180	96,60	1371	98,03	0,009	ug
5: 306 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERAT ROL						0,000 BDL	ug

Run time: 22.08.2011 17:40:30

Metod name: C:\CLASS-VP\Methods\FLAVONOID PDA33.met

File name: C:\Documents and Settings\HPLC\Desktop\ALTIMA SERHAT2\YAZIKONAKKARGER Vial no: 9 Injection vol: 20



Spectrum Max Plot Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
1: 254 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RUTIN	3,344	8097	4,42	1216	6,60	0,009	ug
MYRICETIN	3,837	66148	36,10	6479	35,17	0,027	ug
QUERCETIN	5,128	109010	59,49	10726	58,23	0,090	ug
2: 264 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
KAEMPFEROL	8,502	1213474	100,00	83574	100,00	0,846	ug
3: 280 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
CAT						0,000 BDL	ug
NARINGIN						0,000 BDL	ug
4: 285 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
NARINGENIN	5,760	1849	17,07	216	20,83	0,001	ug
5: 306 nm, 8 nm							
Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent	ESTD concentration	Units
RESVERATROL						0,000 BDL	ug

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Elazığ'ın Alacakaya ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Alacakaya'da tamamladım. 2000 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde lisans eğitimine başladım ve 2004 yılında mezun oldum. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde tezsiz yüksek lisans eğitimine başladım ve 2007 yılında mezun oldum. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsün Analitik Kimya Dalında tezli yüksek lisans eğitimine başladım.