

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İHLAMUR (*Tilia Cordata*) ve NANE (*Mentha Piperita*)’DE
TOPLAM FENOL/FLAVONOİD MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN METAL İÇERİĞİ İLE DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
YEŞİM AKSU
(08217101)

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Analitik Kimya

Tez Danışmanı: Doç Dr. Habibe ÖZMEN
Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:11/11/2010

KASIM- 2010

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İHLAMUR (*Tilia Cordata*) ve NANE (*Mentha Piperita*)’DE
TOPLAM FENOL/FLAVONOİD MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN METAL İÇERİĞİ İLE DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
YEŞİM AKSU
(08217101)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 11.11.2010

Tezin Savunulduğu Tarih: 22.11.2010

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Habibe ÖZMEN
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI
Yrd. Doç. Dr. Vesile YILDIRIM

KASIM- 2010

ÖNSÖZ

Bu çalışmada fitoterapide en çok kullanılan bitkiler arasında bulunan ıhlamur ve nane bitkilerindeki toplam fenol/flavonoid miktarlarının ve antioksidan kapasitesinin metal içeriği ile ilişkisi incelenmiştir.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgilerini, tecrübelerini, ilgi ve desteğini esirgemeyen, elimi ilk tuttuğu andan bugüne kadar bazen arkadaş, bazen hoca ama en çokta anne şefkatiyle beni destekleyen çok sevdiğim saygıdeğer hocam sayın Doç. Dr. Habibe ÖZMEN'E, büyük gölgesi altında kendimi güvende hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI' ya desteklerinden dolayı sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışma arkadaşlarım ve çok sevdiğim dostlarım Sayın Öner EKİCİ, Cengiz BAKIR ve Furkan ÖZEN'e paylaştığı değerli bilgilerinden dolayı Araştırma Görevlisi Sayın Serhat KESER' e teşekkürü borç bilirim.

Son olarak bana bu günleri hazırlayan Rahmetli babam Fikret AKSU' ya, çalışmamın sonlandığı güne kadar desteklerini esirgemeyen ve sosyal yaşantılarından feragat eden değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma FÜBAB tarafından 2064 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Elazığ, 2010

Yeşim AKSU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
SUMMARY	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.2.1. Kalsiyum (Ca)	3
2.2.2. Magnezyum (Mg)	4
2.2.3. Demir (Fe).....	5
2.2.4. Çinko (Zn).....	5
2.2.5. Bakır (Cu)	5
2.2.6. Krom (Cr).....	5
2.2.7. Mangan (Mn)	6
2. 2.8. Nikel (Ni)	6
2.2. 9. Kobalt (Co)	7
2. 2. 10. Stronsiyum (Sr).....	7
2. 2. 11. Baryum (Ba).....	7
2. 2. 12. Alüminyum (Al).....	7
2.3. Antioksidanlar	8
2.3.1. Antioksidanların Yapılarına Göre Sınıflandırılması	10
2.3.1.1. Fenolik Antioksidanlar.....	10
2.3.1.2. Aromatik Antioksidanlar	10
2.3.1.3. Organik Sülfür Bileşikleri.....	11
2.3.2. Antioksidanların Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	11
2.3.2.1. Primer Antioksidanlar	11
2.3.2.2. Sekonder Antioksidanlar.....	11

	<u>Sayfa No</u>
2.3.3. Doğal Antioksidanlar Ve Antioksidan Aktiviteleri	12
2.3.3.2. E-Vitaminleri (tokoferoller).....	12
2.3.3.3. Polifenolik Bileşikler	13
2.3.3.3.1. Flavonoidler	13
2.3.3.3.2. Fenolik Asitler	19
2.3.3.4. Karotenoidler	21
2.3.4. Sentetik Antioksidanlar.....	22
2.3.4.1. Butillenmiş Hidroksi Anizol (BHA).....	22
2.3.4.2. Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT).....	22
2.3.4.3. Galatlar.....	23
2.3.4.4. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)	23
2.3.4.5. Nordihidroguareyetik asid (NDGA)	23
2.4. Spektroskopik Antioksidan Kapasite Yöntemleri.....	24
2.4.1. FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Metodu	24
2.4.2. TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) / ABTS Yöntemi	25
2.4.3. DPPH Yöntemi	27
2.4.4. Folin Ciocalteu Yöntemi.....	28
2.4.5. TRAP (Toplam Radikal Tutma Parametresi) Yöntemi.....	28
2.4.6. TOSC (Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi) Yöntemi.....	29
2.4.7. ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) Yöntemi	29
2.5. Literatür Araştırması.....	30
3. MATERYAL VE METOD.....	34
3.1. Kullanılan Cihazlar	34
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
3.3. Kullanılan Çözücüler	35
3.3.1. Etil Alkol.....	35
3.3.2. Su	35
3.3.3. Nitrik Asit	35
3.4. Kullanılan Çözeltiler.....	35
3.4.1. Sodyum Karbonat Çözeltisi	35
3.4.2. Potasyum Asetat Çözeltisi	36
3.4.3. Alüminyum Nitrat Çözeltisi.....	36

	<u>Sayfa No</u>
3.4.4. Gallik Asit Çözeltisi.....	36
3.4.5. Kuersetin çözeltisi.....	36
3.4.6. DPPH Çözeltisi	36
3.5. Deneysel Kısım	36
3.5.1. Örneklerin Analize Hazırlanması.....	36
3.5.1.1. İnfüzyon Hazırlanması.....	36
3.5.1.2. Dekoksiyon Hazırlanması	37
3.5.1.3. Kuru Yakma İşlemiyle Örneklerin Analize Hazırlanması.....	37
3.5.1.4. Ekstraksiyon İşlemiyle Örneklerin Analize Hazırlanması.....	37
3.5.2. Toplam Fenolik Madde Analizi	37
3.5.3. Toplam Flavonoid Madde Analizi	38
3.5.4. DPPH Süpürme Aktivitesi	39
3.6. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	40
4.1. Bitkilerin Metal İçerikleri	40
4.2. Toplam Fenol Tayini.....	45
4.3. Toplam Flavonoid Tayini	46
4.4. Antioksidan Kapasitesi	48
5. SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ	77

ÖZET

Bu çalışmada; üç farklı bölgeden işlenmemiş ve üç farklı markada işlenmiş paketlenmiş olarak temin edilen ıhlamur ve nanede toplam fenol, toplam flavonoid, antioksidan aktivitesi ve metal içeriğinin (Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Cd, Cr, Pb, Co, Al) belirlenmesi ve metal miktarı ile toplam fenol/flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki ilişki istatistiksel olarak incelenmesi amaçlandı. Bunun için toplam fenol/flavonoid miktarlarının belirlenmesinde UV-VIS spektroskopisi ve metal içeriğinin belirlenmesinde ICP-OES ile çalışıldı. Toplam fenol tayini için gallik asit ve toplam flavonoid tayini için kuersetin standart olarak kullanıldı. Antioksidan aktivitesi DPPH süpürme aktivitesi metodu ile belirlendi. Nane ve ıhlamur örneklerinde metal, toplam fenol/flavonoid miktarlarının ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için demleme (infüzyon), kaynatma (dekoksasyon), kuru yakma ve ekstraksiyon işlemleri uygulandı. Bütün işlemler, her örnek ve her analiz için üç kez tekrarlandı. Toplam fenolik madde miktarı kaynatma, demleme ve ekstraksiyonda en yüksek olarak nanede bulundu ($14769 \pm 108 \mu\text{g GA / gr numune}$, $19339 \pm 346 \mu\text{g GA / gr numune}$ ve $19064 \mu\text{g GA / gr numune}$). Toplam flavonoid madde miktarı da kaynatma, demleme ve ekstraksiyonda en yüksek olarak nanede bulundu ($34327 \pm 10824 \mu\text{g QE/ gr numune}$, $54691 \pm 11828 \mu\text{g QE / gr numune}$ ve $45800 \pm 1627 \mu\text{g QE / gr numune}$). Genel olarak toplam fenol ve toplam flavonoid miktarlarının en yüksek, demleme yöntemiyle bulunduğu belirlendi. Metal içeriğinin ise kaynatma ve demlemeye göre kuru yakma işlemiyle daha yüksek çıktığı gözlemlendi. Poşet çay halinde tüketilen ıhlamur ve nane çaylarındaki antioksidan aktivitesi, işlenmemiş ıhlamur ve nane çaylarında belirlenen antioksidan aktivitelerinden daha düşük olduğu tespit edildi.

Elde edilen sonuçlara göre, toplam fenol/flavonoid miktarlarının ve antioksidan aktivitesinin metal içeriği ile değişimi istatistiksel olarak (SPSS 17.0) değerlendirildi.

ANAHTAR KELİMELER: ıhlamur, Nane, Metal, Fenol, Flavonoid, DPPH, Ekstraksiyon, İnfüzyon, Dekoksasyon

SUMMARY

The Determination of Relationship Between Metal Content of Total Phenol/Flavonoid Amounts and Antioxidant Activities in Linden (*Tilia Cordata*) and Mint (*Mentha Piperita*).

In this study, determination of total phenol, flavonoid, antioxidant activity and metal content (Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Cd, Pb, Co, Al) for linden and mint supplied as packed unprocessed from three different regions and processed in three different brands, the relationship between the total amount of phenolic/flavonoid and antioxidant activity with the amount of metal was aimed to investigate as statistical. The UV-VIS spectroscopy and ICP-OES technique were used in determine the amount of total phenol/flavonoid and metal, respectively. The gallic acid in determination of total phenol and quercetin in determination of total flavonoid were used as standard. The antioxidant activity was determined by the method of DPPH scavenging activity. In determine the amount of total phenol/ flavonoid and metal in the mint and linden samples was applied infusing, decoction, dry ash and extraction processes. The total amount of phenolic by decoction, infusion and extraction was found the highest in the mint ($14769 \pm 108 \mu\text{g GA/gr}$ sample, $19339 \pm 346 \mu\text{g GA/ gr}$ sample). The total amount of flavonoid by decoction, infusion and extraction was found the highest in the mint as well. ($34327 \pm 1627 \mu\text{g QE/gr}$ sample, $54691 \pm 11828 \mu\text{g QE/ gr}$ sample and $45800 \pm 1627 \mu\text{g QE/gr}$ sample). Generally, The most amount in total phenol and flavonoid was determined that found via infusion method. The metal content according to the decoction, infusion and was observed that found higher by the dry ash process. And the antioxidant activity in mint tea and linden consumed in tea bags, was found that is less than antioxidant activity determined in the lime and mint tea unprocessed.

According to the results obtained, the variation according to the metal content of the total phenol/flavonoid and antioxidant activities was evaluated statistically (SPSS 17.0).

KEY WORDS: Linden, Mint, Metals, Phenols, Flavonoids, DPPH, Extraction, Infusion, Decoction

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 Dilauril ditiyopropiyonat.....	11
Şekil 2.2 C- vitamini.....	12
Şekil 2.3 Tokoferolün kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.4 Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı	14
Şekil 2.5 Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları.....	15
Şekil 2.6 Kuersetin, mirisetin ve kaempferolün moleküler yapısı	15
Şekil 2.7 Naringenin ve hesperetin' in kimyasal yapıları.....	15
Şekil 2.8 Genistein ve daidzeinin kimyasal yapıları	15
Şekil 2.9 Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin galatın kimyasal yapıları	16
Şekil 2.10 Siyanidin, malvidin, apigenidin, delfinidin kimyasal yapıları	17
Şekil 2.11 Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı	18
Şekil 2.12 Fenolik asitlerin kimyasal yapıları	20
Şekil 2.13 Fenolik polimerlerin yapısı	21
Şekil 2.14 β -karotenin yapısı.....	21
Şekil 2.15 Butillenmiş hidroksi anizolün (BHA) kimyasal yapısı	22
Şekil 2.16 Butillenmiş hidroksi tolueen (BHT) kimyasal yapısı	22
Şekil 2.17 Propil, dodesil ve oktil gallatların kimyasal yapıları (R: C ₃ H ₇ , C ₁₂ H ₂₅ , C ₁₈ H ₃₇)	23
Şekil 2.18 Nordihidroguayaretik asidin (NDGA) kimyasal yapısı	24
Şekil 2.19 ABTS.+ katyonunun yapısı.....	26
Şekil 2.20 ABTS radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu	26

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.21 Bir antiradikal (AH) _n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [(AH) _n : Antiradikal, DPPH:İndirgenmiş DPPH [•] formu].....	27
Şekil 4.1 Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart Grafik.....	45
Şekil 4.2 Toplam flavonoid miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart Grafik	47

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 Flavonoidlerin sınıflandırılması, adları, sübstitüsyon modelleri ve besin Kaynakları	19
Tablo 3.1 Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık Dereceleri	35
Tablo 4.1 Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi.....	41
Tablo 4.2 Piyasada işlenmiş olarak tüketilen ıhlamur örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi	42
Tablo 4.3 Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen nane örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi.....	43
Tablo 4.4 Piyasada işlenmiş olarak tüketilen nane örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi	44
Tablo 4.5 İhlamur ve nane örneklerindeki ortalama fenol miktarlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi	46
Tablo 4.6 İhlamur ve nane örneklerindeki ortalama flavonoid miktarlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi	48
Tablo 4.7 İhlamur ve Nane örneklerinin DPPH Süpürme Aktivitesi sonuçları	50
Tablo 4.8 Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri.....	55
Tablo 4.9 Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri.....	56
Tablo 4.10 Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda kuru yakma işlemi sonucu metal içeriği ile ekstraksiyon sonucu fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri	57
Tablo 4.11 Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri	58

Tablo 4.12	Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri	59
Tablo 4.13	Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri.....	60
Tablo 4.14	Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri	61
Tablo 4.15	Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri	62
Tablo 4.16	Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri	63
Tablo 4.17	Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri.....	64
Tablo 4.18	Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri.....	65
Tablo 4.19	Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri.....	66
Tablo 4.20	Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinin ortalama fenol, flavonoid, ve ağır metal miktarları.....	67
Tablo 4.21	Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen nane örneklerinin ortalama fenol, flavonoid ve ağır metal miktarları.....	68

KISALTMALAR LİSTESİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
NDGA	: nordihidroguayaretik asid
BHT	: butillenmiş hidroksi toluen
TBHQ	: tersiyer butil hidrokinon
BHA	: butillenmiş hidroksi anisol
ROS	: reaktif oksijen süpürülmesi
RNS	: reaktif azot türleri
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
TRAP	: toplam reaktif antioksidan potansiyeli
FRAP	: demir(III) indirgeme antioksidan gücü
Fe(II)TPTZ	: demir(II)tripridiltriazin
TEAC	: troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
ABAP	:(2,2'-azobis)HCl
HRP	: horse radish peroxidase
DPPH	: 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
TOSC	: toplam oksiradikal uzaklaştırma kapasitesi
ORAC	: oksijen radikal absorbans kapasitesi
LDL	: düşük yoğunluklu lipoprotein
BCB	: β -carotene bleaching test

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler, eczacılıkta bazı preparatların (tentür, ekstre, şurup v.b.) hazırlanmasında ve tedavide kullanılan saf etkili maddelerin (alkoloit, heterozit, saponozit vb.) elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu bitkilerin tıbbi özellikleri dışında değişik amaçlarla kullanıldığı ve bazı sanayi kollarında hammadde olarak değerlendirildiği de görülmektedir. Bu bitkiler gıda, baharat, içki, dericilik kozmetik ve parfümeri sanayinde, halk ilaçları yapımında, süs ve çevre düzenlemesi gibi alanlarda kullanıldığı gibi özellikle baharat olarak da bütün dünyada yaygın bir tüketim alanına sahiptir [1].

Günümüzde hem keyif almak amacıyla hem de sağlık açısından olumlu etkilerinden dolayı, en yaygın olarak tüketilen bitkisel kökenli doğal ürünler bitki çaylarıdır. Bitki çaylarının yüksek oranda içerdikleri antioksidan maddelerin (yağda çözünen A ve E vitamini, suda çözünen C vitamini ve geniş orandaki fenolik bileşikler olarak adlandırılan amfifatik moleküller) hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki öneminin açıkça ortaya konulmasının sonucu olarak bu ürünlerin tüketimi her geçen gün daha çok ilgi çekmektedir [2]. Bu nedenle çaylar ve bitkisel infüzyonlar günlük diyetimizin temel fenolik bileşik kaynaklarını oluşturmaktadır [3].

Bitkisel çay üretiminde, sayısız bitki türü ve kombinasyonu kullanılabildiğinden, ürünlerin duyuşal özellikleri ve tıbbi etkileri son derece farklı ve çeşitlidir. Etkili bileşiklerin sıcak suya geçme oranları da değişkendir. Daha çok keyif verici olarak, aromaları öne çıkan ve geleneksel biçimde günlük kullanıma girmiş bitkisel çayların (adaçayı, ıhlamur vb.) tüketiminde bir sınırlama genelde söz konusu değildir. [4].

Bitki çaylarının besin değerini artıran antioksidan maddeler; yaşlanma ve yaşlanmanın dejeneratif hastalıklarında anahtar rolü oynayan serbest radikallerin inaktivasyonunu sağlayan savunma mekanizmalarıdır. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda dahi, bulundukları ortamdaki oksidasyonla bozunmaya uğrayacak substratları oksidasyona karşı koruyan bileşiklerdir [5; 3].

Doğal antioksidan kaynaklarını genel olarak bitki fenolikleri oluşturmaktadır [3; 6; 7; 8]. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, moleküllerinde yer alan hidroksil grubuyla ilişkilidir [9,10]. Bitki fenoliklerinin en geniş kısmını flavonoidler oluşturmaktadır. Bu grup altında bilinen 8000 ' den fazla bileşik mevcuttur [11].

Flavonoidlerin vücuda, içilen bitkisel çaylarla alınması çay ve çayın hazırlanış biçimine bağlıdır. Çay yaprağının boyu ve ekstraksiyonda kullanılan miktar ile flavonoid içeriği arasında önemli bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bitkideki flavonoid miktarını tam olarak ekstraksiyonunda önemli olan husus, uygun yöntemle doğru hazırlama metotlarının belirlenmesidir [12].

Şifalı bitkiler özellikle bitkisel çayların bazı hastalıkları tedavi ettiklerine inanıldığından dolayı ülkemizde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çaylar makro ve mikro elementlerin yanında polifenoller gibi insan sağlığı bakımından yararlı olan bazı maddeler açısından da önemli kaynaklardır. Bu özelliklerinden dolayı bitkisel çaylar işlenmemiş ham şekilleriyle özellikle içecek olarak tüketilmekte veya ilaç yapımında ham madde olarak kullanılmaktadır.

İhlamur değişik *Tilia* türlerinin kurutulmuş çiçekleridir. İdrar arttırıcı, terletici, yatıştırıcı ve göğüs yumuşatıcı etkileri bulunmaktadır. Özellikle infüzyon halinde kullanılmaktadır [13].

Nanenin (*Mentha Piperita*) gölgede kurutulmuş yaprakları kullanılır. Özellikle sinirsel kökenli mide bulantılarını kesici, gaz söktürücü, koku verici olarak kullanılmaktadır [13].

Bu çalışmada ıhlamur (*Tilia Cordata*) ve nane (*Mentha Piperita*) örneklerindeki metal miktarları, infüzyon, dekoksiyon ve kuru yakma teknikleri kullanılarak indüktif eşlenmiş plazma optimum emisyon spektroskopisi (ICP-OES) kullanılarak tayin edilmiştir. Ayrıca antioksidan özelliklerinden dolayı önem taşıyan ve bu bitkilerin organik içeriklerini zenginleştiren polifenol grupları içerisinde; gallik asit ve kuersetin grubu polifenollerin derişimleri, bu bitkisel örneklerin su ve etanolik ekstraktları hazırlanarak UV- görünür bölge spektrofotometresi ile tayin edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Bitkilerle Tedavi Kavramı ve Bitkisel Çaylar

Bitkilerle tedavi (**Fitoterapi**), insanlık tarihi kadar eski bir iyileştirme yöntemidir. Çağlar boyunca kuşaktan kuşağa aktarılan bilgiler, tecrübeler, yoğun çalışmalar ve inanışlar, bir bütün olan bu birikimi oluşturmaktadır. Uzak geçmişin doğal reçetelerinin halen birçok hastalığa çare olacağı umuduyla kullanılması, özellikle uzmanlarca hazırlanan yapay ilaçların bir takım yan etkilerinin ortaya çıkması, fitoterapi bilimine olan ilginin artarak devam etmesine neden olmaktadır [14].

Eskiden beri şifalı bitkiler her derde deva, tüm hastalıkları iyileştiren ve doğal olduğundan dolayı hiçbir zararlı etkisi bulunmayan olağanüstü ilaçlar olarak sunulmaktadır. Bitkisel çaylar başta olmak üzere (ısırgan otu, rezene, yeşil çay, ıhlamur, kuşburnu, nane, kekik, papatya vb.) **“Herbal Medicine”** adı verilen bu şifalı bitkiler, alternatif tıp denilen ve tamamen doğal yöntemlerle tedavi amacı taşıyan bir dal olarak eczacılıkta, tıpta, biyoloji ve kimyada gittikçe popülerlik kazanmıştır. Bu bitkiler, belli hastalıkları tedavi amaçlarının dışında rahatlatıcı ve sakinleştirici olarak da kullanılmaktadır. Özellikle Asya ülkeleri başta olmak üzere ülkemizde ve tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılan bu bitkisel içerikli ilaçların tercih edilmesinin başlıca nedeni; sentetik ilaçlara göre daha az yan etkiye sahip oldukları düşüncesidir. Buna bağlı olarak dünyada çeşitli bitkisel hekimlik türleri gelişmiştir. Bunları şöyle sıralayabiliriz.

- Avrupa Bitkisel Hekimliği
- Geleneksel Çin Hekimliği
- Amerikan Bitkisel Hekimliği
- Modern Bitkisel Hekimlik
- Amazon Bitkisel Hekimliği

Bitkisel preparatların çeşitli kullanım şekilleri mevcuttur [15]. Bunları şu şekilde sıralamak mümkündür.

- Çay şeklinde (kaynatmak suretiyle bitkideki maddelerin su içerisine ekstraksiyonu)
- Tentür şeklinde (35 – 40 derece alkol içerikli damıtılmış içkilerin veya aynı derecede etil alkol, kanyak yada elma sirkesi içine ekstraksiyon ile)
- Merhem olarak (yağ içine ekstraksiyon ile)

- Kapsül veya tablet halinde

2. 2. Şifalı Bitkilerde Bulunabilen Bazı Elementler ve Fonksiyonları

Bu tür bitkilerde en yaygın olarak bulunan eser elementler alüminyum, arsenik, bakır, civa, çinko, demir, kadmiyum, kobalt, kurşun, kalay, nikel, selenyum, talyum, vanadyum gibi metallerdir. Ayrıca Na, K, Ca ve Mg gibi makro elementler açısından da oldukça zengindir. Şifalı bitkilerin kullanımından önce kalite kontrollerinin yapılarak bu metalleri ne düzeyde içerdikleri tespit edilmelidir. Çünkü vücutta metal değişiminin fizyolojik sınırın üzerine çıkması durumunda, istenmeyen sağlık sorunları ile karşılaşılabilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu metallerden arsenik, kadmiyum ve kurşun için sınır değeri olarak sırasıyla 1.0, 0.3, 10.0 mg/L olarak açıklamıştır [16]. Bu elementlerden bazılarının vücuttaki fonksiyonlarını kısaca aşağıdaki gibi özetleyebiliriz.

2. 2. 1. Kalsiyum (Ca)

Kalsiyum, vücudun 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 menopoza 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 [17,18].

2.2. 2. Magnezyum (Mg)

Gebelikte yüksek tansiyonu engellemek amacıyla kullanımı oldukça eskilere dayanmaktadır. Birçok metabolik işlem için, özellikle de sodyumun, potasyumun ve kalsiyumun hücre zarından doğru biçimde yayılmasını sağlayan hücresel pompalar için gereklidir [19].

2.2. 3. Demir (Fe)

Vücutun enzim sisteminde hayati önem taşıyan bir element olup ortalama olarak vücutta 4-5 g kadar demir elementi bulunmaktadır. Hemoglobin, miyoglobin ve transferin proteininin yapısında bulunur. Hemoglobin yapısına katılan demir mineralinin oldukça önemli bir görevi vardır. Bu görev, hücrelerin yaşamını devam ettirmesi için bu yapılara oksijen taşımaktır. Vücutta demir eksikliği olması durumunda “demir yetersizliği anemisi” görülmektedir. Bu tip anemide kan hücrelerinin sayısı azalır, hemoglobin sayısı düşer [20].

2.2. 4. Çinko (Zn)

Çinko elementi, A vitamini metabolizması için oldukça gerekli bir mineraldir. Kötü beslenme ile ortaya çıkan ve çok ender rastlanan bir deri hastalığı olan kalıtsal akrodermatit enteropatikaya yakalanan çocuklarda büyümenin sağlanması için çinko çok gereklidir. Birçok araştırmacıya göre, gerek gebelik gerekse emzirme sırasında bebeğin bağışıklık sisteminin tam olarak gelişebilmesi için yeteri miktarda çinko alması gerekmektedir. Yetişkin bir insanın günlük alması gereken çinko miktarı 12-15 mg olarak belirlenmiştir [21].

2.2. 5. Bakır (Cu)

Bakır, metabolizmanın normal çalışması için gerekli olan bir elementtir. Normal bir yetişkinin bedeninde yaklaşık olarak 60-110 mg bakır bulunmalıdır. Bazı bakırlı enzimlerin beyin metabolizması ile ilgili olduğu bilinir. Ayrıca enzim aktivatörü görevi de yapmaktadır. C vitamininin oksitlenmesinde de rol oynar. Beslenme yoluyla alınan bakırın yaklaşık % 10'luk kısmı emilir. Bakırın kan kolesterolünün düzenlenmesinde rolü olduğuna dair kanıtlar vardır [21].

2.2. 6. Krom (Cr)

İnsan bedeninin kromu kullanabilmesi için kromun B3 vitamini (nikotinik asit) ile ve üç spesifik aminoasitle bileşim oluşturduğu bir molekül formunda olmalıdır. Buna glikoz tolerans faktörü adı verilmektedir. 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. Üç ana şekilde (Elementel Cr, Cr (III), Cr(IV)) bulunabilen krom bileşikleri tatsız ve kokusuzdur. Sadece Cr (III) bileşikleri vücut için diyetle eser miktarlarda alınması gerekli elementlerdir. Krom bileşiklerinin tümü yüksek miktarlarda alındığında toksik olabilir, ancak Cr (IV), Cr (III)'e göre daha toksiktir. Uzun süre yüksek ve orta düzeylerde maruz kalındığında burun kanaması ve yaraları, akciğer hasarı ve kanser dışındaki akciğer hastalıklarında artışa neden olabilir. Sindirim yoluyla yüksek düzeylerde alınırsa mide şikâyetleri ve ülser, böbrek ve karaciğer hastalıklarına, hatta ölüme neden olabilir. Cilde temas durumunda cilt ülserleri oluşabilir. Ayrıca ciltte alerjik reaksiyonlara da yol açabilir. Bazı Cr(IV) bileşiklerinin de kanserojen olup akciğer kanserine neden oldukları da bilinmektedir [22].

2.2. 7. Mangan (Mn)

İnsan vücudu yaklaşık olarak 10–40 mg Mn içermektedir. Mangan, vücutta değişik yoğunluklarda olmak üzere kemikte, yumuşak dokularda, hipofiz bezinde, karaciğerde ve böbrekte bulunur. Ceninin dölyatağı içinde gelişebilmesi, normal kıkırdak dokusu ve sinir dokusunun işlevini yapabilmesi için gereklidir. Ayrıca aminoasit ve karbonhidrat metabolizmaları içinde çok gereklidir. Mn eksikliğinde büyüme geriliği, iskelet bozuklukları ve üreme bozuklukları gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkabilmektedir. Vücutta fazla miktarda Mn birikmesi sonucunda ise nörolojik bozukluklar ve hormon bozuklukları görülmektedir [23].

2. 2. 8. Nikel (Ni)

Nikelin gerek insan gerekse hayvan metabolizmasındaki fizyolojik rolü oldukça önemlidir. Tavşanlarda ve köpeklerde bağırsak dışındaki dokularda bulunan nikel, insülin hormonunun kan şekerini düşürme etkisini artırır. Büyük dozlardaki Ni ise yağ metabolizmasını değiştirir. İnsanlarda ise, adrenalinin kan basıncını yükseltme etkisine karşı bir panzehir görevi yapmaktadır [24].

2.2. 9. Kobalt (Co)

Kobalt, temel bir eser elementtir ve ancak B12 vitamini ile birlikte verildiğinde fizyolojik açıdan olumlu etkileri olduğu bilinir. Ancak aşırı miktarda kobalt alınması durumunda kandaki alyuvar miktarında önemli derecede artmaların meydana geldiği saptanmıştır [24].

2. 2. 10. Stronsiyum (Sr)

Kimyasal özellikleri kalsiyuma benzer. Kemik yapısında birikme eğilimi vardır. Doğal halde stronsiyum radyoaktif değildir. Bu nedenle suda stronsiyum tayini, radyoaktif kirlenmelerden gelebilecek stronsiyumu kapsayacaktır [25].

2. 2. 11. Baryum (Ba)

Baryum insan beslenmesi için gerekli olan esas maddelerden değildir. Baryum sülfat gibi baryumun suda erimeyen şekilleri çok güçlükle absorbe olur ve çok az toksisitesi vardır. Suda eriyebilen baryum tuzları kolay emilirler ve bu şekilde % 50'den fazla miktarı vücuda girer. Normal olarak gıdalarla çok az miktarda baryum absorbe olur. Emilen baryumun büyük miktarı kemiklerde toplanmakta ise de böbrek, karaciğer ve kalpte de saptanmıştır. Baryumun vücut içinde izlediği yol kalsiyumda olduğu gibidir. Ancak kalsiyumdan daha süratle atılır. Alınan baryumun yaklaşık ¼'ü 24 saat içinde atılmaktadır [25].

2. 2. 12. Alüminyum (Al)

Toksik elementlerden olan alüminyumun aşırı miktarda alınmasına bağlı olarak merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri saptanmıştır. Öte yandan Alzheimer hastalığının da vücutta aşırı alüminyum birikmesi sonucunda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Çünkü bu hastalığa yakalanan hastaların beyin dokularındaki alüminyum miktarı diğerlerinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir [25].

2.2. 13. Kadmiyum (Cd)

Toksik bir metal olan kadmiyum en saf halde bile Zn ile karışık olarak bulunur. Bu element vücuda alındıktan sonra kolayca uzaklaştırılamaz. Zehirli etkisini genellikle enzim sistemlerinde çinko ile yer değiştirerek bu sistemleri çalışamaz hale getirmek suretiyle gösterir [26]. İnsanlarda kadmiyumun esas biriktiği yer böbreklerin korteks bölgesidir. Bu nedenle Cd zehirlenmelerinde proteinuria, glucosuria ve aminoaciduria daima bulunmaktadır.

2.3. Antioksidanlar

Bir kimyasalın indirgenmesi, elektron kazanması anlamına gelir. Yükseltgenme ise elektron kaybı anlamına gelir. Redükta veya redüksiyon aracı elektron verirken, diğer bir reaktanın indirgenmesine neden olur. Oksida veya oksidasyon aracı da elektron alarak diğer reaktanın yükseltgenmesini sağlar. Yükseltgenme ve indirgenmenin bir arada olduğu kimyasal reaksiyonlara redoks reaksiyonları denir. Redoks reaksiyonları, biyolojik oksidasyonların kalbidir. İndirgen (redükta) ve yükseltgen (oksida) kimyasal terim olarak kullanılırken, antioksidan ve prooksidan terimleri biyolojik sistemlerde kullanılmaktadır.

Antioksidanlar, yükseltgenebilen substratlara göre daha düşük konsantrasyonlarda, substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu ciddi derecede engelleyen ya da geciktiren maddelerdir. Prooksidanlar ise lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara yol açan toksik maddelerdir. Reaktif türler için kullanılan bir terimdir.

Antioksidanlar, hücrelere zarar veren bu prooksidanları (reaktif oksijen ve azot türleri, serbest radikaller) etkin bir şekilde indirgeyerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürürler. Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidanları önemli kılmaktadır [27].

Antioksidanlar; vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır [28].

Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen bitkisel maddelerdir [29]. Bu bileşikler oksidatif düzende farklı şekillerde davranırlar. Örneğin oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler veya singlet oksijeni durdururlar. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yutucu özelliğini kullanarak zincir reaksiyonların başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar [30].

Gıdalarda doğal olarak bulundukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan eklenirler. Besinlerin acılaşmasını, çürümelerini geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların, tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır.

Zincirleme reaksiyon teorisine göre, oksijen ile otookside olabilen madde, oksijenle birleşmekte ve bu şekilde meydana gelen etkinleşmiş peroksit radikal ve molekülleri, enerjilerini maddenin yükseltgenebilen diğer moleküllerine aktarmakta ve bu suretle besinlerdeki otooksidasyon devam etmektedir. Antioksidanlar bu zincir reaksiyonunu koparıcı rolü oynarlar. Yani bu bileşikler aktivasyon enerjisini kabul ederler, ancak bu enerjiyi başka moleküllere aktaramazlar. Bu şekilde, bir antioksidan molekülünün araya girmesiyle otookside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulur [29].

Antioksidanların etki mekanizmasını şematik olarak göstermek gerekirse;

$R + \text{enerji} \rightarrow R\cdot$ (R : yağ molekülü, $R\cdot$: aktif yağ molekülü)

$R\cdot + O_2 \rightarrow RO_2$

$RO_2\cdot + AH \rightarrow ROOH + A\cdot$ veya $RO\cdot + AH \rightarrow ROH + A$

$RO_2 + A\cdot \rightarrow ROOA$

(AH: Antioksidan molekülü, $A\cdot$: antioksidan etkin molekülü)

Antioksidanlar yükseltgenebilen maddeler olduğundan zincirleme reaksiyonu koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder.

Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri onların serbest radikal yutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir. Bir antioksidanın aktivitesi şu esaslara bağlıdır;

- Radikal süpürme yeteneği
- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak göstermiş olduğu reaktivite (redüksiyon potansiyeline bağlı olan)
- Metal kelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidanlarla olan etkileşim [28]

2.3.1. Antioksidanların Yapılarına Göre Sınıflandırılması

2.3.1.1. Fenolik Antioksidanlar

Antioksidanların en önemlileri fenol grubu içerenler ve bunlardan dihidroksi türevleridir. Bunların temel örneği hidrokinon olup tersinir olarak kinona yükseltgenir. Yalnız orto ve para polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değilken yer değişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları orto ve para hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler.

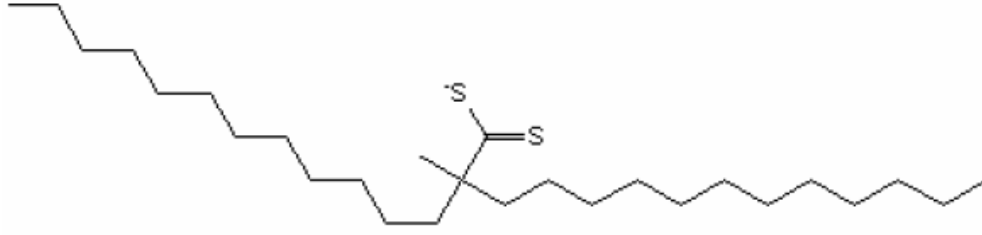
Bazı flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanlardan bir diğer grubu, tokoferoller yani E vitaminleri oluşturur. Sentetik antioksidanlardan fenolik yapıda olanlar propil gallat, oktil gallat, dodesil gallat, nordihidroguayaretik asid (NDGA), butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve tersiyer butil hidrokinon' dur (TBHQ) [29].

2.3.1.2. Aromatik Antioksidanlar

Aromatik amino antioksidanlar da genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino grupları ile yer değiştirmişlerdir. Bunlardan biri para izo butil amino fenol'dur [29].

2.3.1.3. Organik Sülfür Bileşikleri

Kuvvetli antioksidanlardan bir grubu da kükürtlü organik bileşikler oluşturur. β , β' -ditiyo propiyonik asid ve esterleri, özellikle dilaüril ve distearil ditiyopropiyonatlar çok etkili antioksidanlardır (Şekil 2.1). Özellikle yağlarda % 0,01 oranında kullanılırlar [29].



Şekil 2.1: Dilaüril ditiyopropiyonat

2.3.2. Antioksidanların Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

2.3.2.1. Primer Antioksidanlar

Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlar; elektron vererek serbest radikal zincir reaksiyonunu kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksit oluşumunu engellerler. Sentetik veya doğal yapıda olabilirler. Tokoferoller, flavonoidler, alkali gallatlar, BHA, BHT ve TBHQ en önemlileridir [29].

2.3.2.2. Sekonder Antioksidanlar

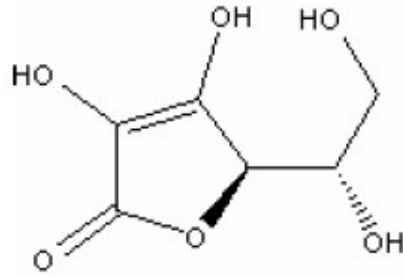
Oksidasyon hızını azaltabilen bileşiklerdir. Etki mekanizmaları; metal iyonlarını yakalamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, ultraviyole ışınlarını absorblamak veya oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklinde olabilir. Bu antioksidanlar ‘antioksidan sinerjistler’dir. Tek başlarına bulundukları ortamlarda antioksidan etkileri çok düşüktür veya hiç göstermezler. Ancak ortamda iki antioksidan madde bulunursa yalnız olarak gösterdikleri etkiden daha çok etkili olurlar. Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran maddelere sinerjist denir. Askorbik asid, limon asidi,

birçok aminoasid, polifosfatlar ve tartarik asid gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırlar [29].

2.3.3. Doğal Antioksidanlar Ve Antioksidan Aktiviteleri

2.3.3.1. C-Vitami

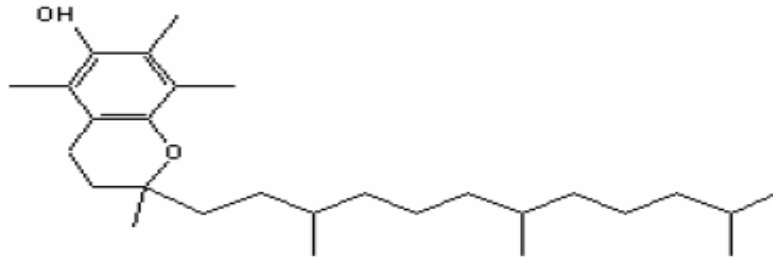
Organizmanın en çok gereksinim duyduğu C-vitamini (Şekil 2.2), diğer adıyla askorbik asid, meyve ve sebzelerde bulunup, suda çözünebilen ve serbest radikalleri doğrudan söndürebilen güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Ayrıca çeşitli besin maddelerinde acılaşıma ve ekşimeyi, meyvelerde renk değişimini önler. Doğal kaynaklardan elde edilebildiği gibi kimyasal olarak da sentezlenebilirler [31].



Şekil 2.2: C- vitamini

2.3.3.2. E-Vitaminleri (tokoferoller)

Doğada 7 farklı izomer yapısında bulunan tokoferoller, başlıca bitkisel ürünlerde mevcuttur. Hayvan organizması pek az miktarda içerir. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt, yumurtada bulunurlar.



Şekil 2.3: Tokoferolün kimyasal yapısı

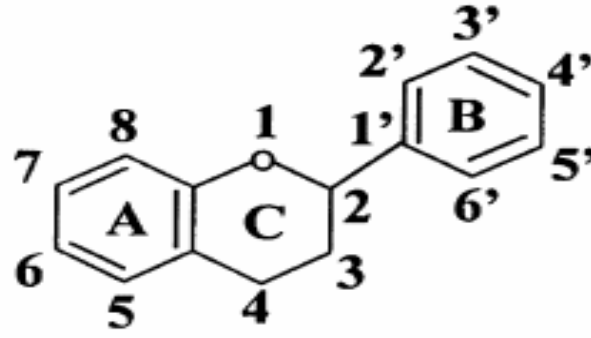
2.3.3.3. Polifenolik Bileşikler

Polifenoller; bitki dünyasının büyük bir kısmında mevcut olan, fitokimyasalların en geniş kategorilerinden birini oluşturan ve insan yaşamında gerekli olan bileşiklerdir. Besin fenolikleri; flavonoidleri, fenolik asitleri ve fenolik polimerleri içerir. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Bitki polifenoller multifonksiyonel bileşikler olup, indirgeme aracı, hidrojen atom-donör antioksidanlar ve singlet oksijen söndürücü olarak, bazıları metal iyonu kelatlama özelliklerine sahip antioksidanlar olarak davranırlar [42]. Bir polifenolün antioksidan olarak tarif edilebilmesi için iki temel şartı sağlaması gerekir:

- Okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulunduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya önleyebilmelidir [32].
- Süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır [33].

2.3.3.3.1. Flavonoidler

Flavonoidler; önemli antioksidan özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlayarak, B halkasındaki karbon atomları ise üssü (') rakamlarla numaralandırılır (Şekil 2.5). Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi mevcuttur. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grupları içerirler. Bu bileşikler yapılarına bağlanan grupların çeşidi, pozisyonu ve sayısına göre farklı radikal süpürme aktivitesine sahiptirler [34].



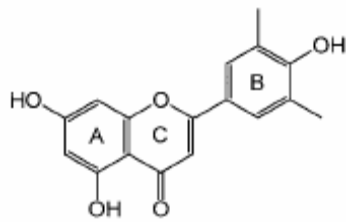
Şekil 2.4: Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı [34]

Flavonoidler, fenolik ve furan halkalarından oluşan türevleridir [34]. Bu bileşikler; A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır [28]. Bu sınıflardan biri antoksantrinler diğeri antosiyaninlerdir. Antoksantrinler kendi arasında 5 farklı sınıfa ayrılmaktadır:

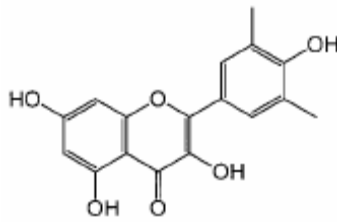
1. Antoksantrinler

- Flavanoller
- Flavonlar
- Flavonoller
- Flavanonlar
- İzoflavonlar

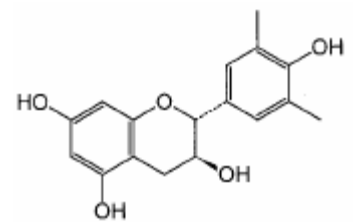
2. Antosiyanin ve antosiyanidinler



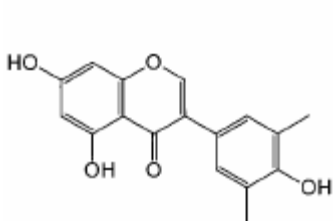
flavon



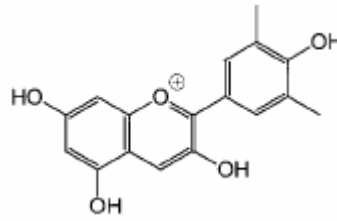
flavonol



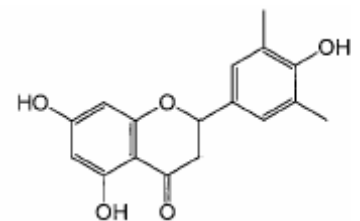
flavanol



izoflavon



antosiyanidin



flavanon

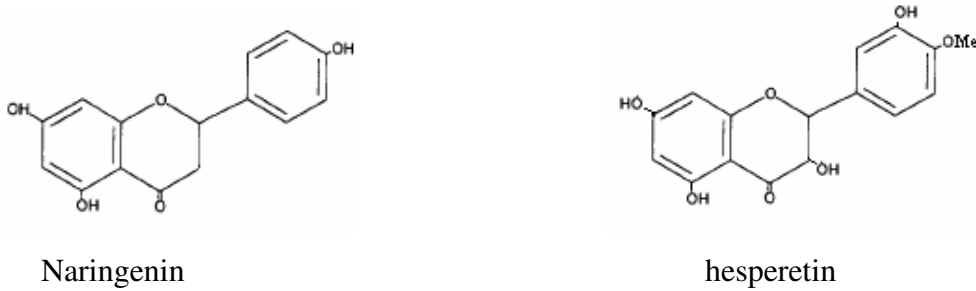
Şekil 2.5: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3. karbon atomuna bağı bir hidroksil grubu taşırlar. Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonoller kuersetin, mirisetin ve kaempferol'dur. Kuersetin flavonoidlerin en önemli bileşiğı ve bitkilerin temel fenolik bileşenidir. Soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur [42].



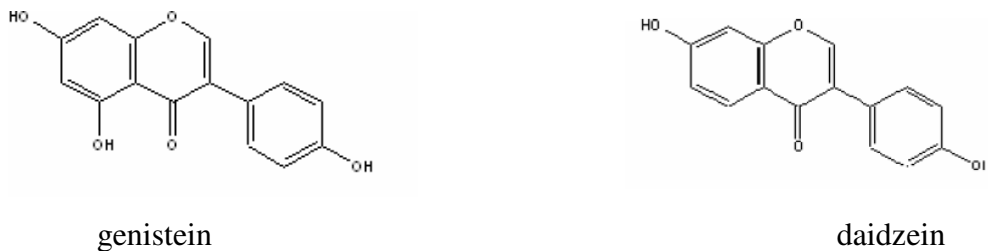
Şekil 2.6: Kuersetin, mirisetin ve kaempferolün moleküler yapısı

Flavonun dihidroksi türevi flavanon'dur. En önemlileri naringenin, naringin, hesperetin' dir. Naringenin 3-hidroksi flavanon'dur. Greyfurtun karakteristik acılığını veren bileşik naringenin glikozidi olan naringin'dir. Turunçgillerden ekşi portakalda bulunur ve son derece acıdır. Naringenin aglikonu olan naringenin ise acı değildir. Hesperetin limon ve portakalda bolca bulunur.



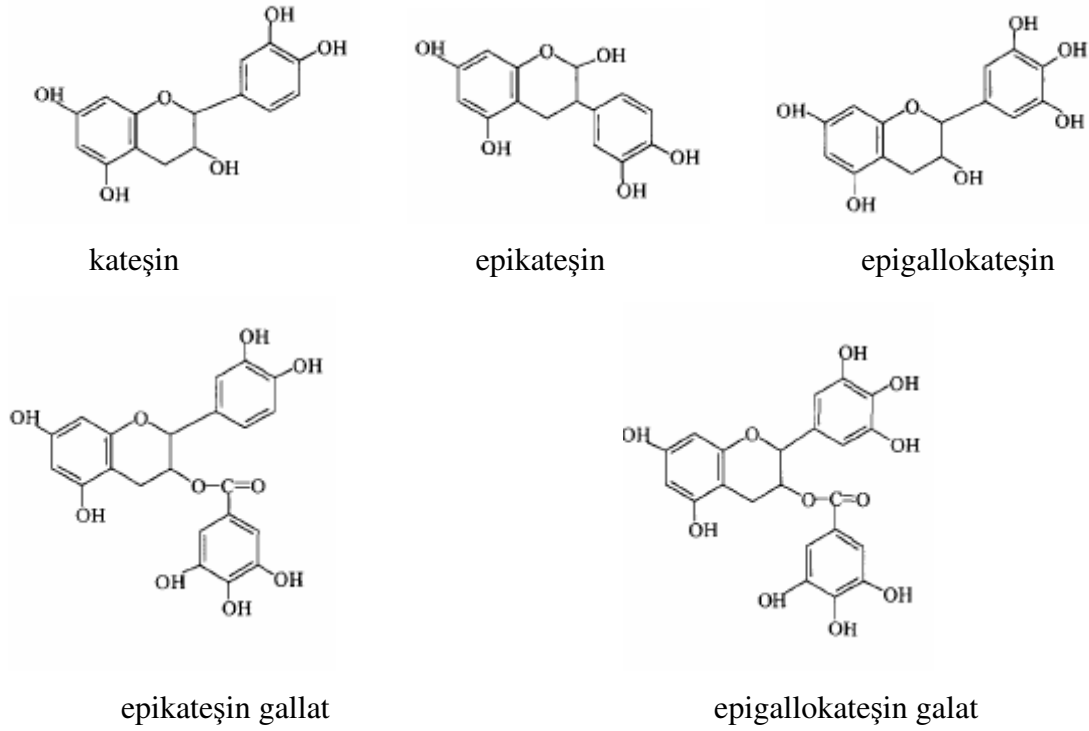
Şekil 2.7: Naringenin ve hesperetin' in kimyasal yapıları

Flavonların izomeri olan *izoflavonlar* ise aromatik B halkasının, C halkasının 3. karbon atomuna bağlanmasıyla oluşur. Genistein, daidzein ve bunların glikozidleri olan genistin ve daidzin başlıca izoflavonlar olup soya fasulyesi ve soya fıstığında mevcuttur [35].



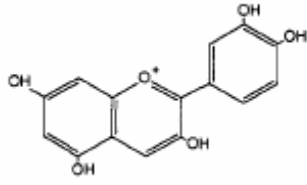
Şekil 2.8: Genistein ve daidzeinin kimyasal yapıları

Flavonollerin C halkasında bulunan çifte bağlı oksijen atomunun yerine $-CH_2$ grubu geldiğinde flavanol oluşur. Flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin’ dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide ve elmada bol miktarda bulunurlar [29, 39, 42].

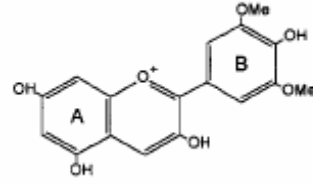


Şekil 2.9 Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin galatın kimyasal yapıları

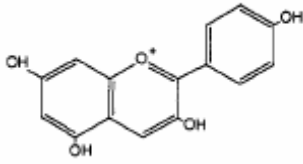
Antosiyaninler, flavanollerin B aromatik halkasına bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelir. Aglikonları antosiyanidinler’dir. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delfinidin’dir. Renkli meyvelerde özellikle kırmızı ve mor renkli meyvelerde bol miktarda bulunur [29].



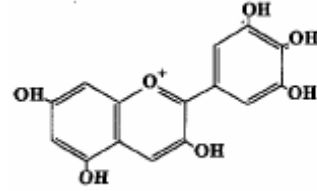
siyanidin



malvidin



Apigenidin

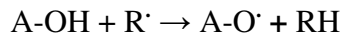


delfinidin

Şekil 2.10: Siyanidin, malvidin, apigenidin, delfinidin kimyasal yapıları

Flavonoidlerin ve metabolitlerinin antioksidan aktivitesi halkalı çekirdeksel yapılarındaki fonksiyonel grupların yerleşmesine bağlıdır. Flavonoidlerin yapılarındaki sübstitüentlerin yerleşimi flavan iskeletinin tek başına göstermiş olduğu antioksidan aktivitesinden daha yüksek olabilmektedir. Birçok polifenolik antioksidan birbirleriyle karşılaştırıldığında, hem konfigürasyonun hem de toplam hidroksil gruplarının antioksidan aktivitesini büyük oranda etkilediği görülmüştür [37, 39].

Serbest radikal süpürme kapasitesinin hidroksil sübstitüentlerinin yüksek reaktivitesine bağlı olduğu aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir:



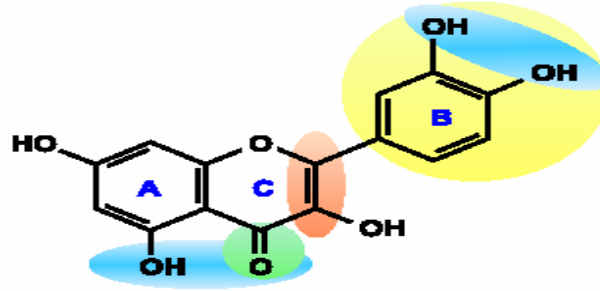
Flavonoidlerin yapılarına bağlı olarak antioksidan kapasitelerinin farklılaşmasında kapasite değerlerini belirleyen birkaç husus vardır:

- B halkasındaki o-dihidroksi yapısı (radikal formun yüksek kararlılığını sağlayan ve elektron delokalizasyonuna katılan)
- 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çifte bağ (C halkasında 4. karbon atomunda keto grubu oluşturan ve radikalın B halkasından elektron delokalizasyonunu arttıran)
- C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları (maksimum radikal-süpürme potansiyeli için gerekli olan)

Flavonoidlerin antioksidan etkileri hidroksillenme derecesine göre artarken, yapıya bağlanan şekere ve cinsine göre de azalır [33].

B halkası hidroksil konfigürasyonu; reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot (RNS) türlerinin süpürülmesinde en önemli ögedir. B halkasındaki hidroksil grupları; hidroksil, peroksil ve peroksinitrit radikallerine hidrojen ve elektron vererek onları kararlı hale getirirler [37].

Flavonoidler tarafından serbest radikallerin süpürülme yeteneği, en çok serbest 3-OH grubunun varlığına bağlıdır. 3-OH ve 3',4' kateşol yapısına sahip olan flavonoidler radikallere karşı daha etkilidirler. Örneğin kuersetin, siyanidin ve kateşinin antioksidan kapasiteleri bu özelliklerinden dolayı yüksektir [34]. Şekil 2.11 de, çok güçlü bir antioksidan olan kuersetinin kimyasal yapısı üzerinde antioksidan kapasitesini belirleyen özellikleri incelediğimizde, bu özelliklerden en önemlisi sarı renkle gösterilen kateşol veya orto-dihidroksillenmiş B halkasıdır. Diğer önemli özellikler; C halkasında kırmızı renkle gösterilmiş olan doymamış yapı, yeşil renkle gösterilen 4-okso fonksiyonunun varlığıdır. Kateşol grubu ve diğer fonksiyonlar (mavi renkli) demir ve bakır gibi transizyon metallerini kelatlama yeteneği sağlar [41]



Şekil 2.11: Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı

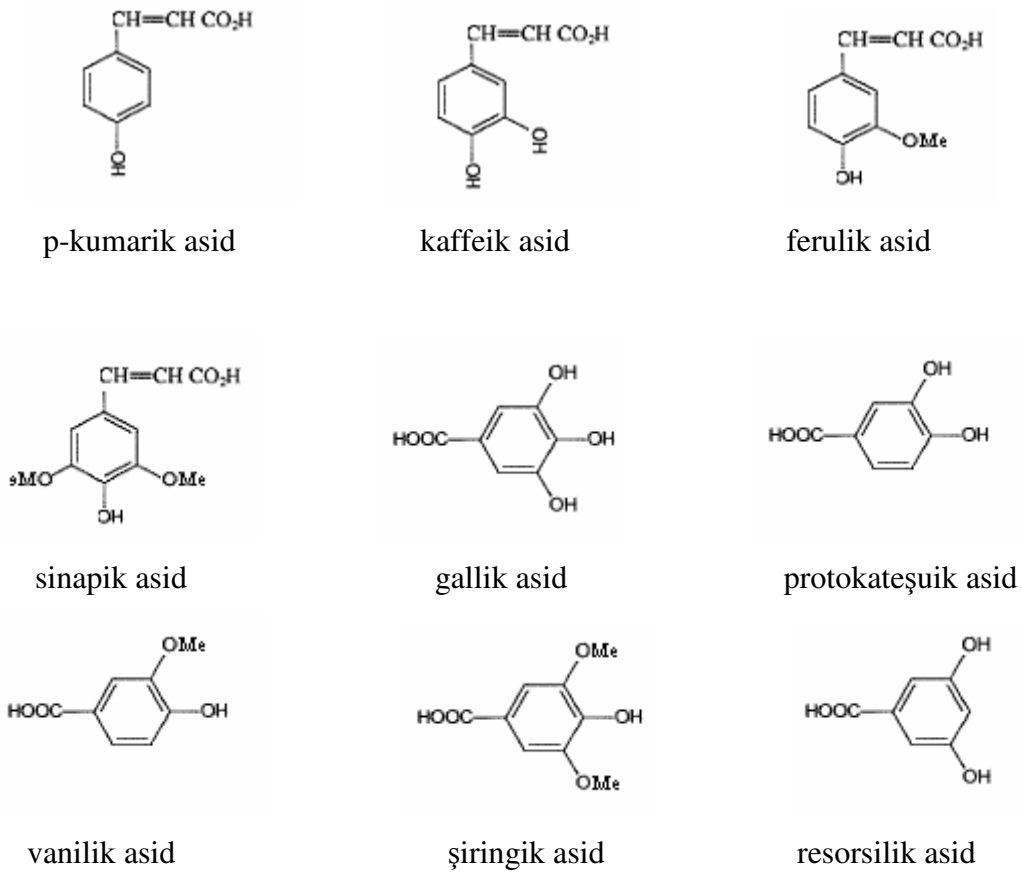
Tablo 2.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması, adları, sübstütüsyon modelleri ve besin kaynakları

SINIFI	ADLARI	SÜBSTİTÜSYON MODELLERİ	BESİN KAYNAKLARI
Flavanol	(+)-Kateşin	3,5,7,3',4'-OH	Yeşil ve siyah çay
	(-)-Epikateşin	3,5,7,3',4'-OH	Yeşil ve siyah çay
	Epigallokateşin	3,5,7,3',4',5'-OH	Yeşil ve siyah çay
	Epikateşin gallat	3,5,7,3',4'-OH,3-gallat	Yeşil ve siyah çay
	Epigallokateşin gallat	3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallat	Yeşil ve siyah çay
Flavon	Krisin	5,7-OH	Meyve kabuğu
	Apigenin	5,7,4'-OH	Maydonoz, kereviz sapı
	Rutin	5,7,3',4'-OH, 3-rutinoz	K.şarap, domates kabuğu, turunçgiller
	Luteolin	5,7,3',4'-OH	Kırmızı biber
Flavonol	Kaempferol	3,5,7,4'-OH	Brokoli, greyfurt, çay
	Kuersetin	3,5,7,3',4'-OH	Soğan, brokoli, domates, çay, k. şarap, mor meyveler, zeytinyağı, elma
	Mirisetin	3,5,7,3',4',5'-OH	Üzüm, böğürtlen,
Flavanon	Morin	3,5,7,3',4',5'-OH	K.şarap
	Fisetin	3,7,3',4'-OH	K.şarap, mor meyveler
	Naringin	5,4'-OH, 7-ramnoglukoz	Turunçgiller, greyfurt
	Naringenin	5,7,4'-OH	Turunçgiller
	Taksifolin	3,5,7,3',4'-OH	Turunçgiller
Izoflavon	Hesperidin	3,5,3'-OH,4'-OMe,7-rutinoz	Portakal
	Hesperetin	3,5,3'-OH,4'-OMe	Portakal
	Genistin	5,4'-OH,7-glukoz	Soya fasulyesi ve fıstığı
	Genistein	5,7,4'-OH	Soya fasulyesi ve fıstığı
	Daidzin	4'-OH, 7-glukoz	Soya fasulyesi ve fıstığı
Antosiyanidin	daidzein	7,4'-OH	Soya fasulyesi ve fıstığı
	Apigenidin	5,7,4'-OH	Renkli meyveler
	Siyanidin	3,5,7,3',4'-OH	Vişne, çilek, böğürtlen
	Malvidin	3,5,7,4'-OH, 3',5'-OMe	Kırmızı üzüm ve şarap

2.3.3.3.2. Fenolik Asitler

Bitkilerde çok miktarda bulunan fenolik asitler, diğer ismiyle fenil propanoidler, hidroksi sinamik ve hidroksi benzoik asitleri içeren iki gruptan oluşur. Fenolik asitlerin çoğunu hidroksi sinamik asitler oluşturur [36]. L- fenil alanin veya L- tiroinden pkumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asit meydana gelir. Yapılarındaki -CH=CH-COOH gruplarının varlığı, hidrojen verebilme yeteneklerini arttırmakla birlikte benzoik asitlere göre radikalleri daha kararlı hale getirebilirler. Benzoatlardan daha etkilidirler. Hidroksi benzoik asitler yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler. Bunlardan birkaçı; gallik asit, vanilik asit, şiringik asit, resorsilik, protokateşuik asit'dir. Mono hidroksi benzoatlar etkili hidroksil

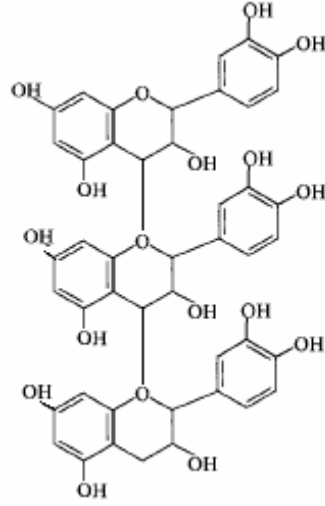
radikal süpürücülerdir çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallere yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidirler. Fenolik halka ile karboksilat grubu arasına metilen grubu girmesiyle oluşan fenil asetik asitlerde orto ve meta hidroksi türevleri 1 mM'a yakın antioksidan aktivite gösterirler. Dihidroksi benzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağlı olup, o-p pozisyonlarında aktivite yüksek olurken, m-p pozisyonlarına sahip olanlarda aktivite düşer [42].



Şekil 2.12: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları

2.3.3.3.3. Fenolik Polimerler (Tanenler)

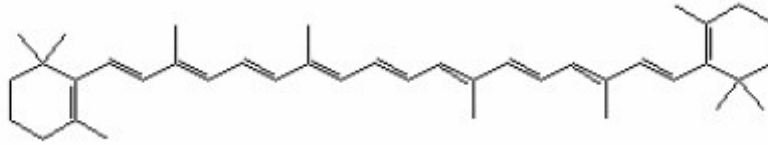
Fenolik polimerler, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Yoğunlaşmış tanenler bu gruba girerler. Bugün besin tanenleri denilince genellikle kateşin ve epikateşinin polimerleri anlaşılmaktadır. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Kırmızı ve beyaz şarapta, elma ve nar suyunda mevcuttur [36].



Şekil 2.13: Fenolik polimerlerin yapısı

2.3.3.4. Karotenoidler

Karotenoidler; bitkilerde sentezlenirler, fakat hayvanlar için önemlidirler. Yüksek derecede doymamış izoprenidlerdenidir. Çifte bağların konjuge oluşundan kuvvetli renklidirler. Açık sarıdan kırmızıya kadar renkli, birçok bitki ve hayvanlarda bulunan, azot içermeyen, suda çözünmeyen fakat yağlarda ve organik çözücülerde çözünen pigmentlerdir. Birçok sebze, meyve ve çiçeklerin karakteristik renkleri bunlardan ileri gelir. Havuç, mısır, domates, tereyağı, süt, yumurta sarısı ve birçok meyvede bolca bulunur. En yaygın kullanımları A-provitamini olarak da bilinen β -karoten'dir. A vitamininin kendiliğinden antioksidan özelliği bulunmazken, β -karoten antioksidan aktiviteye sahiptir [29].

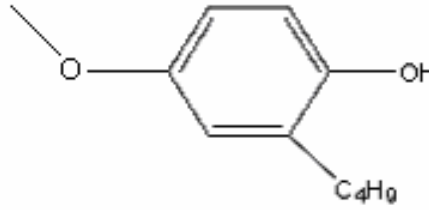


Şekil 2.14: β -karotenin yapısı

2.3.4. Sentetik Antioksidanlar

2.3.4.1. Butillenmiş Hidroksi Anizol (BHA)

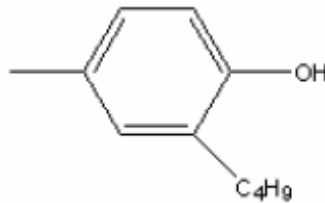
Butillenmiş hidroksi anizol (BHA), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilen etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer olan 3- tersiyer butil-4-hidroksi anizol ve 2-terciyer butil 4-hidroksi anizol karışımıdır. Zehirli değildir ve katıldığı maddeye hiçbir koku aşmaz. Anizolde benzen halkasındaki yer değiştirenlerin, maddenin antioksidan etkisi bakımından rolü büyüktür. Hidroksi grubunu 5. veya 6. karbon atomunda taşıyan bileşikler antioksidan değilken 4 üzerinde taşıyanlar antioksidan özellik gösterir. Bunun haricinde diğer yer değişenlerin yer ve yapısı da rol oynar. Örneğin; 3-terciyer butil 4-hidroksi anizol, 3-metil veya 3 n-butil türevlerinden daha etkilidir. Yer değişenin 3 no'lu karbon atomuna bağlı olması da etkiyi artırır. BHA, gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlar, bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar [29].



Şekil 2.15: Butillenmiş hidroksi anizolün (BHA) kimyasal yapısı

2.3.4.2. Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)

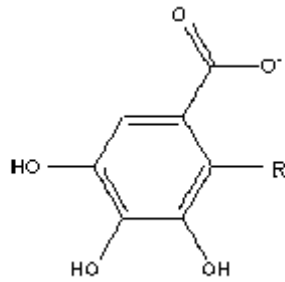
Butillenmiş hidroksi tolueen hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. BHA ile benzer özelliklere sahiptir. Gıdalara ilave edilme işlemleri sırasında uygulanan çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir. % 0,01 oranında kullanılır [29].



Şekil 2.16: Butillenmiş hidroksi tolueenin (BHT) kimyasal yapısı

2.3.4.3. Galatlar

Gallatlardan özellikle kullanım alanına sahip olanlar; propil, oktil, dodesil gallatlardır. Yağlar için etkili antioksidanlar olup gallik asitten esterleşme suretiyle (katalizör olarak anorganik asitleri kullanarak) elde edilirler. FDA tarafından yalnız propil gallatın et yağları için kullanılmasına müsaade edilmiştir. Bununla birlikte diğer esterlerin farklı fizyolojik etkiye sahip olacağı pek kesin olarak gösterilmiş değildir. Gallik asid esterleri % 0,01 oranında çok etkilidirler. Yalnız demirle yağa hafif bir menekşe renk verdirtir. Onun için bunun kullanıldığı yağda demir bulunmaması gerekir [29].



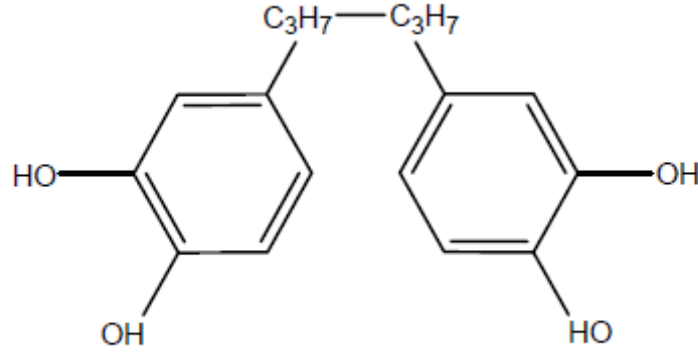
Şekil 2.17: Propil, dodesil ve oktil gallatların kimyasal yapıları (**R**: C₃H₇, C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇)

2.3.4.4. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidan tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) dur. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Avrupa’da kullanımı yasaklanmıştır. Gıdalara % 0,02 oranında katılır [29].

2.3.4.5. Nordihidroguareyetik asid (NDGA)

Nordihidroguayaretik asid (NDGA) toksik etkisi yüksek, yağdaki çözünürlüğü az olan bir sentetik antioksidandır. Özellikle domuz yağı için etkili bir antioksidandır. Gıdalara % 0,01 oranında katılır, pişirilmiş besinlerde bile etkisini korur [29].



Şekil 2.18: Nordihidroguayaretik asidin (NDGA) kimyasal yapısı

2.4. Spektroskopik Antioksidan Kapasite Yöntemleri

Biyolojik sıvıların, saf bileşiklerin, besin ekstraktlarının ve bileşenlerinin toplam antioksidan aktivitesini ölçmek için çok sayıda metod geliştirilmiştir.

Bu yöntemleri birkaç sınıf altında toplayabiliriz:

1. Bir örnekte bulunan tüm antioksidanların tükenmesi için gerekli zamanın ölçümüne dayanan yöntemler. Bu yöntemler, Wayner ve arkadaşları tarafından geliştirilen orjinal TRAP (Toplam Radikal Antioksidan Potansiyeli) yönteminin [43] modifikasyonu sonucu geliştirilmiştir.
2. Tayin edilecek antioksidan bileşiğin serbest radikal bulunan bir ortama ilave edilmesi sonucu radikalın tüketiminin ölçümüne dayanan yöntemler.
3. Verilen bir serbest radikal prosesinin hızının gözlenip analiz edilecek örneğin ilavesinden sonra bu hızın nasıl azaldığının değerlendirilmesine dayalı yöntemler.
4. Toplam antioksidan miktarını örneklerin indirgeme kapasitesiyle bağlantılı kılan yöntemler.

2.4.1. FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Metodu

İlk olarak Benzie ve Strain tarafından plazmanın demir (III)'ü indirgeme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan gücünü ölçmek için geliştirilen bu metotta, demir(III)tripridiltiazin (Fe(III)-TPTZ) kompleksi antioksidan (indirgen) vasıtasıyla düşük pH ortamında demir(II)tripridiltiazin (Fe(II)-TPTZ) kompleksine indirgenir. Meydana

gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi şiddetli mavidir ve 593 nm’de maksimum absorbands vermektedir [44].

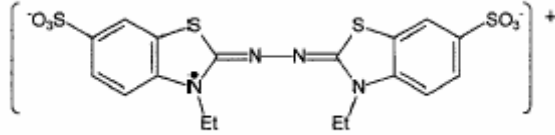
Basit ve ucuz bir yöntem olan FRAP metodu renkli bir bileşik oluşturmak üzere antioksidanların indirgeyebilme yeteneğini ölçmektedir. Fe(III) bir oksidandır ancak bir prooksidan değildir. Fe(II) ise H₂O₂ ile etkileşmesinden dolayı bir prooksidan olabilir. Çünkü etkileşim sonucunda vücutta bulunan en zararlı serbest radikal olan hidroksil radikalleri oluşur. Bu durumda bu yöntemde bir bileşiğin Fe(III)’ü Fe(II)’ye indirgeme yeteneğinin ‘antioksidan gücü’ olarak ifade edilmesi nasıl olabilir sorusu akla gelmektedir. Bu sorunun cevabı şudur: askorbik asit ve ürik asit gibi bazı antioksidanlar hem reaktif türleri hem de Fe(III)’ü indirgeyebilmektedir ve Fe(III)’ü indirgeme yetenekleri reaktif türleri indirgeme yeteneklerine yansımaktadır. Ancak Fe(III)’ü indirgeyebilen her redüktan antioksidan olamaz. Kısaca, prooksidanları kuvvetli bir şekilde indirgeyebilen bir antioksidan Fe(III)’ü de aynı şiddette indirgemeyebilir.

Bu yöntemin diğer bir özelliği de biyolojik bir örnekte bulunan antioksidanların hem Fe(III)-TPTZ kompleksini Fe(II)-TPTZ kompleksine indirgemesi hem de Fe(II) iyonlarının ortamdaki H₂O₂ ile reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikalleri ile etkileşmesinden dolayı antioksidan kapasitesinin direkt olarak ölçülememesidir. Diğer bir deyişle, FRAP metodu toplam antioksidan gücü tayin edebilen dolaylı bir metoddur [27]. pH=3.6’da uygulanan FRAP yöntemi fizyolojik pH’larda çalışmadığından bulunan sonuçların insan vücudundaki redoks reaksiyonlarına uyarlanması beklenmemelidir. Yöntemin asidik pH’larda çalışması, protonlarını vermemiş bazı antioksidanların kolay yükseltgenememesine ve dolayısıyla toplam antioksidan kapasitesinin olduğundan düşük bulunmasına yol açabilmektedir.

2.4.2. TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) / ABTS Yöntemi

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi olarak ifade edilen **TEAC/ABTS** yöntemi, ilk olarak Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem; 2,2’-azinobis(3- etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun absorbandsının hidrojen verici antioksidanlar tarafından inhibe edilmesine dayanan bir metoddur. Absorbandtaki azalmadan yararlanılarak toplam antioksidan kapasitesi troloks (E vitamini analogu) cinsinden verilmektedir. Aktivitesi ölçülecek bileşiğin 1 mM’lık çözeltisinin aktivitesine eşdeğer olan troloksun milimolar konsantrasyonu (TEAC) aktiviteyi ifade eder. Orjinal

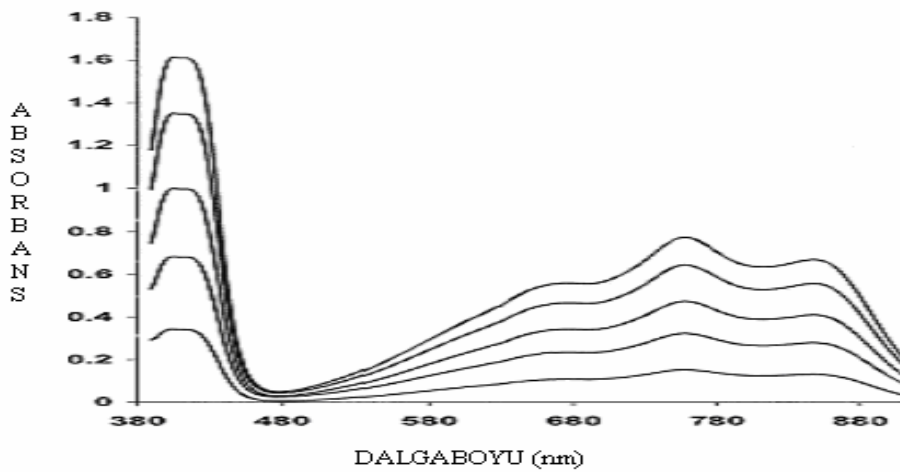
metodda ABTS.+ katyonu (Şekil 2.19) metmiyoglobinin H₂O₂ ile aktivasyonu sonucu meydana gelen ferrilmiyoglobin radikal türlerinin ABTS ile etkileşiminden meydana gelmektedir. ABTS.+ radikal katyonunun karakteristik uzun dalgaboylu absorpsiyon spektrumu 660, 734 ve 820 nm’de maksimum vermektedir (Şekil 2.20) [45,46].



Şekil 2.19: ABTS.+ katyonunun yapısı

Re ve arkadaşları [47] tarafından modifiye edilen TEAC yönteminde ise ABTS.+ radikal katyonu ABTS’nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Oluşan radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 gün dayanıklıdır. Geliştirilen metodun orijinal metoddan farkı hem lipofilik hem hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolorizasyon (renk giderimi) yöntemi olmasıdır. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşmaktadır. Orijinal metotta ise antioksidan varlığında radikal meydana gelmektedir.

Üçüncü grupta bulunan yöntemlerde kullanılan kromojen radikallerin kararlılığı pek çok etkene bağlıdır ve bu sistemlerde verilen bir bileşik tarafından gerçekleştirilen indirgeme olayının, radikal süpürme yeteneğinden mi yoksa radikal oluşumunun başlangıç hızını azaltmasından mı kaynaklandığı tam olarak belli değildir[48].

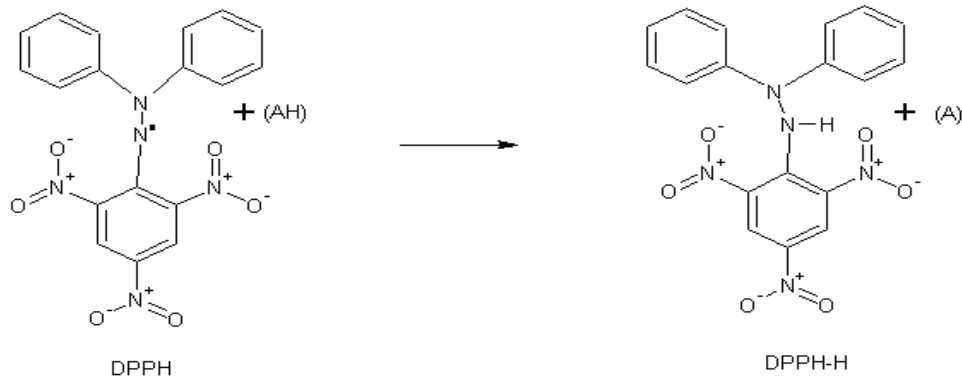


Şekil 2.20: ABTS radikal katyonunun absorpsiyon spektrumu.

TEAC metodunun diğer bir modifikasyonu van den Berg ve arkadaşları Tarafından geliştirilmiştir. Bu çalışmada bir azo bileşiği olan 2,2'-azobis-(2-amidinopropan)HCl (ABAP) kullanılarak ABTS.- radikal anyonu oluşturulmuştur. Yöntemde antioksidanlar radikalın oluşmasından önce eklenmektedir. Böylece radikal oluşumuna etki edecek olan bileşiklerin enterferansını önlemektedir. Bu yöntemde de hem hidrofilik hem lipofilik antioksidan kapasitesi ölçülebilmektedir [49]. Diğer bir yenilik Arnao ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuştur. Burada ABTS radikalının oluşumunda HRP (horse radish peroxidase) kullanılmıştır. ABTS/H₂O₂/HRP enzimatik sistem kullanılarak hidrofilik ve lipofilik antioksidan aktivitesi ölçülebilmektedir [50].

2.4.3. DPPH Yöntemi

DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), bir serbest radikaldır ve bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabil diamanyetik bir molekül olma eğilimindedir. DPPH radikalleri miktarında meydana gelen azalma, 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu yüzden DPPH[•], antioksidan aktivite tayininde sıklıkla substrat olarak kullanılır. Ortamda bulunan radikal giderici veya söndürücü antiradikal türlerin (AH)_n varlığında koyu menekşe renginde olan DPPH radikalleri şekilde görüldüğü gibi açık sarı renkli olan indirgenmiş DPPH[•] formuna (DPPH-H) dönüşmektedir (Şekil 2.21). Bu indirgenmiş formdaki DPPH[•] ise 517 nm'de maksimum absorbanı göstermektedir. Bu dalga boyunda azalan absorbanı geriye kalan DPPH[•] miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir. Ekstrelerle DPPH[•] reaksiyona sokularak ortamdan ne kadar DPPH radikallerinin yok edildiği belirlenebilir [51]



Şekil 2.21. Bir antiradikal (AH)_n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [(AH)_n: Antiradikal, DPPH: İndirgenmiş DPPH[•] formu]

2.4.4. Folin Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem Singleton ve arkadaşları [52, 53] tarafından antioksidanların toplam fenolik içeriğini ölçmek için geliştirilmiştir. Yöntemde kullanılan CuSO₄ (bakır(II) sülfat) alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfomolibdikfosfotungstik reaktif) eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II)'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) olasılıkla molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbanları ölçülür.

2.4.5. TRAP (Toplam Radikal Tutma Parametresi) Yöntemi

Wayner ve arkadaşları. tarafından geliştirilen toplam radikal tutma parametre (TRAP) yöntemi son 10 yıldır plazma veya serumdaki toplam antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılan başlıca yöntemlerden biridir.

Bu metodda; plazma ve diğer biyolojik sıvılarda bulunan peroksitlenebilen maddelerden ve 2,2'-azobis (2-amido propan) hidroklorürden (AAPH) meydana gelen peroksil radikalleri kullanılır. Plazmaya AAPH'ün ilavesinin ardından reaksiyon sırasında tüketilen oksijenin ölçülmesiyle yükseltgenebilen maddelerin oksidasyonu gözlenmektedir. Bu oksidasyon indüksiyon periyodu boyunca plazmadaki antioksidanlar tarafından engellenmektedir. İndüksiyon periyodu ölçülerek plazmadaki toplam antioksidan kapasitesi, iç standart olarak kullanılan troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanmaktadır [43]. Wayner ve arkadaşları orijinal TRAP yöntemini modifiye etmişlerdir. Bu yeni yöntemde, peroksil radikalleri tarafından oksidasyon başlatılmadan önce, plazma örneğine linoleik asit ilavesi yapılmıştır [54]. TRAP yönteminin en önemli dezavantajı, oksijen elektrodu ile ilgilidir. Oksijen elektrodu, gereken zaman periyodunda kararlılığını sağlayamamaktadır [46]. Ayrıca TRAP indeksine C ve E vitamini gibi antioksidanların az katkı sağlaması önemli bir sakıncadır.

2.4.6. TOSC (Toplam Oksiradikal Uzaklaştırma Kapasitesi) Yöntemi

Winston ve arkadaşları. tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem; AAPH bileşiğinden meydana gelen peroksil radikalleri tarafından α -keto- γ metiolbutirik asitin (KMBA) etilene okside olmasına dayanır [55].

Kısmen antioksidanlar tarafından engellenen etilen oksidasyonu gaz kromatografisi ile ölçülmektedir. Toplam kapasiteyi elde etmek için kullanılan denklem aşağıda verilmiştir:

$$\text{TOSC} = 100 - (\int \text{SA} / \int \text{CA} \times 100)$$

SA: örnek reaksiyon eğrisi

CA: kontrol reaksiyon eğrisi

Antioksidan veya TOSC değerleri 0-100 arasında verilmiştir. Bu yöntemde kullanılan alan integralleri açık bir sistemdir, çünkü KMBA tarafından oluşan etilen üretimi antioksidanların tüketilmesiyle artar. Uygun değerlerde kullanılan KMBA sınırlayıcı bir faktör değildir. Bu yöntemin plazma antioksidanlarını değerlendiren bir uygulaması mevcut değildir [27].

2.4.7. ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) Yöntemi

ORAC yöntemi [56, 57]; büyük oranda Glazer [84] tarafından geliştirilip yayınlanan çalışmaya dayalı bir yöntemdir. Diğer yöntemden farkı hidroksil radikallerinin oluşturulmasında Cu(II)-H₂O₂ kullanılmasıdır. Oluşturulan serbest radikaller ile yükseltgenir substrat olan β -PE arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucunda fikoeritrinin (phycoerythrin) floresansındaki düşüş ölçülerek toplam antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Serbest radikal etkisini inceleyen ve eğri altında kalan alan tekniğini miktar tayininde kullanan bu yöntem, antioksidanların serbest radikalleri hem inhibe etme yüzdesini ve hem de süresini tek bir değer olarak ifade edebilen bir yöntemdir [27]. Çeşitli biyolojik örneklerden saf bileşiklere kadar birçok maddeye ORAC yöntemi uygulanıp antioksidan kapasiteleri tayin edilmiştir [58, 59, 60].

ORAC yönteminde prooksidan olarak peroksil ve hidroksil radikalleri kullanılması, yöntemi prooksidan olmayan yükseltgenler içeren yöntemlerden ayırmaktadır. Yöntemde oksidasyon için bir protein substrat (PE) kullanılması da substrat olarak luminol [61, 62] veya krosin [63, 64] kullanılan yöntemlerden ayıran önemli bir farktır [27].

2.5. Literatür Araştırması

Bu çalışmada seçilen ıhlamur ve nane piyasada bulunan ve en çok tüketilen bitkisel çaylar arasında yer almaktadır. Bu araştırmada ıhlamur ve nanenin toplam fenol/flavonoid ve antioksidan aktiviteleri ile metal içerikleri arasında ilişki incelenmiştir. İçeriklerinde fenolik bileşiklerin olduğu bilinmesine rağmen bu iki bitki türünün fenolik fraksiyonları ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesi ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bunlardan birkaçını açıklayacak olursak;

S. M. Dogheim ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 1999 süresince Mısır'ın beş farklı bölgesinden bazı aromatik tıbbi bitkiler toplamışlar ve bu bitkilerdeki ağır metal kirliliğini tayin etmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda yeşil nanede ortalama 0,01 mg/kg Cd, 2,15 mg/kg Cu ve 0,59 mg/kg Pb bulmuşlardır [65].

Moraes-de-Souza ve arkadaşları çalışmalarında, işlenmiş çay ve bitkisel infüzyonlarda fenolik bileşik, antioksidan aktivitesi ve flavonoidleri incelemişlerdir. Toplam fenol için Folin Ciocalteu metodunu kullanmışlardır. Flavonoidleri HPLC ile belirlemişler, myricetin ve quercetin ile nane bitkisindeki flavonoidleri tanımlamışlardır. Antioksidan aktivitesi için DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ve BCB (β -carotene bleaching test) metodlarını kullanmışlardır. Moraes-de-Souza ve arkadaşları araştırmalarında nane bitkisinde aralarında bulunduğu bazı bitkisel infüzyonların iyi birer antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varmışlardır [66].

Tomagevic ve arkadaşları çalışmalarında Belgrad City parkında yaygın olarak bulunan ıhlamur yaprağının ağır metal kirliliğinde biyomonitör olarak kullanılma güvenilirliğini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bu bitkilerde toksik seviyede ve yüksek konsantrasyonda ağır metal bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bitkide 110,2 $\mu\text{g/g}$ Cu, 20,3 $\mu\text{g/g}$ Pb ve 4,9 $\mu\text{g/g}$ Cd bulmuşlardır [67].

Negi ve arkadaşları çalışmalarında ıhlamur çiçeğindeki toplam fenolik bileşik miktarını incelemişlerdir. Çalışmalarında Gallik Asit ve Folin-Ciocalteu reaktiflerini kullanmışlardır. Sonuç olarak ıhlamur çiçeğindeki toplam fenolik bileşiklerin 0,27 – 24 mg aralığında olduğunu tespit etmişlerdir [68].

Reyhan ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin (nane, lavanta, kekik, kantaron, kenevir, portakal nergisi, gül hatmi, labada, it üzümü vs) ağır metal ve çeşitli kirlilik etmenlerine aynı şartlarda yetiştirilen diğer bazı kültür bitkilerine kıyasla çok daha dayanıklı olduklarını göstermiştir [69].

Zheljaskov ve Nielsen Bulgaristan'ın kirlilik problemi olan alanlarında yetiştirilen nane bitkisindeki ağır metal etkisini çalışmışlardır. Maden fabrikalarının kirlettiği topraklarda yetiştirilen nane bitkisinin ağır metal etkisini minimize etmek için denemeler yapmışlar ve kirlilik kaynağından 400 metre uzaklıktaki nane bitkisi örneklerinde ağır metal etkisinin ortalama %9-16 azaldığını tespit etmişlerdir [70].

Sweetie ve arkadaşları Hindistan mutfağında yaygın bir şekilde kullanılan nane yaprağında toplam fenol ve flavonoid miktarını ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Nane ekstraktlarının iyi derecede toplam fenol ve flavonoid içerdiğini tespit etmişlerdir. Antioksidan aktivitesi için β -karoten ağartma ve 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) deneyleri yapılmış ve deney sonucunda nane ekstraktlarının mükemmel bir antioksidan aktivitesi sergilediğini kaydetmişlerdir[71].

Chan ve arkadaşları çalışmalarında nane ve nane bitkisindeki antioksidan aktivitesini, toplam fenolik içeriğini ve metal şelatlama yeteneğini incelemişlerdir. Chan çalışmasında nane çayının diğer siyah çaylara göre daha düşük antioksidan özellik gösterdiğini kaydetmiştir. Ayrıca nane çayının diğer siyah çaylara göre önemli ölçüde metal şelatlama yeteneğine sahip olduğunu açıklamıştır [72].

Başgel ve arkadaşları çalışmalarında Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan ıhlamur bitkisi ve infüsyonlarında ondört mineral ve eser element (Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr ve Zn) incelemişlerdir. Ihlamur bitkisindeki ve infüsyonlarındaki element konsantrasyonlarını FAAS ve ICP-AES ile belirlemişlerdir. Başgel ıhlamur bitkisindeki eser element ve mineral içeriğinin geniş bir değişkenlik gösterirken, İnfüsyonlarında ise elementlerinin dağılımının yüksek olmadığını özellikle Cd, Co, Cr ve Pb' nun hiç bulunmadığını tespit etmiştir [73].

Areias ve arkadaşları [74] yaptıkları çalışmada, nanede 10 fenolik bileşiği (eriodiktol-7-*O*-rutinozid, eriodiktol-7-*O*-glikozid, luteolin-7-*O*-rutinozid, luteolin-7-*O*-glikozid, hesperetin-7-*O*-rutinozid, apigenin-7-*O*-rutinozid, rozmarinik asit, 5,6-dihidroksi-7,8,3',4'-tetrametoksiflavon, pebrellin ve gardenin B) belirlemek için bir ters-faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi geliştirmişlerdir. Ekstraksiyon için farklı organik çözücüler denenmiş, etanolün kalitatif ve kantitatif değerlendirme için en uygun çözücü olduğuna karar verilmiştir. HPLC'de en iyi ayırım, su-fosforik asit (999:1) ve asetronitril ikili çözücü sisteminin gradienti ile elde edilmiştir. Geliştirilen yöntem 14 nane örneğine uygulanmıştır.

Justesen ve arkadaşlarının [75] yaptığı bir çalışmada, sıklıkla tüketilen 15 taze bitkinin flavonoid miktarı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, fesleğen, frenk soğanı, kişniş, tere, dereotu, oğulotu, selamotu, mercanköşk, maydanoz, biberiye, adaçayı, nane, tarhun, kekik ve su teresi taze bitkileri HPLC ve kütle spektrometrisi ile analizlenmiştir. Asit hidrolizinden sonra, 5 temel aglikon flavonoid olarak apigenin, izoramnetin, kamferol, luteolin ve kuersetin belirlenmiş ve miktarlandırılmıştır. En yüksek flavonoid miktarları, maydanozda (510–630 mg apigenin/100 g), selamotunda (170 mg kuersetin/100 g), nanede (18–100 mg apigenin/100 g, ayrıca luteolin) ve dereotunda (48- 110 mg kuersetin/100 g, ayrıca kamferol ve izoramnetin) belirlenmiştir.

Justesen ve arkadaşlarının [76] yaptığı başka bir çalışmada bazı meyve, sebze ve içeceklerdeki flavonol, flavon, ve flavononları miktarlandırmak ve belirlemek için, fotodiyot array ve kütle spektrometrik dedeksiyonlu yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ayırma yöntemi geliştirilmiştir. Dondurularak kurutulmuş gıdaların asit hidrolizinden sonra, bileşikler aglikon olarak analizlenmiştir. Gıda bileşimindeki flavonoidler, ticari standartların alıkonma zamanları, UV ve kütle spektrumları ile karşılaştırılmış ve flavonoid içerikleri pik alanları ile hesaplanmıştır. Çalışmada analizlenen kereviz yaprağında apigenin ve luteolin; ıhlamurda hesperetin, naringenin ve kuersetin; maydanozda apigenin, kamferol ve luteolin belirlenmiş ve miktarlandırılmıştır.

Karakaya ve arkadaşlarının [77] yaptığı çalışmada, ısırgan (*Urtica* sp.), kuşburnu (*Rosa cannina*), adaçayı (*Salvia officinalis*), ıhlamur çiçeği (*Tilia platyphyllos*), siyah çay, şalgam suyu (*Daucus carota* L. spp *sativus*), üzüm pekmezi, bal ve tarhana örneklerinin kuersetin, luteolin, apigenin ve kamferol içerikleri HPLC ile belirlenmiştir. Siyah çay ve ıhlamur çiçeğinde kuersetin ve kamferol; adaçayında kuersetin ve luteolin, kuşburnu, şalgam suyu, tarhana ve üzüm pekmezinde kuersetin; balda apigenin ve kamferol; ısırganda kuersetin ve apigenin temel bileşenler olarak belirlenmiştir.

Toker ve arkadaşları [78], *Tilia platyphyllos* (ıhlamur) türlerinin, çiçek, taç yaprak ve yapraklarının flavonoid bileşimini, geliştirdikleri ters faz-HPLC yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, Türkiye’de yetişen iki ıhlamur türünün (*Tilia rubra* ve *Tilia argentea*) belirtilen kısımlarında karşılaştırılmıştır. Her iki türün yapılan HPLC analizleri sonucu, çiçek kısımlarında kuersetin–3,7-diramnozid, izokuersitrin+rutin, kuersitrin ve astragallin, taç yaprak ve yaprak kısımlarında ayrıca kamferol-3,7- diramnozid belirlenmiştir. *Tilia argentea* türünün çiçek, taç yaprak ve yaprak kısımlarında farklı miktarlarda tiliozid saptanmıştır.

Caillet ve arkadaşlarının[79] yaptıkları çalışmada birçok bitkisel ürünün su ve etanolik ekstraksiyonunda antioksidan aktivitesini hidroksil radikal yakalama yöntemiyle ve ayrıca çözgen sistemlerinin etkinliğini incelemiş, adaçayı ve nanenin çoğu ticari kimyasal gıda katkısından daha yüksek oranda antioksidan aktivite içerdiklerini ortaya koymuşlardır (%70,4 ve %71,7).

Poyrazoğlu ve arkadaşları [80] nar meyvesinin meyve kabuğu ve tohumunu fenolik içeriği bakımından incelemiş olup meyve kabuğu ve tohumunda en önemli fenolik bileşiklerden gallik asit ve kuersetinin bulunduğu saptanmıştır

Kim ve arkadaşları [81] spektrofotometrik metodlar kullanarak taze erikte bulunan polifenoller ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Fenolik içeriği HPLC yöntemi ile tayin edilip gallik asit eşdeğeri cinsinden verilmiş, flavonoid içeriği de kateşin eşdeğeri cinsinden elde edilmiştir. Antioksidan kapasiteleri C vitamini eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlara göre erikteki polifenolik maddelerin toplam antioksidan kapasitesine katkısının çok yüksek oranda olduğu görülmüştür. Erikte bulunan en önemli flavonollerin kuersetin ve türevleri olduğu, rutin yüksek oranda bulunduğu ve neoklorojenik asidin en baskın polifenol olduğu gözlenmiştir.

Hirano ve arkadaşları [82] çeşitli flavonoidlerin DPPH radikaline ve LDL oksidasyonuna karşı antioksidan yeteneklerini incelemişlerdir. Çalışmalarında; kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, mirisetin, kuersetin, apigenin, kaempferol ve luteolin flavonoidlerinin DPPH radikalini söndürme kapasitelerini ölçmüşlerdir. 20 dakikalık inkübasyon sonrasında epigallokateşin gallatın en etkili, luteolinin ise en zayıf radikal süpürücü olduğu sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılmak üzere piyasada işlenmiş, paketlenmiş olarak satılan üç farklı markada(Doğadan, Migros, Evçay) ıhlamur ve nane poşet çayları ve Elazığ, Kayseri, İstanbul olmak üzere üç farklı bölgede aktarlarda açık olarak satılan ıhlamur ve nane bitkileri temin edildi. Örneklerin metal içeriği için kuru yakma, infüzyon ve dekoksiyon, toplam fenol/flavonoid ve antioksidan aktivitesi tayini için ekstraksiyon, infüzyon ve dekoksiyon işlemleri uygulanarak üç farklı analiz numunesi hazırlandı.

3.1. Kullanılan Cihazlar

Hazırlanan bitki örneklerinin, metal içeriklerinin tespiti için; Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 2100 DV (ICP-OES) cihazı, toplam fenol, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi aşamasında örneklerin absorbanslarını ölçmek için; T80+UV-VIS spectrometer marka double beam UV-görünür bölge spektrofotometresi ve kuvartz hücreler, santrifüj işlemi için; Hettich EBA III marka santrifüj cihazı, örneklerin analize hazırlanmasında kullanılan kuru yakma işlemi için; Lenton Furnaces marka kül fırını, örnekleri sabit tartıma getirmek için; Gec Avery marka terazi, karıştırma ve ısıtma işlemleri için ise; AM4 Multiposition Heating Magnetic Stirrer cihazı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde ise alkolü uzaklaştırmak için, Heidolph Laborota 4000 efficient marka rotary cihazı kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmanın tamamında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri

Maddenin Adı	Firmanın Adı	Saflık Derecesi
Nitrik asit	Merck	65
Gallik asit	Carlo Erba	99
Folin Ciocalteu reaktifi (2N)	Sigma-Aldrich	
Sodyum karbonat	Riedel-de Haen	99
Potasyum asetat	Carlo Erba	99
Alüminyum nitrat	Riedel-de Haen	99
Etanol	Merck	99,2
Kuersetin	ABCR	
DPPH	Sigma-Aldrich	

3.3. Kullanılan Çözücüler

3.3.1. Etil Alkol

% 99.2'lik Merck etil alkolden % 80'lik çözeltisi hazırlanarak örneklerin ekstraksiyon işlemlerinde kullanıldı.

3.3.2. Su

Çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı

3.3.3. Nitrik Asit

Kuru yakma işlemiyle hazırlanan örnekleri çözmek için derişik nitrik asit (% 65) kullanıldı.

3.4. Kullanılan Çözeltiler

3.4.1. Sodyum Karbonat Çözeltisi

% 2'lik sodyum karbonat çözeltisi hazırlamak için, 2 gr Na_2CO_3 alınıp bir miktar deiyonize suda çözdükten sonra deiyonize suyla 100 ml'ye tamamlandı.

3.4.2. Potasyum Asetat Çözeltisi

1 M potasyum asetat çözeltisi hazırlamak için, 9,8147 gr CH_3COOK alınıp bir miktar deiyonize suda çözdükten sonra 100 ml'ye deiyonize suyla tamamlandı

3.4.3. Alüminyum Nitrat Çözeltisi

% 10'luk alüminyum nitrat çözeltisi hazırlamak için, 10 gr $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ alınıp deiyonize suda çözdükten sonra 100 ml'ye deiyonize suyla tamamlandı.

3.4.4. Gallik Asit Çözeltisi

25 mg Gallik asit 25 ml deiyonize suda çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı.

3.4.5. Kuersetin çözeltisi

25 mg Kuersetin 25ml deiyonize suda çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı

3.4.6. DPPH Çözeltisi

39 mg DPPH 1lt etanolde çözülerek 1 lt ye tamamlandı. Bir gece manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

3.5. Deneysel Kısım

3.5.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

3.5.1.1. İnfüzyon Hazırlanması

Kurutulmuş olarak hazır alınan bitkisel çay örnekleri homojen halde parçalandıktan sonra infüzyon işlemine tabi tutulmuştur. Metal içeriğinin belirlenmesi için; her bir örnekten 2 gr alındı ve üzerlerine kaynatılmış 50 ml musluk suyu ilave edildi. 10 dakika inkübasyon edildikten sonra filtre kâğıdından (Whatman No.4) geçirilen örneklerle 0,5 ml derişik nitrik asit (% 65) ilave edip son hacim suyla 50 ml'ye tamamlandı. Toplam fenol/flavonoid ve antioksidan aktivitesi tayini için ise örnekler filtre kâğıdından geçirilip direkt kullanıldı.

3.5.1.2. Dekoksiyon Hazırlanması

İnfüzyon işleminde olduğu gibi örnekler öğütülüp homojen hale getirildikten sonra dekoksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Metal içeriğinin belirlenmesinde, her bir örnekten 2 gr alınıp üzerine 50 ml soğuk musluk suyu ilave edilerek 10 dakika kaynar durumda bekletildi. Sonra filtre kâğıdından (Whatman No.4) süzülen örneklerin üzerine 0,5 ml derişik nitrik asit ilave edip son hacim suyla 50 ml'ye tamamlandı. Toplam fenol/flavonoid ve antioksidan aktivitesi tayini için ise örnekler filtre kâğıdından geçirilip direkt kullanıldı.

3.5.1.3. Kuru Yakma İşlemiyle Örneklerin Analize Hazırlanması

Bu yöntem bitkisel çay örneklerinin metal içeriklerinin belirlenmesinde kullanıldı. Açıkta işlenmemiş olarak satın alınan örnekler etüvde 105 ° C bir gün bekletilerek kurutuldu. Sonra cam havanda tamamen homojen olunca kadar öğütülüp her bir örnekten ve öğütülüp işlenmiş olarak alınan örneklerden cam beherlerde 2 gr tartılıp kül fırınına yerleştirildi. Sıcaklık kademe kademe arttırılarak en son 460 ° C'de sabitlendi. Örnekler tamamen beyaz kül oluncaya kadar kül fırınında bekletildi. Sonrasında örneklerin üzerine bir miktar saf su ve 1 ml derişik nitrik asit (% 65) ilave edip çözdükten sonra filtre kâğıdından (Whatman No.4) geçirilip saf suyla 50 ml'ye tamamlandı.

3.5.1.4. Ekstraksiyon İşlemiyle Örneklerin Analize Hazırlanması

Ekstraksiyon işlemi, bitkisel çay örneklerin toplam fenol/flavonoid miktarları ile antioksidan aktivitelerinin tayininde kullanıldı. Kuru yakma işleminde olduğu gibi etüvde kurutulan ve homojenize edilen açıkta satılan örnekler ile kapalı öğütülmüş olarak satın alınan her bir örnekten 2 gr alınıp 100 ml'lik reaksiyon balonlarına aktarıldı. Hazırlanan % 80'lik etanoldan her birine 40 ml ilave edip, 30 dakika ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Sonra örnekler filtre kâğıdından (Whatman No.4) süzüldükten sonra avaporatör'de alkolü uzaklaştırılıp analize hazır hale getirildi.

3.5.2. Toplam Fenolik Madde Analizi

İhlamur ve nane bitkilerinin infüzyon, dekoksiyon ve ekstrelerinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlendi [52, 53]. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Bunun için önce bir standart grafik çizildi. Bu amaçla

25 mg gallik asit 25 ml destile suda çözüldü ve 1 mg/ml konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 80, 100, 200, 400, 800, 1000, 1400, 1600 µg gallik asit içeren çözelti 25 ml'lik balon jojelere aktarıldı ve hacim destile suyla 23 ml'ye tamamlandı. Balonlara jojelere sırasıyla 0.5 ml FCR ve 3 dakika sonra da % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1.5 ml ilave edildi. Karışım 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra örneklerin absorbansı 760 nm'de destile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol için gallik asit ve örnek hariç diğer reaktifleri içeren çözelti kullanıldı.

Aynı işlemler örnekler içinde aynı anda yapıldı. Hazırlanan örneklerden 0.5 ml alınıp 25 ml'lik balon jojelere aktarıldı ve hacim destile suyla 23 ml'ye tamamlandı. Sonra sırasıyla 0,5 ml FCR ve 3 dakika sonra da 1,5 ml % 2'lik Na₂CO₃ ilave edildi. Numuneler oda sıcaklığında 1saat boyunca bekletildikten sonra absorbansları saf su, FCR ve Na₂CO₃'den oluşan köre karşı 760 nm'de okundu. Bu işlemler üç defa tekrarlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit ekivalent miktarı standart grafiklerinden bulundu. Bulgular mikrogram gallik olarak verildi.

3.5.3. Toplam Flavonoid Madde Analizi

İhlamur ve nane bitkilerinin infüzyon, dekoksasyon ve ekstraktlarında bulunan toplam flavonoid madde miktarı Park ve arkadaşlarının yapmış olduğu metoda göre toplam olarak belirlendi [83]. Standart flavonoid bileşik olarak kuersetin kullanıldı. Bunun için önce standart grafik çizildi. Bu amaçla 25 mg kuersetin 25 ml destile suda çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 80, 100, 200, 400, 800, 1000, 1400, 1600 µg kuersetin içeren çözelti 25 ml'lik balon jojelere aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 23 ml saf su, 0,1 ml 1 M suda hazırlanmış CH₃COOK ve 0,1 ml (% 10) Al(NO₃)₃ çözeltileri ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat boyunca bekletilip 415 nm'de absorbansları saf sudan oluşan köre karşı kaydedildi.

Aynı işlemler örnekler için de aynı anda yapıldı. Örneklerden 0,5 ml alınıp 25 ml'lik balon jojelere aktarıldı üzerlerine sırasıyla 23 ml saf su, , 0,1 ml 1 M suda hazırlanmış CH₃COOK ve 0,1 ml (% 10) Al(NO₃)₃ çözeltileri ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat bekletildi ve 415 nm'de absorbansları aynı şekilde kaydedildi. Toplam flavonoid konsantrasyonu kuersetinin standart olarak kullanıldığı standart grafik denklemlerinden mikrogram kuersetin olarak hesaplandı.

3.5.4. DPPH Süpürme Aktivitesi

İhlamur ve nane bitkilerinin ekstrelerinin antioksidan aktivitesi tayini Soares ve arkadaşlarının[51] kullandığı DPPH süpürme aktivitesi metoduna göre yapıldı. Bu metod için DPPH'nın 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı Örneklerden 50, 100, 250, 500, 1000 µl alındı. Her bir örneğe 4 ml 1mM lık DPPH çözeltisi ilave edilerek yarım saat karanlıkta bekletildi ve 517 nm de etanolden oluşan köre karşı absorbanları kaydedildi. Kontrol olarak DPPH stok çözeltisi kullanıldı.

DPPH süpürme aktivitesi hesabı

Antioksidan Aktivitesi= $[(\text{Absorbans}_{\text{kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}}) / \text{Absorbans}_{\text{kontrol}}] \times 100$

formülüne göre yapıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma Varyans analizi (ANOVA) yapılarak ve gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile bulundu.

4-BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bitkilerin Metal İçerikleri

Elazığ, Kayseri ve İstanbul bölgelerinde aktarlarda açık olarak satılan ıhlamur örneklerindeki metal miktarlarının, infüzyon, dekoksiyon ve kuru yakma işlemlerine göre değişimi Tablo 4.1. 'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi

Parametreler	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Kuru yakma
Na	3	855244±7138	43237±416 ^c	44879 ±814 ^c
K	3	8270±1362	17990±3886 ^a	20962±2076 ^a
Ca	3	9714±1833	11547±575	30258±2513 ^{c,z}
Mg	3	7799±399	8502±113	12430±318 ^{c,z}
Fe	3	1,13±0,24	0,03±0,003	61,2±7,5 ^{c,y}
Zn	3	22±2	8,25±1,04 ^b	19,35±1,04 ^z
Mn	3	7,38±0,87	8,30±0,19	86±9 ^{c,z}
Cu	3	1,64±0,04	2,00±0,21	10 ±1,1 ^{c,z}
Ni	3	0,28±0,09	0,76±0,06 ^b	0,61±0,08 ^a
Cd	3	0,001±0,001	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01
Cr	3	0,19±0,05	0,00±0,00 ^b	0,02±0,01 ^x
Pb	3	0,01±0,001	0,88±0,27 ^b	0,01±0,01 ^y
Co	3	0,04±0,003	0,06±0,002	0,04±0,01
Al	3	0,00±0,00	0,00±0,00	18,78±5,81 ^{b,y}

a: p< 0,05, b;p<0,01, c:p<0,001, d:p<0,0001 (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x:p<0,05, y:p<0,01, z:p<0,001, t: p<0,0001 (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinde ortalama metal miktarlarının kaynatma, demleme, kuru yakma işlemlerine göre değişimi incelendiğinde Na (p<0,001), K, Cr (p<0,05), Zn, Ni, Cr, Pb (p<0,01) metalleri için kaynatma işleminin demleme işlemine göre anlamlı olduğu görüldü. Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu (p<0,001), K, Ni (p<0,05) ve Al (p<0,01) metalleri için kaynatma işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu saptandı. Ca, Mg, Zn, Mn, Cu (p<0,001), Cr (p<0,05) , Fe, Pb, Al (p<0,01)

metalleri için ise demleme işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu tespit edildi.

Tablo 4.1. incelendiğinde Na, Zn ve Cr kaynatma işleminde; Ni ve Pb demleme işleminde, diğer metallerin ise kuru yakma işleminde daha fazla çözelti ortamına geçtiği gözlemlendi. Kuru yakma işlemi sonucu elde edilen verilere göre, demleme ve kaynatma işleminde metal miktarlarının önemli bir kısmı geçmemektedir. Bunun nedeni, kuru yakma işlemi sonucu metalleri tutabilecek organik yapıların tamamen parçalanmasından kaynaklanır.

Piyasada işlenmiş ve paketlenmiş olarak tüketilen ıhlamur poşet çaylarının metal içeriklerinin kaynama, demleme ve kuru yakma işlemlerine göre değişimi Tablo 4.2.' de verilmiştir.

Tablo 4.2. Piyasada işlenmiş olarak tüketilen ıhlamur örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi

Parametreler	Grup sayısı	Kaynatma	Demleme	Kuru yakma
Na	3	72274±11697	60181±11727 ^b	44895± 202 ^b
K	3	16089±3829	17391±8633	19931±1091
Ca	3	17933±5558	17558±4571	35702±3390 ^x
Mg	3	11419±2151	12589±2814	12056±194
Fe	3	10±2	0,29±0,29	168±35 ^{b,y}
Zn	3	13±4	2,94±0,96 ^a	19±1,3 ^y
Mn	3	8,98±1,37	9,89±1,86	69±14 ^{b,y}
Cu	3	1,61±0,37	1,47±0,48	6,38±1,49 ^{a,x}
Ni	3	0,02±0,01	0,98±0,25 ^b	0,25±0,13 ^x
Cd	3	0,0003±0,001	0,01±0,01	0,04±0,005 ^{b,x}
Cr	3	0,31±0,25	0,00±0,00	0,08±0,07
Pb	3	0,71±0,71	0,06±0,06	1,47±0,43
Co	3	0,09±0,01	0,09±0,001	0,08±0,01
Al	3	2,32±0,68	0,16±0,16	90±14 ^{c,z}

a: p< 0,05, b:p<0,01, c:p<0,001, d:p<0,0001 (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x:p<0,05, y:p<0,01, z:p<0,001, t: p<0,0001 (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

Tablo 4.2. incelendiğinde, Na, Ni ($p<0,01$) ve Ni ($p<0,05$) metalleri için kaynatma işleminin demleme işlemine göre anlamlı olduğu görüldü. Kaynatma işleminin Na, Fe, Cd ($p<0,01$), Cu ($p<0,05$) ve Al ($p<0,001$) metalleri için kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu tespit edildi. Tabloda Ca, Cu, Ni, Cd ($p<0,05$), Fe, Zn, Mn ($p<0,01$) ve Al ($p<0,001$) metalleri için demleme işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu görüldü.

Tablo 4.2.incelendiğinde kaynatma işleminde Na ve Cr, demleme işleminde Mg ve Ni, kuru yakma işleminde ise K, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, Cd, Pb, Co ve Al çözelti ortamına daha fazla geçtiği tespit edildi.

Elazığ, Kayseri ve İstanbul bölgelerinde aktarlarda açık olarak satılan nane örneklerindeki metal miktarlarının, infüzyon, dekoksiyon ve kuru yakma işlemlerine göre değişimi Tablo 4.3. 'de verilmiştir

Tablo 4.3. Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen nane örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi

Parametreler	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Kuru yakma
Na	3	88997 $\pm$ 1684	44798 $\pm$ 357 ^c	42918 $\pm$ 203 ^c
K	3	16818 $\pm$ 3132	12319 $\pm$ 412	29532 $\pm$ 5120 ^{a,x}
Ca	3	15909 $\pm$ 335	14392 $\pm$ 1846	32872 $\pm$ 2170 ^{c,z}
Mg	3	10442 $\pm$ 458	15048 $\pm$ 4382	17293 $\pm$ 834
Fe	3	4,59 $\pm$ 0,53	3,03 $\pm$ 0,56	436 $\pm$ 32 ^{c,z}
Zn	3	13 $\pm$ 1	3,52 $\pm$ 0,97 ^b	22 $\pm$ 1 ^{b,z}
Mn	3	15 $\pm$ 1	19 $\pm$ 3	86 $\pm$ 12 ^{b,y}
Cu	3	2,51 $\pm$ 0,40	2,18 $\pm$ 0,14	11 $\pm$ 0,6 ^{c,z}
Ni	3	0,45 $\pm$ 0,34	1,06 $\pm$ 0,29	2,03 $\pm$ 0,81
Cd	3	0,01 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,006	0,03 $\pm$ 0,02
Cr	3	0,15 $\pm$ 0,05	0,00 $\pm$ 0,00	0,62 $\pm$ 0,09 ^{b,z}
Pb	3	0,00 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,10
Co	3	0,26 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,02 ^{c,z}
Al	3	3,66 $\pm$ 0,41	3,08 $\pm$ 0,07	313 $\pm$ 12 ^{c,z}

a: $p< 0,05$, b: $p<0,01$, c: $p<0,001$, d: $p<0,0001$ (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x: $p<0,05$, y: $p<0,01$, z: $p<0,001$, t: $p<0,0001$ (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

Aktarlardan işlenmemiş olarak temin edilen nane örneklerinde ortalama metal miktarlarının kaynatma, demleme, kuru yakma işlemlerine göre değişimi incelendiğinde Na (0,001), Zn (0,01) için kaynatma işleminin demleme işlemine göre anlamlı olduğu görüldü. Na, Ca, Fe, Cu, Co, Al ($p<0,001$), Zn, Mn, Cr ($p<0,01$), K ($p<0,05$) için kaynatma işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu tespit edildi. Demleme işleminin ise K ($p<0,05$), Ca, Fe, Zn, Cu, Cr, Co, Al ($p<0,001$) ve Mn ($p<0,01$) için kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu saptandı.

Tablo 4.3.' e göre Na en fazla kaynatma işleminde çözelti ortamına geçerken diğer metaller en fazla kuru yakma işleminde çözelti ortamına geçmiştir.

Piyasada işlenmiş ve paketlenmiş olarak tüketilen nane poşet çaylarının metal içeriklerinin kaynama, demleme ve kuru yakma işlemlerine göre değişimi Tablo 4.4.' de verilmiştir.

Tablo 4.4. Piyasada işlenmiş olarak tüketilen nane örneklerinde ortalama ağır metal miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesi

Parametreler	Grup sayısı	Kaynatma	Demleme	Kuru yakma
Na	3	58442 $\pm$ 5638	57540 $\pm$ 4792 ^c	43799 $\pm$ 435 ^c
K	3	18883 $\pm$ 1203	18761 $\pm$ 865	27020 $\pm$ 1372 ^{b,y}
Ca	3	16955 $\pm$ 2852	16518 $\pm$ 1578	24848 $\pm$ 3379
Mg	3	12372 $\pm$ 1774	12318 $\pm$ 970	13727 $\pm$ 1318
Fe	3	8,19 $\pm$ 2,63	9,42 $\pm$ 1,02	374 $\pm$ 135 ^{a,x}
Zn	3	25 $\pm$ 6	2,22 $\pm$ 1,59 ^b	17 $\pm$ 0,5 ^x
Mn	3	12 $\pm$ 0,5	17 $\pm$ 3	60 $\pm$ 7 ^{c,y}
Cu	3	2,27 $\pm$ 0,28	1,92 $\pm$ 0,28	10 $\pm$ 1 ^{c,z}
Ni	3	0,58 $\pm$ 0,17	2,18 $\pm$ 0,28 ^a	1,49 $\pm$ 0,48
Cd	3	0,00 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,001 ^c	0,01 $\pm$ 0,004 ^y
Cr	3	0,34 $\pm$ 0,15	0,45 $\pm$ 0,22	0,85 $\pm$ 0,27
Pb	3	0,03 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,37 $\pm$ 0,14 ^a
Co	3	0,27 $\pm$ 0,09	0,32 $\pm$ 0,12	0,29 $\pm$ 0,08
Al	3	4,71 $\pm$ 1,85	2,01 $\pm$ 0,80	261 $\pm$ 105 ^{a,x}

a: $p<0,05$, b: $p<0,01$, c: $p<0,001$, d: $p<0,0001$ (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x: $p<0,05$, y: $p<0,01$, z: $p<0,001$, t: $p<0,0001$ (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

Piyasada işlenmiş ve poşetlenmiş olarak tüketilen nane poşet çaylarının ortalama metal miktarlarının kaynatma, demleme, kuru yakma işlemlerine göre değişimi incelendiğinde Na, Cd ($p<0,001$), Zn ($p<0,01$), Ni ($p<0,05$) için kaynatma işleminin demleme işlemine göre anlamlı olduğu görüldü. Kaynatma işlemi işle kuru yakma işlemi karşılaştırıldığında Na, Mn, Cu ($p<0,001$), Fe, Pb, Al ($p<0,05$), K ($p<0,01$) için bu iki yöntemin birbirlerine göre anlamlı olduğu saptandı. Fe, Zn, Al ($p<0,05$), K, Mn, Cd ($p<0,01$) ve Cu ($p<0,001$) için demleme işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu tespit edildi.

Tablo 4.4.' e göre kaynatma işleminde en fazla Na ve Zn metalleri, demleme işleminde en fazla Ni, Cd ve Co metalleri çözelti ortamına geçmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar literatürlerdeki verilerle karşılaştırıldığında;

Zengin ve ark.(2004), bitkilerin 10 dakikalık demleme sonucunda suya geçen mineral madde içerikleri ile ilgili yapılan çalışmada; nane çayının (*Mentha pipenita*) Al (1,17 ppm), B (44,26 ppm), Ca (4746,0 ppm), Cd (0,053 ppm), Co (0,28 ppm) ve Cr (0,27 ppm), Cu (1,25 ppm), Fe (1,33 ppm), K (18133 ppm), Li (21,84 ppm), Mg (490,59), Mn (23,19 ppm), N (3766,7 ppm), Na (897,9 ppm), Ni (1,37 ppm), P (2199,8 ppm), Pb (0,27 ppm), Zn (17,51 ppm), ıhlamur çayının (*Tilia cordata*) Ca (877,3 ppm), Cu (1,86 ppm), K (7533 ppm), Fe (4,25 ppm), Mg (396,84), Mn (20,69 ppm), Na (64,7 ppm), P(531,3 ppm), Zn (1,98 ppm) içerdiğini tespit etmişlerdir [85].

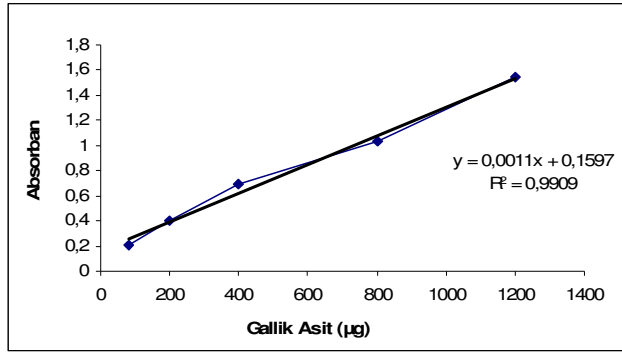
Başgel ve Erdemoğlu (2005), bitkilerin 30 dakika demlenmesiyle elde edilen bitkisel çayların mineral madde içeriğini araştırmışlar ve suya geçen mineralleri; ıhlamur çayında (*Tilia*) 17,740 mg/kg Ca, 764 mg/kg Mg, 2,45 mg/kg Fe, 7,40 mg/kg Al, 5,5 mg/kg Mn, 9,90 mg/kg Zn 3,85 mg/kg Cu, olarak tespit etmişlerdir [73].

Bu çalışmada; bitkilerin 10 dakika demlenmesi ile tespit edilen değerler, Zengin ve ark. (2004)'nın aynı sürede demlemesi sonucu elde ettiği verilerle karşılaştırıldığında, işlenmemiş nane için Al, Ca, Cd, Fe, Mg, Na daha yüksek; Co Cr, Cu, K, Mn, Ni, Pb, Zn daha düşük çıkmıştır. İşlenmiş nane örnekleri ile Zengin ve arkadaşlarının sonuçları karşılaştırıldığında Al, Ca, Co, Fe, Cu, K, Mg, Na, Ni, Cr daha yüksek, Cd, Mn, Pb, Zn ise daha düşük çıkmıştır. İşlenmemiş ve işlenmiş ıhlamur örnekleri için karşılaştırma yapıldığında Na, K, Ca, Mg, Zn ve Cu' ın daha yüksek; Fe ve Mn' ın daha düşük çıktığı görülmektedir

4.2. Toplam Fenol Tayini

İhlamur ve nane örneklerinden elde edilen infüzyon, dekoksiyon ve ekstratlarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı için standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Bunun için öncelikle gallik asitten standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formülden de infüzyon, dekoksiyon ve ekstratlarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit ekivalent (GAE) olarak hesaplandı (r^2 : 0,9909). Bu amaçla hazırlanan standart gallik asit grafiği Şekil 4.1’ de verilmiştir.

$$\text{Absorbans } (\lambda 760 \text{ nm}) = 0,0011 \times [\text{Gallik Asit}]$$



Şekil 4.1. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

Elazığ, Kayseri ve İstanbul bölgelerinde aktarlarda açık olarak satılan ıhlamur, nane bitkilerindeki ve piyasada işlenmiş olarak tüketilen ıhlamur, nane poşet çayı örneklerindeki toplam fenol miktarlarının, infüzyon, dekoksiyon ve ekstraksiyon işlemlerine göre elde edilen veriler Tablo 4.5’ de verilmiştir.

Tablo 4.5. İhlamur ve nane örneklerindeki ortalama fenol miktarlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Ekstraksiyon
Açık ıhlamur	3	7862 ±782	13982±663 ^b	13410±808 ^b
İşlenmiş ıhlamur	3	7657±2105	10058±3466	8268±2914
Açık nane	3	14769±108	19339±346	19064±3140
İşlenmiş nane	3	12672±343	14024±1034	14029±977

a: $p < 0,05$, b: $p < 0,01$, c: $p < 0,001$, d: $p < 0,0001$ (kaynatmanın demleme ve ekstraksiyona göre değerlendirilmesi)

x: $p < 0,05$, y: $p < 0,01$, z: $p < 0,001$, t: $p < 0,0001$ (demlemenin ekstraksiyona göre değerlendirilmesi)

İhlamur ve nane örneklerindeki ortalama fenol miktarlarının kaynatma, demleme ve ekstraksiyon işlemlerine göre değişimi incelendiğinde aktarlardan işlenmemiş olarak alınan ıhlamur örnekleri için kaynatma işleminin demleme ve ekstraksiyon işlemlerine göre anlamlı olduğu görüldü ($p<0,01$).

Tablo 4.5' e göre kaynatma (infüzyon), demleme (dekoksasyon) ve ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen toplam fenol miktarları incelendiğinde, en yüksek fenol miktarının işlenmemiş nane örneklerinde olduğu görülmektedir.

İhlamur ve nane örneklerine ait toplam fenolik madde analizleri ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur.

Karakaya ve arkadaşları çalışmalarında içlerinde ıhlamur ve nane bitkilerinin bulunduğu Türkiye'de yaygın olarak tüketilen bitkilerdeki toplam fenol ve toplam antioksidan aktivitesini belirlemeyi amaçlamışlardır. Toplam fenol için Folin–Ciocalteu metodunu kullanmışlardır. Karakaya ve arkadaşları örneklerindeki toplam fenolün 68 – 4162 mg/l aralığında değişiklik gösterdiği sonucuna varmışlardır [77].

Negi ve arkadaşları çalışmalarında ıhlamur çiçeğindeki toplam fenolik bileşik miktarını incelemişlerdir. Çalışmalarında Gallik Asit ve Folin–Ciocalteu reaktiflerini kullanmışlardır. Sonuç olarak ıhlamur çiçeğindeki toplam fenolik bileşiklerin 0,27 – 24 mg aralığında olduğunu tespit etmişlerdir [68].

Toplam fenolik madde tayini için kullandığım bütün yöntemlerde elde ettiğim sonuçlar Karakaya ve arkadaşlarının bulmuş oldukları toplam fenol aralığından daha yüksek çıkmıştır.

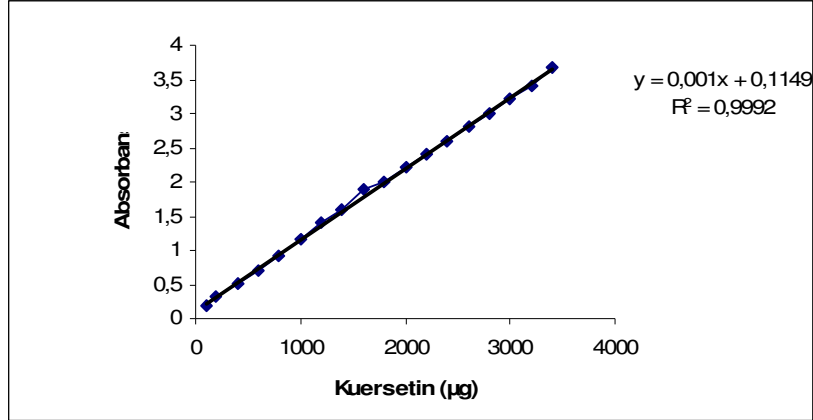
4.3. Toplam Flavonoid Tayini

İhlamur ve nane örneklerinden elde edilen infüzyon, dekoksasyon ve ekstraktlarında bulunan toplam flavonoid miktarı için standart olarak kuersetin kullanıldı. Bunun için standart bir grafik hazırlandı.

Standart grafikten elde edilen formül yardımıyla toplam flavonoid miktarı kuersetin ekivalent (QE) olarak hesaplandı (r^2 : 0,9992). Bu amaçla hazırlanan standart kuersetin grafiği Şekil 4.2.' de verilmiştir.

$$\text{Absorbans } (\lambda_{415 \text{ nm}}) = 0,001 \times [\text{Flavonoid}]$$

Şekil 4.2. Toplam flavonoid miktarı tayini için kuersetin ile hazırlanan standart grafik



Elazığ, Kayseri ve İstanbul bölgelerinde aktarlarda açık olarak satılan ıhlamur, nane bitkilerindeki ve piyasada işlenmiş olarak tüketilen ıhlamur, nane poşet çayı örneklerindeki toplam flavonoid miktarlarının, infüzyon, dekoksasyon ve ekstraksiyon işlemlerine göre değişimi Tablo 4.6. 'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Ihlamur ve nane örneklerindeki ortalama flavonoid miktarlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Ekstraksiyon
Açık ıhlamur	3	2593±935	4446±333	31282±3634 ^{c,z}
İşlenmiş ıhlamur	3	2048±1404	5094±2446	26520±4862 ^{b,y}
Açık nane	3	34327±10824	54691±11828	43372±3035
İşlenmiş nane	3	21531±3356	27144±5742	45800±1627 ^{b,x}

a: $p < 0,05$, b: $p < 0,01$, c: $p < 0,001$, d: $p < 0,0001$ (kaynatmanın demleme ve ekstraksiyona göre değerlendirilmesi)

x: $p < 0,05$, y: $p < 0,01$, z: $p < 0,001$, t: $p < 0,0001$ (demlemenin ekstraksiyona göre değerlendirilmesi)

Ihlamur ve nane örneklerindeki ortalama flavonoid miktarlarının kaynatma, demleme ve ekstraksiyon işlemlerine göre değişimi incelendiğinde işlenmiş, nane ve ıhlamur örnekleri ($p < 0,01$) ve işlenmemiş ıhlamur örnekleri ($p < 0,001$) için kaynatma işleminin ekstraksiyon işlemine göre anlamlı olduğu görüldü. İşlenmiş nane ($p < 0,05$), işlenmiş ıhlamur ($p < 0,01$) ve işlenmemiş ıhlamur ($p < 0,001$) örnekleri için demleme işleminin ekstraksiyon işlemine göre anlamlı olduğu tespit edildi.

Tablo 4. 6.' ya göre kaynatma ve demleme işlemleri karşılaştırıldığında açık/işlenmiş ıhlamur ve açık/işlenmiş nane örneklerinde flavonoid miktarlarının en fazla demleme işleminde çözelti ortamına geçtiği görülmektedir.

Literatür çalışmalarında nane ve ıhlamur bitkilerinde çeşitli yöntemlerle fenol ve flavonoid varlığı tespit edilmiştir[66, 71, 77].

4.4. Antioksidan Kapasitesi

Elazığ, Kayseri, İstanbul olmak üzere üç farklı bölgeden alınan işlenmemiş ıhlamur, nane örneklerinin ve piyasada işlenmiş, paketlenmiş olarak tüketilen üç farklı markadaki ıhlamur, nane poşet çaylarının antioksidan kapasitesinin DPPH süpürme aktivitesi metoduna göre sonuçları Tablo 4.7. 'de verilmiştir.

Tablo 4.7.' de en çok antioksidan aktivite gösteren bitki İstanbul Bölgesinden alınan işlenmemiş ıhlamur örneklerinde ve Elazığ'dan alınan işlenmemiş nane örneklerinde görülmüştür. Tabloya genel olarak bakıldığında işlenmemiş ıhlamur ve nane örnekleri poşet çaylara göre daha fazla antioksidan özellik taşımaktadırlar. Bilinen antioksidan maddelerden Gallik Asit ve kuersetinin DPPH yüzde değerleri nane ve ıhlamur örneklerinin yüzde değerleriyle yakınlık göstermektedirler.

Tablo 4.7. ıhlamur ve Nane örneklerinin DPPH Süpürme Aktivitesi sonuçları

Örnekler	% DPPH antioksidan aktivitesi
ENa	%79,26
KNa	%76,51
İNa	%74,07
1Nk	%20,85
2Nk	%73,76
3Nk	%76,30
Eİa	%79,05
Kİa	%77,78
İİa	%82,33
1İk	%71,22
2İk	%78,73
3İk	%77,99
Gallik asit	%85,29
Kuersetin	%90,69

ENa: Elazığ’ dan alınan işlenmemiş nane örneği
KNa: Kayseri’ den alınan işlenmemiş nane örneği
İNa: İstanbul’ dan alınan işlenmemiş nane örneği
1Nk: 1 numaralı markadaki nane poşet çayı
2Nk: 2 numaralı markadaki nane poşet çayı
3Nk: 3 numaralı markadaki nane poşet çayı
EIa: Elazığ’ dan alınan işlenmemiş ıhlamur örneği
KIa: Kayseri’ den alınan işlenmemiş ıhlamur örneği
İIa: İstanbul’ dan alınan işlenmemiş ıhlamur örneği
1Ik: 1 numaralı markadaki ıhlamur poşet çayı
2Ik: 2 numaralı markadaki ıhlamur poşet çayı
3Ik: 3 numaralı markadaki ıhlamur poşet çayı

Caillet ve arkadaşları yaptıkları çalışmada birçok bitkisel ürünün su ve etanolik ekstraksiyonunda antioksidan aktivitesini hidroksil radikal yakalama yöntemiyle ve ayrıca çözgen sistemlerinin etkinliğini incelemiş, nanenin (%71,7) çoğu ticari kimyasal gıda katkısından daha yüksek oranda antioksidan aktivite içerdiklerini ortaya koymuşlardır [79].

Moraes–de-Souza ve arkadaşları çalışmalarında antioksidan aktivitesi için DPPH (2,2’-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ve BCB (β -carotene bleaching test) metodlarını kullanmışlardır. Moraes-de-Souza ve arkadaşları araştırmalarında nane bitkisinde aralarında bulunduğu bazı bitkisel infüzyonların iyi birer antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varmışlardır [66].

Sweetie ve arkadaşları Hindistan mutfığında yaygın bir şekilde kullanılan nane yaprağında toplam fenol ve flavonoid miktarını ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Nane ekstraktlarının iyi derecede toplam fenol ve flavonoid içerdiğini tespit etmişlerdir. Antioksidan aktivitesi için β -karoten ağartma ve 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) deneyleri yapılmış ve deney sonucunda nane ekstraktlarının mükemmel bir antioksidan aktivitesi sergilediğini kaydetmişlerdir [71].

ıhlamur ve nane bitkilerinde tespit ettiğim yüzde antioksidan değerleri Caillet ve arkadaşlarının sonuçlarıyla karşılaştırıldığında birbirlerine yakın değerler olduğu görülmektedir. Sweetie ve Moraes–de-Souza’nın tespit ettiği sonuçlarda elde ettiğim sonuçlarla örtüşmektedir.

İhlamur ve nane bitkilerinin kaynatma, demleme ve ekstraksiyon işlemleri sonucu içerdikleri toplam fenol, flavonoid ve antioksidan miktarlarının metal içeriği ile korelasyonlarının verildiği tablolar aşağıda verilmiştir. Buna göre Tablo 4.8.' de fenolün Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn ve Cd ile pozitif; Al, Co, Pb ve Ni ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Fenolün Na, K, Mg ve Zn ile olan pozitif korelasyonu oldukça güçlüdür. Flavonoid Tablo 4.5.' de Cr, Co ve Al ile pozitif, Cd ve Cu ile negatif korelasyon göstermiştir.

Tablo 4.9.' da Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Buna göre fenol Pb ile pozitif ,Na, Mg, Ca ile oldukça güçlü ve pozitif; flavonoid, K, Ni, Cd ve Cr ile negatif korelasyon göstermiştir. Fenolün flavonoid, K, Cd ve Cr ile olan negatif korelasyonu oldukça güçlüdür. Tablo 4.9.' da flavonoidin fenol ve metallerle olan korelasyonuna bakıldığında K ve Cd ile güçlü bir şekilde olmak üzere, Cu, Cr ve Co ile pozitif; Na, Ca, Mg ve Al ile negatif korelasyon göstermiştir.

Tablo 4.10.' da Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda kuru yakma işlemi sonucu metal içeriği ile ekstraksiyon sonucu fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Tabloya göre fenolün Na, K, Ca, Mg ve Ni ile pozitif; Fe, Zn, Mn, Cu, Cd, Cr, Pb, Co ve Al ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Fenol Na ve Mg ile oldukça yakın ve güçlü bir pozitif korelasyon göstermekteyken, Fe, Mn, Cu, Cd ve Al ile olan negatif korelasyonunda güçlüdür. Tabloda flavonoid Zn ile güçlü olmak üzere, Fe, Mn, Cd ve Al ile pozitif; Mg ve Ni ile negatif korelasyon göstermiştir. Antioksidan aktivitesinin ise Na, K, Ca, Mg ile pozitif; Fe, Mn, Cu, Cd, Cr, Pb, Co ve Al ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Fenol, flavonoid ve antioksidan aktivitesinin birbirleriyle olan ilişkilerine bakıldığında fenolün flavonoid ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerlerinin verildiği Tablo 4.11.' de fenolün Ni ile pozitif; Na, Ca, Mg, Zn, Cu, Cr ve Pb ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Tabloya göre flavonoid ile Na, Ca, Mg, Zn, Cu, Cr ve Pb arasında oldukça güçlü bir pozitif korelasyon olduğu açıktır. Tabloda ayrıca fenol ile flavonoidin birbirlerine göre negatif korelasyonları tespit edilmiştir.

Tablo 4.12.' de piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Buna göre fenol Mn ile pozitif; Na, K, Ca, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr ve Al ile negatif korelasyon göstermektedir. Flavonoidin metallerle olan ilişkisine bakıldığında ise Fe ve Pb ile pozitif; Co ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri Tablo 4.13.' de verilmiştir. Buna göre fenol ile Fe, Zn, Mn, Cu, Ni ve Al ile pozitif; Ca, Mg, Cr ve Co ile negatif korelasyon göstermektedir. Flavonoid Pb ile pozitif korelasyon gösterirken, antioksidan aktivitesi K ile pozitif; Na ile negatif korelasyon göstermektedir.

Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerlerinin verildiği Tablo 4.14.' e göre fenol Fe ile; flavonoid Na, K, Ca, Mg ile negatif korelasyon göstermektedir. Tabloda flavonoidin Ni ve Cr ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.15.' de aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Buna göre fenol Na ile güçlü bir şekilde olmak üzere, Ca, Mg, Fe, Ni ve Pb ile pozitif; Cr ve Al ile negatif korelasyon göstermektedir. Tabloda flavonoidin Na, Mg, Fe, Zn ve Ni ile pozitif; Cr ve Al ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Tablo 4. 15.' e göre fenol ile flavonoid arasında pozitif ve çok güçlü bir korelasyon saptanmıştır.

Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri Tablo 4.16.' da verilmiştir. Tabloda fenolün Fe ve Al ile güçlü olmak üzere, Na, Co ile pozitif; Ca ve Mg ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Tabloya göre flavonoid Ni, Cd, Cr ve Pb ile pozitif korelasyon gösterirken, Mn ile negatif korelasyon göstermiştir. Antioksidan aktivitesinin Tablo 4.16' da metallerle olan korelasyonuna bakıldığında Cu, Ni, Cd ve Cr ile oldukça güçlü bir pozitif korelasyonun olduğu görülmektedir. Ayrıca antioksidan aktivitesi ile K arasına negatif bir korelasyon söz konusudur. Tabloya göre fenol, flavonoid ve antioksidan aktivitesinin birbirleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, flavonoid ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

Tablo 4.17.' de piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Buna göre fenol ile Fe, Cu ve Cr arasında pozitif; Ca, Mg, Ni ve Co arasında negatif korelasyon görülmektedir. Tabloda flavonoid ile Zn ve Al arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir.

Tablo 4.18.' de piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri verilmiştir. Tabloda fenolün K ve Fe ile çok güçlü bir şekilde pozitif; Pb ile ise negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Flavonoid ise K ile negatif, Cr ile pozitif korelasyon göstermiştir. Tablo 4.18.' de fenol ve flavonoidin birbirleri ile negatif bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır.

Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri Tablo 4.19.' da verilmiştir. Buna göre fenolün Zn, Cu ve Cd ile pozitif, Pb ile negatif; flavonoidin ise Zn, Cu, Cd ve Cr ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Antioksidan aktivitesinin metallerle olan ilişkisi incelendiğinde K, Mg, Mn ve Co ile pozitif, Na ve Ca ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca tabloda fenol ile flavonoid arasında pozitif korelasyon olduğu açıktır.

Tablo 4.8.Aktarlardan alınan işlenmemiş ihlamurlarda kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00															
Flavonoid	-0,27	1,00														
Na	0,99	-0,11	1,00													
K	0,87	0,23	0,94	1,00												
Ca	0,98	-0,09	1,00	0,95	1,00											
Mg	0,94	0,08	0,98	0,99	0,99	1,00										
Fe	0,97	-0,50	0,92	0,73	0,91	0,82	1,00									
Zn	0,98	-0,43	0,94	0,78	0,94	0,86	1,00	1,00								
Mn	0,84	0,29	0,92	1,00	0,93	0,98	0,68	0,74	1,00							
Cu	0,48	-0,98	0,32	-0,01	0,31	0,14	0,68	0,62	-0,08	1,00						
Ni	-0,70	-0,49	-0,81	-0,96	-0,82	-0,91	-0,51	-0,57	-0,98	0,29	1,00					
Cd	0,74	-0,85	0,62	0,31	0,60	0,46	0,88	0,84	0,26	0,94	-0,04	1,00				
Cr	0,22	0,88	0,38	0,67	0,39	0,55	-0,02	0,05	0,71	-0,75	-0,85	-0,50	1,00			
Pb	-0,83	-0,31	-0,91	-1,00	-0,92	-0,97	-0,67	-0,72	-1,00	0,10	0,98	-0,23	-0,73	1,00		
Co	-0,80	0,80	-0,68	-0,40	-0,67	-0,54	-0,92	-0,89	-0,34	-0,91	0,13	-1,00	0,42	0,32	1,00	
Al	-0,92	0,63	-0,84	-0,61	-0,83	-0,72	-0,99	-0,97	-0,56	-0,79	0,36	-0,94	0,19	0,54	0,97	1,00

Tablo 4.9. Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00															
Flavonoid	-0,94	1,00														
Na	0,94	-0,99	1,00													
K	-0,96	0,99	-0,99	1,00												
Ca	0,92	-0,99	1,00	-0,99	1,00											
Mg	1,00	-0,92	0,92	-0,95	0,90	1,00										
Fe	-0,18	0,50	-0,50	0,45	-0,55	-0,14	1,00									
Zn	0,11	0,23	-0,23	0,17	-0,28	0,16	0,96	1,00								
Mn	0,26	0,09	-0,09	0,03	-0,14	0,30	0,91	0,99	1,00							
Cu	-0,59	0,83	-0,83	0,80	-0,86	-0,55	0,90	0,74	0,63	1,00						
Ni	-0,79	0,54	-0,54	0,59	-0,49	-0,82	-0,46	-0,69	-0,79	-0,02	1,00					
Cd	-0,95	0,99	-1,00	1,00	-1,00	-0,94	0,46	0,19	0,05	0,80	0,58	1,00				
Cr	-0,98	0,86	-0,86	0,89	-0,84	-0,99	0,00	-0,29	-0,42	0,44	0,89	0,89	1,00			
Pb	0,78	-0,52	0,52	-0,57	0,47	0,81	0,48	0,71	0,80	0,05	-1,00	-0,56	-0,88	1,00		
Co	-0,33	0,63	-0,63	0,58	-0,67	-0,29	0,99	0,90	0,83	0,96	-0,31	0,60	0,16	0,33	1,00	
Al	0,98	-0,86	0,86	-0,89	0,84	0,99	0,00	0,29	0,42	-0,44	-0,89	-0,89	-0,99	0,88	-0,16	1,00

Tablo 4.10. Aktarlardan alınan işlenmemiş ıhlamurlarda kuru yakma işlemi sonucu metal içeriği ile ekstraksiyon sonucu fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	A.A.*	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00																
Flavonoid	-0,85	1,00															
A.A.*	0,95	-0,64	1,00														
Na	0,95	-0,65	0,99	1,00													
K	0,84	-0,43	0,97	0,97	1,00												
Ca	0,66	-0,16	0,86	0,86	0,96	1,00											
Mg	0,93	-0,98	0,77	0,77	0,58	0,33	1,00										
Fe	-0,99	0,75	-0,99	-0,99	-0,92	-0,77	-0,86	1,00									
Zn	-0,84	0,99	-0,63	-0,64	-0,42	-0,15	-0,98	0,75	1,00								
Mn	-0,99	0,83	-0,96	-0,96	-0,86	-0,68	-0,92	0,99	0,83	1,00							
Cu	-0,91	0,55	-0,99	-0,99	-0,99	-0,91	-0,69	0,96	0,54	0,92	1,00						
Ni	0,75	-0,99	0,52	0,52	0,29	0,01	0,95	-0,64	-0,99	-0,74	-0,42	1,00					
Cd	-0,99	0,89	-0,92	-0,92	-0,79	-0,59	-0,96	0,97	0,89	0,99	0,87	-0,81	1,00				
Cr	-0,84	0,42	-0,97	-0,97	-1,00	-0,96	-0,58	0,92	0,42	0,86	0,99	-0,28	0,79	1,00			
Pb	-0,84	0,42	-0,97	-0,97	-1,00	-0,96	-0,58	0,92	0,42	0,86	0,99	-0,28	0,79	1,00	1,00		
Co	-0,84	0,42	-0,97	-0,97	-1,00	-0,96	-0,58	0,92	0,42	0,86	0,99	-0,28	0,79	1,00	1,00	1,00	
Al	-0,98	0,73	-0,99	-0,99	-0,93	-0,79	-0,84	1,00	0,72	0,99	0,97	-0,61	0,96	0,93	0,93	0,93	1,00

*: Antioksidan Aktivitesi

Tablo 4.11. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1															
Flavonoid	-0,94	1														
Na	-0,92	0,99	1													
K	0,35	-0,03	0,01	1												
Ca	-0,98	0,98	0,97	-0,21	1											
Mg	-0,96	0,99	0,99	-0,11	0,99	1										
Fe	-0,48	0,17	0,12	-0,99	0,35	0,24	1									
Zn	-0,97	0,99	0,98	-0,13	0,99	0,99	0,26	1								
Mn	0,54	-0,24	-0,19	0,97	-0,41	-0,31	-0,99	-0,33	1							
Cu	-0,74	0,91	0,93	0,36	0,83	0,88	-0,22	0,87	0,16	1						
Ni	0,75	-0,50	-0,46	0,88	-0,65	-0,56	-0,93	-0,58	0,95	-0,12	1					
Cd	0,18	-0,49	-0,53	-0,85	-0,32	-0,42	0,76	-0,40	-0,72	-0,79	-0,5	1				
Cr	-0,88	0,98	0,99	0,11	0,94	0,97	0,02	0,97	-0,09	0,96	-0,37	-0,61	1			
Pb	-0,94	0,99	0,99	-0,02	0,98	0,99	0,16	0,99	-0,23	0,92	-0,5	-0,5	0,98	1		
Co	0,18	0,13	0,18	0,98	-0,04	0,065	-0,95	0,04	0,92	0,51	0,78	-0,92	0,28	0,14	1	
Al	0,53	-0,78	-0,81	-0,59	-0,65	-0,73	0,47	-0,71	-0,41	-0,96	-0,14	0,92	-0,86	-0,78	-0,72	1

Tablo 4.12. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol ve flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1															
Flavonoid	0,12	1														
Na	-0,99	-0,15	1													
K	-0,99	-0,24	0,99	1												
Ca	-0,99	-0,21	0,99	0,99	1											
Mg	-1	-0,13	0,99	0,99	0,99	1										
Fe	0,42	0,95	-0,44	-0,52	-0,49	-0,42	1									
Zn	-0,98	0,01	0,98	0,96	0,97	0,98	-0,28	1								
Mn	0,99	0,10	-0,99	-0,98	-0,99	-0,99	0,40	-0,99	1							
Cu	-0,98	-0,31	0,98	0,99	0,99	0,98	-0,58	0,94	-0,97	1						
Ni	-0,98	-0,31	0,98	0,99	0,99	0,98	-0,58	0,94	-0,97	0,99	1					
Cd	-0,90	-0,54	0,91	0,94	0,93	0,90	-0,77	0,82	-0,89	0,96	0,96	1				
Cr	-0,99	-0,21	0,99	0,99	0,99	0,99	-0,5	0,97	-0,99	0,99	0,99	0,93	1			
Pb	0,42	0,95	-0,44	-0,52	-0,49	-0,42	1	-0,28	0,40	-0,58	-0,58	-0,77	-0,5	1		
Co	-0,09	-0,99	0,12	0,22	0,18	0,10	-0,94	-0,04	-0,07	0,28	0,28	0,52	0,18	-0,94	1	
Al	-0,99	-0,21	0,99	0,99	0,99	0,99	-0,5	0,97	-0,99	0,99	0,99	0,93	1	-0,5	0,18	1

Tablo 4.13. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet ıhlamur çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	A.A.*	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1																
Flavonoid	0,59	1															
A.A.*	-0,24	0,62	1														
Na	0,51	-0,38	-0,95	1													
K	0,02	0,81	0,96	-0,84	1												
Ca	-0,93	-0,83	-0,10	-0,18	-0,37	1											
Mg	-0,98	-0,44	0,41	-0,65	0,14	0,86	1										
Fe	0,99	0,69	-0,12	0,40	0,14	-0,97	-0,95	1									
Zn	0,97	0,76	-0,02	0,31	0,24	-0,99	-0,92	0,99	1								
Mn	0,99	0,54	-0,31	0,57	-0,04	-0,91	-0,99	0,98	0,95	1							
Cu	0,99	0,49	-0,36	0,61	-0,09	-0,88	-0,99	0,97	0,94	0,99	1						
Ni	0,93	0,29	-0,56	0,77	-0,31	-0,76	-0,98	0,89	0,84	0,96	0,97	1					
Cd	-0,87	-0,14	0,67	-0,85	0,45	0,65	0,94	-0,81	-0,75	-0,91	-0,93	-0,98	1				
Cr	-0,99	-0,54	0,30	-0,56	0,03	0,91	0,99	-0,98	-0,95	-0,99	-0,99	-0,95	0,90	1			
Pb	0,71	0,98	0,49	-0,23	0,71	-0,91	-0,58	0,79	0,85	0,66	0,62	0,43	-0,29	-0,67	1		
Co	-0,98	-0,45	0,40	-0,64	0,13	0,86	0,99	-0,95	-0,92	-0,99	-0,99	-0,98	0,94	0,99	-0,59	1	
Al	0,96	0,35	-0,50	0,73	-0,25	-0,80	-0,99	0,91	0,87	0,97	0,98	0,99	-0,97	-0,97	0,49	-0,99	1

*: Antioksidan Aktivitesi

Tablo 4.14. Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1															
Flavonoid	-0,02	1														
Na	0,00	-0,99	1													
K	-0,29	-0,95	0,96	1												
Ca	0,01	-0,99	1,00	0,95	1											
Mg	-0,28	-0,95	0,96	1,00	0,96	1										
Fe	-0,96	0,31	-0,30	0,00	-0,31	-0,02	1									
Zn	-0,88	0,48	-0,47	-0,19	-0,48	-0,20	0,98	1								
Mn	-0,77	-0,61	0,63	0,83	0,62	0,82	0,56	0,39	1							
Cu	-0,75	-0,65	0,66	0,85	0,65	0,85	0,52	0,35	1	1						
Ni	0,32	0,94	-0,95	-1,00	-0,94	-1,00	-0,03	0,16	-0,84	-0,87	1					
Cd	0,78	-0,63	0,62	0,36	0,63	0,37	-0,93	-0,98	-0,23	-0,18	-0,33	1				
Cr	-0,07	0,99	-1,00	-0,93	-1,00	-0,94	0,37	0,54	-0,57	-0,60	0,92	-0,67	1			
Pb	0,68	-0,74	0,73	0,50	0,74	0,51	-0,87	-0,95	-0,07	-0,03	-0,47	0,99	-0,78	1		
Co	-0,61	-0,78	0,79	0,93	0,78	0,93	0,35	0,17	0,97	0,98	-0,94	0,00	-0,74	0,16	1,00	
Al	-0,62	0,79	-0,78	-0,56	-0,78	-0,57	0,83	0,92	0,00	-0,04	0,53	-0,97	0,82	-1	-0,23	1

Tablo 4.15. Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00															
Flavonoid	0,98	1,00														
Na	0,99	0,98	1,00													
K	-0,06	0,16	-0,06	1,00												
Ca	0,74	0,87	0,75	0,62	1,00											
Mg	0,78	0,90	0,79	0,57	1,00	1,00										
Fe	0,84	0,94	0,85	0,48	0,99	1,00	1,00									
Zn	0,59	0,75	0,60	0,77	0,98	0,96	0,93	1,00								
Mn	0,19	-0,03	0,18	-0,99	-0,51	-0,46	-0,37	-0,68	1,00							
Cu	-0,28	-0,48	-0,29	-0,94	-0,85	-0,81	-0,75	-0,94	0,89	1,00						
Ni	0,87	0,96	0,88	0,43	0,98	0,99	1,00	0,91	-0,31	-0,71	1,00					
Cd	-0,23	-0,44	-0,24	-0,96	-0,82	-0,78	-0,72	-0,92	0,91	1,00	-0,67	1,00				
Cr	-0,89	-0,76	-0,88	0,52	-0,35	-0,41	-0,50	-0,15	-0,62	-0,20	-0,55	-0,25	1,00			
Pb	0,75	0,58	0,74	-0,71	0,11	0,17	0,27	-0,10	0,79	0,43	0,33	0,48	-0,97	1,00		
Co	-0,03	-0,25	-0,04	-1,00	-0,69	-0,65	-0,57	-0,83	0,97	0,97	-0,52	0,98	-0,43	0,64	1,00	
Al	-0,98	-0,99	-0,98	-0,15	-0,87	-0,90	-0,94	-0,75	0,02	0,47	-0,96	0,43	0,77	-0,59	0,24	1,00

Tablo 4.16. Aktarlardan alınan işlenmemiş nanelerde ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	A.A.*	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00																
Flavonoid	-0,05	1,00															
A.A.*	0,46	0,86	1,00														
Na	0,61	-0,82	-0,43	1,00													
K	-0,66	-0,72	-0,97	0,20	1,00												
Ca	-0,96	0,32	-0,20	-0,80	0,43	1,00											
Mg	-0,96	0,32	-0,20	-0,80	0,43	1,00	1,00										
Fe	0,99	-0,16	0,36	0,69	-0,57	-0,99	-0,99	1,00									
Zn	-0,89	0,50	-0,01	-0,90	0,24	0,98	0,98	-0,94	1,00								
Mn	0,45	-0,92	-0,59	0,98	0,38	-0,67	-0,67	0,54	-0,80	1,00							
Cu	0,57	0,79	0,99	-0,31	-0,99	-0,33	-0,33	0,47	-0,13	-0,49	1,00						
Ni	0,39	0,90	0,99	-0,49	-0,95	-0,14	-0,14	0,29	0,06	-0,65	0,98	1,00					
Cd	0,19	0,97	0,96	-0,66	-0,87	0,08	0,08	0,09	0,27	-0,79	0,92	0,98	1,00				
Cr	0,30	0,94	0,99	-0,57	-0,92	-0,04	-0,04	0,20	0,16	-0,72	0,96	1,00	0,99	1,00			
Pb	-0,63	0,81	0,40	-1,00	-0,17	0,82	0,81	-0,71	0,91	-0,98	0,28	0,46	0,64	0,55	1,00		
Co	0,67	-0,78	-0,36	1,00	0,12	-0,84	-0,84	0,74	-0,93	0,96	-0,24	-0,42	-0,60	-0,51	-1,00	1,00	
Al	0,99	-0,05	0,46	0,61	-0,66	-0,96	-0,96	0,99	-0,89	0,45	0,57	0,39	0,19	0,30	-0,63	0,67	1,00

*: Antioksidan Aktivitesi

Tablo 4.17. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında kaynatma işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1,00															
Flavonoid	-0,47	1,00														
Na	-0,89	0,01	1,00													
K	-0,77	-0,20	0,98	1,00												
Ca	-0,97	0,23	0,98	0,91	1,00											
Mg	-0,98	0,28	0,96	0,88	1,00	1,00										
Fe	0,99	-0,40	-0,92	-0,82	-0,98	-0,99	1,00									
Zn	0,14	-0,94	0,33	0,52	0,11	0,06	0,06	1,00								
Mn	-0,42	-0,61	0,79	0,90	0,63	0,59	-0,49	0,84	1,00							
Cu	0,94	-0,14	-0,99	-0,94	-1,00	-0,99	0,96	-0,20	-0,70	1,00						
Ni	-0,99	0,50	0,87	0,74	0,96	0,97	-0,99	-0,18	0,38	-0,93	1,00					
Cd	-0,47	-0,56	0,83	0,93	0,68	0,64	-0,54	0,80	1,00	-0,74	0,44	1,00				
Cr	0,91	-0,79	-0,62	-0,44	-0,78	-0,81	0,88	0,54	-0,01	0,72	-0,93	-0,07	1,00			
Pb	0,06	0,85	-0,52	-0,69	-0,31	-0,26	0,14	-0,98	-0,93	0,40	-0,02	-0,91	-0,35	1,00		
Co	-0,92	0,09	1,00	0,96	0,99	0,98	-0,95	0,25	0,74	-1,00	0,91	0,78	-0,68	-0,45	1,00	
Al	0,41	-0,99	0,06	0,27	-0,16	-0,21	0,33	0,96	0,66	0,07	-0,44	0,61	0,75	-0,89	-0,02	1,00

Tablo 4.18. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında demleme işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1															
Flavonoid	-0,97	1														
Na	-0,31	0,08	1													
K	0,90	-0,97	0,12	1												
Ca	0,16	-0,39	0,88	0,57	1											
Mg	-0,15	-0,07	0,98	0,27	0,94	1										
Fe	0,97	-0,88	-0,53	0,77	-0,07	-0,39	1									
Zn	-0,66	0,46	0,91	-0,27	0,62	0,84	-0,82	1								
Mn	-0,42	0,20	0,99	0	0,81	0,95	-0,63	0,96	1							
Cu	0,65	-0,45	-0,92	0,26	-0,63	-0,85	0,81	-0,99	-0,96	1						
Ni	-0,47	0,25	0,98	-0,05	0,78	0,94	-0,67	0,97	0,99	-0,97	1					
Cd	-0,07	0,30	-0,92	-0,49	-0,99	-0,97	0,16	-0,69	-0,86	0,70	-0,84	1				
Cr	-0,89	0,97	-0,15	-0,99	-0,59	-0,30	-0,75	0,24	-0,02	-0,23	0,01	0,51	1			
Pb	-0,95	0,85	0,58	-0,73	0,13	0,45	-0,99	0,85	0,68	-0,85	0,71	-0,23	0,70	1		
Co	-0,25	0,02	0,99	0,17	0,90	0,99	-0,48	0,89	0,98	-0,90	0,97	-0,94	-0,20	0,53	1	
Al	-0,52	0,31	0,97	-0,11	0,74	0,92	-0,71	0,98	0,99	-0,98	0,99	-0,80	0,08	0,76	0,95	1

Tablo 4.19. Piyasada işlenmiş olarak satılan poşet nane çaylarında ekstraksiyon işlemi sonucu metal içeriği ile fenol, flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon değerleri

	Fenol	Flavonoid	A.A.*	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cd	Cr	Pb	Co	Al
Fenol	1																
Flavonoid	0,91	1															
A.A.*	-0,03	-0,43	1														
Na	-0,11	0,29	-0,98	1													
K	0,03	-0,36	0,99	-0,99	1												
Ca	-0,36	0,03	-0,91	0,96	-0,94	1											
Mg	0,37	-0,02	0,91	-0,96	0,94	-0,99	1										
Fe	0,75	0,43	0,62	-0,73	0,68	-0,88	0,88	1									
Zn	0,99	0,90	0	-0,15	0,07	-0,40	0,40	0,78	1								
Mn	0,06	-0,33	0,99	-0,99	0,99	-0,95	0,95	0,70	0,10	1							
Cu	0,93	0,99	-0,40	0,26	-0,33	0	0,004	0,46	0,91	-0,30	1						
Ni	0,89	0,65	0,40	-0,53	0,47	-0,73	0,74	0,96	0,91	0,49	0,67	1					
Cd	0,99	0,94	-0,11	-0,03	-0,03	-0,29	0,29	0,70	0,99	-0,01	0,95	0,86	1				
Cr	0,84	0,98	-0,56	0,43	-0,49	0,18	-0,17	0,29	0,82	-0,47	0,98	0,53	0,88	1			
Pb	-0,92	-0,69	-0,34	0,47	-0,41	0,68	-0,69	-0,94	-0,94	-0,43	-0,72	-0,99	-0,89	-0,58	1		
Co	0,26	-0,13	0,95	-0,98	0,97	-0,99	0,99	0,83	0,30	0,97	-0,10	0,66	0,19	-0,28	-0,61	1	
Al	0,58	0,20	0,79	-0,87	0,83	-0,96	0,97	0,97	0,61	0,85	0,24	0,87	0,51	0,06	-0,84	0,94	1

*: Antioksidan Aktivitesi

Tablo 4.20. Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinin ortalama fenol, flavonoid, ve ağır metal miktarları

Parametreler	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Ekstraksiyon* Kuru yakma**
Fenol	6	7759±1005	12020±1805	10839±1775
Flavonoid	6	2321±764	4770,3±1113,7	28901±2916 ^{c,z}
Na	6	13128±4492	51709±6472 ^c	44887±375 ^c
K	6	12179±2522	17691±4236	20447±1074
Ca	6	13824±3198	14553±2460	32980±2246 ^{c,z}
Mg	6	9610±1270	10546±1556	12244±187
Fe	6	6±2	0,2±0,1	115±29 ^{c,z}
Zn	6	18±3	6±1	20±1 ^{c,z}
Mn	6	8 ±1	9±1	78±9 ^{c,z}
Cu	6	2,0±0,2	2,0±0,3	9±1 ^{c,z}
Ni	6	0,2±0,1	1,0±0,1 ^c	0,4±0,1 ^y
Cd	6	0,01±0,001	0,01±0,001 ^a	0,02±0,01 ^c
Cr	6	0,3±0,1	0,01±0,001 ^a	0,04±0,002
Pb	6	0,4±0,01	1,0±0,2	1,0±0,4
Co	6	0,1±0,01	0,1±0,001	0,1±0,01
Al	6	1,2±0,6	0,1±0,01	55±18 ^{b,y}

a: p< 0,05, b:p<0,01, c:p<0,001, d:p<0,0001 (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x:p<0,05, y:p<0,01, z:p<0,001, t: p<0,0001 (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

*: Fenol ve flavonoid düzeyleri, **: Ağır metal düzeyleri

Tablo 4.20.' de Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinin ortalama fenol, flavonoid, ve ağır metal miktarları verilmiştir. Tabloya göre flavonoid miktarları için kaynatma ve demleme işlemlerinin ekstraksiyon işlemine göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Na, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu ve Cd metalleri için kaynatma işlemi kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu Tablo 4.20.' de görülmektedir (p<0,001). Ayrıca Ca, Fe, Zn, Mn, Cu (p<0,001), Ni ve Al (p<0,01) metalleri için demleme işlemi kuru yakma işlemine göre anlamlıdır.

Tablo 4.20.' de kaynatma işleminin demleme işlemine göre anlamlı olup olmadığı incelendiğinde Na, Ni ($p<0,001$), Cd ve Cr ($p<0,05$) metalleri için anlamlı olduğu saptanmıştır.

Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen ıhlamur örneklerinin ortalama fenol, flavonoid, ve ağır metal miktarları verildiği Tablo 4.20.' ye göre fenol, K, Mg, Pb ve Co miktarları arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.20.' de kaynatma ve demleme işlemleri ile elde edilen fenol, flavonoid ve metal miktarları karşılaştırıldığında Fe ve Zn en fazla kaynatma işlemiyle; fenol, flavonoid, Na, K, Ca, Mg ve Pb ise en fazla demleme işlemiyle elde edilmiştir.

Tablo 4.21. Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen nane örneklerinin ortalama fenol, flavonoid ve ağır metal miktarları

Parametreler	Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Ekstraksiyon* Kuru yakma**
Fenol	6	13720±495	16682±1284	16547±1852
Flavonoid	6	27929±5820	40918±8515	44586±1633
Na	6	10051±958	51169±3568 ^c	43359±291 ^c
K	6	17851±1570	15541±1503	28276±2436 ^{c,z}
Ca	6	16433±1306	15455±1186	28860±2539 ^{c,z}
Mg	6	11407±926	13684±2098	15510±1060
Fe	6	6±1	6±2	406±64 ^{c,z}
Zn	6	19±10	3±2 ^c	20±3 ^z
Mn	6	14±1	19±2	74±9 ^{c,z}
Cu	6	2±1	2±0,9	11±2 ^{c,z}
Ni	6	0,5±0,2	1,6±0,3 ^a	1,8±0,4 ^a
Cd	6	0,004±0,002	0,02±0,01	0,02±0,01
Cr	6	0,2±0,1	0,2±0,1	0,7±0,1 ^{a,x}
Pb	6	0,02±0,01	0,12±0,01	0,29±0,09 ^{b,x}
Co	6	0,3±0,01	0,3±0,1	0,4±0,1
Al	6	4,2±0,9	2,5±0,4	287,3±49,1 ^{c,z}

a: $p<0,05$, b: $p<0,01$, c: $p<0,001$, d: $p<0,0001$ (kaynatmanın demleme ve kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

x: $p<0,05$, y: $p<0,01$, z: $p<0,001$, t: $p<0,0001$ (demlemenin kuru yakmaya göre değerlendirilmesi)

*: Fenol ve flavonoid düzeyleri, **: Ağır metal düzeyleri

Aktarlardan açık ve işlenmiş olarak temin edilen nane örneklerinin ortalama fenol, flavonoid ve ağır metal miktarlarının verildiği Tablo 4.21. incelendiğinde fenol, flavonoid, Mg, Cd ve Co miktarları arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Tabloya göre Na, Zn ($p<0,001$) ve Ni ($p<0,05$) için kaynatma işlemi demleme işlemine göre anlamlıdır. Aynı şekilde Na, K, Ca, Fe, Al ($p<0,001$), Ni, Cr ($p<0,05$) ve Pb ($p<0,01$) için kaynatma işleminin kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu görülmektedir.

Tablo 4.21.' e göre K, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, Al ($p<0,001$), Cr ve Pb ($p<0,05$) miktarları için demleme işlemi kuru yakma işlemine göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.21.' deki fenol, flavonoid ve metal miktarlarının demleme ve kaynatma işlemine göre değişimi incelendiğinde K, Ca, Zn ve Al miktarlarının en fazla kaynatma işlemiyle; fenol, flavonoid, Na, Mg, Mn, Ni, Cd ve Pb miktarlarının ise en fazla demleme işlemiyle elde edildiği görülmektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada aktarlarda açık olarak satılan ıhlamur ve nane bitkilerinde ve piyasada işlenmiş, paketlenmiş olarak tüketilen ıhlamur ve nane poşet çaylarında toplam fenol-flavonoid miktarları, antioksidan aktiviteleri ve metal içerikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu parametrelerin miktarlarının kaynatma ve demleme işlemlerine göre değişimi incelenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile ıhlamur ve nane bitkilerinin ve onlardan elde edilen çayların önemli birer element deposu oldukları belirlenmiştir. Kaynatma ve demleme işlemlerinin ortalaması alındığında Na, K, Ca ve Mg elementlerinin en yüksek miktarda suya geçtiği tespit edilmiştir. Aktarlarda satılan işlenmemiş ıhlamur örneklerinde Na, K, Ca, Mg, Zn; ıhlamur poşet çaylarında ise Al, Mn, Fe, Pb metal miktarları daha yüksektir. İşlenmemiş nane örneklerinde Na miktarı, nane poşet çaylarında ise Al, Pb, Cr, Ni miktarları yüksek çıkarken K, Ca ve Mg miktarları işlenmiş ve işlenmemiş nane örneklerinde birbirlerine yakın oranlarda çıkmıştır.

Bitkilerin toplam fenol miktarları karşılaştırıldığında en yüksek işlenmemiş nane örneklerinde bulunmuş ve kaynatma, demleme işlemleri karşılaştırıldığında demleme işlemiyle suya geçişin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Toplam flavonoid içeriği incelendiğinde en yüksek miktar işlenmemiş nane örneklerinin demleme işlemi sonucu elde edildiği tespit edilmiştir.

Poşet çay halinde tüketilen ıhlamur ve nane çaylarında antioksidan özellik oldukça düşük seviyedeyken, işlenmemiş ıhlamur ve nane bitkilerinin antioksidan özellik bakımından oldukça önemli bitkiler olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak günlük hayatımızda çok sık kullandığımız ıhlamur ve nane bitkilerinin metal içerikleri ve antioksidan özellikleri incelendiğinde işlenmemiş bitkilerin poşet çaylara oranla daha sağlıklı olduğu düşünülmektedir. Özellikle antioksidan özellik bakımından poşet çaylarından ziyade işlenmemiş bitkilerin kullanılmasının daha uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

Kaynatma işlemiyle metal içeriğinin, demleme işlemiyle ise antioksidan özellik gösteren bileşiklerin suya geçişinin daha fazla olduğu ve bu nedenle tıbbi özellik gösteren bu bitkilerin demleme işlem uygulanarak kullanılmasının daha faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

Bu çalışma ile fitoterapide kullanılan tıbbi bitkilerin dekoksiyon, kuru yakma ve infüzyonlar arasındaki fenolik madde, flavonoid madde, antioksidan ve ağır metal içeriklerinin incelendiği çalışmada ilgili literatürdeki çalışma boşluğu giderilmeye çalışılmıştır. İnfüzyon ve dekoksiyonda uygulanan sıcaklık ve süre antioksidan miktarı ile yakından ilgilidir. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarda en yüksek antioksidan miktarını elde etmek için en uygun sıcaklık ve sürenin belirlenmesi hedeflenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Usal, G., Özdeş A. A. 2001. Türkiye'nin Tıbbi Bitkiler İhracat Potansiyeli, Gıda, 78 79**
- [2] **Ivanova D., Geroval, D., Chervenkov, T. And Yankova, T., 2005. Polyphenols And Antioxidant Capacity Of Bulgarian Medicinal Plants, Journal Of Ethnopharmacology, 96, 145-150.**
- [3] **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. And Kefalas, P., 2005. Tea And Herbal Infusions: Their Antioxidant Activity And Phenolic Profile, Food Chemistry, 89, 27-36.**
- [4] **Akgül, A., Ünver, A. 2001.Bitkisel Çaylar. Gıda Mühendisliği Dergisi, (5)11:21–24**
- [5] **Becker, E.M., Nissen, L.R. And Skibsted, L.H., 2004., Antioxidant Evaluation Protocols: Food Quality Or Health Effects, Review, European Food Research Technology, 219, 561-571**
- [6] **Huang, D., Ou, B. And Prior, R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, Reviews, Journal Of Agricultural Food Chemistry, 53, 1841-1856.**
- [7] **Mathew, S. And Abraham, T.E., 2006a. Studies On The Antioxidant Activities Of Cinnamon (Cinnamomum Verum) Bark Extracts, Through Various In Vitro Models, Food Chemistry, 94,**
- [8] **Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M. And Knez, Z., 2005. Phenols, Proanthocyanidins, Flavones, And Flavonol In Some Plant Materials And Their Antioxidant Activities, Food Chemistry, 89, 191-198.**
- [9] **Raven, P.H., Evert, R.F. And Eichhorn, S.E., 1999. Biology Of Plants 6th Ed. New York, Usa.**
- [10] **Ziakova, A. And Brandsteterova, E., 2003. Validation Of Hplc Determination Of Phenolic Acids Present In Some Lamiaceae Family Plants, Journal Of Liquid Chromatography &Related Technologies, 26 (3), 443-453.**
- [11] **Pietta, P. And Gardana, C., 2003. Flavonoids In Herbs, In Flavonoids In Health And Disease 2nd Ed. Revised And Expanded, Pp. 49–69, Eds. Rice-Evans, C.A. & Packer, L., Marcel Dekker Inc.**
- [12] **Aherne, S.A. And O'brien, N.M., 2002. Dietary Flavanols: Chemistry, Food Content, And Metabolism, Nutrition, 18, 75-81.**

- [13] **Baytop, T.** 1999. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi: Geçmişte Ve Bugün, İlaveli 2. Baskı. Nobel Kitabevi, İstanbul.
- [14] **Anonim**, Meryem Ana Şifalı Bitkilerle Tedavi Sitesi, 2004.
- [15] **Anonim**, Vega Naturel Ürünler Pazarlama Ltd., Şifalı Bitkiler Ve Yararları, 2004
- [16] **World Health Organisation, Food Safety Reports**, 1986–2004.
- [17] **A. Baysal**, Beslenme, Ankara, 1996, 110–130, 258–260.
- [18] **B. Saldamlı**, Gıda Kimyası, Ankara, 1998, 379–392.
- [19] **A. Wilkie, C.H. Cordess, Ginseng: A Root Just Like A Carrot**, J.R. Soc. Med., (1994), 87:594.
- [20] **Mualla Çetin**, Anemi Çeşitleri, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilimdalı Hematoloji Ünitesi, Ankara, 2005.
- [21] **P.C.Onianwa, O. Adeyemo, E. Idowu, E. Ogabiela**, Copper And Zinc Contents Of The Nigerian Foods And Estimate Of Adult Dietary İntakes, Food Chemistry, 72 (2001) 89–95.
- [22] **Türk Tabipler Birliği Raporu**, İnsan Sağlığını Etkileyen Faktörler, 2004.
- [23] **H. Keskin**, Besin Kimyası, İstanbul, 1987, 369–380.
- [24] **S. Davies, A. Stewart**, Nutritional Medicine, 1995, 84–86.
- [25] **Ç. Güler, Z. Çobanoğlu**, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 43, T.C. Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 1997, 77.
- [26] **S. Davies, A. Stewart**, Nutritional Medicine, 1995, 95–97.
- [27] **Cao, G., Prior, R.L.**, 1999, In Vivo Antioxidant Capacity: Comperison Of Different Analytical Methods, Free Radical Biology & Medicine, 27, 1173-1181
- [28] **Rice-Evans, C.,A., Miller, N. J., Paganga, G.**, 1997, Antioxidant Properties Of Phenolic Compounds, Trends İn Plant Science, 2, 152-159.
- [29] **Keskin, H., Erkmen G.**, 1987, Besin Kimyası, Güryay Matbaacılık, Beşinci Basım, İstanbul.
- [30] **Shahıdı, F.**, 1996, Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects And Applications, Aocs Press, Champaign, Illinois, 0-935315-77-2.
- [31] **Hudson, B., J.**, 1990, Food Antioxidants, Elsevier Science, Usa.
- [32] **Halliwell, B.**, 1990, How To Characterise A Biological Antioxidant, Free Radical Research Comminucation, 9, 1-32.
- [33] **Shahıdı, F., Wanasundara, P., K., J.**, 1992, Phenolic Antioxidants, Critical Review Of Food Science And Nutritional, 32, 67-103. 74

- [34] **Hem, K.E., Tagliaferro, R., Bobilya, D. J.,** 2002, Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism And Structure-Activity Relationships, The Journal Of Nutritional Biochemistry, 13, 572-584.
- [35] **Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P., G., Bramley, P., M., Pridham, J., B.,** 1995, The Relative Activities Of Plant-Derived Poliphenolic Flavonoids, Free Radical Research, 22, 375-383.
- [36] **Cadenas, E., Packer, L.,** 2002, Handbook Of Antioxidants, Marcel Dekker, Second Edition, New York, 0-8247-0547-5.
- [37] **Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L.,** 1997, Antioxidant And Prooxidant Behaviour Of Flavonoids: Structure-Activity Relationships, Free Radical Biology & Medicine, 22, 749-760.
- [38] **Sekher Pannala, A., Chan, T. S., O'brien, P. J., Rice-Evans, C. A.,** 2001, **Flavonoid B-Ring Chemistry And Antioxidant Activity:** Fast Reaction Kinetics, Biochemistry, Biophysics Research Communication, 282, 1161-1168.
- [39] **Burda, S., Oleszek, W.,** 2001, Antioxidant And Antiradical Activities Of Flavonoids, Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 49, 2774-2779.
- [40] **Mora, A., Paya, M., Rios, J. L., Alcaraz, M. J.,** 1990, Structure-Activity Relationships Of Polymethoxyflavones And Other Flavonoids As Inhibitors Of Nonenzymic Lipid Peroxidation, Biochemistry And Pharmacology, 40, 793-797.
- [41] **Williams, R. J., Spencer, J. P. E., Rice-Evans, C.,** 2004, Flavonoids: Antioxidants Or Signalling Molecules?, Free Radical Biology And Medicine, 36, 838-849.
- [42] **Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G.,** 1996, Structureantioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids, Free Radical Biology & Medicine, 20, 933-956
- [43] **Wayner D.D.M., Burton G. W., Ingold K. Locke U. S.,** 1985, Quantitative Measurement Of The Total Peroxyl Radical-Trapping Antioxidant Capability Of Human Blood Plasma By Controlled Peroxidation, Febs Lett., 187, 33-37.
- [44] **Benzie, I. F. F., Strain, J. J.,** 1996, Ferric Reducing Ability Of Plasma (Frap) As A Measure Of 'Antioxidant Power'; The Frap Assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.
- [45] **Miller, N. J., Rice Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A.,** 1993, A Novel Method For Measuring Antioxidant Capacity And Its Application To

- Monitoring The Antioxidant Status In Premature Neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412.
- [46] **Miller, N. J., Rice-Evans, C. A.**, 1994, Total Antioxidant Status In Plasma And Body Fluids, *Methods Of Enzymology*, 234, 279-293.
 - [47] **Pellegrini, Re, R., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans C. A.**, 1999, Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cation Decolorisation Assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
 - [48] **Llesuy, S., Evelson, P., Campos, A. M., Lissi, E.**, 2001, Methodologies For Evaluation Of Total Antioxidant Activities In Complex Mixtures: *Biol. Res. (Santiago)*, 34, 51-73.
 - [49] **Van Den Berg, R., Haenen, R. M. M., Van Den Berg, H., Bast, A.**, 1999, Applicability Of An Improved Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Teac) Assay For Evaluation Of Antioxidant Capacity Measurements Of Mixtures, *Food Chemistry*, 66, 511-517.
 - [50] **Arnao, M.B., Cano, A., & Acosta, M.**, 1998, Total Antioxidant Activity In Plant Material And Its Interest In Food Technology, *Recent Res. Devel. In Agricultural And Food Chem.* 2, 893–905.
 - [51] **Soares, J.R. Dins, T.C.P. Cunha, A.P. Ameida, L.M.**, 1997. Antioxidant Activity Of Some Extracts Of *Thymus Zygis*. *Free Radical Research*. 26, 469–478.
 - [52] **Singleton, V. L., Rossi, J. A.**, 1965, Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal Of Enology And Viticulture*, 16, 144-158.
 - [53] **Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M.**, 1999, Analysis Of Total Phenols And Other Oxidation Substrates And Antioxidants By Means Of Folin-Ciocalteu Reagent, In *Methods In Enzymology*, Packer, L., Ed., Academic Press, Orlando, 299, 152-178
 - [54] **Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., Locke, S.**, 1986, The Antioxidant Efficiency Of Vitamin C Is Concentration-Dependent, *Biochem. Biophys. Acta*, 884, 119–123.
 - [55] **Winston, G. W., Regoli, F., Dugas, A. J. Jr., Fong, J. H., Blanchard, K. A.**, 1998, A Rapid Gas Chromatographic Assay For Determining Oxyradical Scavenging Capacity Of Antioxidants And Biological Fluids, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 480-493.

- [56] **Cao, G., Alessio, H. M., Cutler, R. G.**, 1993, Oxygen-Radical Absorbance Capacity Assay For Antioxidants, *Free Radical Biology & Medicine*, 14, 303-311.
- [57] **Cao, G., Verdon, C. P., Wu, A. H. B., Wang, H., Prior, R. L.**, 1995, Automated Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using The Cobas Fara II, *Clinical Chemistry*, 41, 1738-1744.
- [58] **Wang, H., Cao, G., Prior, R.L.**, 1996, Total Antioxidant Capacity Of Fruits, *J. Agricultural And Food Chemistry*, 44, 701-705.
- [59] **Cao, G., Prior, R. L.**, 1998, Comparison Of Different Analytical Methods For Assesing Total Antioxidant Capacity Of Human Serum, *Clinical Chemistry*, 44, 1309-1315.
- [60] **Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L.**, 1996, Antioxidant Capacity Of Tea And Common Vegetables, *Journal Agricultural And Food Chemistry*, 44, 3426-3431.
- [61] **Whitehead, T. P., Thorpe, G. H. G., Maxwell, S. R. J.**, 1992, Enhanced Chemiluminescent Assay For Antioxidant Capacity In Biological Fluids, *Analytica Chimica Acta*, 266, 265-277.
- [62] **Alho, H., Lemonen, J.**, 1999, Total Antioxidant Activity Measured By Chemiluminescence Methods, *Methods Of Enzymology*, 299, 3-14.
- [63] **Tubaro, F., Ghiselli, A., Papuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F.**, 1998, Analysis Of Plasma Antioxidant Capacity By Competition Kinetics, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 1228-1234.
- [64] **Lussignoli, S., Fraccaroli, M., Andrioli, G., Brocco, G., Bellavite, P.**, 1999, A Microplate-Based Colorimetric Assay Of The Total Peroxyl Radical Trapping Capability Of Human Plasma, *Analytical Biochemistry*, 269, 38-44.
- [65] **S. M. Dogheim, El M. M. Ashraf;S. A. G. Alla ;M. A. Khorshid;S. M. Fahmy** 2004. Pesticides and Heavy Metals Levels In Egyptian Leafy Vegetables And Some Aromatic Medicinal Plants. *Food Additives & Contaminants: Part A*, Volume 21, Pages 323 – 330
- [66] **R. A. Moraes-De-Souza, T. L. C. Oldoni, M. A. B. Regitano-D'arce, S. M. Alencar.** 2008. Actividad Antioxidante Y Compuestos Fenólicos En Infusiones Herbarias. *Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, Vol 6, No 1
- [67] **M. Tomažević · S. Rajčić · D. Dorđević · M. Tasić · J. Krstić · V. Novaković** 2004. Heavy Metals Accumulation In Tree Leaves From Urban Areas *Environmental Chemistry Letters*. 151–154

- [68] **Bharti Negi And Gargi Dey.** World Academy Of Science, Engineering And Technology 54 2009
- [69] **Reyhan Bahtiyarca Bağdat, Ebrahim Mohamed Eid.** 2007tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi
- [70] **Zheljaskov, V.D. And Nielsen, N. E.** 1996. Effect of Heavy Metals On Peppermint And Cornmint. Plant and Soil. 178: 59-66, 1996.
- [71] **Sweetie R. Kanatt, Ramesh Chander And Arun Sharma.**2007. Antioxidant Potential Of Mint (*Mentha Spicata* L.) İn Radiation-Processed Lamb Meat. Food Chemistry Volume 100, Issue 2, Pages 451–458
- [72] **E.W.C. Chan, Y.Y. Lim, K.L. Chong, J.B.L. Tan And S.K. Wong** 2009.Antioxidant Properties Of Tropical And Temperate Herbal Teas. Journal Of Food Composition And Analysis Volume 23, Issue 2, March 2010, Pages 185–189
- [73] **S. Başgel And S.B. Erdemoğlu** 2005. Determination Of Mineral And Trace Elements İn Some Medicinal Herbs And Their İnfusions Consumed İn Turkey. Science Of The Total Environment Volume 359, Issues 1–3, Pages 82–89
- [74] **Areias, F. M., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreres, F., Seabra, R. M.,** 2001, Phenolic Fingerprint Of Peppermint Leaves, Food Chemistry, 73, 307-311.
- [75] **Justesen, U., Knuthsen, P.,** 2001, Composition Of Flavonoids İn Freshherbs And Calculation Of Flavonoid İntake By Use Of Herbs İn Traditional Danish Dishes, Food Chemistry, 73, 245-250.
- [76] **Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T.,** 1998, Quantitative Analysis Of Flavonols, Flavones, And Flavanones İn Fruits, Vegetables And Beverages By Highperformance Liquid Chromatography With Photo-Diode Array And Mass Spectrometric Detection, Journal Of Chromatography A, 799, 101-110.
- [77] **Karakaya, S., El, N. S.,** 1999, Quercetin, Luteolin, Apigenin And Kamferol Contents Of Some Foods, Food Chemistry, 66 , 289-292.
- [78] **Toker, G., Aslan, M., Yesilada, E., Memişoğlu, M., Ito, S.,** 2001, Comparative Evaluation Of The Flavonoid Content İn Officinal *Tiliae Flos* And Turkish Lime Species For Quality Assessment, Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis, 26, 111–121.
- [79] **Caillet S., Yu, H., Lessard, S., Lamoureux, G., Ajdukovic, D. And Lacroix, M.,** 2006. Fenton Reaction Applied For Screening Natural Antioxidants, Food Chemistry,.

- [80] **Poyrazoğlu, E., Gökmen,V. And Artık,N.,**2002.Organic Acids And Phenolic Conpounds İn Pomegranates Grown İn Turkey. Journal Of Food Composition And Analysis, 15,567-575
- [81] **Kim, D., Chun, O., Kim, Y. J, Moon, H.,Y., Lee, C. Y,** 2003, Quantification Of Polyphenolics And Their Antioxidant Capacity İn Fresh Plums, J Agric Food Chem., 51, 15-6509.
- [82] **Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., Kondo, K.,** 2001, Antioxidant Ability Of Various Flavonoids Against DPPH Radicals And Ldl Oxidation, J Nutr Sci Vitaminol, 47, 357-62.
- [83] **Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L.,** 1997. Comparison Of The Flavonoid Aglycone Contents Of Apis Mellifera Propolis From Various Regions Of Brazil. Arquivos De Biologiae Technologia, 40, 97–106.
- [84] **Glazer, A. N.,** 1990, Phycoerythrin Fluorescence-Based Assay For Reactive Oxygen Species, Meth. Enzymology, 186, 161–168.
- [85] **Mehmet Zengin ¹, Mehmet Musa Özcan ^{2 *}, Ümmühan Çetin ¹, Sait Gezgin** 2007 Mineral Contents Of Some Aromatic Plants, Their Growth Soils And İnfusions. Journal Of The Science Of Food And Agriculture Volume 88 Issue 4, Pages 581 - 589

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Elazığ' ın Keban ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Keban' da lise öğrenimimi Elazığ Balakgazi Lisesi' nde (YDA) tamamladım. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümüne girmeye hak kazandım. Dört yıllık eğitimimi tamamladıktan sonra 2008 yılında mezun oldum. 2008–2009 döneminde F.Ü. Analitik Kimya anabilimdalında yüksek lisans eğitimime başladım.