

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CEVİZDE (*Juglans regia L.*) BAZI FENOLİK ASİTLERİN VE BAZI
ESER ELEMENTLERİN TAYİNİ**

Ayşe ŞAP

Yüksek Lisans Tezi

Anabilim Dalı: Kimya

Danışman: Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ

2012

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CEVİZDE (*Juglans regia L.*) BAZI FENOLİK ASİTLERİN VE BAZI ESER
ELEMENTLERİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe ŞAP
101117108

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 14.05.2012

Tezin Savunulduğu Tarih: 20.06.2012

Tez Danışmanı:	Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ
Diğer Jüri Üyeleri:	Prof. Dr. Habibe ÖZMEN
	Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada, ceviz (*Juglans regia L.*) bitkisinin Yalova ve Kaman türlerinde bulunan bazı fenolik asitlerin, eser metallerin ve minerallerin tayini yapıldı. Çalışmada her iki ceviz türünün yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımları kullanıldı. Fenolik asitlerin tayini için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Diode Array Dedektörü (DAD) ve C18 kolonu ile birlikte kullanıldı. Metal tayinleri için Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) kullanıldı. Ayrıca eser elementlerin ve minerallerin tayini için kapalı ortamda mikrodalga ile çözünürleştirme ve kuru külleme ile çözünürleştirme metodları uygulandı.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetimi (FÜBAP) tarafından, FF. 11. 31. numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında yardımını ve ilgisini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mehmet YAMAN'a,

Fenolik asitlerin tayininde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a,

Metal tayininde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Kazım ŞAHİN ve Sayın Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN'e,

Deneysel çalışmalarımda bana yardımcı olan arkadaşlarım Hilal DİNÇ, Nagihan M. KARAASLAN ve Şükran AKKUŞ ÖZEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe ŞAP
ELAZIĞ-2012

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	X
KISALTMALAR.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Fenolik Bileşikler	3
2.1.1. Fenolik Asitler	6
2.1.2. Bazı Fenolik Asitlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	8
2.1.2.1. Vanilik Asit	8
2.1.2.2. Kafeik Asit	9
2.1.2.3. Rosmarinik Asit	10
2.1.2.4. Ferulik Asit	10
2.1.3. Ekstraksiyon Yöntemleri	11
2.1.3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu	12
2.1.3.2. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu	12
2.2. Eser Elementler	12
2.2.1. Eser Elementlerin Hastalıklarla İlişkisi	14
2.2.2. Eser Analiz Yöntemleri.....	17
2.2.2.1. Örnek Çözünürleştirme Yöntemleri.....	17
2.2.2.1.1. Yaş Çözme.....	17
2.2.2.1.2. Kuru Çözme.....	18
2.3. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) Bitkisinin Genel Özellikleri	19
3. ANALİZ YÖNTEMLERİ	23
3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	23
3.1.1. HPLC Cihazı	24
3.1.2. Yüksek Basınç Pompası	25
3.1.3. Numune Enjeksiyon Sistemleri.....	25

3.1.4.	Kolonlar	26
3.1.4.1.	Koruyucu Kolonlar	26
3.1.4.2.	Kolon Termostatları	26
3.1.4.3.	Kolon Dolgu Maddesi Tipleri	26
3.1.5.	Dedektörler	26
3.1.5.1.	Fotodiyot Array Dedektörü (Photodiode Array Dedector-DAD)	27
3.2.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)	27
3.2.1.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Cihazı	28
3.2.2.	Işık Kaynakları	28
3.2.2.1.	Oyuk Katot Lambaları	28
3.2.2.2.	Elektrotsuz Boşalım Lambaları	30
3.2.3.	Atomlaştırıcı	30
3.2.3.1.	Alevli Atomlaştırıcı	30
3.2.3.2.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Kullanılan Alev Tipleri	31
3.2.3.3.	Alevsiz Atomlaştırıcılar	32
3.2.4.	Monokromatör (Dalga Boyu Seçici)	32
3.2.5.	Dedektör	33
3.2.6.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler (Engellemeler)	33
3.2.6.1.	Kimyasal Girişimler	33
3.2.6.2.	İyonlaşma Girişimleri	34
3.2.6.3.	Spektral Girişimler	34
3.2.6.4.	Zemin Girişimleri	35
3.2.6.5.	Fiziksel Girişimler	35
4.	MATERYAL – METOD	36
4.1.	Kullanılan Cihaz – Cam Malzeme	36
4.2.	Kullanılan Standart Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması	37
4.2.1.	Fenolik Asitlerin Tayini İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması	37
4.2.2.	Metallerin Tayini İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması	37
4.2.2.1.	Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirme İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması	37
4.2.2.2.	Kuru Küllleme İle Çözünürleştirme İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması	37
4.3.	Örneklerin Temini	38
4.4.	Fenolik Bileşik Tayini İçin Bitki Örneklerinin Ekstraksiyonu	38

4.5.	Bitki Örneklerinin Metal Tayini İçin Çözünürleştirilmesi.....	38
4.5.1.	Kuru Külleme İle Çözünürleştirme.....	38
4.5.2.	Kapalı Ortamda Mikrodalga Çözünürleştirme.....	38
4.6.	Fenolik Asitlerin Tayini İçin Standart Kromatogramları.....	39
4.7.	Metallerin Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri	40
4.7.1.	Kuru Külleme İle Çözünürleştirmeyele Metallerin Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri.....	40
4.7.2.	Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirmeyele Metallerin Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri	42
5.	BULGULAR	46
5.1.	Fenolik Asit Sonuçları	46
5.1.1.	Yalova Cevizinde Bulunan Fenolik Asitlerin Kromatogramları	46
5.1.2.	Kaman Cevizinde Bulunan Fenolik Asitlerin Kromatogramları	50
5.2.	Metal Analizi Sonuçları	54
5.2.1.	Yalova Cevizinde Bulunan Metal Konsantrasyonları.....	54
5.2.2.	Kaman Cevizinde Bulunan Metal Konsantrasyonları.....	55
6.	SONUÇLAR	58
7.	KAYNAKLAR	59
	ÖZGEÇMİŞ	71

ÖZET

Bu çalışmada, Yalova ve Kaman ceviz türlerinin yaprak, kabuk ve meyve kısımlarında bulunan bazı fenolik asitlerin (rosmarinik asit, kafeik asit, vanilik asit ve ferulik asit) ve bazı metallerin (Fe, Zn, Cu, Mn, Pb, Ni, Co) tayini amaçlandı. Fenolik asitlerin tayini için HPLC-DAD, C18 kolon ile birlikte kullanıldı.

Metallerin tayini için alevli AAS kullanıldı. Ayrıca metal tayini için kapalı ortamda mikrodalga ile çözünürleştirme ve kuru külleme ile çözünürleştirme yöntemleri kullanıldı.

Kaman ve Yalova cevizi örneklerinde; vanilik asitte en yüksek değer Yalova cevizi yaprağında 4817,33 ppm, ferulik asitte en yüksek değer Kaman cevizi yaprağında 342 ppm, kafeik asitte en yüksek değer Yalova cevizi yaprağında 3690,8 ppm, rosmarinik asitte en yüksek değer Kaman cevizi yaprağında 659,5 ppm bulunmuştur.

Mikrodalga çözünürleştirme ile metal tayininde Pb, Cu, Ni ve Co elementleri her iki ceviz türünde de tayin sınırının altında bulunmuştur. Kaman ve Yalova cevizlerinde en yüksek Fe değerleri sırasıyla yapraklarda 260,05-138,75 ppm, Zn değerleri ceviz içlerinde 81,7-76,633 ppm, Cu değerleri ceviz içlerinde 14,06-15,9 ppm, Mn değerleri yapraklarda 78,967-88,23 ppm bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fenolik asit, Ceviz , *Juglans regia L.*, Metal, Demir, Çinko, Bakır, Rosmarinik Asit, Vanilik Asit, Kafeik Asit, HPLC-DAD, AAS.

SUMMARY

DETERMINATION OF SOME PHENOLIC ACIDS AND TRACE ELEMENTS IN WALNUT (*Juglans regia* L.)

In this study, determination of some phenolic acids (rosmarinic acid, caffeic acid, vanillic acid and ferulic acid) and metals (Fe, Zn, Cu, Mn, Pb, Ni, Co) in species of walnuts Yalova and Kaman leaves, green husks and kernels. HPLC-DAD used in conjunction with C18 column for determination of phenolic acids. Flame AAS used by dry ashing and microwave digestion method for determination of metals.

Kaman and Yalova walnut species, the highest value of phenolic acids were found for vanillic acid in Yalova walnut leaves 4817,33 ppm, for ferulic acid in Kaman walnut leaves 342 ppm, for caffeic acid in Yalova walnut leaves 3690,8 ppm, for rosmarinic acid in Kaman walnut leaves 659,5 ppm.

Concentration of Pb, Ni, Co ve Cu were determined by microwave digestion samples were below the detection limit in both types of walnuts. Kaman and Yalova walnut species, the highest concentration were found for Fe in leaves 260,05-138,75 ppm, for Zn in kernels 81,7-76,633 ppm, for Cu in kernels 14,06-15,9 ppm, for Mn in leaves 78,967-88,23 ppm.

Anahtar Kelimeler: Phenolic Acids, Walnut , *Juglans regia* L., Metal, Iron, Zinc, Copper, Rosmarinic Acid, Vanillic Acid, Caffeic Acid, HPLC-DAD, AAS.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	4
Şekil 2.2. Fenolik bileşiklerin biyosentez yolları a) Mevalonik asit yolu b) Şikimik asit yolu.....	5
Şekil 2.3. Fenolik asitlerin genel yapısı. a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevleri.	7
Şekil 2.4. Vanilik asitin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.5. Kafeik asitin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.6. Rosmarinik asitin kimyasal yapısı	10
Şekil 2.7. Ferulik asitin kimyasal yapısı	11
Şekil 2.8. Ceviz bitkisinin genel görünüşü.....	19
Şekil 3.1. HPLC cihazının şematik görünümü.	24
Şekil 3.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi cihaz şeması	28
Şekil 3.3. Oyuk katot lambası	29
Şekil 3.4. Alevli atomlaştırmada meydana gelen işlem basamakları	31
Şekil 4.1. Kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin standart kromatogramı	39
Şekil 4.2. Vanilik asitin standart kromatogramı.....	40
Şekil 4.3. AAS’ de kuru kütleme ile çözünürleştirmeye Cu tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	41
Şekil 4.4. AAS’ de kuru kütleme ile çözünürleştirmeye Zn tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	41
Şekil 4.5. AAS’ de kuru kütleme ile çözünürleştirmeye Fe tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	42
Şekil 4.6. AAS’ de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Co tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.....	42
Şekil 4.7. AAS’ de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Ni tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	43
Şekil 4.8. AAS’ de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Pb tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	43
Şekil 4.9. AAS’ de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Mn tayini için kalibrasyon grafiği	44

Şekil 4.10. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Fe tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.....	44
Şekil 4.11. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Zn tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.....	45
Şekil 4.12. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Cu tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.....	45
Şekil 5.1. Yalova cevizinin yeşil kabuğunda bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	46
Şekil 5.2. Yalova cevizinin yeşil kabuğunda bulunan vanilik asitin kromatogramı	47
Şekil 5.3. Yalova cevizi yaprağında bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	47
Şekil 5.4. Yalova cevizi yaprağında bulunan vanilik asitin kromatogramı.....	48
Şekil 5.5. Yalova cevizi meyvesinde bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	48
Şekil 5.6. Yalova cevizi meyvesinde bulunan vanilik asitin kromatogramı	49
Şekil 5.7. Kaman cevizinin yeşil kabuğunda bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	50
Şekil 5.8. Kaman cevizinin yeşil kabuğunda bulunan vanilik asitin kromatogramı	51
Şekil 5.9. Kaman cevizi yaprağında bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	51
Şekil 5.10. Kaman cevizi yaprağında bulunan vanilik asitin kromatogramı	52
Şekil 5.11. Kaman cevizi meyvesinde bulunan ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı	52
Şekil 5.12. Kaman cevizi meyvesinde bulunan vanilik asitin kromatogramı	53

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. AAS’de kullanılan alev tipleri ve özellikleri.....	32
Tablo 4.1. HPLC için uygulanan parametreler	36
Tablo 4.2. Mikrodalga fırını için uygulanan parametreler.....	39
Tablo 5.1. Yalova cevizinde bulunan fenolik asit miktarları.....	49
Tablo 5.2. Kaman cevizinde bulunan fenolik asit miktarları.....	53
Tablo 5.3. Yalova cevizinde mikrodalga ile çözünürleştirme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları.....	55
Tablo 5.4. Yalova cevizinde kuru kütleme ile çözünürleştirme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları.....	56
Tablo 5.5. Kaman cevizinde mikrodalga ile çözünürleştirme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları.....	55
Tablo 5.6. Kaman cevizinde kuru kütleme ile çözünürleştirme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları.....	57

KISALTMALAR

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
°C	: Santigrat derece
CO₂	: Karbondioksit
HPLC-DAD	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- Fotodiyod Array Dedektörü
M	: Molar
mL	: Mililitre
µm	: Mikrometre
mM	: Mili molar
N	: Normal
nm	: Nanometre
OH	: Hidroksil
ppm	: mg/kg, µg/ml, µg/gr
UV	: Ultra Viyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihinin başlangıcından beri bitkiler tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Gıda olarak tükettiğimiz bitkilerin tüketilebilen kısımlarının ve bunların tüketmediğimiz diğer organlarının (tohum, kabuk, yaprak v.b.) yağları ve özlerinden, ilaç biliminde (farmakoloji) ve doğal tedavi edici ilaçlar olarak alternatif tıpta yararlanılmaktadır. Bitkilerde yüksek oranda bulunan antioksidanlar bitkilerin tedavi amaçlı kullanılmasını sağlayan maddelerdir.

Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek pek çok hastalığa neden olabilecek zincir reaksiyonlarını önleyen, bunun yanında gıdalardaki acılaşmayı ve tat bozulmalarını geciktirme ve önleme özelliğine sahip olan maddelerdir. Antioksidan etkiden sorumlu yapıların fenolik asitler, flavonoidler, tokoferoller gibi fenolik gruplar olduğu bilinmektedir. Bitkilerin değişik kısımları (kökleri, yaprakları, kabukları, meyveleri, v.b.) genellikle fenolik bileşikler bakımından zengindir.

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

Metaller, eksikliğinde veya fazla alımında insanların ve diğer canlıların yaşamını olumsuz etkileyen maddelerdir. Canlı dokularda eser düzeyde bulunan metaller genellikle toksik elementlerdir. Bunlar toprakta birikerek gıdalara geçmekte ve böylece insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedirler. Bazı elementler ise yüksek bitkiler için gerekli ve faydalı mikro elementlerdir. Bazı ağır metallerin normal konsantrasyonları bitkilerin büyüme ve gelişmesinde gerekli olan protein ve enzimlerin yapısında yer alırlar.

Son yıllarda çeşitli biyolojik materyallerde bulunan eser element ve minerallerin tayini önem kazanmıştır. Bunun sebebi, eser element ve minerallerin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri ve artan çevre kirliliği ile birlikte toksititeye neden olan elementlerin olumsuz etkileridir. Hem beslenme hem de tedavi amaçlı kullanılan bitkilerde bulunan eser elementlerin bitkilerin kök, gövde ve yaprakları gibi farklı bölgelerinde değişik konsantrasyonlarda bulundukları yapılan araştırmalarda gösterilmiştir.

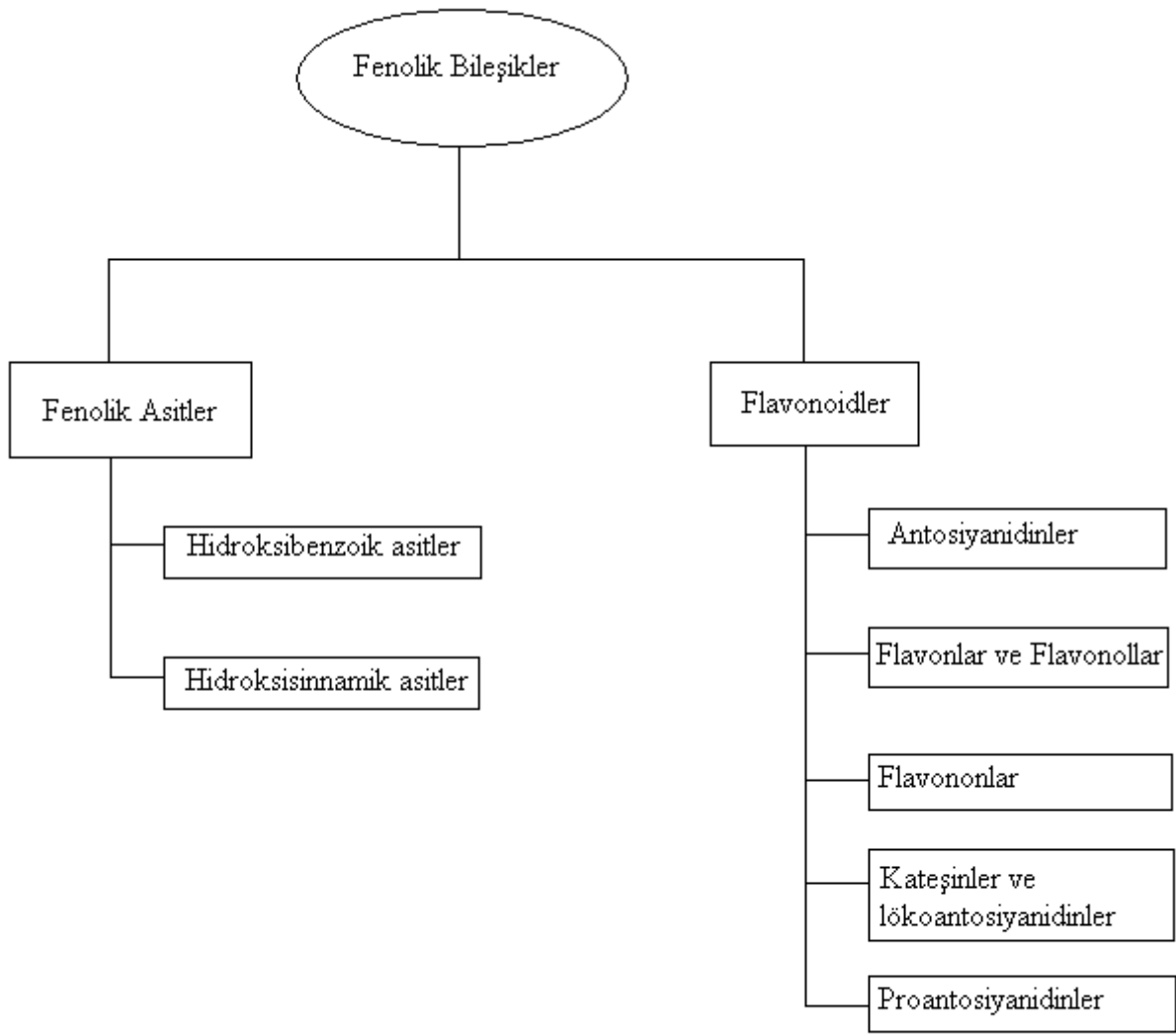
Bu tez çalışmasında, iki farklı ceviz (*Juglans regia L.*) türünün yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımlarında 4 farklı fenolik asit ve bazı metallerin tayini amaçlanmıştır. Cevizlerin yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımlarında bulunan fenolik asit ve metal konsantrasyonlarının karşılaştırması yapılmıştır. Ayrıca metal tayini için kapalı ortamda mikrodalga ile çözünürleştirme ve kuru külleme ile çözünürleştirme yöntemleri kullanılmıştır. Metal tayini için Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS), fenolik asitlerin tayini için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenolik Bileşikler

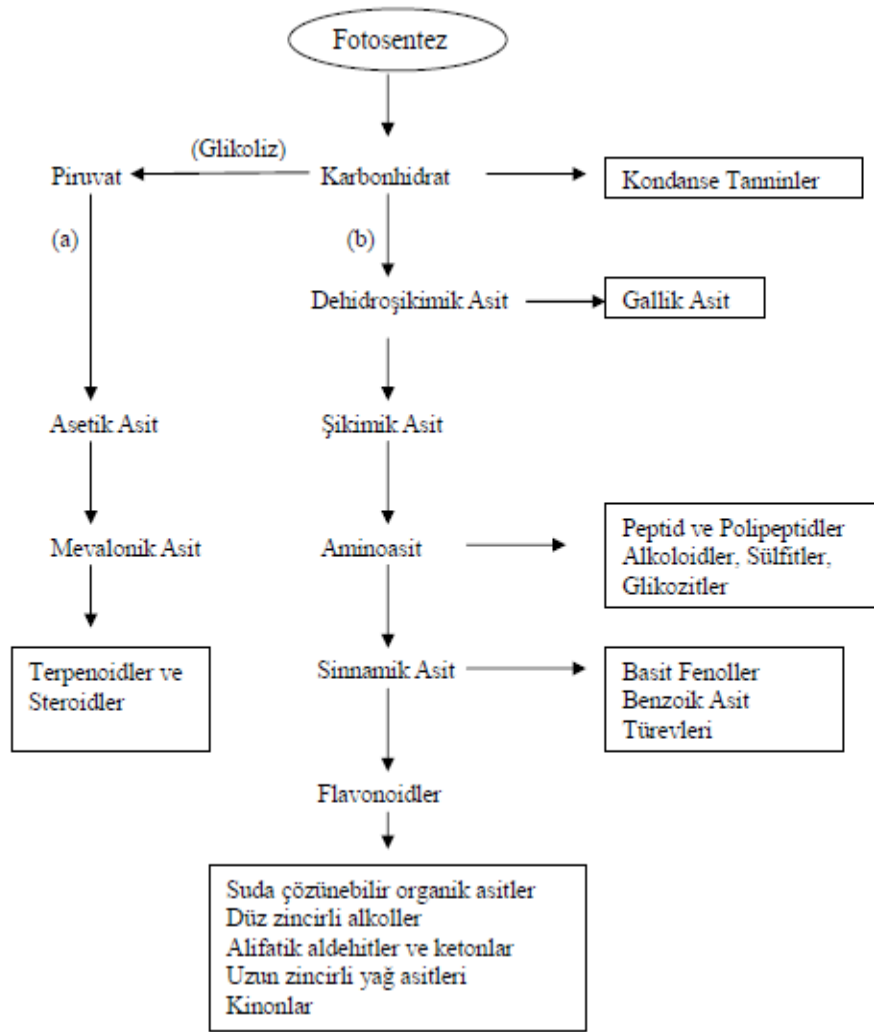
Bütün bitki metabolizmalarında sekonder metabolit olarak bulunan, bitkilerin renk, tat, koku gibi özelliklerinin oluşmasında rol oynayan ve altı üyeli aromatik halkaya direkt bağlı bir veya birden fazla hidroksil grubu (-OH) içeren aromatik bileşiklere fenolik bileşikler denir. Fenolik bileşikler fenol gibi oldukça basit bileşiklerden proantosiyanidinler gibi yüksek derecede polimerleşmiş yapılara kadar çok geniş bir aralığı kapsar.

Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (polifenoller), antioksidan potansiyelleri ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde oldukça ilgi çekmektedir. Bitki âleminde 8000'den daha fazla fenolik yapının olduğu bilinmektedir. Polifenoller, bitkilerde çeşitli meyve, sebze, kuruyemiş, tohum, çiçek, kök ve gövde kısımlarında doğal olarak sentezlenir [1,2]. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar [3]. Fenolik bileşiklerin, üretildikleri bitkilerde iki ana işlevi vardır. Bunlar fenolik asitlerde olduğu gibi patojen, böcek ve herbivor saldırısına karşı korunma ve flavonoidlerde olduğu gibi özellikle polen dağılımını sağlamak için çekicilik görevleridir [4,5]. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Fenolik bileşikler şikimik asit ve mevalonik asit yollarıyla sentezlenirler. Şikimik asit yolu pek çok bitkisel fenoliklerin biyosentezine katılır. Mevalonik asit yolu ise bakteri ve funguslarda fenolik ikincil ürünler için önemli bir kaynak oluşturmakla beraber, yüksek bitkilerde daha az önem taşır [4,5]. Şikimik ve mevalonik asit yolları Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Fenolik bileşiklerin biyosentez yolları a) Mevalonik asit yolu b) Şikimik asit yolu [6,7].

Fenolik bileşikler meyvelerin keskinlik, sertlik, renk, aroma, koku ve oksidatif sağlamlığına katkıda bulunurlar. Bitki polifenoller çok fonksiyonlu olup hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici olarak davranır [8,9]. Bazı polifenoller metal iyonlarını kelatlama özellikleri sayesinde antioksidan özellik gösterirler [10]. Fenolik bileşikler bitkilerde genellikle glikozitleri veya esterleri şeklinde bulunur. Bu yüzden suda çözünme eğilimleri yüksektir [11,12].

Fenolik bileşiklerin dokulardaki ve hücrelerdeki düzeyleri farklı olabilir. Örneğin; hindiba bitkisinde hidrosikumarin miktarı çiçeklerde %1.65 (kuru ağırlık), yapraklarda

%0.05 bulunmuş, köklerde ise bulunamamıştır [13]. Bitkilerde bulunan başlıca fenolik bileşikler; basit fenoller, fenolik asitler, kumarinler, taninler ve flavonoidlerdir.

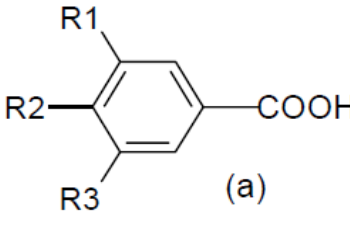
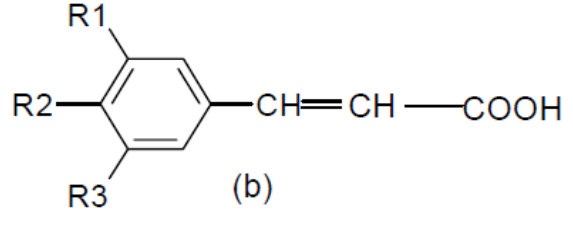
Fenolik bileşikler antimikrobiyal ajanlar olarak düşünülebilir ve doğal gıda koruyucusu olarak kullanılabilirler [14,15]. Fenolik bileşiklerin HSV ve insanda bağışıklık yetmezliğine neden olan HIV virüslerini, sitotoksik etkileri ve tümör artışı engelleyici belirtilmiştir [16-19].

2.1.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler aromatik karboksilik asitlerin hidroksilli türevleridir. Yaygın olarak bitkilerin taç kısmında bulunurlar ve antioksidan karaktere sahiptirler. Aromatik halkaya bağlanan metil ve hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre farklılık gösterirler. Bazı fenolik asitlerin kimyasal yapısı Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.

Fenolik asitler, bitkilerde yaygın olarak bulunurlar. Bitkilerin rengi, kokusu ve tatlarından sorumludurlar. Sadece küçük bir grubu doğada serbest olarak bulunmaktadır. Bu bileşiklerin gıdalarda bulunması besinlerin kararlılığını, rengini, kokusunu, besin değerini ve kalitesini belirgin olarak etkilemektedir [20, 21]. Bu yüzden fenolik asitler gıdalarda raf ömrünü uzatan koruyucu madde olarak kullanılmaktadırlar.

Fenolik asitlerin geniş bir farmakolojik kullanım alanı vardır [22] ve antioksidan, antitümör, antitrombotik ve antikarsinojenik özelliklere sahiptirler [23, 24]. Fenolik asitlerin kronik hastalıkları (kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser çeşitleri) önlediği bilinmektedir. Bunların ayrıca kötü huylu LDL kolesterolün oksidasyonunu önlediği, kronik iltihaplı hastalıkların tedavisinde kullanılabildiği [25-27], damar tıkanıklığını ve yaşlanmayı geciktirdiği bilinmektedir [28-31].

 (a)				 (b)			
Asit	R1	R2	R3	Asit	R1	R2	R3
<i>p</i> -Hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -Kumarik	H	OH	H
Pirokate şüik	H	OH	OH	Kafeik	H	OH	OH
Vanilik	CH ₃ O	OH	H	Ferulik	CH ₃ O	OH	H
Siringik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinapik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik	OH	OH	OH				

Şekil 2.3. Fenolik asitlerin genel yapısı. a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevleri [3, 32].

Fenolik asitler temel karbon iskeletlerine göre, sinnamik asit türevleri (hidroksisinnamik asitler) ve benzoik asit türevleri (hidroksibenzoik asitler) olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Fenolik asitlerin ve esterlerinin antioksidan aktiviteleri, sterik engelleme ile güçlenen moleküldeki hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır [8, 33]. Benzoik asitlerde karboksilat grubunun elektron-çekme özelliği, hidroksibenzoatların hidrojen atomu verme yeteneklerine negatif etki yapar. Hidroksisinnamik asitler eşdeğer benzoatlarından daha etkilidirler [8, 34].

Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Monohidroksibenzoik asitler, *orto* ve *para* konumlarında antioksidan özellik göstermezler. Hidroksibenzoik asitler genellikle malik asit ya da tartarik asit gibi alifatik organik asitlerle [35] ya da flavonoidler [36] gibi daha büyük yapıli fenolik bileşikler ile konjuge bağıli şekilde glikozitleri ya da esterleri halinde bulunurlar [37]. Dihidroksibenzoik asit türevlerinin antioksidan özellikleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağılidir. 2,3-dihidroksibenzoik asit gibi *orto* ve *meta* pozisyonlarına sahip asitlerde antioksidan aktivite yüksekken, 3,4-dihidroksibenzoik asit, protokateşik asit gibi *meta* ve *para* pozisyonlarına sahip olan asitlerde antioksidan aktivite

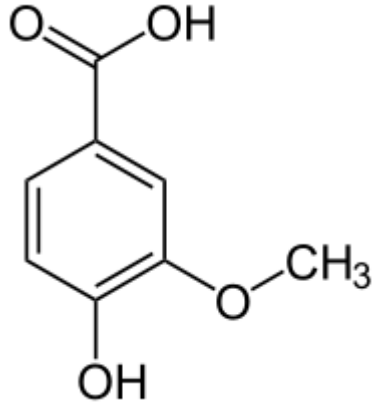
düşüktür. Gallik, protokateşik, p-hidroksibenzoik ve vanilik asitler benzoikasitin türevleridir. Gallik asit, üç hidroksil grubu bulundurduğu için en fazla aktivite gösteren hidroksibenzoik asittir. Ancak karboksilat grubu esterlendiği zaman aktivite düşer [34].

Hidroksisinnamik asitler C_6-C_3 fenilpropan yapısındadırlar ve fenil alaninden biyosentetik olarak türerler [38, 39]. Fenilpropan halkasına bağlanan -OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler [3]. Bitkilerin hücre duvarı yapısına katılırlar ve flavonoidlerin biyosentetik öncüsüdürler [39]. Bitkilerde şekerlerle, organik asitlerle veya yağlarla birleşmiş halde veya esterleri halinde bulunurlar [40]. Meyve, sebze, çiçek, tohum gibi bitki kısımlarında ve şarap, çay, kahve, zeytinyağı gibi bitkilerden elde edilen ürünlerde bulunurlar. Kafeik, p-kumarik, ferulik, rosmarinik asitler sinnamik asitin türevleridir. p-kumarik asit, kafeik asit ve kafeik asitin kuinik ester türevi olan klorojenik asit, bitkilerde en fazla bulunan hidroksisinnamik asitlerdir. İki aromatik halkada ikişer tane hidroksil grubu taşıyan rosmarinik asit, kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asitin esteridir. Hidroksisinnamik asitler, doğada trans konumunda olduklarında daha kararlıdırlar ama ultraviyole ve görünür ışığa maruz kaldıklarında, yavaş yavaş cis konumuna izomerize olurlar [8, 41].

2.1.2. Bazı Fenolik Asitlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

2.1.2.1. Vanilik Asit

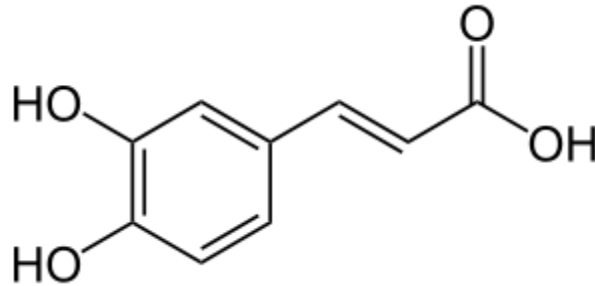
Molekül formülü $C_8H_8O_4$, açık formülü 3-metoksi-4-hidroksibenzoik asit'dir. Molekül ağırlığı 168,14 g/mol'dur. Alkoldeki çözünürlüğü çok iyidir. Erime noktası 210–230 °C'dir. Beyaz renkli pudra şeklindedir. Şarap [42], buğday kepeği [43] ve okaliptusta (*Eucalyptus globulus*) [44] bulunmaktadır [20]. Vanilik asit yiyeceklere koruyucu madde olarak katılmasının yanı sıra, gıda, eczacılık, kozmetik gibi endüstri alanlarında antiseptik madde olarak da kullanılmaktadır. Vanilik asitin kimyasal yapısı Şekil 2.4.'deki gibidir.



Şekil 2.4. Vanilik asitin kimyasal yapısı

2.1.2.2. Kafeik Asit

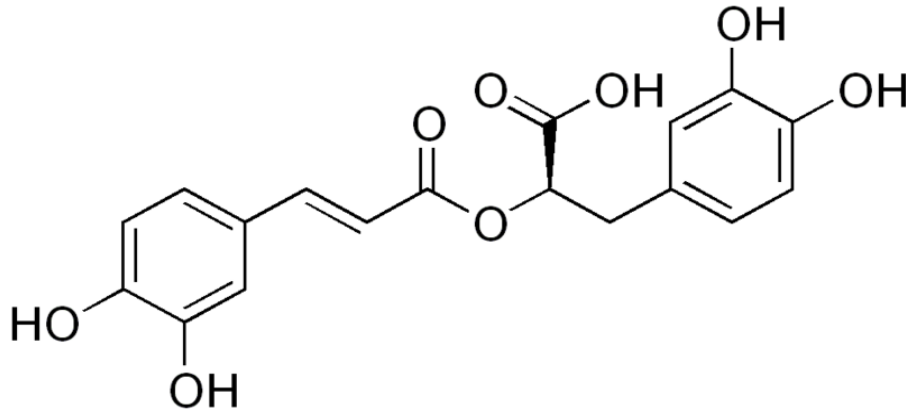
Molekül formülü $C_9H_8O_4$, açık formülü 3,4-dihidroksisinnamik asit'dir. Molekül ağırlığı 180,16 g/mol dur. Sarı kristalize şeklinde bulunur. Erime noktası 223–225 °C'dır. Sıcak suda ve alkolde çözünürlüğü oldukça iyidir. Doğal bir fenolik asittir, bu nedenle pek çok bitkide bulunmaktadır. Hidrosinamik asitlerin doğada en çok rastlanılan türevidir. Elma, üzüm, erik, yulaf gibi çeşitli meyvelerde mevcuttur. Nitritle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek nitrik oksite indirgemektedir [45]. Armut, elma, kayısı, yabanmersini ve domateslerde bulunan toplam hidroksisinnamik asitlerin % 75'ini teşkil etmektedir [46]. Kafeik asitin kimyasal yapısı Şekil 2.5.'de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.5. Kafeik asitin kimyasal yapısı

2.1.2.3. Rosmarinik Asit

Açık formülü 3,4-dihidroksifenillaktik asit, kapalı formülü $C_{18}H_{16}O_8$ dir. Molekül ağırlığı 360,31 g/mol dur. Erime noktası 171-175 °C dir. Kristal şeklinde bulunur. Rosmarinik asit genellikle *Lamiaceae* familyasının *Nepetoideae* alt familyası ile *Boraginaceae* familyası üyelerinde bulunur [47]. Keklik otu, biberiye, oğulotu, adaçayı, merzengüşt bitkilerinde, *Blechnaceae* familyasına ait eğreltiotlarında [48], atkuyrukları gibi daha düşük yapıllı bitkilerde [49], *Zosteraceae* familyasına ait deniz çimi benzeri monokotiledonlarda [50] ve *Potamogetonaceae* ve *Cannaceae* familyasına ait bitkilerde de rosmarinik asit bulunur. İlk kez Scarpati ve Oriente tarafından 1958 yılında saf olarak elde edilmiştir [4]. Antiinflamatuvar, antimutajen, antibakteriyel, antioksidan, ve antiviral etki gösterir [51-54]. Rosmarinik asitin kimyasal yapısı Şekil 2.6.'da gösterilmiştir.

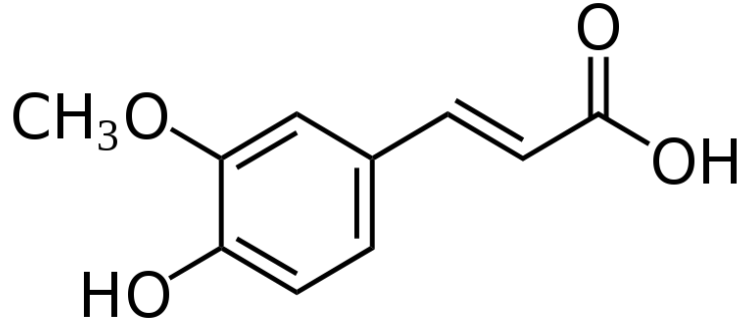


Şekil 2.6. Rosmarinik asitin kimyasal yapısı

2.1.2.4. Ferulik Asit

Açık formülü 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-propenoik asit, kapalı formülü $C_{10}H_{10}O_4$ 'dir. Molekül ağırlığı 194,18 g/mol dür. Erime noktası 168–172 °C dir. Ferulik asit nar [55], *Colchicum* türlerinde [56], kiraz, siyah ve yeşil üzümde [57], mısırd, buğday, pirinç, yulaf, çavdar gibi tahılların kepeklerinde, kavrulmuş kahve, domates ve turunçgillerde [58] bulunur. Tohumlarda ve yapraklarda hem serbest formda hem de lignin

ve diğ er biyopolimerlere bağlı olarak bulunur [59]. Undaki toplam fenolik asitlerin % 90'ını ferulik asit oluşturur [60]. Antioksidan özelliği kuersetin ve kateşin'e göre daha yüksektir, fakat biyolojik testlerde daha az etkilidir [61]. Ferulik asitin insanlarda, g     bir membran antioksidanı olarak etki ettiği ve deri kanseri, yaşlanma, yorgunluk, soğuk alėnlıėı, grip ve influenzaya karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir [62,63]. Yapılan  alışmalar ferulik asidin fotoprotektif [64], hepatoprotektif [65], antiaterojenik [66] ve antimutajenik [67] özellikleri olduğunu göstermektedir. Ferulik asitin kimyasal yapısı şekil 2.7.'de gösterilmiştir.



şekil 2.7. Ferulik asitin kimyasal yapısı

2.1.3. Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyon, bir çözelti ya da süspansiyon içindeki bileşenleri, ekstrakte edilecek bileşeni çözen fakat çözelti ya da süspansiyondaki çözücü ile karışmayan bir başka organik çözücü yardımıyla ayırmaktır.

2.1.3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, sıvı faz içindeki analiti daha çok çözen ve diğer sıvıyla hiç karışmayan başka bir sıvı ile yapılır. Örneğin, suda çözünmüş olan bir organik madde su ile karışmayan kloroform veya eter gibi bir organik çözücü ile ekstrakte edilebilir. Bu tür ekstraksiyonlar ayırma hunisi ile yapılır.

2.1.3.2. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu

Katı-sıvı ekstraksiyonu, bir katı içinde bulunan analiti iyi çözebilen bir sıvı yardımıyla yapılır. Katıların ekstraksiyonu genellikle uzun zaman aldığı ve fazla çözücü gerektirdiği için sürekli ekstraksiyon yöntemleri tercih edilir. Sürekli ekstraksiyon soxhlet cihazı ile yapılır. Katı örnek ince toz haline dönüştürülerek maddenin çözücü ile daha fazla temas etmesi sağlanmalıdır.

2.2. Eser Elementler

Canlılar normal büyüme ve biyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmek için protein, karbonhidrat ve vitaminlere ilave olarak bazı elementlere de ihtiyaç duymaktadırlar. Çeşitli ortamlarda, bileşikler konsantrasyonlarına bağlı olarak major, minör ve eser olmak üzere 3'e ayrılırlar. Konsantrasyonu % 0,1'den daha büyük bileşenler major, konsantrasyonu % 0,1 ile 100 ppm arasında olan bileşenler minör bileşen olarak adlandırılır. Canlı organizmalar için önemli rollere sahip olan ve miktarları 100 ppm'den düşük olan bileşenlere ise eser bileşenler adı verilir.

Normal insan dokularında 40 tan fazla element bulunmaktadır. Bunlardan organizmada metabolik role sahip olanlara gerekli elementler denir.

Canlı dokularda bulunan eser elementler 3 grupta incelenebilir.

1. Gerekli eser elementler; Cu, Cr, V, Fe, Zn, Mn, Se, Co,
2. Tedavi amaçlı olarak kullanılabilen ancak gerekli olmayan eser elementler; Al, Au, Bi, Li, Ga ve Pt.
3. Toksik elementler; Pb, Cd, Ag, Ni, As, Hg, Sb, Te ve Ti' dir [71-73].

Bir ağır metalin gerekli olup olmadığı dikkate alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin nikel bitkiler açısından toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz element olarak bulunması gerekir [74].

Bazı eser elementlerin belirli seviyedeki miktarlarının canlı bünyesinde bulunmaları gerekli iken belirli seviyeler aşıldığında ters etki yaparak toksik özellikler gösterirler. Toksik etki gösteren ve gerekli olmayan eser elementler, canlı organizma için gerekli olan elementlerin enzim sistemindeki fonksiyonel işleyişini olumsuz etkiler [71]. Buna en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan cıvadır [75]. Aynı şekilde bu elementlerin gereksinim seviyesi her canlı tipi için farklı olabilmektedir.

Toksik etkiye sahip olan eser elementlerden kadmiyumun kanserojen, kurşunun biriken bir zehir, nikelin bazı bileşiklerinin kanserojen, cıva ve arsenikin ise aşırı toksik etkiye sahip olmaları sebebiyle son zamanlarda tayinleri büyük öneme sahiptir [71].

Ağır metaller sadece konsantrasyon sınırını aştıkları zaman değil, canlı türüne ve metal iyonunun yapısına (çözünürlük değeri, kimyasal yapısı, redoks ve kompleks oluşturma yeteneği, vücuda alınış şekli, çevrede bulunma sıklığı, lokal pH vb.) bağlı olarak da toksik etki gösterirler. Bu nedenle düzenli olarak tüketildiğinden dolayı içme sularının ve yiyeceklerin içerebileceği maksimum ağır metal konsantrasyon değerleri sınırlandırılmıştır.

Fazla miktarda alındığında vücutta birikerek toksik etki yapan, canlı organizmalar için gerekli olan bazı eser elementlerin toksik mekanizmaları aşağıdaki adımlarla gerçekleşir.

1. Protein molekülleri üzerindeki aktif merkezlerle ağır metallerin kararlı kompleksler oluşturması ve bu yolla gerçekleşen enzim inhibisyonu,
2. Özellikle yüksek derişimlerde ağır metaller varlığında canlıların solunum yüzeylerinin hasar görmesi,
3. Ölümcül olmayan derişimlerde ağır metallerin daha uzun dönemde canlıların iç organlarına zarar vermesi [76].

Ağır metallerin canlı organizmalara geçişi gıdalarla, solunumla, sularla ve direkt temasla olmaktadır. Çeşitli endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanan yapay organik kimyasal maddeler, tarım alanlarında kullanılan pestisit ve herbisitler, suda doğal olarak güç çözünen bileşiklerdir. Bir kısmı, canlı bünyelerinde besin zinciriyle girdikleri canlı organizmada birikime ve toksik etkenlere neden olurlar, diğer bir kısmı ise canlı bünyede mutajen ve kanserojen etkiler yaparlar. Tarım ilaçları genellikle çok dayanıklı

olduklarından, ayrışmaları yıllarca sürebilir. Bunlar hem toprak kirlenmesine, hem de dolaylı olarak su kaynaklarının önemli ölçüde kirlenmelerine neden olmaktadır.

Ağır metallerin su kaynaklarına geçişi endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı dolayısıyla da toprağın bileşiminde bulunan ağır metalleri çözmesi, çözünen bu ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşması ile olmaktadır. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturmak sureti ile su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselmektedir. Ülkemizde de başta tuz ihtiyacını karşıladığımız tuz gölü gibi kapalı göllerimizde yeterli çevresel önlem alınmadığından ve su havzalarında kontrolsüz sanayileşmeye izin verilmesinden dolayı bu bölgelerde ağır metal konsantrasyonu sürekli yükselmektedir [74].

Çeşitli endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanan atık suların içinde bazen eser miktarlarda bazen de yüksek konsantrasyonlarda ağır metaller bulunur. Ağır metaller boşaltım ortamlarındaki canlı yaşam üzerinde, konsantrasyonları ile orantılı olarak toksik etki yaparlar. Özellikle kadmiyum, cıva, kurşun ve krom gibi ağır metaller, besin zincirleriyle girdikleri canlı bünyelerinden atılamadıkları için canlılarda fizyolojik olarak birikime neden olurlar ve bünyede belirli sınır konsantrasyonlarının aşılması halinde toksik etki yaparlar. Bu birikim sonucunda sulara yaşayan balıklar ve diğer canlılar ölebilirler. Hatta bu tür su ürünleriyle beslenen insanların yaşamı bile tehlikeye girebilir.

2.2.1. Eser Elementlerin Hastalıklarla İlişkisi

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda eser elementlerin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu da ortaya çıkarılmıştır. Örneğin;

Anemi hastalığında saç ve serumda çinko düzeyinin düştüğü, kadmiyumun kanserojen, nikelin bazı bileşiklerinin kanserojen olması ve kurşunun canlı organizmada birikerek çeşitli hastalıklara neden olduğu bilinmektedir [76,77]. Ayrıca koroner kalp hastalıkları, kalp kası su toplaması, siroz ve diyaliz hastalıklarında serumda selenyum düzeyi daha düşüktür [78,79]. Doğan ve arkadaşları sara hastalarının rubidyum, selenyum ve çinko düzeylerinde düşme, bakır düzeylerinde önemli bir artış, demir düzeylerinde ise önemli bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir [80].

Potasyum (K) iyonları iskelet ve kalp kası konsantrasyonları üzerinde etkilidir. Plazmadaki K konsantrasyonunun artışı hücrenin istirahat membran potansiyelini düşürürken K konsantrasyonundaki azalma membran potansiyelini artırır. K düzeyinin kontrolünden böbrekler görevlidir. Proksimal tüplerden K'un tamamına yakını emilir. Toplayıcı tüplerde sodyum ile yer değiştirir [81].

Çinko (Zn), birçok enzim ve hormonun yapısında bulunduğu gibi çoğu enzim ve hormonun da etkinlik kazanmasını sağlayan çok önemli bir biyokatalizördür. Besinlerle yeterli miktarda alınmaması halinde kaşınma ve kaşınma sonucu cilt bozukluğu, lekeli tırnakla kolayca anlaşılabilen Zn eksikliği görülür. Bu eksiklik özellikle büyüme ve gelişme çağındaki çocuklarda gelişim bozukluğu, vücut zayıflığı, neşesizlik ve durgunluk, tat alma bozukluğu gibi önemli rahatsızlıklara neden olurlar [82-83]. Ayrıca kalp yetmezliği olan çocuklarda Zn düzeyinin normal değerlerden daha düşük olduğu gözlenmiştir [84].

Demir (Fe) besinlerde ferrik hidroksit veya ferrik organik bileşikler şeklinde bulunur. Tüm vücuda dağılan demirin %60-70 kadarı kan hücrelerinde hemoglobin içinde, %10-12 kadarı kaslarda miyogloblin içinde ve enzimlerde, %15-30 kadarı da karaciğer, dalak ve kemik iliğinde depolanmış olarak bulunur [85]. Fe elementinin eksikliği anemiye yol açar. Başlıca belirtileri dikkatsizlik, yorgunluk, çaba harcayınca kalp çarpıntısı, bazen ağrılı dil, dudak kenarlarında çatlaklar, yutma güçlüğü, çocuklarda iştahsızlık yavaş büyüme ve enfeksiyona bağlı dirençsizliktir [78].

Nikel (Ni)'in organizmada 10 mg kadar bulunduğu sanılmaktadır. Dağılımın yüksek olduğu yerler deri ve kemik özellikle kemik iliğidir. Bununla beraber diyetle alımından en fazla etkilenen karaciğer ve kaslardır. Plazmada Ni konsantrasyonu 1.1-1.6 µg/L'dir. Ni alımına maruz kalan kişilerde el, bilek ve parmakta kaşıntı hissi veren egzamalar görülür [86]. Ni yetersizliğinde, karaciğer dehidrogenaz (DH) enzimleri azalır. Ni'in alerjik reaksiyonlara neden olabilmesi ve kanser ile bazı inorganik Ni bileşikleri arasındaki potansiyel ilişki bu metalin gıda ve diğer çevre örneklerindeki konsantrasyonunun tayinine ilgiyi arttırmıştır.

Magnezyum (Mg) eksikliğinde koroner damar spazmları ve kalp kasında aşırı uyarılma, kalp ritminde anormallikler hatta kalp durmasından ani ölümler görülür. Ayrıca yüksek tansiyon, böbrek taşları oluşumu ve sara nöbetleri de görülür [87].

Bakır (Cu) insan vücudundaki 30'dan fazla enzimin bileşenidir ve bütün canlılar için gereklidir. Cu elementinin eksikliğinde insanlarda Wilson hastalığı, tavuk ve

köpeklerde raşitizm ve benzeri kemikleşme bozuklukları, sığırlarda ishal ve myokard enfarktüsü, kuzularda enzootik ataksi görülür [88]. Aşırı Cu alınmasında ise kalp-damar hastalıkları ve kan basıncında artış görülür. İçme sularında yüksek Cu konsantrasyonu bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishale neden olur. Cu'nın kanserle ilişkisinin olup olmadığı bilinmemektedir [89].

Kobalt (Co) canlı organizmalarda B₁₂ vitamini için gerekli bir element olmakla birlikte fazla miktarlarda alınması durumunda toksiktir [90]. Doğada mineral olarak her yerde bulunur, ancak insanlar genellikle B₁₂ kaynaklı besinlerle birlikte alırlar. B₁₂ vitamininin eksikliği anemi, gelişmede yavaşlama ve nörolojik hastalıklar oluşturur [91]. Co alımını B₁₂ vitaminiyle birlikte olmaktadır, ancak Co'nın çoğu B₁₂ vitamini ile beraber emilmez. Aşırı Co alımı polisitemiye, soluk alıp vermede bozulmaya, kalp büyümesine ve genişlemesine, böbrek ve karaciğer rahatsızlıklarına, sinüs taşikardiye ve bağışıklık sistemine olumsuz yönde etki ederek astım krizlerine sebep olur [92].

Kadmiyum (Cd) doğada serbest olarak çok az miktarda bulunur. Cd bakımından zengin gıdalar insan vücudundaki Cd miktarını arttırabilir. Örneğin; insanlar sigara içtiklerinde, vücutlarına yüksek miktarda Cd alırlar. Tütün dumanı Cd'u akciğerlere taşır, buradan da kan yoluyla vücudun diğer kısımlarına taşınır. Müsaade edilen miktardan daha fazla Cd alımında ishal, karın ağrısı, kusma, kemik kırılması, üreme bozuklukları, kısırlık, merkezi sinir sisteminin yıpranması, bağışıklık sisteminde hasar, psikolojik bozukluklar, DNA hasarları ve kanser görülür [93,94]. Haftalık Cd alımı WHO tarafından 0.007 mg/kg olarak sınırlandırılmıştır.

Mangan (Mn) gri-beyaz renkli ve kırılgan bir maddedir. Mn canlı organizmaların tüm dokularında düşük düzeyde bulunur. Karaciğer ve böbreklerde depo edilir. Mangan, büyüme, kemik gelişimi ve dölleme üzerine etki etmekte ve insanlarda genellikle mangan eksikliğine rastlanmamaktadır. Mn eksikliğinde tavuklarda perozis, sığırdaki kısırlık, domuzda topallık görülür [95]. Vücuttaki miktarı % 0,00005 olup Fe, Cu ve Zn miktarlarından çok daha azdır. Organizmada en çok kemik, karaciğer böbrek, pankreas, meme bezleri ve diğer salgı bezlerinde bulunur [96]. Mangan en çok yeşil sebzeler, baklagiller, fındık, fıstık, çay ve kahvede bulunmaktadır [97].

Kurşun (Pb) son derece zehirli ve endüstride en çok kullanılan metallere biridir. Hava, su ve toprak yoluyla besin zincirine girebilir ve canlı hayatı tehlikeye sokabilir. Pb zehirlenmesinin belirtileri; kansızlık, karın boşluğunda sancı, nöropati ve verimsizliktir. Pb insanlarda kan enzimlerinin değişmesine, hiperaktiviteye ve nörolojik hastalıklara neden

olur [73]. Flora çalışmasında Pb'un beyinde birikerek toksik etki gösterdiğini ve IQ değerinin düşmesine sebep olduğunu belirtmiştir [98]. WHO haftalık kurşun alımını 0,025 mg/kg vücut ağırlığı olarak sınırlandırmıştır.

Molibden (Mo) oksidazların çoğunun yapısında yer alır. İnsanlar için toksik değildir. Mo kanda ürik asit ve gut insidansında artışa yol açar [81].

Sodyum (Na) sıvı ve kan volümünün düzenlenmesini sağlar. Plazmada Na konsantrasyonu, büyük oranda su alımı ve atımına bağlıdır. Na düzeyi aldosteron, ADH ve ANF tarafından düzenlenir. ANF su ve Na atılımına sebep olur [81].

Krom (Cr) mavi-gri renkli, kolay kararmayan sert bir maddedir. Pankreas ve karaciğeri etkiler. Uzun süre kromla temasta bulunan deride tahriş ve alerji görülür [99]. Solunum yoluyla alınan kromat karaciğer kanserine neden olur [100-102]. Cr'un WHO için tavsiye edilen günlük alım miktarı 50-200 µg'dır.

2.2.2. Eser Analiz Yöntemleri

2.2.2.1. Örnek Çözünürleştirme Yöntemleri

Spektroskopik yöntemlerle örneklerin analizinde numunenin çözelti halinde olması gerekir. Bu sebepten analiz edilecek olan katı örnek çözelti haline getirilmelidir. Bu amaçla örneği analize hazırlamada örnek önce öğütülerek homojenleştirilir ve akabinde yakma veya parçalama metotları uygulanır. Gıdalar heterojen bir yapıya sahip olduklarından karışımdaki maddelerden her biri aynı miktarda eser element içermez. Bu yüzden eser elementlerin tayini için örneğin homojen olması zorunludur. Bir örneğin çözünürleştirilmesi için uygulanan metotlar genellikle yaş ve kuru metot şeklinde sınıflandırılır.

2.2.2.1.1. Yaş Çözme

Asitte yaş çözme tek bir asitle gerçekleştirilebileceği gibi birden fazla derişik asidin karışımı ile de gerçekleştirilebilir. Asitlerle çözünürleştirme, yükseltgen asitlerde çözünürleştirme (HNO_3 , HClO_4 , der H_2SO_4) ve yükseltgen olmayan asitlerde çözünürleştirme (HCl , HF , H_3PO_4 , HBr , seyreltik H_2SO_4 , seyreltik HClO_4) şeklinde ayrılabilir. Örneklerin tam çözünürleştirilmesinde asitlerin tek kullanılması genellikle iyi

sonuç vermemektedir. Bu nedenle iki ya da daha fazla asit karışımı kullanılması tercih edilmektedir. Ancak, tüm elementlerin analizi yerine yalnız bir veya birkaç elementin analizi gerekiyorsa, elementin ve numunenin niteliğine göre tek bir yükseltgen asit ve hatta yükseltgen olmayan asitler kullanılabilir. Bu amaçla ya açık ya da kapalı sistem kullanılır. Kapalı sistemde teflon sistem veya basınç bombası altındaki cam-karbon kaplar kullanılır.

Yaş çözünürleştirme genellikle 200 °C'nin altındaki sıcaklıklarda uygulandığında kuru yükseltgemeye tercih edilir. Çünkü buharlaştırma kayıpları As ve Se gibi bazı mineraller haricinde yoktur. Ayrıca kuru küllenmeye göre daha büyük miktarda asitler kullanıldığından daha az buharlaşma ve daha az adsorpsiyon kayıpları olur. Bununla beraber yaş çözmede As, B, Cr, Ge, Hg, Os, Re, Ru, Sb, Se ve Sn gibi elementlerin buharlaşma ile kayıplarının tehlikesi vardır. Kuru çözmeye oranla daha çok çözücü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek sınırlaması ve daha büyük dikkat gösterilmesi gereği gibi dezavantajlar söz konusudur.

Çözme işlemi için kullanılan en yaygın çözücü reaktifler; Nitrik asit (HNO₃), Perklorik asit (HClO₄), Hidroflorik asit (HF), Hidroklorik asit (HCl), Sülfürik asit (H₂SO₄), Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve kral suyudur. HClO₄, ve HF daha az ve özel amaçlı olarak kullanılmaktadır. Derişik çözeltilerinde ve sıcakta iyi bir yükseltgen olan HClO₄' in kullanıldığı çözünürleştirmelerde HClO₄' in patlayıcı özelliğinden dolayı örneğin kurumasına müsaade edilmemelidir.

2.2.2.1.2. Kuru Çözme

Bu yöntemde prensip olarak öncelikle örnekte bulunan su buharlaştırılır, sonra örnek kül edilir (400 °C - 700 °C). Külleme tamamlanınca kül seyreltik bir asit ile çözündürülür. Kül etme işlemi normal basınçta sıcak fırınlarda hava ile yapıldığı gibi, yüksek basınçta bombalarda oksijen ile de yapılmaktadır.

Bu metod basit olması, örnek miktarında sınırlama probleminin olmaması ve daha az çözücü kullanılmasına bağlı olarak daha az kirlenme riski gibi avantajlara sahiptir. Bunun yanı sıra külleme süresince bazı metallerin (B, Cr, Cu, Ni, P, V, Zn gibi) metalik halde, klorürleri halinde veya organometalik bileşikleri halinde buharlaşması gibi dezavantajları vardır. Hg, Pb, Cd, As gibi elementler yüksek sıcaklıkta buharlaşabilmektedirler. Kayıplar çözünmeyen kalıntılardan ve kap yüzeyinde adsorpsiyondan da kaynaklanabilir. Kuru külleme uzun zaman gerektirdiğinden fazla

miktar örnek ile çalışılmamaktadır. Kuru küllemede elde edilen kül tekrar çözündürülürken zorluk çıkabilmesi, kullanılan malzemelerin kirlenmesi ve aşınması kuru çözmenin dezavantajları arasında sayılabilir.

2.3. Ceviz (*Juglans regia* L.) Bitkisinin Genel Özellikleri

Ceviz bitkisinin sistematigi şöyledir;

Sınıf: *Dicotyledoneae*

Takım: *Juglandales*

Familiya: *Juglandaceae*

Cins: *Juglans*

Tür: *Juglans regia* L.



Şekil 2.8. Ceviz bitkisinin genel görünüşü

Ceviz bitkisi kokulu yaprakları olan aromatik bir bitkidir. Doğal yetişme alanı; Karpat Dağları'nın güneyinden itibaren Doğu Avrupa ve Türkiye, Irak, İran'ın doğusundan ve Himalaya Dağları'nın ötesinde kalan ülkelerdir. Ülkemizde hemen hemen her yerde

yetişir. Cevizin 6 cinse ait yaklaşık 60 türü vardır. Ülkemizde ise 2 tür ve 2 cinsi yetişmektedir [126].

Cevizin, M.Ö. 750-500 yıllarında Romalılar tarafından İran'dan Avrupa'ya getirildiği bilinmektedir. Cevizin meyvelerini Romalılar bolluk sembolü ve konuk armağanı saymışlar, ağacının güzelliği, meyvesinin lezzetli ve besleyici oluşu ve ayrıca kerestesinin yüksek özellikleri dolayısıyla ceviz Jüpiter'in meyvesi (*Jovis glans*) veya kral cevizi (*Juglans regia* L.) adını vermişlerdir [103,104].

En fazla yayılım gösteren ceviz türleri; *Juglans regia* Linn, *Juglans cinera* Linn ve *Juglans nigra* Linn'dir. Bu türler arasında en fazla yetiştirileni ve ticari açıdan en önemli olanı *Juglans regia* L.'dir. Bunun sebebi, bu türün meyvelerinin büyük ve lezzetli olması ve ince kabuklu olduğu için kabuğunun kolay kırılmasıdır [105-107].

Cevizin meyvesi tarımsal hammadde olarak kullanılır. Yeşil cevizin, yaprakları, ağaç kabukları, kökleri, meyve kabukları, meyveleri ve çiçekleri ise eczacılıkta ve kozmetik endüstrisinde kullanılır [108,109]. Cevizin kabızlığı giderici ve kan temizleyici etkisi vardır. Tomurcukları saç dökülmesini engeller, filizleri ise kılcal damarları sıkıştırıcı olarak kullanılır.

Cevizin meyvesi yüksek oranda protein, potasyum, fosfor, magnezyum, demir ve kalsiyum gibi mineralleri, C ve B vitaminleri ile % 52-70 oranında doymamış yağ asitleri (omega-3 ve omega-6) içerir. Ayrıca, % 24 protein, % 12-16 karbonhidrat, % 1,5-2 lif, % 1,7-2 mineral ve 630 kcal/100 g⁻¹ enerji içerir [110]. Ceviz meyvesi geleneksel tıpta öksürük, mide [111] ve kanser [112] tedavisinde ve kandaki glikoz oranını düşürdüğu için şeker hastalığının tedavisinde kullanılır. Zhang ve arkadaşları çalışmalarında, ceviz meyvesinin antioksidant aktivitesinin Troloks'dan (E vitamini analogu) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [113]. Reiter ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, ceviz tüketimi sonucunda kandaki melatonin seviyesinin, kalp hastalıkları ve kanserin oluşumunu ve gelişmesini engelleyebilecek kadar arttığını belirtmişlerdir [114]. Zhang ve arkadaşları, ceviz içinde progallol, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, etil gallat, protokateşik asit ve gallik asit fenolik bileşiklerinin tayinini yapmışlardır. Çalışma sonucunda ceviz meyvesinde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları sırasıyla şöyledir: gallik asit > etil gallat > pirogallol > troloks > protokateşik asit > vanilik asit > p-hidroksibenzoik asit [113]. Ceviz meyvesinde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin ve proteinlerle etkileşiminin incelendiği diğer bir çalışmada; kabuğu soyulmuş olan ceviz içlerinin soyulmamış olanlara göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir [115].

Kaya çalışmasında, volkanik dağların eteğinde yetişen 5 çeşit ceviz meyvesinin ağır metal içeriklerini belirlemiştir. Çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir; Cd 0.40-1.02, Co 0-3.49, Cr 20.13-34.60, Cu 85.20-170.60, Mn 165.10-772.70, Ni 21.97-57.88, Pb 0-5.31, Zn 668.0-1283.0 mg/kg [116]. Tosun çalışmasında, ceviz meyvesinde bulunan bazı mineral ve eser elementlerin tayinini yapmıştır. Çalışmada bulunan sonuçlar şöyledir; Se $19.58 \pm 0.24 \times 10^{-3}$, Pb $58.42 \pm 28.36 \times 10^{-3}$, Cd $< 0.25 \times 10^{-3}$, Zn 3.19 ± 0.0048 , Mn 3.08 ± 0.39 , Mg 263.19 ± 10.32 , K 653.83 ± 61.25 , Fe 3.47 ± 0.56 , Cu 1.84 ± 0.15 , Al < 0.5 mg/100mg [117].

Ceviz yapraklarında familyanın diğer üyelerinde de olduğu gibi tanen, uçucu yağ ve bir naftakinon türevi olan juglon ve hidrojuglon- β -glukosid bulunmaktadır. Bu nedenle ölen bitki organlarının rengi bu maddelere bağlı olarak siyah renge döner [118]. Geleneksel tıpta venöz yetmezliği ve hemoroid tedavisinde kullanılır. Antidiyareik, antihelmintik, kan temizleyici ve kanamayı durdurucu özellikleri vardır [119-121]. Ayrıca keratolitik, antifungal, hipoglisemik, antiscrofula ve sakinleştirici etkisi olduğu bulunmuştur. [122,123]. Pereira ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ceviz yapraklarının mide-bağırsak ve solunum yolları enfeksiyonlarına sebep olan bakteriler için iyi bir antimikrobiyal ajan olduğunu ve serbest radikallerin sebep olduğu hastalıkları önleyen fenolikler bakımından zengin olduğunu belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada, ceviz yapraklarındaki 10 tane fenolik bileşik kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir. Tayin edilen fenolik bileşikler şunlardır; 3-ve 5-kafeoilkuinik asitler, 3-ve 4-parakumaroilkuinik asitler, parakumarik asit, kuersetin 3-galaktoz, kuersetin 3-pentosid derivativ, kuersetin 3-arabinoz, kuersetin 3-ksilozit ve kuersetin 3-ramnosid [108]. Ceviz yapraklarıyla yapılan başka bir çalışmada; ceviz yaprakları özütlerinin juglonun bakteriler ve funguslar üzerinde antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu, fungus öldürücü olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir [103]. Turan yaptığı çalışmada; ceviz yapraklarında, fenolik madde ve juglon miktarlarının Ağustos-Eylül aylarında en yüksek düzeyde, ilkbahar ve yaz başlarında ise en düşük seviyede olduğunu tespit etmiştir [124]. Kaya çalışmasında; Gaziantep sanayi sitesinde çalışır durumdaki akü fabrikasına yakın olan ceviz ağacı yapraklarındaki Pb konsantrasyonunun kontrol grubu olarak kabul edilebilen (az kirlenmiş bölge) Gaziantep Başpınar sanayi sitesindeki ceviz ağacı yapraklarındaki Pb konsantrasyonundan yaklaşık 66 kat daha yüksek olduğunu belirtmiştir [125]. Tosun çalışmasında, ceviz yapraklarında bazı eser element ve minerallerin tayinini yapmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar şöyledir; Al 92.83 ± 6.41 , Cu 0.69 ± 0.12 , Fe 61.54 ± 2.75 , K 2041.67 ± 330.97 , Mg

583.50±4.22, Mn 10.97±0.37, Zn 1.93±0.074, Cd 2.87±0.51×10⁻³, Pb 94.11±7.58 ×10⁻³, Se 31.53±4.80 ×10⁻³ mg/100g [117].

Cevizin yeşil kabuğu, boyar madde yapımında kullanılır. Tükürüğün pH değerini yükselttiği için dişlerde oral hijyeni geliştirir, diş plağını, çürük oluşumunu, iltihaplanma ve peridental enfeksiyonları engelleyebilir [126]. Güçlü bir antioksidant olduğu için sağlık problemlerine neden olan patojenik bakterilerin (Gram +) gelişmesini engeller [127]. Stampar ve arkadaşları çalışmalarında, cevizin yeşil kabuğuyla yapılan ceviz liköründe juglon, hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler ve flavonoidlerin tayinini yapmışlardır ve ceviz likörünün antioksidant kapasitesinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir [109]. Arora ve arkadaşları cevizin yeşil kabuğundan su, aseton ve kloroform ile ekstraktlar hazırlanmış ve cevizin asetondan hazırlanan ekstraktlarının bakterilere karşı %98 lik inhibisyon etkisi gösterdiğini tespit etmişlerdir [128]. Mouhajir ve arkadaşları çalışmalarında, cevizin yaprak ve yeşil kabuk kısmından hazırlanan özütlerinin sinüzit, soğuk algınlığı, deri enfeksiyonları, kurdeşen ve mide rahatsızlıklarına karşı tedavi edici özelliğinin olduğunu bulmuştur [129]. Kurt yaptığı çalışmada, ceviz kabuklarının antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu saptamıştır [126]. Oliveira ve arkadaşları, 5 farklı ceviz kültürünün (Franguette, Mayette, Marbot, Mellenaie ve Parisienne) yeşil ceviz kabuğunda antimikrobiyal aktivite, antioksidan potansiyeli ve toplam fenolik bileşik miktarı tayini yapmışlardır. Toplam fenolik asit miktarı için en düşük değer Mellenaie kültüründe (32,61 mg/g), en yüksek değer Franguette kültüründe (74.08 mg/g) bulunmuştur [127]. Amaral ve arkadaşları çalışmalarında, yeşil ceviz kabuğunun güçlü bir antioksidan aktivitesi olduğunu ve sağlık sorunlarına yol açan farklı patojenik bakterilerin (Gram +) büyümesini engellediğini belirtmişlerdir [130].

3. ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisi yönteminin özel bir uygulaması olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), çok küçük dolgu maddeleriyle doldurulan kolonlara (sabit faz) yüksek basınç uygulanarak yapılan kromatografi türüdür.

Yüksek performans sıvı kromatografisi, bütün analitik ayırma metotları arasında en çok kullanılanıdır. Bunun nedeni, bu metodun:

1. Hassas olması,
2. Sıcaklığa hassas olan maddelere bile uygulanabilmesi,
3. Doğruluk dereceleri ve kesinlikleri yüksek sonuçlar vermesidir.

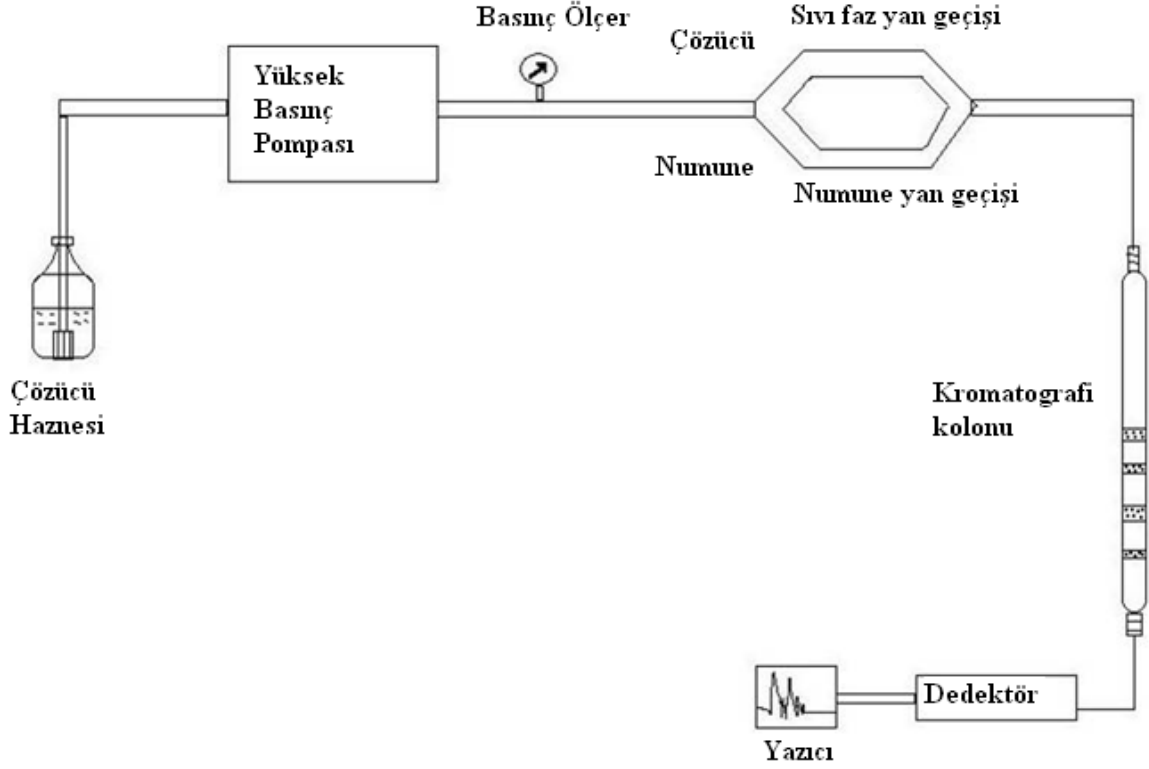
HPLC günümüzde kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp kimyası, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir araç olarak kabul edilmektedir. Bilhassa diğer kromatografik tekniklere uygun olmayan bileşiklerin ayrılması ve analizi için uygundur. Çevre sıcaklığında termal olarak kararsız bileşikleri ve yüksek polarlıktaki bileşikleri herhangi bir türevlendirme olmaksızın ayırabilir ve analiz edebilir [132].

Metodun uygulanabildiği başlıca alanlar şöyledir:

- a. Nükleik asitler,
- b. Terpenoitler,
- c. Pestisitler,
- d. Antibiyotikler,
- e. Steroitler,
- f. Proteinler,
- g. Aminoasitler,
- h. Hidrokarbonlar,
- i. Karbonhidratlar,
- j. Metal organik bileşikleri,
- k. Bazı inorganik maddelerdir.

3.1.1. HPLC Cihazı

HPLC cihazı şematik olarak Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. HPLC cihazının şematik görünümü [133].

Her cihazda en az bir tane 500 mL'lik camdan veya paslanmaz çelikten bir çözücü haznesi bulunur. Cihazda çözücüde çözünmüş halde bulunan oksijen, azot gibi gazları uzaklaştırmak için de bir sistem bulunur. Bu sistemle çözücüde çözünen gazlar dışarı atılır. Aksi halde bu gazlar dedektörü olumsuz yönde etkiler. Gaz uzaklaştırıcı olarak;

- Vakum pompası,
- Destilasyon cihazı,
- Isıtma sistemi,
- Çözücüyü karıştıran bir sistem,
- Çözücüden inert gaz geçiren bir sistem kullanılır.

Bir numunenin bileşenlerine ayrılması sadece bir çözücü kullanılarak yapılırsa buna isokratik elüsyon, farklı polaritede iki veya daha fazla çözücü kullanılarak yapılırsa buna

dereceli elüsyon denir. Dereceli elüsyonda çözücü bileşimi programlama yaparak devamlı ya da basamaklı olarak artırılabilir. Dereceli elüsyon izokratik elüsyondan daha iyi sonuçlar verir.

3.1.2. Yüksek Basınç Pompası

Yüksek basınç pompasının vuruntu yapmaması için ileri geri hareket eden pistonlu pompalar kullanılır. Pompanın vuruntu yapması istenmeyen piklerin ortaya çıkmasına sebep olur. Böyle pompalarda pistonun geri hareketinde sıvı pistonu emilir, ileri hareketinde basılır.

Daha iyi sonuç almak için farklı fazda iki pompa da kullanılabilir. Bu metotta pompa sistemi çok önemlidir. Bunun nedenleri başlıca şöyledir:

1. Yaklaşık 300 atmosferde çalışılması,
2. 0,1-10 mL/dk arasında değişen bir akış hızına ihtiyaç duyulması,
3. Akış hızı kontrolünün ve tekrarlanabilirliğin gerekmesi,
4. Pulsuz çıkışların istenmesidir.

Bu kromatografi dalında basıncın yüksek olması, büyük bir engel değildir. Çünkü sıvıların sıkışma kabiliyeti çok düşüktür. Böyle bir çalışma yaparken bir arıza olması halinde patlama meydana gelmez. Sistemde meydana gelebilecek bir kırılma sadece sıvı akmasına neden olur. Ancak, akan sıvının yangına sebep olabileceğini unutmamak gerekir.

HPLC’de kullanılan pompalar genel olarak üçe ayrılır. Bunlar:

1. Silindir yollu pompalar,
2. Yer değiştirme veya şırıngaya benzer pompalar,
3. Pnömatik pompalardır.

Bunlardan en çok kullanılanı da silindir yollu pompalardır.

3.1.3. Numune Enjeksiyon Sistemleri

Numune enjeksiyonu yüksek basınçta yapılır. Numune yüksek basınçla hareket eden hareketli faza karışır ve kolondan çözünmüş halde geçer. Kullanılan hacim, birkaç μL -500 μL arasında olmalıdır. Çünkü aşırı numune yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de keskinliği etkiler. Numune ilave edilirken basıncın düşürülmemesi gerekir. Bunun için numune ilave etme halkası denen özel bir cihaz kullanılır.

3.1.4. Kolonlar

Tipik bir HPLC kolonunun çapı 3-4 mm, uzunluğu 10-40 cm'dir. Kolon çapları ve uzunlukları tayin edilecek bileşiğe göre değişir. Kolon paslanmaz çelikten yapılır. Kolonun iç yüzünün camla veya teflonla kaplanması daha iyi sonuç verir. Dolgu maddesi olarak kullanılan silika jel parçalarının büyüklüğü genelde 5-10 μm 'dir.

HPLC'de bazen kalınlığı daha büyük olan cam kolonlarda kullanılabilir. Böyle durumlarda iç basınç çok daha düşük olmalıdır.

3.1.4.1. Koruyucu Kolonlar

Analitik kolonlar, çok değerli cihazlar olduklarından, hareketli faz bunlara gelmeden önce bir kolondan geçirilir. Bu kolonda çözücüde olması muhtemel partiküller ve kirler bertaraf edilir. Böyle kolonlara koruyucu kolonlar denir. Bunlar analitik kolonlara göre çok daha ucuzdur. Koruyucu kolonun bir başka faydası, analitik kolondaki sabit faz sıvısını korumasıdır. Koruyucu kolondan geçen hareketli faz sıvısı, sabit faz sıvısıyla doymuş hale gelir ve analitik kolondaki sıvı azalmamış olur. Koruyucu kolonun yapımı, dolgu maddesinin büyüklüğü hariç analitik kolonla aynı olmalıdır.

3.1.4.2. Kolon Termostatları

Kolonlar genel olarak oda sıcaklığında çalıştırılır. Ancak, çok özel durumlarda ve daha iyi kromatogramlar elde etmek için kolonlar bazen bir termostat içine alınır. Böyle termostatlar oda sıcaklığından 150 °C'a kadar sıcaklıklarda kolon sıcaklığını derecenin onda birleri mertebesinde sabit tutabilir. Kolonlar sabit sıcaklıktaki suyla da kontrol edilebilirler.

3.1.4.3. Kolon Dolgu Maddesi Tipleri

Kolon dolgu maddesi olarak genelde boncuk şeklinde iki tip madde kullanılır. Birinci tip maddeler gözenekli olmayan cam veya bir polimerden yapılır. Çapları genel olarak 30-40 μm 'dir. Yüzeylerine gözenekli yapıda silika, alümina veya iyon değiştirme reçenesi kaplanır. Bu uygulamalarda, bu şekilde kaplanmış olan boncukların üstüne bir

kaplama daha yapılır. Bu daha önce yapılan kaplamanın üstüne adsorbsiyonla kaplanmış veya yayılmış bir sıvıdır. Boncuk şeklindeki parçacıklar duruma göre doğrudan bir organik maddeyle de kaplanabilir. Bunlar halen sadece koruyucu kolonun dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır.

Boncuk şeklinde olan ikinci tip maddeler gözeneklidir. Bunlar çapları 3-10 µm olan mikro parçacıklardır. Bunlar da silika, alümina ve iyon değiştirme reçinelerinden yapılır. Ancak, en çok silikadan yapılanlar kullanılır. Gözenekli madde neden yapılmış olursa olsun, yüzeyi film şeklinde organik bir madde ile kimyasal veya fiziksel olarak kaplanır.

3.1.5. Dedektörler

Hareketli fazda meydana gelen fiziksel veya kimyasal değişiklikleri izleyerek kalitatif ve kantitatif analiz yapılmasına imkan sağlayan elektronik araçlar dedektör olarak adlandırılmaktadır. HPLC’de genel ve özel amaçlı olmak üzere iki tip dedektör kullanılır. Genel amaçlı dedektörler, hareketli fazın kırma indisini, dielektrik sabitini, yoğunluğunu ölçer. Özel amaçlı dedektörler ise bir maddenin UV adsorpsiyonunu, floresansını, diffüzyon hızını ölçer.

3.1.5.1. Fotodiyot Array Dedektörü (Photodiode Array Detector-DAD)

UV/VIS dedektörden farklı olarak, 512 elementten oluşan bir yüzeyde, her elementin ayrı bir dalga boyundaki absorpsiyonunu eş zamanlı olarak ölçebilir. Böylece 3 boyutlu kromatogramlar elde edilir ve bütün piklerin çok hızlı spektrum taramasını görülebilir. Başka bir avantajı istenilen dalga boyu aralığında çalışabilmesidir. Kullanılan ışık kaynağı döteryum veya tungsten lambadır.

3.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden, kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeyindeki atom sayısına bağlıdır. AAS 60'dan fazla metal veya yarı-metalin kantitatif tayini için duyarlı bir yöntemdir.

3.2.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Cihazı

AAS'nin en önemli bileşenleri, analiz elementinin absorplayacağı ışımayı yayan ışık kaynağı, örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalgaboyunun diğer dalgaboylarından ayrıldığı monokromatör ve ışık şiddetinin ölçüldüğü dedektördür.

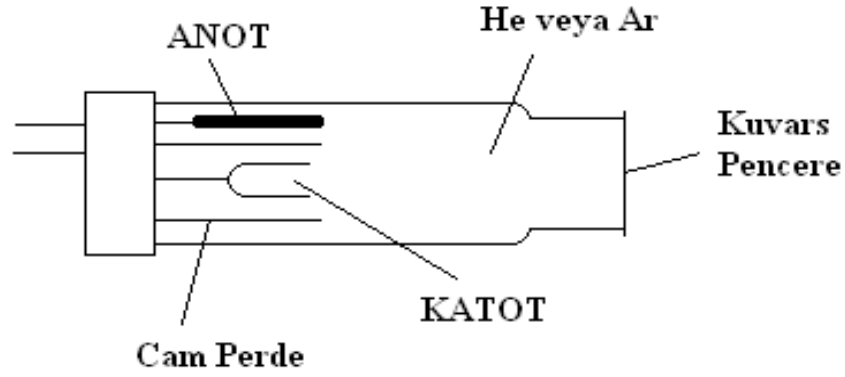


Şekil 3.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi cihaz şeması

3.2.2. Işık Kaynakları

3.2.2.1. Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyon ölçümleri için en çok oyuk katot lambaları tercih edilir. Oyuk katot lambaları, düşük basınçta (1-5 torr) helyum, neon veya argon gibi asal bir gazla doldurulmuş silindir biçimindeki lambalardır. Lambanın gövdesi camdan, ışın kaynağının çıkacağı pencere ise pyrex veya kuvarstan yapılmıştır. Ayrıca katot etrafında camdan bir perde bulunur. Bu lambalarda kullanılan katot, oyuk bir silindir şeklindedir. Katot, ya tayin edilecek elementten yapılır ya da üzeri bu elementle kaplanır. Anot ise tungsten ya da nikelden yapılmış bir teldir.



Şekil 3.3. Oyuk katot lambası

Anot ile katot arasına 100–400 voltluk bir gerilim uygulandığında lamba içerisinde bulunan asal gaz atomları iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur. Oluşan bu iyonlar katoda doğru göç ederler. Bu göç sonucu 5-25 mA’lık bir akım oluşur. İyonlar katot tarafından hızla çekilir ve katot yüzeyine çarparlar. Bu çarpma sonucu katot yüzeyindeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar, temel enerji düzeylerine dönerken katot elementinin karakteristik dalga boyunda (monokromatik) ışımaya yayarlar. Temel hale dönen atomlar tekrar katot üzerine ve cam perdeye çökerler. Katodun silindirik olması, ışın demetinin dar olmasını ve atomların tekrar bir araya toplanmasını kolaylaştırır.

Oyuk katot lambalarının en önemli dezavantajı her elemente özgü ayrı bir oyuk katot lambasına ihtiyaç duyulmasıdır. Bu nedenle çok elementli oyuk katot lambaları geliştirilmesi düşünülmüştür. Bu lambalarda katot, incelenecek elementleri içeren alaşımlardan, metalik bileşiklerden veya toz haline getirilmiş metal karışımlardan yapılır. Çok elementli lambalarda ortaya çıkan en önemli sorun, özellikle üçten fazla element içeren lambalarda, lambanın emisyon şiddetinin azalması ve bunun sonucu olarak gözlenebilme sınırının artmasıdır.

Katot lambalarına uygulanan yüksek gerilim, yüksek akım meydana getirir. Yüksek akım da şiddetli ışın demeti meydana getirir. Yüksek gerilimde katot yüzeyine doğru çok hızlanan atomların yaydığı ışınlarda Doppler genişlemesi büyük olur. Doppler genişlemesi demek, yayılan ışının az da olsa istenen dalga boyundaki ışın olmaktan sapsması demektir [133].

3.2.2.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

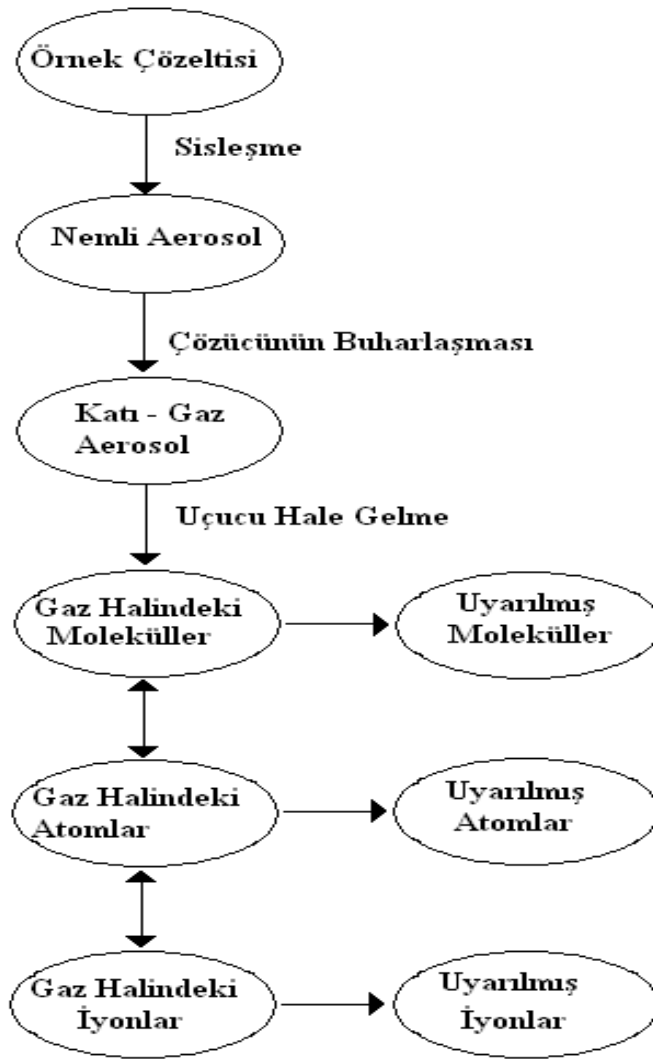
Elektrotsuz boşalım lambaları oyuk katot lambalarından çok daha şiddetli ışın demetleri yayarlar. Ancak kesinlik ölçüleri oyuk katot lambalarının ki kadar iyi değildir. Bu lambalar As, Se, Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında (< 200 nm) absorpsiyon ve emisyon yapabilen elementler için geliştirilmişlerdir. Bu lambalarda elektrotlar lambanın kuvarstan yapılmış dış çeperine yerleştirilmişlerdir. Tüpün içinde birkaç torr basınçta argon gibi inert bir gaz ve 1-2 mg analiz elementi vardır. Lambaya uygulanan şiddetli bir radyo frekansı veya mikrodalga ışın etkisiyle lambada bulunan metal atomları uyarılır. Uyarılan atomlar temel hale dönerken metale özgü ışın yayarlar.

3.2.3. Atomlaştırıcı

Absorpsiyon hücresi olarak da adlandırılan atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden, analizi yapılacak elementin temel düzeydeki atom buharını oluşturmaktır. AAS’de analizin başarısı atomlaşmanın etkinliğine bağlı olduğundan, düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır. Atomlaştırıcılar alevli ve alevsiz atomlaştırıcılar olmak üzere ikiye ayrılabilirler.

3.2.3.1. Alevli Atomlaştırıcı

AAS’de numune çözeltisi, basınçlı bir gazla devamlı ve düzgün olarak çok ince bir sis haline dönüştürülür. Basınçlı gaz sis haline gelmiş numuneyi alevde püskürtür. Numune burada çözücüsünü kaybeder. Çözücüsünü kaybeden numune sıcaklığın etkisiyle katı moleküler tanecikler haline gelir. Sonra bu moleküllerin ayrışması sonucu, gaz halinde atomlar oluşur. Bu atomlar da iyonlaşırlar ve bunlardan da iyonlar ve elektronlar oluşur. Bu işlemler sonucunda oluşan gaz halindeki moleküller, gaz halindeki atomlar ve gaz halindeki iyonların hepsi uyarılabilir. Şekil 3.4.’de alevli atomlaştırıcı kullanıldığında örneğin alevde geçirdiği değişimler verilmiştir.



Şekil 3.4. Alevli atomlaştırmada meydana gelen işlem basamakları

3.2.3.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Kullanılan Alev Tipleri

AAS’de kullanılan alev tipleri Tablo 3.1.’de verilmiştir. Yakıcı gaz olarak hava kullanıldığında sıcaklık 1800–2250 °C aralığındadır. Bu sıcaklıklarda, sadece kolaylıkla bozunan numuneler atomlaştırılır. Daha yüksek sıcaklıklarda uyarılabilen ağır metaller için, oksijen veya nitroz oksit kullanılır. Bu yakıcı gazlarla kullanılan yakıtlar genellikle 2500–3100 °C sıcaklık oluştururlar.

Tablo 3.1. AAS’de kullanılan alev tipleri ve özellikleri

YANICI GAZ	YAKICI GAZ	SICAKLIK°C
Doğal Gaz	Hava	1800
Doğal Gaz	Oksijen	2750
Hidrojen	Hava	2000
Hidrojen	Oksijen	2600
Hidrojen	Azot oksit	2690
Asetilen	Hava	2250
Asetilen	Oksijen	3100
Asetilen	Diazotmonoksit	2800
Propan	Hava	1900

3.2.3.3. Alevsiz Atomlaştırmacılar

AAS’de atomlaştırmacı olarak alev dışında sistemler de kullanılır. Bunlar, elektrotermal atomlaştırmacılar olarak da adlandırılan grafit fırınlardır. Elektro termal atomlaştırmacılar, ısınmaları için ayrı bir güç kaynağı gerektirirler ve daha pahalı sistemlerdir. Ancak alevli atomlaştırmacılara göre birçok avantaja sahiptirler. Bu atomlaştırmacılarda çok küçük örnek hacimlerinde (5-50 μ L) çalışılabilir. Aleve püskürtülmesi zor olan viskozitesi yüksek sıvıların tayini yapılabilir. Atomik buharların ışık yolunda daha fazla süre kalması sebebiyle aleve göre duyarlılıkları daha fazladır.

Grafit fırınlar 10 cm uzunluğunda, içi tantal filmi ile kaplanmış bir grafit tüpten oluşur. Tüpün içinden sürekli olarak azot veya argon gazı geçirilerek oksijen gazının etkisi engellenir. Grafit fırın düşük gerilim (10 V) ve yüksek akımla (500 A) ısıtılır.

3.2.4. Monokromatör (Dalga Boyu Seçici)

AAS’de her elemente özgü oyuk katot lambası kullanılır. Bu yüzden monokromatör sadece analiz elementinin rezonans hattını diğer hatlardan ayırır. Çok basit bir monokromatör, bile emisyon spektrumu karmaşık elementler için bu ayırmayı sağlayabilir.

AAS’de monokromatör olarak prizmadan yapılmış düzenekler kullanılır. Prizmalarda dalga boyunun seçilmesi farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve

çıkışta farklı miktarlarda kırılması ilkesine dayanır. Prizma ışık kaynağına göre döndürülerek, çeşitli dalga boyu değerlerine sahip ışığın bir aralıktan geçerek madde ile etkileşmesi sağlanır.

Cornu tipi prizmalarda, prizma içinde kırılmaya uğrayan ışık, prizmanın öteki yüzünden çıkarak çeşitli dalga boylarına dağılır. Littrow tipi prizmalarda ise, prizmanın bir yüzü Alüminyum ayna ile kaplıdır ve prizmaya giren ışık, aynı yüzeyden çeşitli dalga boylarına ayrılarak prizmayı terk eder.

3.2.5. Dedektör

AAS’de dedektör olarak fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Fotoçoğaltıcılar, ışığa duyarlı bir katot, art arda dizilmiş dinodlar ve bir anottan meydana gelir. Katot Cs, Sb gibi kolay iyonlaşabilen bir alaşımla kaplıdır. Monokromatörden gelen bir foton, katot yüzeyine çarparak bir elektron koparır ve bu elektron dinoda çarparak elektronlar koparır. Daha sonra dinoda çarpan her bir elektron, dinot yüzeyinden birçok elektron daha koparır. Bu işlem bu şekilde devam eder. 12 dinod için $>1.7 \times 10^7$ elektron açığa çıkar. Sonuçta foton sinyali elektronik sinyale çevrilmiş olur.

3.2.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler (Engellemeler)

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde analizi yapılacak örneğin özelliğine göre, hem alevli hem de elektrotermal atomlaştırıcılı AAS’lerinde, birçok engelleme ile karşılaşılır. Bu engellemeleri 5 grupta inceleyebiliriz;

- Kimyasal Girişimler,
- İyonlaşma Girişimleri,
- Spektral Girişimler,
- Zemin Girişimleri,
- Fiziksel Girişimler.

3.2.6.1. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişim, atomlaşma sırasında oluşan kimyasal işlemlerden dolayı analitin absorpsiyon karakteristiğinin değişmesidir. Atomlaşma sırasında serbest atomların ortamda

bulunan öteki atom veya radikallerle tepkimeye girerek başka formlara dönüşmesi, zor eriyen veya buharlaşan tuzların oluşması ve bu moleküllerin tam olarak ayrışmasıyla kimyasal girişimler meydana gelir. Özellikle alevli atomlaştırıcılarda, analitin oksijenle tepkimeye girmesi sonucu oluşan kararlı bileşikler (oksitler, hidroksitler, karbürler veya nitrürler), atom derişiminin azalmasına ve absorbandsın olması gereken değerden daha düşük çıkmasına sebep olur. Oksit oluşumu alevdeki oksijen miktarının azaltılmasıyla önlenabilir. Örneğin; hava-asetilen alevi yerine N_2O -asetilen alevi kullanılarak oksijen miktarı azaltılabilir. Bu girişimleri engellemenin diğer bir yolu da spektroskopik tampon maddeler kullanmaktır. Spektroskopik tampon, girişime neden olan bileşenlerden biriyle reaksiyona girerek kararlı bileşiklerin oluşmasını engeller.

3.2.6.2. İyonlaşma Girişimleri

İyonlaşma girişimi, atomlaşma sırasında atomların önemli bir kısmının iyonlaşmasıyla oluşur. İyonlarla atomların spektral hatları aynı olmadığı için iyonlaşma girişimi, absorbands değerinin normalden daha düşük çıkmasına sebep olur. İyonlaşma girişimi, atomlaştırıcının sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda gerçekleşir. İyonlaşmayı engellemek için; atomlaştırıcının sıcaklığı düşürülebilir, alevli atomlaştırıcıda propan-hava alevi kullanılabilir, örnek ve standart çözeltilerine lityum, potasyum ve sezyum gibi kolaylıkla iyonlaşan elementler eklenebilir [131].

3.2.6.3. Spektral Girişimler

Spektral girişim, iki elementin veya bir elementle çok atomlu türlerin aynı dalgaboyundaki ışığı absorplamasıyla ya da yaymasıyla oluşur. Spektral girişimler, analizde pozitif ve negatif hataya sebep olur. Analitden başka ışığı absorplayan türlerin varlığı pozitif hataya sebep olur. Dedektöre ulaşması gerekenden daha az ışıma ulaşır ve böylece absorbands değeri büyür. Bunu engellemek için analizi yapılacak elementin diğer elementle çakışmayan bir spektral hattı kullanılır. Analitin absorpladığı dalgaboyunda ışıma yayan türlerin varlığı ise negatif hataya sebep olur. Dedektöre ulaşması gerekenden daha fazla ışıma ulaşır ve absorbands değeri küçülür. Bunu önlemek için dedektör, oyuk katot lambasından örneğe gelen ışığın önüne yerleştirilen ışık bölücünün frekansına ayarlanır ve böylece dedektör bu frekans dışındaki ışımları algılamaz [131].

3.2.6.4. Zemin Girişimleri

Örnek çözeltisinde bulunan molekül ve radikallerin ışığı absorplaması ya da küçük parçacıkların ışığı saçması analizde hatalara neden olur. Bu tür hatalara zemin girişimleri denir. Zemin girişimleri AAS' de en önemli hata kaynağıdır ve önüne geçilmesi için özel yöntemler gerektiren bir engellemedir.

3.2.6.5. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, çözeltilerin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlığı gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans maddede farklı olması nedeniyle ortaya çıkan engellemelerdir. Fiziksel engellemeler, örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek giderilebilir.

4. MATERYAL – METOD

4.1. Kullanılan Cihaz – Cam Malzeme

Bu çalışmada fenolik asitlerin tayini için Shimadzu marka Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi, SPD-M10A_{VP} Diode Array Dedektörü (DAD) ile birlikte kullanıldı.

Metallerin tayini için kapalı ortamda mikrodalga ile çözünürleştirme ve kuru külleme ile çözünürleştirme metodları uygulandı. Kapalı ortamda mikrodalga ile çözünürleştirme için Perkin Elmer AA 800 Analyst Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ve BERGHOF MWS-2 mikrodalga fırın kullanıldı. Kuru külleme ile çözünürleştirme için Unicam 929 AA Spectrometer Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ve Fenton Furnaces marka kül fırını kullanıldı.

Tablo 4.1. HPLC için uygulanan parametreler

Standart	Alınma Zamanı (dk)	Enjeksiyon Hacmi (µL)	Sıcaklık (°C)	Dalgaboyu (nm)
Kafeik Asit	2,818	2	32	330
Vanilik Asit	3,059	2	32	254
Ferulik Asit	4,593	2	32	330
Rosmarinik Asit	5,652	2	32	330

Kullanılan diğer yardımcı malzemeler şunlardır;

- 1- Ultra saf su cihazı
- 2- Etüv
- 3- Kolon (Macherey Nagel (MN) EC 150/4.6 Nucleodur 100-5 C18 ec)
- 4- Elektronik terazi
- 5- Santrifüj (Hettich Zentrifugen Universal 320 R)
- 6- Isıtıcı manyetik karıştırıcı
- 7- Homojenizatör (Micra)
- 8- Mikrodalga teflon kapları
- 9- Otomatik pipet
- 10- Vial tüp

11- Süzgeç kâğıdı (125 mm)

12- Değişik büyüklükte pipet, beher, balon joje, mezür, vb. cam malzemeler.

4.2. Kullanılan Standart Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması

4.2.1. Fenolik Asitlerin Tayini İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart çözeltiler; kullanılan fenolik asitlerin (vanilik asit, kafeik asit, rosmarinik asit ve ferulik asit) HPLC saflıkta 500 ppm'lik stok çözeltileri hazırlandı.

Mobil faz; 10 mM'lık H_3PO_4 çözeltisi ve metanol (75:25) kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 ml/dk olarak belirlendi.

4.2.2. Metallerin Tayini İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması

4.2.2.1. Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirme İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Co, Ni ve Mn Stok Çözeltileri: Merck marka 1000 ppm'lik Kobaltın standart stok çözeltisinden 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

Pb ve Cu Stok Çözeltileri: Merck marka 1000 ppm'lik Kurşunun standart stok çözeltisinden 1, 2, 3, 4, 5 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

Fe ve Zn Stok Çözeltileri: Merck marka 1000 ppm'lik Demirin standart stok çözeltisinden 1, 2, 3, 4 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

4.2.2.2. Kuru Külleme ile Çözünürleştirme İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Cu Stok Çözeltisi: Merck marka 1000 ppm'lik Bakırın standart stok çözeltisinden 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 2, 3 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

Zn Stok Çözeltisi: Merck marka 1000 ppm'lik Çinkonun standart stok çözeltisinden 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 2, 3, 4, 5 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

Fe Stok Çözeltisi: Merck marka 1000 ppm'lik Demirin standart stok çözeltisinden 0.3, 0.6, 1, 2, 4, 3, 6, 9 ppm'lik çözeltiler hazırlandı.

4.3. Örneklerin Temini

Kaman ve Yalova cinsi ceviz örnekleri Elazığ ve yöresinden temin edildi. Analiz için ceviz bitkilerinin yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımları kullanıldı. Örnekler analize kadar dondurucuda muhafaza edildi. Saf suyla yıkanarak 75 °C’de 24 saat etüvde kurutuldu. Kurutulan örnekler öğütülerek aşağıdaki yöntemler uygulanarak analizler için hazırlandı.

4.4. Fenolik Bileşik Tayini İçin Bitki Örneklerinin Ekstraksiyonu

Homojenize edilmiş olan bitki örneklerinin her birinden 2 g tartıldı. 10 ml metanol ilave edilip homojenizatör ile karıştırıldı. 24 saat soğutucuda bekletildikten sonra 9000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen ekstraktlar analiz edilinceye kadar soğutucuda bekletildi. Viallere alınarak HPLC’de analizleri yapıldı.

4.5. Bitki Örneklerinin Metal Tayini İçin Çözünürleştirilmesi

4.5.1. Kuru Kütleme İle Çözünürleştirme

Kurutulmuş örneklerden 1 g tartıldı. Kül fırınında 100, 200, 300, 350, 400 ve 450 °C de gaz çıkışları bitinceye kadar bekletildikten sonra 480 °C de beyaz kül haline gelene kadar bekletildi. Kül örneklerine 2 mL saf nitrik asit eklenerek kuruluğa kadar ısıtıldı. 2 mL saf nitrik asit tekrar eklenerek kurutma işlemi tekrarlandı. Kalıntıya 10 mL, 0.1N nitrik asit çözeltisi eklendi ve süzgeç kâğıdı yardımıyla süzüldü. Süzme işleminden sonra elde edilen berrak çözeltilerin AAS ile ölçümleri yapıldı.

4.5.2. Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirme

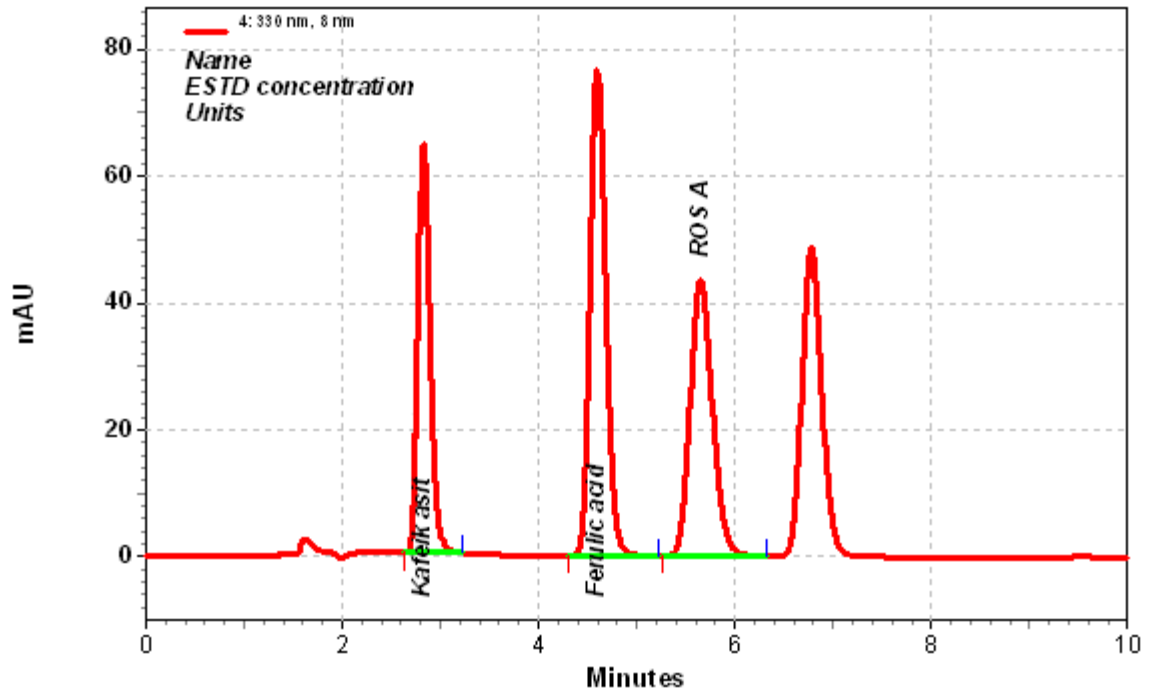
Kurutulmuş örneklerden 100 mg tartıldı. Örnekler teflon kap içerisine alınıp üzerine 5 mL nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit eklenip 30 dk bekletildi. Örnekler mikrodalga fırında ışınladı. Mikrodalga fırını için uygulanan parametreler Tablo 4.2.’de gösterilmiştir. Seyreltme işlemleri uygulanarak son hacim 10 mL ye tamamlandı. Elde edilen berrak çözeltilerin AAS’de ölçümleri yapıldı.

Tablo 4.2. Mikrodalga fırını için uygulanan parametreler

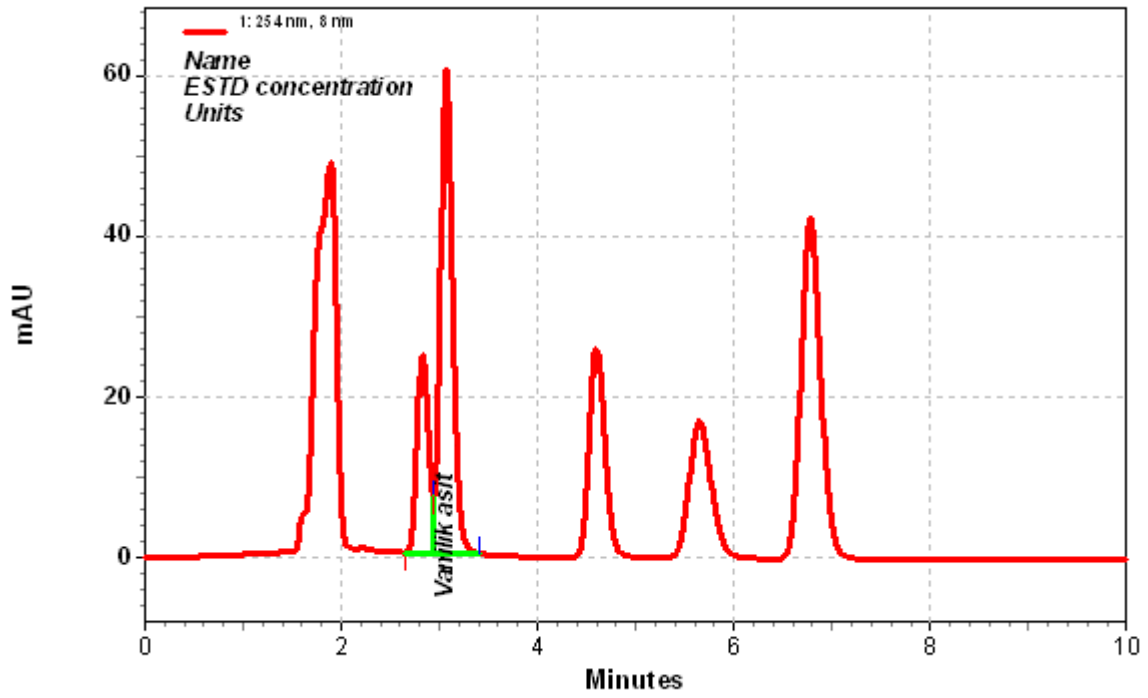
Basamak	1	2	3	4
T°C	145	170	100	100
Güç %	80	80	80	80
Zaman (dk)	5	10	10	10

4.6. Fenolik Asitlerin Tayini İçin Standart Kromatogramları

Fenolik asitlerin standartlarının kromatogramları Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin standart kromatogramı

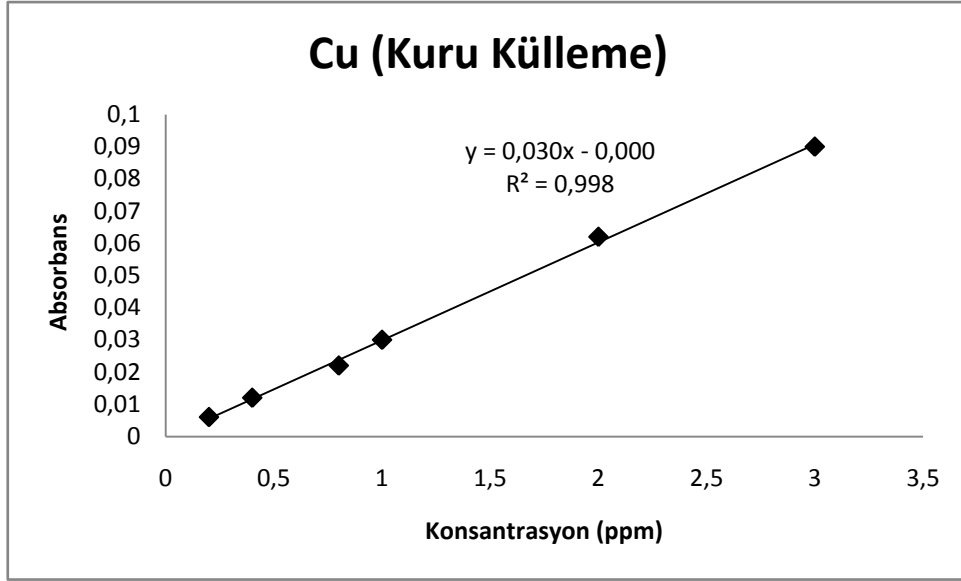


Şekil 4.2. Vanilik asitin standart kromatogramı

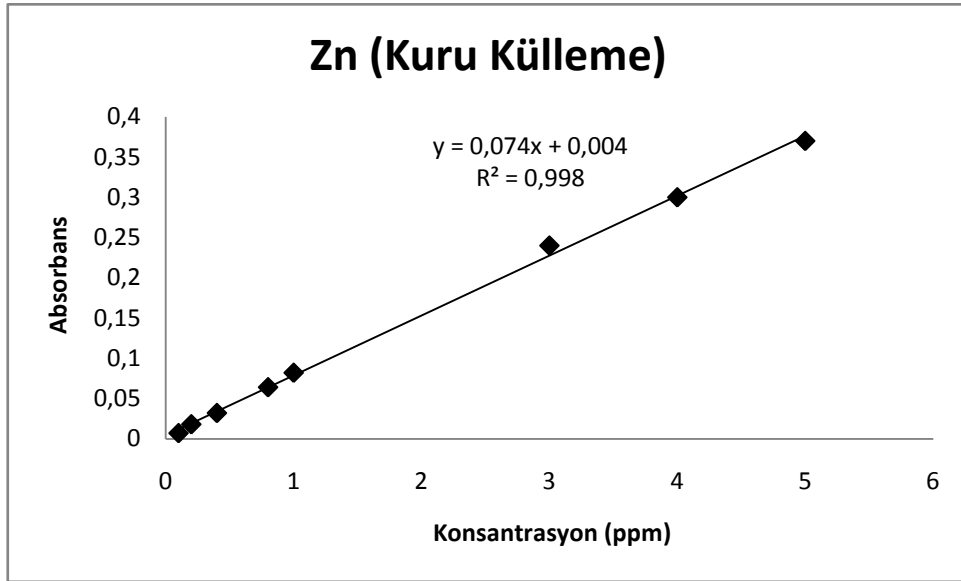
4.7. Metal Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri

4.7.1. Kuru Külleme İle Çözünürleştirmeye Metal Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri

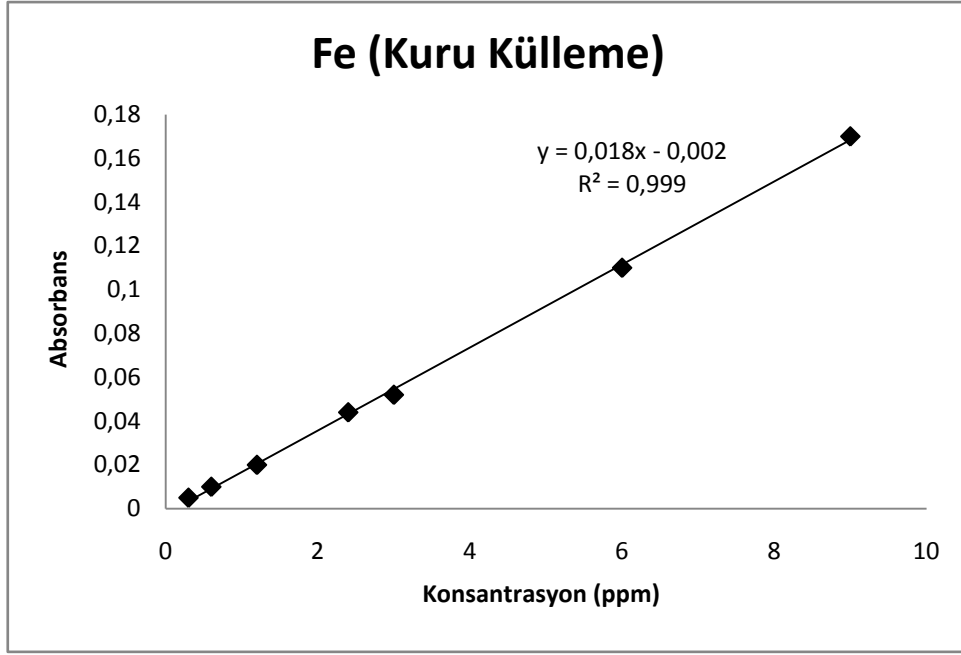
Cu, Zn, Fe için elde edilen kalibrasyon grafikleri Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. AAS' de kuru külleme ile     n rle tirmeyle Cu tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



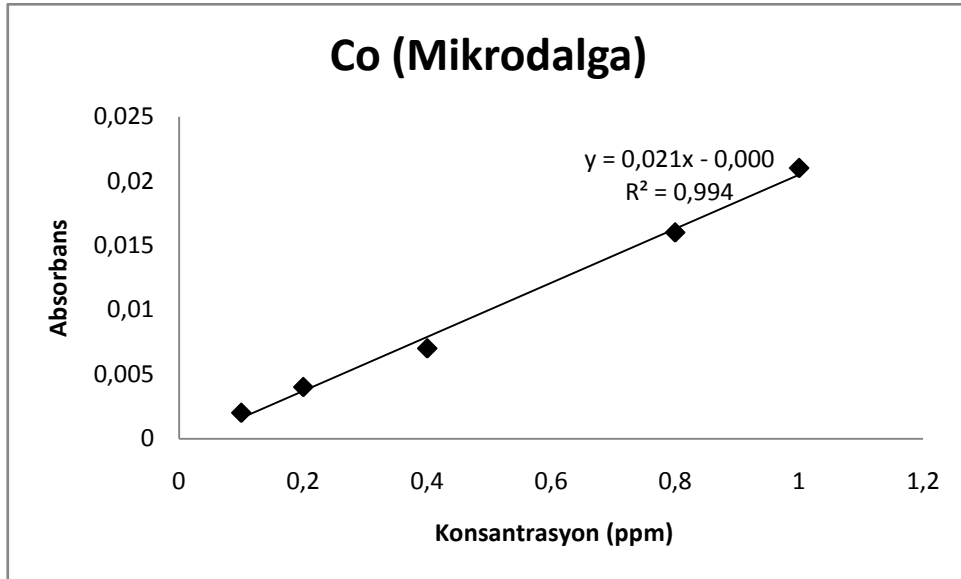
Şekil 4.4. AAS' de kuru külleme ile     n rle tirmeyle Zn tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



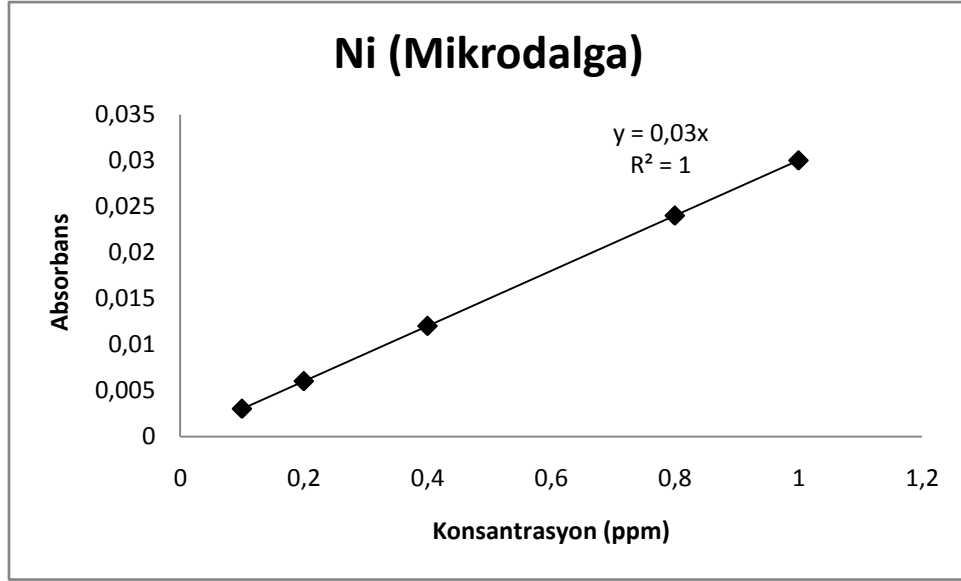
Şekil 4.5. AAS’de kuru külleme ile çözünürleştirmeye Fe tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği

4.7.2. Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirme İçin Kalibrasyon Grafikleri

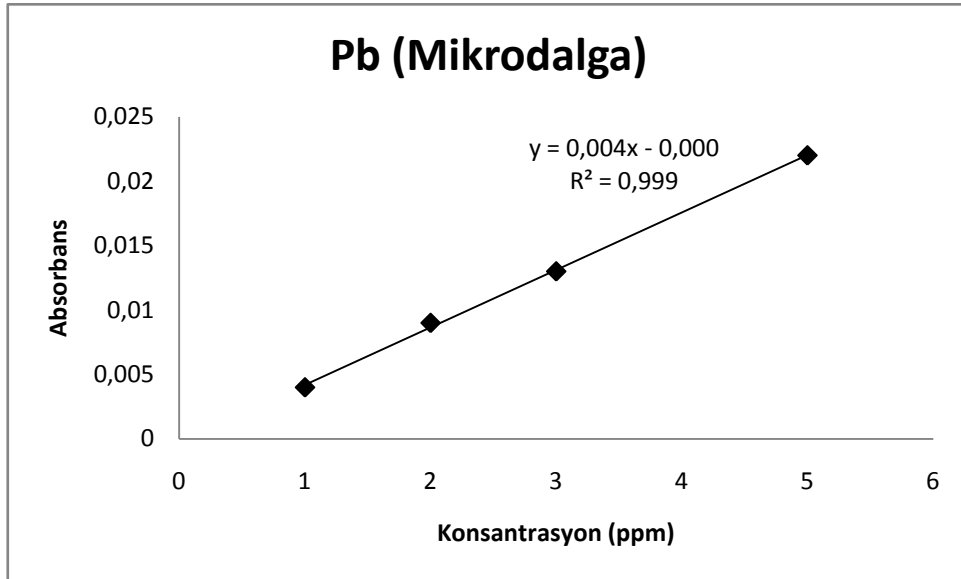
Co, Ni, Pb, Mn, Fe, Cu, Zn, için elde edilen kalibrasyon grafikleri Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11., Şekil 4.12.’de verilmiştir.



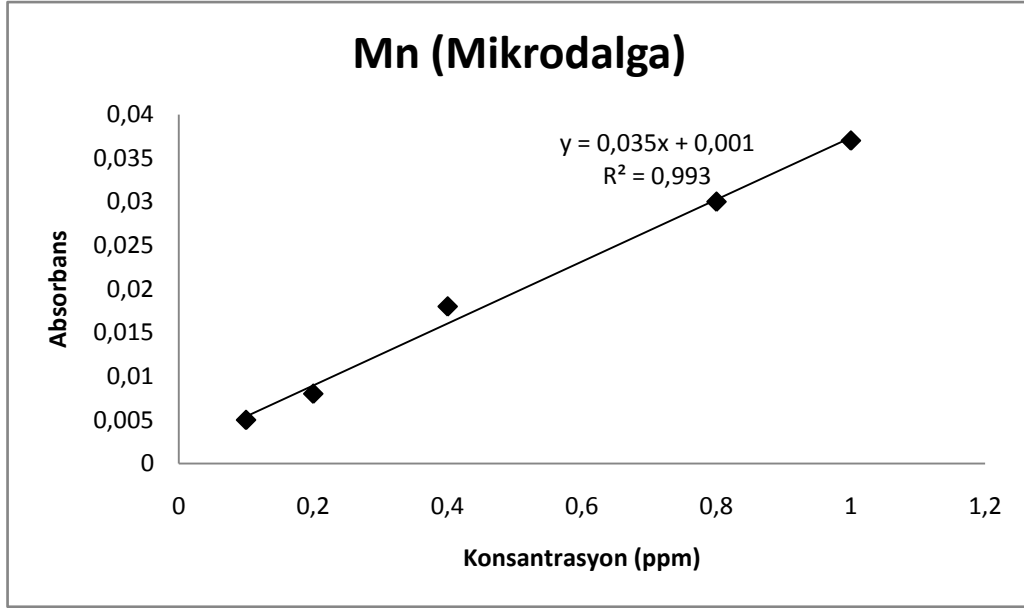
Şekil 4.6. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Co tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



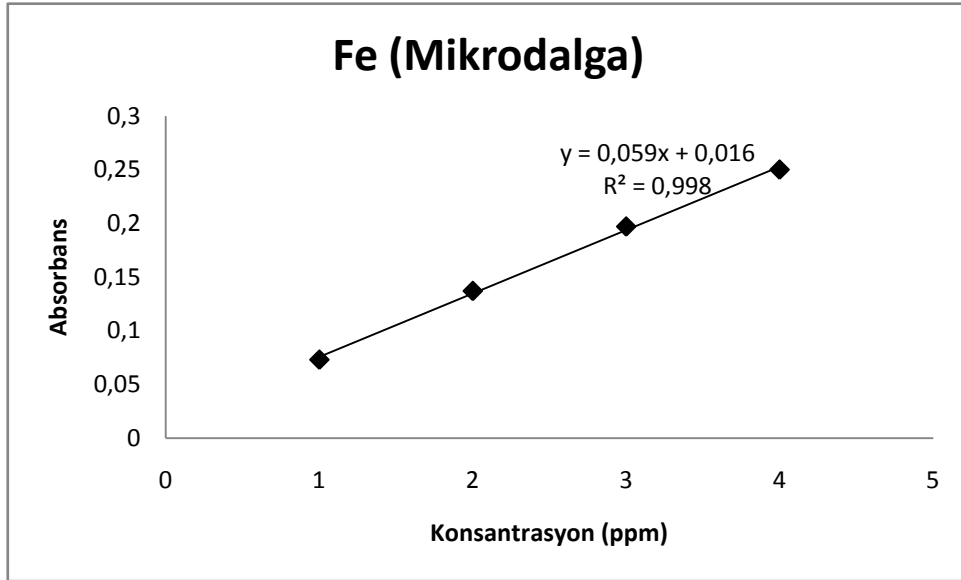
Şekil 4.7. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Ni tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



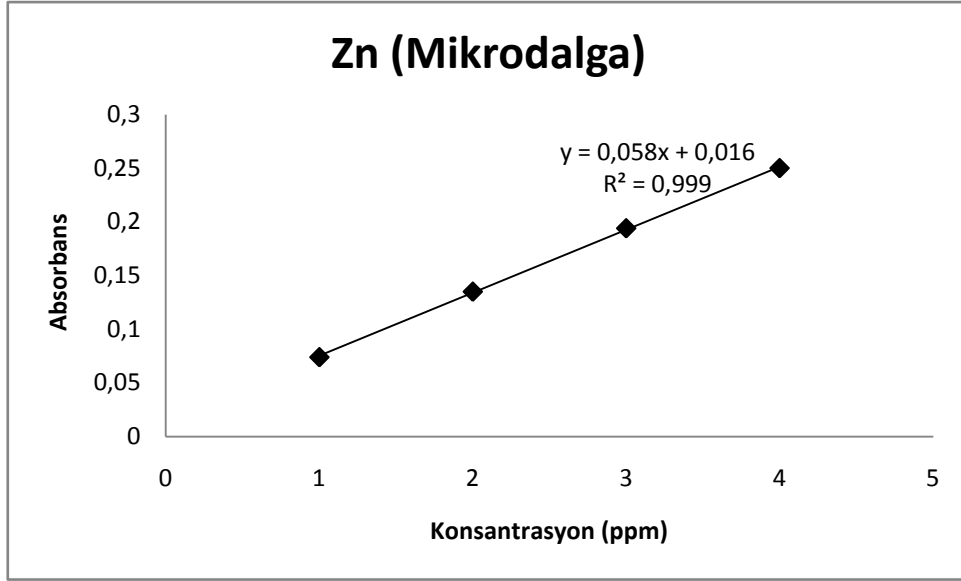
Şekil 4.8. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Pb tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



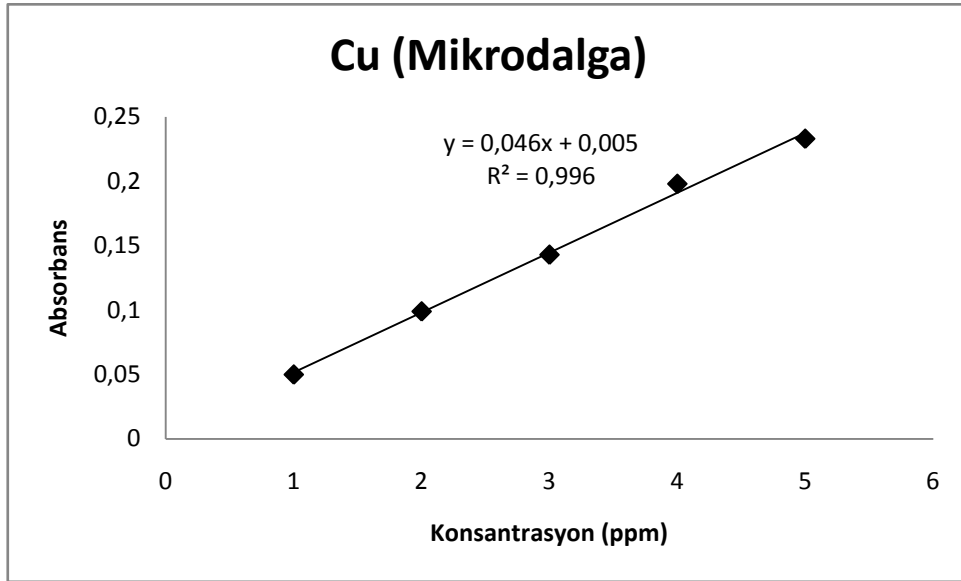
Şekil 4.9. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Mn tayini için kalibrasyon grafiği



Şekil 4.10. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Fe tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



Şekil 4.11. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Zn tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği



Şekil 4.12. AAS’de kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile Cu tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği

5. BULGULAR

5.1. Fenolik Asit Sonuçları

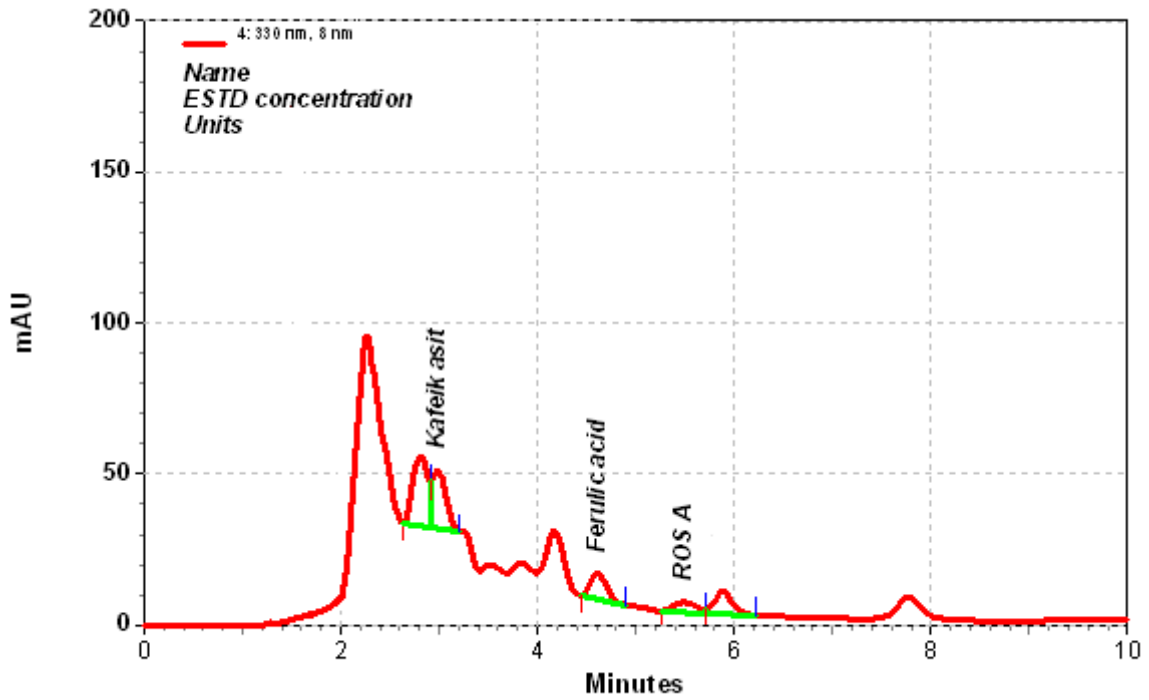
5.1.1. Yalova Cevzinde Bulunan Fenolik Asitlerin Kromatogramları

Yalova cevzinin yeşil kabuğunda bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.1. ve Şekil 5.2.'de gösterilmiştir.

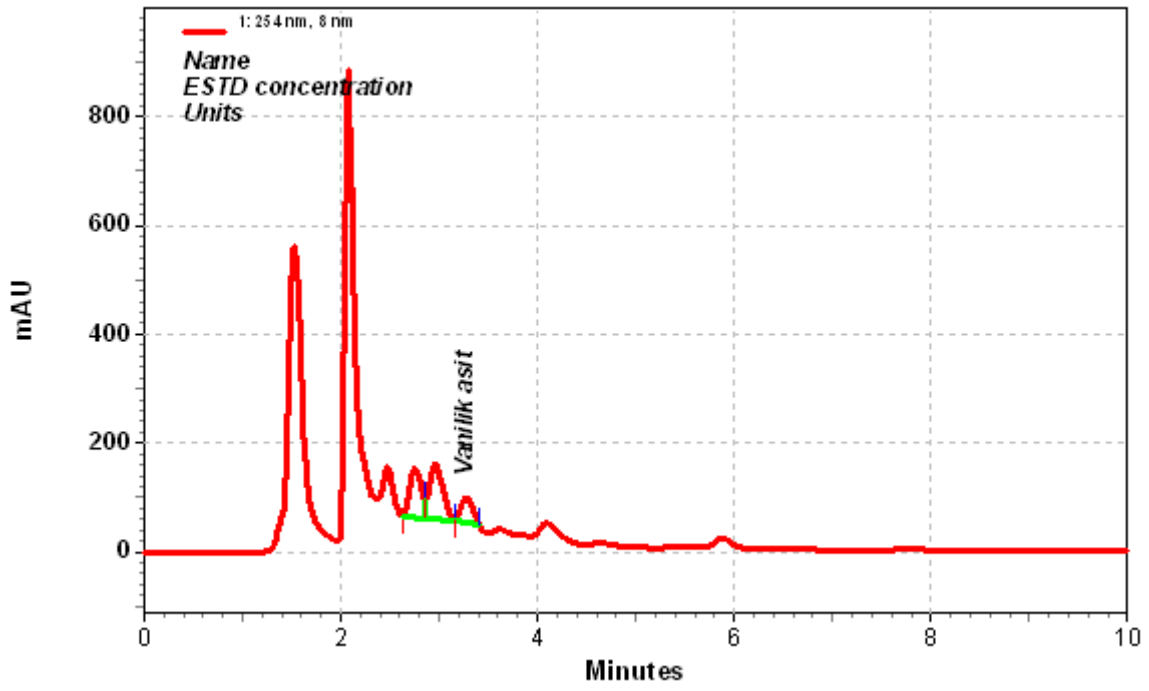
Yalova cevizi yaprağında bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.3. ve Şekil 5.4.'de gösterilmiştir.

Yalova cevizi meyvesinde bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.5. ve Şekil 5.6.'da gösterilmiştir.

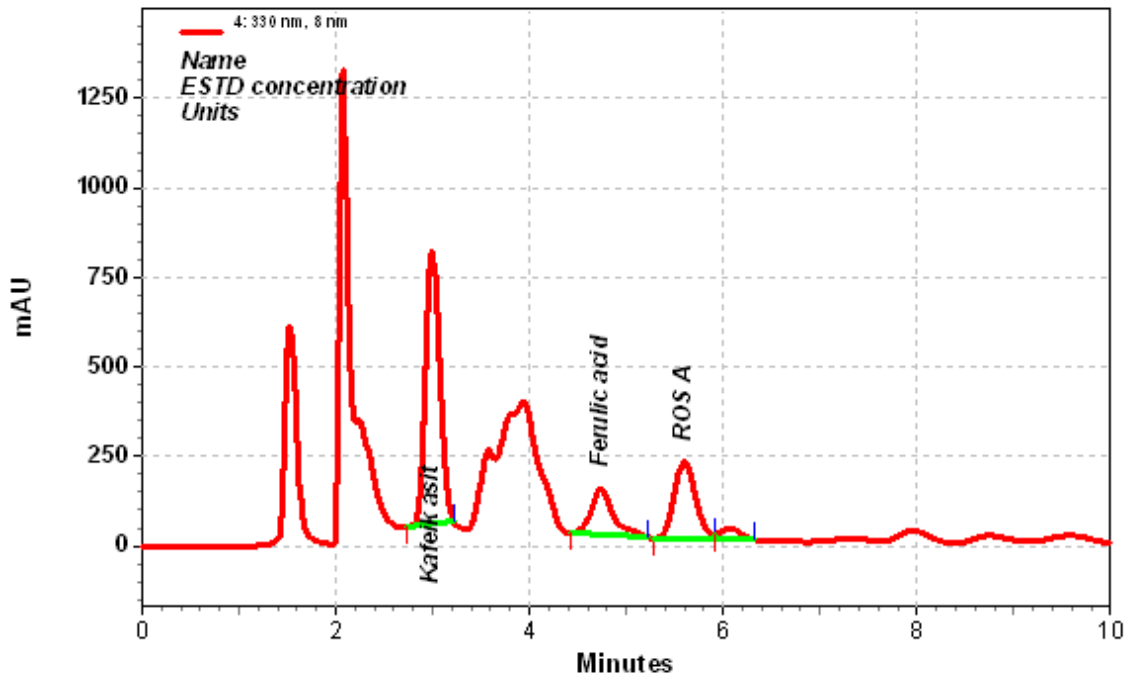
Örneklerde bulunan fenolik asit miktarları Tablo 5.1'de gösterilmiştir.



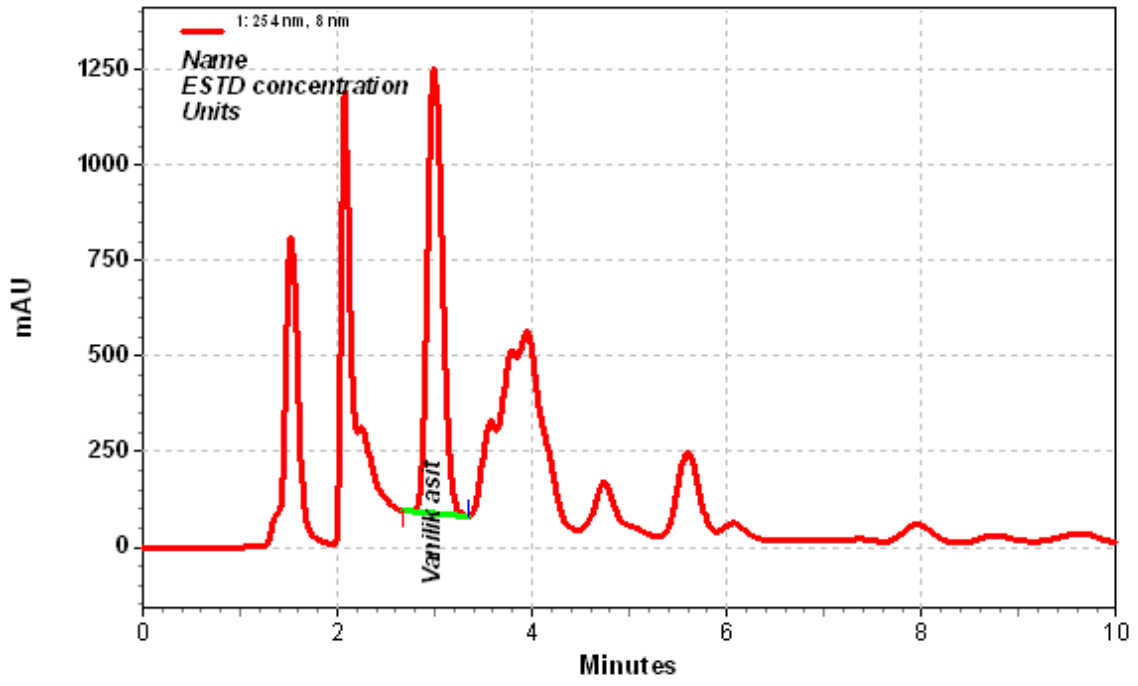
Şekil 5.1. Yalova cevzinin yeşil kabuğunda bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



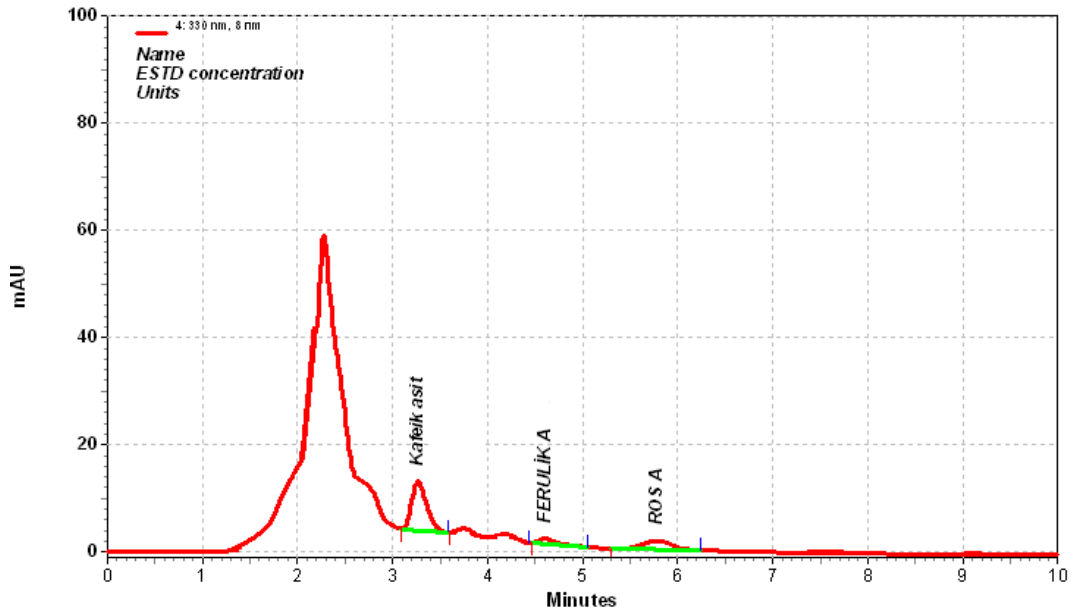
Şekil 5.2. Yalova cevizinin yeşil kabuğunda bulunan vanilik asitin kromatogramı



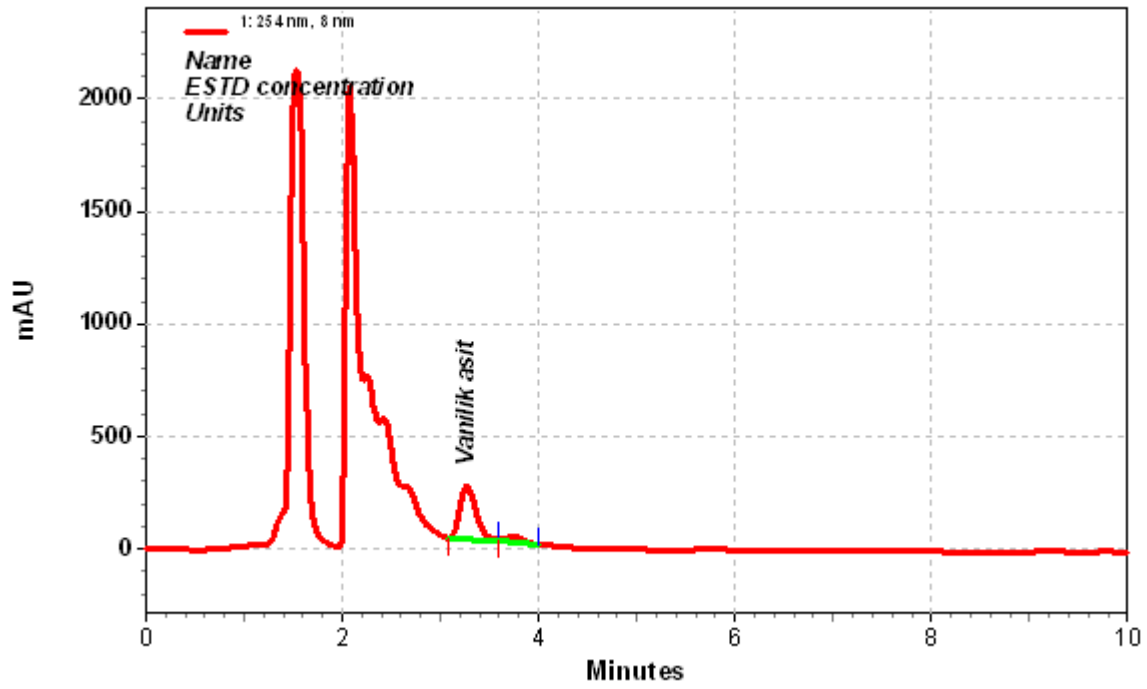
Şekil 5.3. Yalova cevizi yaprağında bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



Şekil 5.4. Yalova cevizi yaprağında bulunan vanilik asitin kromatogramı



Şekil 5.5. Yalova cevizi meyvesinde bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



Şekil 5.6. Yalova cevizi meyvesinde bulunan vanilik asitin kromatogramı

Tablo 5.1. Yalova cevizinde bulunan fenolik asit miktarları (n=3)

Bitki Örnekleri mg/kg	YEŞİL KABUK	YAPRAK	MEYVE
VANİLİK ASİT	121,67±60,06	4817,33±583,3	413±56,60
FERULİK ASİT	10±0,5	286,66±18,5	0,83±0,3
KAFEİK ASİT	69±16	3690,8±463,38	6±1,5
ROSMARİNİK ASİT	4,5±1	630,33±125,09	4,167±0,892

Tablo 5.1.'e göre tayini yapılan bütün fenolik asitlerin en yüksek değerlerinin yaprakta olduğu görülmektedir. Fenolik asitler içinde en yüksek değerler vanilik asitte, en düşük değerler ferulik asitte görülmektedir.

Colaric ve arkadaşları, ceviz meyvesinde kafeik asit miktarını 5,4-1,1 ppm, ferulik asit miktarını 1,1-0,4 ppm bulmuşlardır [138].

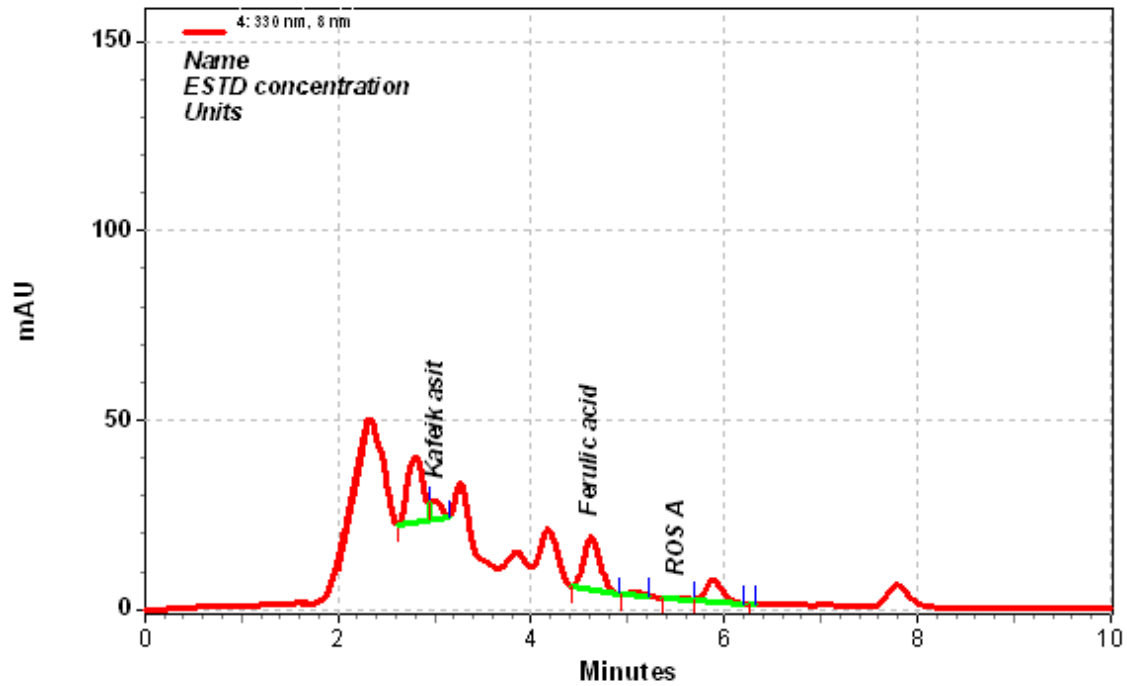
5.1.2. Kaman Cevzinde Bulunan Fenolik Asitlerin Kromatogramları

Kaman cevzinin yeşil kabuğunda bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.7. ve Şekil 5.8.'de gösterilmiştir.

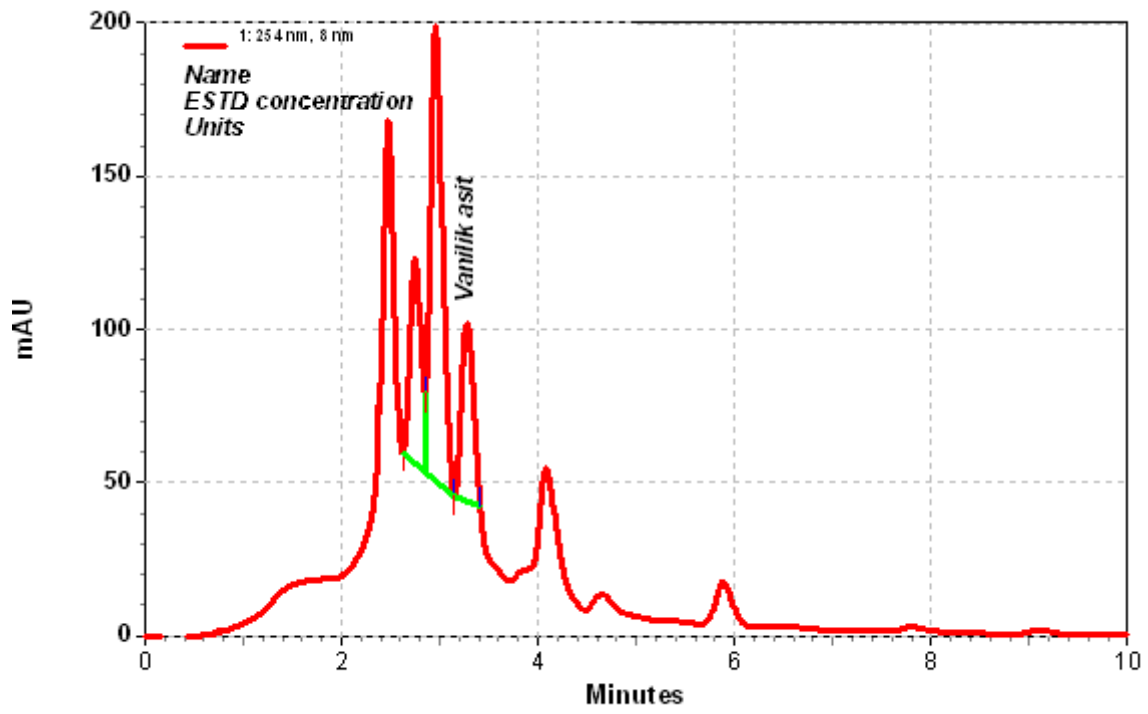
Kaman cevizi yaprağında bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.9. ve Şekil 5.10.'da gösterilmiştir.

Kaman cevizi meyvelerinde bulunan fenolik asitlerin kromatogramları Şekil 5.11. ve Şekil 5.12.'de gösterilmiştir.

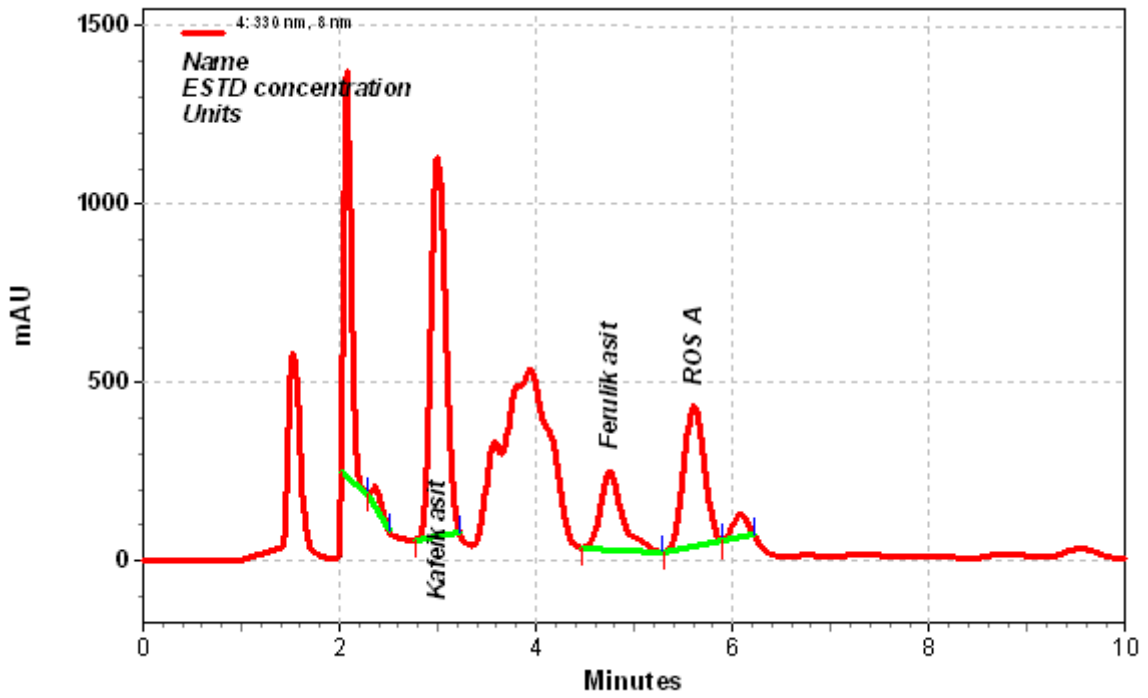
Örneklerde bulunan fenolik asit miktarları Tablo 5.2.'de gösterilmiştir.



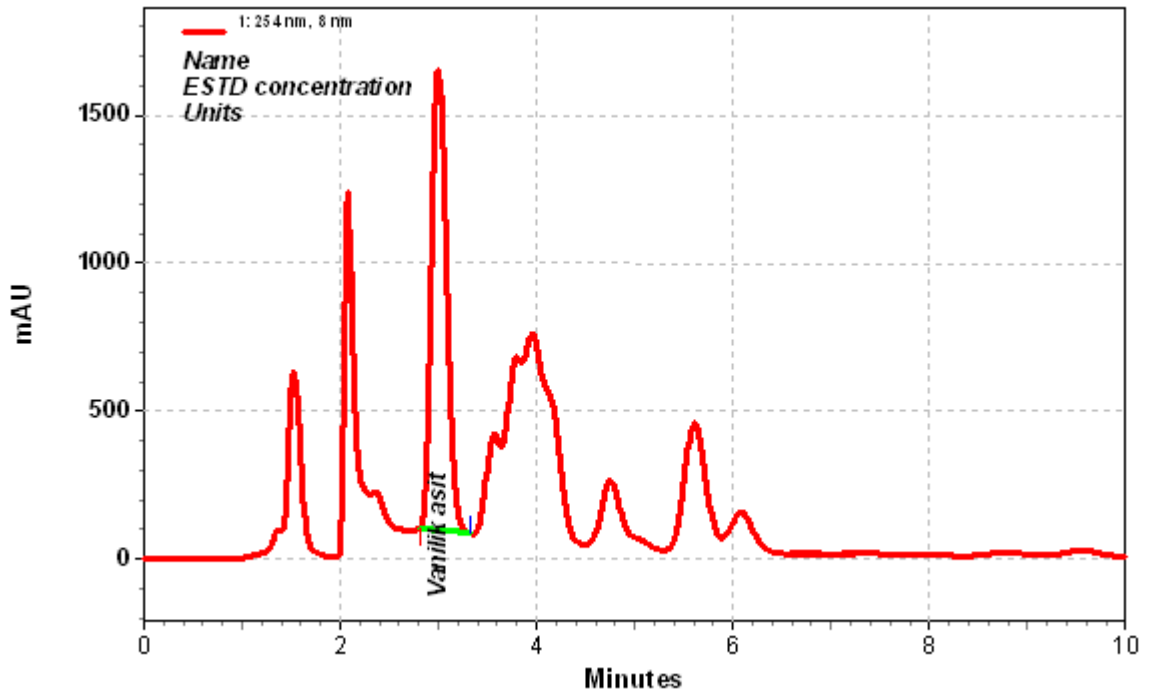
Şekil 5.7. Kaman cevzinin yeşil kabuğunda bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



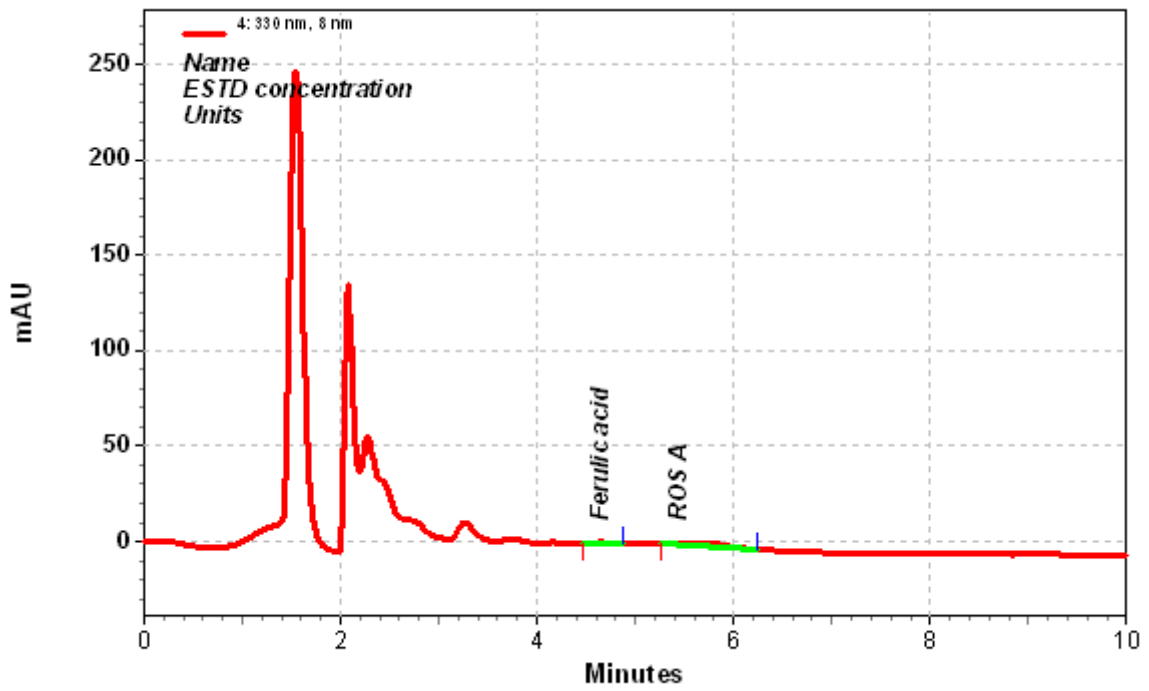
Şekil 5.8. Kaman cevizinin yeşil kabuğunda bulunan vanilik asitin kromatogramı



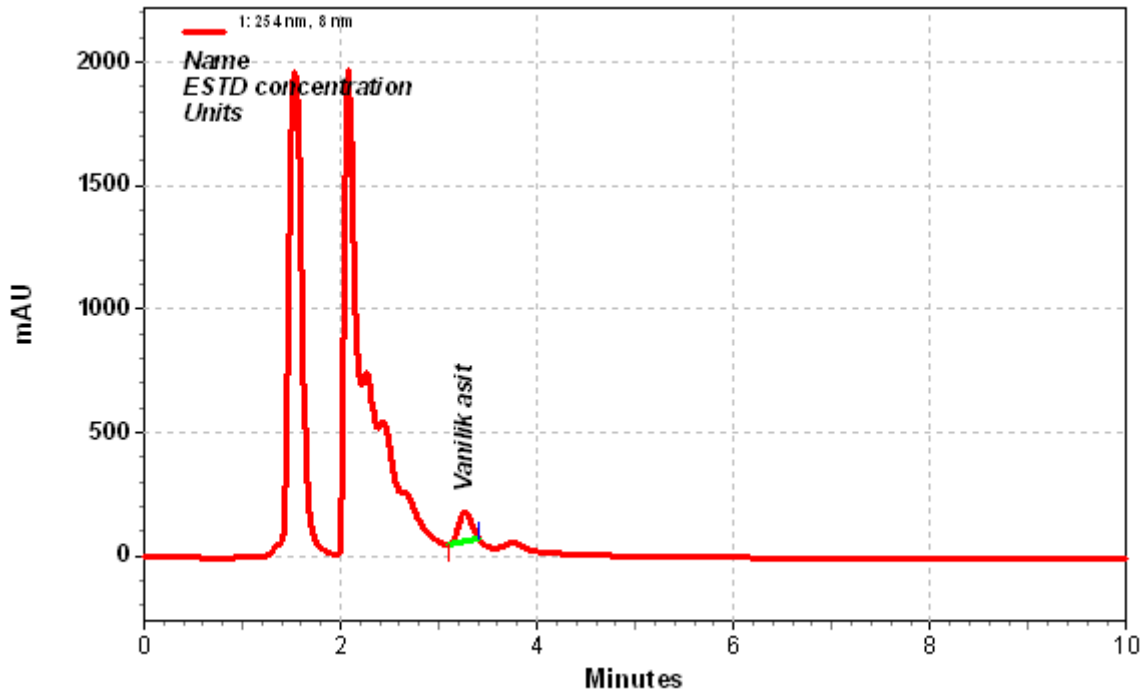
Şekil 5.9. Kaman cevizi yaprağında bulunan kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



Şekil 5.10. Kaman cevizi yaprağında bulunan vanilik asitin kromatogramı



Şekil 5.11. Kaman cevizi meyvesinde bulunan ferulik asit ve rosmarinik asitin kromatogramı



Şekil 5.12. Kaman cevizi meyvesinde bulunan vanilik asitin kromatogramı

Tablo 5.2. Kaman cevizinde bulunan fenolik asit miktarları (n=3)

Bitki Örnekleri mg/kg	YEŞİL KABUK	YAPRAK	MEYVE
VANİLİK ASİT	234±36,501	4011±185,58	227,333±20,81
FERULİK ASİT	21,66±3,81	342±37,67	0,787±0,251
KAFEİK ASİT	79,5±12,5	2597±310,62	< t.s.
ROSMARİNİK ASİT	8,8±1,59	659,5±62,40	2,933±0,504

Tablo 5.2.'ye göre ceviz bitkisinin yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımlarında bulunan vanilik asit miktarı, analizi yapılan diğer fenolik asit miktarlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Kafeik asit miktarı meyvesinde bulunmamaktadır. Fenolik asit

miktarlarının meyvelerde en düşük, yapraklarda ise en yüksek miktarlarda olduğu görülmektedir.

Chrzanowski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, ceviz yaprağında bulunan ferulik asit miktarı 81,6 ppm, yeşil kabukta bulunan ferulik asit miktarı 38 ppm'dir [136].

Caravaca ve arkadaşlarının çalışmasında, ceviz meyvesinde ferulik asit miktarı 1,124-0,337 ppm bulunmuştur [137].

5.2. Metal Analizi Sonuçları

5.2.1. Yalova Cevizinde Bulunan Metal Konsantrasyonları

Kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile çözünürleştirilmiş olan Yalova cevizinin yaprak, yeşil kabuk ve meyvelerinde bulunan metal konsantrasyonları Tablo 5.3.'de verilmiştir. Co, Ni, Pb ve Cu metalleri bütün kısımlarda tayin sınırının altında bulunmuştur. Tablodaki verilere göre Mn ve Fe en fazla yaprakta (88,23-138,75 ppm), en az yeşil kabukta (< t.s.-28,03 ppm) bulunmaktadır. Zn ise en fazla meyvede (76,633 ppm), en az yeşil kabukta (23,433 ppm) bulunmaktadır.

Kuru külleme ile çözünürleştirme yöntemiyle çözünürleştirilmiş olan Yalova cevizinin yaprak, yeşil kabuk ve meyvelerinde bulunan metal konsantrasyonları Tablo 5.4.'de verilmiştir. Tablodaki verilere göre Cu ve Zn miktarları en fazla meyvede (15,9-75,533 ppm), Fe miktarı en fazla yaprakta (120,4 ppm) bulunmaktadır.

Bu sonuçlar literatürle uyushmaktadır. Lavedrine ve arkadaşları çalışmalarında, ceviz meyvesinde Mn miktarını 43-11 ppm, Fe miktarını 29-18 ppm, Cu miktarını 11-15 ppm, Zn miktarını 12-19 ppm bulmuşlardır [135].

Tablo 5.3. Yalova cevizinde mikrodalga çözünürleştirme ile bulunan metal konsantrasyonları (n=3)

ppm Bitki Örnekleri	Co	Ni	Pb	Cu	Mn	Fe	Zn
Yeşil Kabuk	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	28,03±7,25	23,433±1,913
Yaprak	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	88,23±11,30	138,75±12,01	47,033±3,675
Meyve	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	44,63±10,17	28,667±5,216	76,633±3,937

Tablo 5.4. Yalova cevizinde kuru kütleme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları (n=3)

ppm Bitki Örnekleri	Cu	Zn	Fe
Yeşil Kabuk	8,267±0,862	24,667±5,773	28,567±2,4
Yaprak	6,267±0,305	43,15±1,472	120,4±7,29
Meyve	15,9±1,637	75,533±2,80	31,3±8,94

5.2.2. Kaman Cevizinde Bulunan Metal Konsantrasyonları

Kapalı ortamda mikrodalga çözünürleştirme ile çözünürleştirilmiş olan Kaman cevizinin yaprak, yeşil kabuk ve meyvelerinde bulunan metal konsantrasyonları Tablo

5.5.'de verilmiştir. Co, Ni, Pb ve Cu metalleri yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımlarında tayin edilememiştir. Tablodaki verilere göre Mn ve Fe en fazla yaprakta (78,967-260,05 ppm) bulunmaktadır. Zn ise en fazla meyvede (81,7 ppm), bulunmaktadır.

Kuru külleme ile çözünürleştirme yöntemiyle çözünürleştirilmiş olan Kaman cevizinin yaprak, yeşil kabuk ve meyvelerinde bulunan metal konsantrasyonları Tablo 5.6.'da verilmiştir. Tablodaki verilere göre Cu ve Zn miktarları en fazla meyvede (14,06-80,4 ppm), Fe miktarı en fazla yaprakta (251,5 ppm) bulunmaktadır.

Tosun'un ceviz yaprağı ve meyvesiyle yaptığı çalışmaya göre ceviz yaprağında 6,9 ppm Cu, 615 ppm Fe, 109,7 ppm Mn bulunmaktadır. Ceviz meyvesinde 18,4 ppm Cu, 34,7 ppm Fe, 30,8 ppm Mn bulunmaktadır [105].

Gharibzahedi ve arkadaşlarının çalışmasına göre ceviz meyvesinde bulunan Fe miktarı 33,6-24,1 ppm, Zn miktarı 30,2-19,2 ppm, Mn miktarı 24,3-22,1 ppm, Cu miktarı 11,1-6,5 ppm'dir [117].

Tablo 5.5. Kaman cevizinde mikrodalga çözünürleştirme ile bulunan metal konsantrasyonları (n=3)

Bitki Örnekleri	Co	Ni	Pb	Cu	Mn	Fe	Zn
Yeşil Kabuk	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	35,73±3,394	27,5±0,519
Yaprak	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	78,967±8,38	260,05±78,97	48,467±5,727
Meyve	< t.s.	< t.s.	< t.s.	< t.s.	45,2±6,8	30,133±4,471	81,7±5,31

Tablo 5.6. Kaman cevizinde kuru kütleme metoduyla bulunan metal konsantrasyonları

ppm Bitki Örnekleri	Cu	Zn	Fe
Yeşil Kabuk	9,883±1,159	26,2±2,879	36,63±8,342
Yaprak	7,367±0,34	44,3±2,39	251,5±86,43
Meyve	14,06±1,021	80,4±7,005	32,267±6,616

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında rosmarinik asit, kafeik asit, vanilik asit, ferulik asit bileşiklerinin ve Fe, Cu, Zn, Co, Ni, Pb, Mn metallerinin Yalova ve Kaman cevizi türlerindeki konsantrasyonları araştırıldı. Bu türlerin yaprak, yeşil kabuk ve meyve kısımları analiz için kullanıldı. Fenolik asitlerin analizi için HPLC-DAD kullanıldı. Metal tayinleri için Alevli AAS kullanıldı.

Örneklerin ekstraksiyonu için metanol kullanıldı. mobil faz olarak metanol/H₃PO₄ (75:25) kullanıldı. Kaman ve Yalova cevizlerinin yapraklarında bulunan fenolik asit miktarlarının, yeşil kabuk ve meyvelerinde bulunan fenolik bileşik miktarlarından daha yüksek olduğu görüldü. Tayini yapılan fenolik asitler içinde en yüksek değerlerin vanilik asite ait olduğu görüldü. Kaman cevizi meyvesinde kafeik asit tayin edilemedi. Rosmarinik asitin en yüksek değeri Kaman cevizi yaprağında (659,5±62,40 ppm), en düşük değeri kaman cevizi meyvesinde (2,933±0,504 ppm) bulunmuştur. Vanilik asitin en yüksek değeri Yalova cevizi yaprağında (4817,33±583,3 ppm), en düşük değeri Yalova cevizi yeşil kabuğunda (121,67±60,06 ppm) bulunmuştur. Kafeik asitin en yüksek değeri Yalova cevizi yaprağında (3690,8±463,38 ppm), en düşük değeri Kaman cevizi meyvesinde (< t.s.) bulunmuştur. Ferulik asitin en yüksek değeri Kaman cevizi yaprağında (342±37,67 ppm), en düşük değeri Kaman cevizi meyvesinde (0,787±0,251 ppm) bulunmuştur.

Örnekler metal tayini için kuru külleme ve kapalı ortamda mikrodalga çözümlendirme yöntemleriyle çözümlendirildi. Mikrodalga çözümlendirme ile tayin edilen Co, Ni, Pb ve Cu metalleri tayin sınırının altında bulundu. Mikrodalga çözümlendirme ile Cu tayini yapılamazken kuru külleme ile Cu tayini yapılmıştır. Bunun sebebi kuru küllemede analiz için kullanılabilen örnek hacminin, mikrodalga çözümlendirmede kullanılabilen örnek hacminden daha fazla olmasıdır. Yeşil ceviz kabuğunda Mn bulunamamıştır. Fe miktarı en yüksek Kaman cevizi yaprağında (260,05±78,97 ppm), en düşük Yalova cevizinin yeşil kabuğunda (28,03±7,25 ppm) bulunmuştur. Zn miktarı en fazla Yalova cevizi meyvesinde (81,7±5,31 ppm), en az Yalova cevizinin yeşil kabuğunda (23,433±1,913 ppm) bulunmaktadır. Mn miktarı en fazla Yalova cevizi yaprağında (88,23±11,30 ppm), en az yeşil kabuklarda (< t.s.) bulunmuştur. Cu miktarı en fazla Yalova cevizi meyvesinde (15,9±1,637 ppm), en az Yalova cevizi yaprağında (6,267±0,305 ppm) tayin edilmiştir.

7. KAYNAKLAR

- [1] **Akyüz, E.**, 2007. Polygonum bistorta ssp. Carneum bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, *Yüksek lisans tezi*, Trabzon.
- [2] **Wollgast J. ve Anklam E.**, 2000. Review on polyphenols in theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, *Food Res. Int.*, **33**, 423-347.
- [3] **Nizamhoğlu, N.M., Nas, S.**, 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri, *Electronic Journal of Food Technologies*, **5**, 20-35.
- [4] **Tepe, B.**, 2006. Rozmarinik asitin *Satureja hortensis* L. kallus kültürlerinde üretimi ve optimizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [5] **Taiz, L., Zeiger, E.**, 2002. Plant Physiology., Third Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 690.
- [6] **Rice, E.L.**, 1984. Allelopathy, Academic Press., New York.
- [7] **Kocaçalışkan, İ.**, 2006. Bitki fizyolojisi, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- [8] **Yıldız, L.**, 2007. Bazı bitki örneklerinde antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ve kromatografik tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [9] **Cadenas, E., Packer, L.**, 2002. Handbook of Antioxidants, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- [10] **Brown, J.A., Khodr, H., Hider, R.C., Rice-Evans, C.**, 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties, *Biochemical Journal*, **330**, 1173-1178.
- [11] **Proestos, C., Sereli, D., Komaitis, M.**, 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS, *Food Chemistry*, **95**, 44–52.
- [12] **Harborne, J.B.**, 1998. Phytochemical methods; a guide to modern techniques of plant analysis, London, Chapman and Hall, 40–106.
- [13] **Harborne, J.B.**, 1989. Methods in plant biyochemistry, Academic Press, 8.
- [14] **Nychas, G.-J.**, 1995. New methods of food preservation, London, Blackie Academic & Professional, 58–89.

- [15] **Tranter, H.S., Tassou, C.C., Nychas, G.-J.,** 1993. The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*, *Journal of Applied Bacteriology*, **74**, 253–259.
- [16] **Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.-J.E., Komaitis, M.,** 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity, *Food Chemistry*, **95**, 664–671.
- [17] **Havsteen, B.H.,** 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacology and Therapeutics*, **96**, 67–202.
- [18] **Mattila, P., Astola, J., Kumpulainen, J.,** 2000. Determination of flavonoids in plant material by HPLC with diode-array and electroarray detections, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5834–5841.
- [19] **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C.,** 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer, *Pharmacological Reviews*, **52**, 673–751.
- [20] **Akkan, A.C.,** 2008. Bazı fenolik asit bileşiklerinin kapiler elektroforez yöntemi ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [21] **Robbins R.J.,** 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology, *Food Composition Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, USA*, **10**, 2866-2887.
- [22] **Croft, K.D., Ann, N.Y.,** 1998. *Academic Science*, **854**, 435–442.
- [23] **Tarnawski, M., Depta, K., Grejciun, D., Szelepin, B.,** 2006. HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract-a natural immunomodulator, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**, 182–188.
- [24] **Kampa, M., Alexaki, V.I., Notas, G., Nifli, A.P., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., Bakogeorgou, E., Kouimtzoglou, E., Blekas, G., Boskou, D., Gravanis, A., Castanas, E.,** 2004. *Breast Cancer Res*, **6**, R63–R74.
- [25] **Mandalari, G., Tomaino, A., Arcoraci, T., Martorana, M., Lo Turco, V., Cacciola, F., Rich, G.T., Bisignano, C., Saija, A., Dugo, P., Cross, K.L., Parker, M.L., Waldron, K.W., Wickham, M.S.J.,** 2010. Characterization of polyphenols, lipids and dietary fibre from almond skins (*Amygdalus communis L.*), *Journal of Food Composition and Analysis*, **23**, 166–174

- [26] **Milbury, P.E., Chen, C.-H., Dolnikowski, G.G., Blumberg, J.B.,** 2006. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 5027–5033.
- [27] **Garrido, L., Monagas, M., Go´mez-Cordove´z, C., Bartolome´, B.,** 2008. Polyphenols and antioxidant properties of almond skins: influence of industrial processing, *Food Chemistry*, **73**, C106–C115.
- [28] **Sarıkaya, A.O.,** 2009. Kestane bal ve propolisinin fenolik asit kompozisyonu ve antioksidan özelliğinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*. K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [29] **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Cross, C.E.,** 1993. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Where are We Now?, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **119**, 6, 598-613.
- [30] **Storz, G., Imlay, J.,** 1999. Oxidative Stres, *Current Opinion in Microbiology*, **2**, 188-194.
- [31] **Rice-Evans, C.A., ve Miller, N.J.,** 1997. Paganga, G. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, *Trends Plant Science*, **2**, 4, 152-159.
- [32] **Shahidi, F., Naczki, M.,** 1995. Food Phenolics. Technomic Publishing Company Book, Lanchester, USA, 199-225.
- [33] **Dziedzic, S.Z., Hudson, B.J.F.,** 1983. Polyhydroxychalcones and flavanones as antioxidants for edible foods, *Food Chemistry*, **12**, 205-212.
- [34] **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.
- [35] **Schuster, B., Herrmann, K.,** 1985. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits, *Phytochemistry*, **24**, 2761-2764.
- [36] **Winter, M., Herrmann, K.,** 1986. Esters and glucosides hydroxyl-cinnamic acids in vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **34**, 616-620.
- [37] **Sarıburun, E.,** 2009. Bursa’da yetiştirilen bazı ahududu (*Rubus idaeus* L.) ve böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) çeşitlerinin fenolik bileşiklerinin sıvı kromatografisi kütle spektrometresi (LC-MS) ile incelenmesi ve antioksidan aktivite tayinleri, *Yüksek Lisans Tezi*, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

- [38] **Abu-Amsha, R., Croft, K.D., Puddey, I.B., Proudfoot, J.M., Beilin, L.J.,** 1996. Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine, *Clinical Science*, **91**, 449-458.
- [39] **Heller, W., Forkmann, G.,** 1993. Biosynthesis of flavonoids, *The flavonoids: Advances in Research since 1986*, Chapman & Hall, London, 499- 535.
- [40] **Wallace, G., Fry, S.C.,** 1994. Phenolic components of the plant cell wall, *International Review of Cytology*, **151**, 229-267.
- [41] **Kahnt, G.,** 1967. Trans-cis equilibrium of hydroxy cinnamic acids during irradiation of aqueous solutions at different pH, *Phytochemistry*, **6**, 755-758.
- [42] **Minussi R.C., Rossi M., Bologna L., Cordi L., Rotilio D., Pastore G.M., Duran N.,** 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines, *Food Chemistry*, **82**, 409-416.
- [43] **Yu L., Zhou K.,** 2005. Antioxidants properties of bran extracts from ‘Palte’ wheat grown at different locations, *Food Chemistry*, **90**, 311-316.
- [44] **Gonzalez J., Cruz J. M., Dominguez H., Parajo J.C.,** 2004, Production of antioxidants from Eucalyptus globulus wood by solvent extraction of hemicellulose hydrolysates, *Food Chemistry*, **84**, 243-251.
- [45] **Huang M., Ferraro T.,** 1991. Phenolic compounds in food cancer prevention, *American Chemical Society Symposium Series* **507**, 8-35.
- [46] **Mehmet, A.,** 2001. Kayısı ve zerdali meyvelerinde fenolik madde içerikleri ve bazı proseslerde görülen değişimler üzerine bir araştırma, *Doktora Tezi*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [47] **Litvinenko, V.I., Popova, T.P., Simonjan, A.V., Zoz, I.G., Skolov, V.S.,** 1975. "Gerbstoffe" und Oxyzimtsäureabkömmlinge in Labiaten. *Planta Medica*, **27**, 372-380.
- [48] **Hausler, E., Petersen, M., Alfermann, A.W.,** 1992. Rosmarinsäure in *Blechnum*-Speziez. In: Haschke, H.P., Schnarrenberger, C. (Eds.), Botanikertagung. Berlin. Akademie Verlag, Berlin, 507.
- [49] **Takeda, R., Hasegawa, J., Sinozaki, M.,** 1990. The first isolation of lignans, megaceratonic acid and anthoceratonic acid, from non-vascular plants, Anthocerotae (hornworts), *Tetrahedron Letters*, **31**, 4159-4162.

- [50] **Rawn, H., Pedersen, M.F., Andary, J., Borum, C., Anthoni, U., Cristophersen, C., Nielsen, P.H.**, 1994. Seasonal variation and distribution of two phenolic compounds, rosmarinic acid and caffeic acid, in leaves and roots-rhizomes of eelgrass (*Zostera marina* L.), *Ophelia*, **40**, 51-61.
- [51] **Parnham, M.J., Kesselring, K.**, 1985. Rosmarinic acid, *Drugs of the Future*, **10**, 756-757.
- [52] **Deans, S.G., Svoboda, K.P.**, 1989. Antibacterial activity of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and its constituents, *Journal of Horticultural Science*, **64**, 205-210.
- [53] **Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A., Boskou, D.**, 2002. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory, *J. Agric. Food. Chem.*, **50**, 5294-5299.
- [54] **Güllüce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agar, G., Özkan, H., Kartal, N., Polissiou, M., Sokmen, A., Şahin, F.**, 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3958-3965.
- [55] **Tümer, L.Ö.**, 2006. Bazı nar çeşitlerinin olgunlaşma aşamalarında fenolik bileşik miktarlarındaki değişimler. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [56] **Pırıldar, S.**, 2006. *Colchicum baytupiorum* C.D. Brickell üzerinde farmakognozik araştırmalar, *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [57] **Sharzad, S., Bitsch, I.**, 1996. Determination of some pharmacologically actiand phenolic acids in juices by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography*, **741**, 223-231.
- [58] **Graf, E.**, 1992. Antioxidant potential of ferulic acid, *Free Radic. Biol. Med.*, **13(4)**, 435-448.
- [59] **Andersons, B., Gravitis, J., Erins, P.**, 1980. Study of macromolecular models of lignin obtained from ferulic acid, *Khim. Prir. Soedin.*, **2**, 239-245.

- [60] **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L.,** 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability, *Am. J Clin. Nutr.*, **79 (5)**, 727–747.
- [61] **Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W.,** 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, *Food Chemistry*, **66**, 401-436.
- [62] **Taner, G.,** 2007. Lipoik asit ve ferulik asitin insan lenfosit kültüründe Mitomisin-C'ye karşı atigenotoksik etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [63] **Rukkumani, R., Aruna, K., Suresh Varma, P., Menon, V.P.,** 2004. Hepatoprotective role of ferulic acid: a dose dependent study, *J. Med. Food*, **7 (4)**, 456–461.
- [64] **Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., Pasquale, A.D., Uccella, N., Barbuzzi, T., Donatella, P., Bonina, F.,** 2000. In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents, *Int.J. Pharm.*, **199**, 39–47.
- [65] **Srinivasan, M., Rukkumani, R., Ram Sudheer, A., Menon, V.P.,** 2005. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride-induced toxicity, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **19**, 491–496.
- [66] **Rukkumani, R., Aruna, K., Varma, P.S., Menon, V.P.,** 2004. Ferulic acid, a natural phenolic antioxidant modulates altered lipid profiles during alcohol and thermally oxidized sunflower oil induced toxicity, *Neutraceutic. Funct. Med. Foods*, **4**, 119–132.
- [67] **Murakami, A., Nakamura, Y., Koshimizu, K., Takahashi, D., Matsumoto, K., Haihara, K., Taniquchi, H., Nomura, E., Hosoda, A., Tsuno, T., Maruta, Y., H.W. Kim, H.W., Kawabata, K., Ohigashi, H.,** 2002. FA15, a hydrophobic derivative of ferulic acid, suppresses inflammatory responses and skin tumor promotion: comparison with ferulic acid, *Cancer Letters*, **180**, 121–129.
- [68] **Spanos, G.A., Wrolstad, R.E.,** 1992. Phenolic of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage, *J. Agric. Food Chem.*, **40(9)**, 1478-1487.

- [69] **Maier, G., Mayer, P., Dietrich, H., Wucherpennig, K.,** 1990. Polyphenol oxidases and their application in the stabilization of fruit juices, *Flüss Obst.*, **57(4)**, 230- 239.
- [70] **Tunaher, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H., Kırimer, N.,** 2002. *XIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir, 29-31 Mayıs 2002.
- [71] **Karaaslan, N.M.,** 2009. Çok yıllık ağaç yapraklarında metal tayinleri ile kirlетici kaynakların belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [72] **Delves, H.T.,** 1981. The Analysis Of Biological And Clinical Materials, *Prog. Analyt. Atom. Spectros.*, **11**, 67-80.
- [73] **Mertz, W.,** 1987, Trace Elements İn Human And Animal Nutrition, Fifth Ed., Academic Press, Newyork.
- [74] **Tosmur, B.,** 2004. Muğla yöresi çam ballarındaki eser element içeriğinin iki farklı spektroskopik yöntem ile analizi, *Yüksek Lisans Tezi*, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- [75] **Duffus, J.H., Howard G.J. Worth,** 1996. Fundamental Toxicology for Chemist, Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry Information Services, 517.
- [76] **Çiftçi, H.,** 2007. Çeşitli biyolojik ve çevre örneklerindeki kobalt, bakır, nikel ve demir gibi eser elementlerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile tayini, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [77] **Ölçücü, A., Çağlar, P.,** 1993, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, **6**, 141-145.
- [78] **Göküstün, O.,** 2005. Elazığ yöresinde doğuştan kalp rahatsızlığı olan çocukların kan serumunda bazı eser elementlerin spektroskopik yöntemlerle tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [79] **Oster, O., Prellwitz, W.,** 1989. Deficient selenium in biology and medicine, Springer, Verlag, Berlin Heidelberg New York, 229-233.
- [80] **Doğan, P., Doğan, M., Klockenkamp, P.,** 1993. Clinical chemistry, **39**, 1037-1041.
- [81] **Kavukoğlu, D.,** 2004. Biyokimya, 355-359.
- [82] **Doğan, M.,** 1993. Eser elementlerin biyolojik önemleri ve tayin yöntemleri, Ders notları, Erciyes Üniversitesi.

- [83] **Cartwright, G., Engle, N.**, 1978. *J. Med.*, **298**, 1347.
- [84] **Atıhan, F., Söylemezoğlu, T.**, 1990. *Turk J. Pediatry*, **32(1)**, 33-38.
- [85] **Onat, T., Emerk, K., Sözmen Y.**, 2002. İnsan biyokimyası, Palme yayıncılık, Ankara, 529-531.
- [86] U.S. Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS) on Nickel Carbonyl. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC. 1999.
- [87] **Gürgöze, M.K., Aygün, A.D., Ölçücü, A., Doğan, Y., Yılmaz, E.**, 2004. Plasma selenium status in children with iron deficiency anemia, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **18**, 193-196.
- [88] **El-Subbagh, H.I., Al-Obaid, A.M.**, 1996. 2,4-Disubstituted thiazoles II. A novel class of antitumor agents, synthesis and biological evaluation, *European Journal Medicinal Chemistry*, **31**, 1017-1021.
- [89] **Denkhaus, E., Salnikow, K.**, 2002. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity, *Critical reviews in oncology hematology*, **42**, 35-56.
- [90] **Narin, İ., Soylak, M.**, 2003. Enrichment and determinations of nickel(II), cadmium(II), copper(II), cobalt(II) and lead(II) ions in natural waters, table salts, tea and urine samples as pyrrolydine dithiocarbamate chelates by membrane filtration–flame atomic absorption spectrometry combination, *Analytica Chimica Acta*, **493**, 205-212.
- [91] **Bingöl, G.**, 1983. Biyokimya. Dördüncü baskı, Hacetepe Taş yayıncılık, Ankara.
- [92] U.S. Department of Health and Human Services. Hazardous Substances National Toxicology Information Program, National Library of Medicine, Bethesda, MD. 1993.
- [93] **Nordberg, G.**, 2003. Cadmium and human health: A perspective based on recent studies in china, *J. Trace Elem. Exp. Med.*, **16(4)**, 307-319.
- [94] **Waalkes, M.P.**, 2000. Cadmium carcinogenesis in review, *J. Inorganic Chem.*, **79**, 241-244.
- [95] **Ası, T.**, 1996. Tablolarla Biyokimya.
- [96] **Günbey-Şerifoğlu, A.**, , 1993. Ege Bölgesi Ballarının Bazı Ağır Metal Birikimlerinin Saptanması, *Doktora Tezi*, Ege Üniversitesi, Bornova-İzmir.
- [97] **Sevgican, F.**, 1977, İnorganik Elementler ve Metabolizması, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, 127.

- [98] **Flora, S.J.S.**, 2002. Lead exposure: health effects, prevention and treatment, *Journal of Environmental Biology.*, **23(1)**, 25-41.
- [99] **Weast, R.C.**, 1976. Handbook of Chemistry and Physics, Edit 57, CRC Press, Ohio.
- [100] **Duran, C.**, 2000. Bazı eser elementlerin XAD-2000 reçinesinde zenginleştirildikten sonra AAS ile analizleri, *Doktora Tezi*, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [101] **Güley, M., Vural, N.**, 1978. Toksikoloji, A.Ü. eczacılık Fakültesi Yayınları, No:48, Ankara.
- [102] **Dökmeci, İ.**, 1988. Toksikoloji, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- [103] **Albayrak, A.**, 2006. Ceviz yaprak özütleri ve juglonun bazı mikroorganizmalar üzerine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [104] **Ölez, H.**, 1971, Marmara Bölgesi Cevizlerinin (*Juglans regia* L) Seleksiyon Yolu İle Islahı Üzerinde Araştırmalar, *Doktora tezi*, 12.
- [105] **Gharibzahedi, S.M.T., Mousavi, S.M., Hamed, M., Khodaiyan, F.**, 2012. Comparative analysis of new Persian walnut cultivars: nut/kernel geometrical, gravimetical, frictional and mechanical attributes and kernel chemical composition, *Scientia Horticulturae*, **135**, 202–209.
- [106] **Saadat, Y.A., Hennerty, M.J.**, 2002. Factors affecting the shoot multiplication of Persian walnut (*Juglans regia* L.), *Sci. Hortic.*, **95 (3)**, 251–260.
- [107] **Altuntas, E., Ozkan, Y.**, 2008. Physical and mechanical properties of some walnut (*Juglans regia* L.) cultivars, *Int. J. Food Eng.*, **4 (4)**, 1–14.
- [108] **Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valenta, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L.**, 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars, *Food and Chemical Toxicology*, **45**, 2287–2295.
- [109] **Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., Colaric, M.**, 2006. Traditional walnut liqueur – cocktail of phenolics. *Food Chemistry*, **95**, 627–631.
- [110] **Sze-Tao, K.W.C., Sathe, S.K.**, 2000. Walnuts (*Juglans regia* L.): proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, 1393–1401.

- [111] **Perry, L.M.**, 1980. Medicinal plants of east and southeast asia, MIT Press, Cambridge.
- [112] **Duke, J.A.**, 1989. Handbook of nuts, CRC Press, London.
- [113] **Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T., Wang, Z.**, 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.), *Food Chemistry*, **113**, 160-165.
- [114] **Reiter, R.J., Manchester, L.C., Tan, D.**, 2005. Melatonin in walnuts: Influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood, *Nutrition*, **21**, 920-924.
- [115] **Labuckas, D.O., Maestri, D.M., Perello, M., Martinez, M.L., Lamarque, A.L.**, 2008. Phenolics from walnut (*Juglans Regia* L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins. *Food Chemistry*, **107**, 607-612.
- [116] **Kaya, B.B.**, 2010. Erciyes strato volkanından püsküren ana materyaller üzerinde oluşmuş topraklarda yetiştirilen meyvelerin ağır metal içeriklerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- [117] **Tosun, E.**, 2009. Hastalık tedavisinde kullanılan bazı meyve ve sebzelerin dokularında eser element ve mineral tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- [118] **Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E.**, 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 116, İzmir. S: 182
- [119] **Van Hellemont, J.**, 1986. Compendium de phytotherapie. Association Pharmaceutique Belge, Bruxelles, 214–216.
- [120] **Bruneton, J.**, 1993. Pharmacogonie, phytochimie, plantes me'dicinales, Tec.& Doc.-Lavoisier, Paris, 348.
- [121] **Wichtl, M., Anton, R.**, 1999. Plantes the'rapeutiques. Tec.& Doc., Paris, 291–293.
- [122] **Valnet, J.**, 1992. Phytothe'rapie Traitement des maladies par les plantes, Maloine, Paris, 476–478.
- [123] **Gi'rz, M., Carnat, A., Privat, A.-M., Fiaplip, J., Carnat, A.-P., Lamaison, J.-L.**, 1998. Sedative effect of walnut leaf extract and juglone, an isolated constituent. *Pharmaceutical Biology*, **36**, 280–286.

- [124] **Turan, E.**, 2008. Ceviz yapraklarında juglon ve toplam fenolik madde miktarlarındaki mevsimsel değişimin belirlenmesi, *Doktora Tezi*, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [125] **Kaya, G.**, 2007. AAS’de bazı metallerin duyarlılığının artırılmasında STAT’ın kullanılması ve biyomonitör bitkilerin belirlenmesinde uygulanması, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [126] **Kurt, A.**, 2006. Üç farklı bölgeden toplanan yeşil ceviz kabuğunun dört bakteri ve bir maya türü üzerinde gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze.
- [127] **Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J.A.**, 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks, *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 2326–2331.
- [128] **Arora, S., Kaur, K., Kaur, S.**, 2003, Indian medicinal plants as a reservoir of protective phytochemicals, Teratogenesis, *Carcinogenesis and Mutagenesis Supplement*, **1**, 295-300.
- [129] **Mouhajir, F., Hudson, J.B., Rejdali, M., Towers G.H.N.**, 2001, Multiple antiviral activities of medicinal plants used by berber peoples of Morocco, *Pharmaceutical Biology*, **39(5)**, 364-374.
- [130] **Amaral, J.S., Seabra, R.M., Andrade, P.B., Valentão, P., Pereira, J.A., Ferreres, F.**, 2004. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves, *Food Chem.*, **88**, 373–379.
- [131] **Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S.**, 1997. Enstrumental Analiz Yöntemleri, Hacettepe yayınları.
- [132] **Claessens, H.A., van Straten, M.A.**, 2004. Review on the chemical and thermal stability of stationary phases for reversed-phase liquid chromatography *Journal of Chromatography A*, **1060**, 23-41.
- [133] **Gündüz, T.**, 2007. Instrumental analiz, Gazi Kitapevi.
- [134] **Setford, S.J., Saini S.**, 2000. High-sensitivity chromatographic detector incorporating three-dimensional charge coupled device fluorimetry, *Journal of Chromatography A*, **867**, 93-104.

- [135] **Lavedrine, F., Ravel, A., Villet, A., Ducros, V., Alary, J.,** 2000. Mineral composition of two walnut cultivars originating in France and California, *Food Chemistry*, **68**, 347-351.
- [136] **Chrzanowski, G., Leszczyński, B., Czerniewicz, P., Sytykiewicz, H., Matok, H., Krzyżanowski, R., Sempruch, C.,** 2012. Effect of phenolic acids from black currant, sour cherry and walnut on grain aphid (*Sitobion avenae* F.) development, *Crop Protection*, **35**, 71-77.
- [137] **Gómez-Caravaca, A. M., Verardo, V., Segura-Carretero, A., Caboni, M.F., Fernández-Gutiérrez, A.,** 2008. Development of a rapid method to determine phenolic and other polar compounds in walnut by capillary electrophoresis–electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1209**, 238–245.
- [138] **Colaric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., Stampar, F.,** 2005. Phenolic Acids, Syringaldehyde, and Juglone in Fruits of Different Cultivars of *Juglans regia* L., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 6390-6396.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2006 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde lisans eğitime başladım ve 2010 yılında mezun oldum. Aynı yıl Fırat üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitikkimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitime başladım.