



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI KURUTULMUŞ KIRMIZI MEYVELERİN
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SALİH SİNOĞLU

OCAK

**BAZI KURUTULMUŞ KIRMIZI MEYVELERİN
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Salih SİNOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Beril KOCAMAN**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2025

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Salih SİNOĞLU tarafından hazırlanan “Bazı Kurutulmuş Kırmızı Meyvelerin Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Beril KOCAMAN

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan : Doç Dr. Ebru BATI AY

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Berna DOĞRU ÇOKRAN

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Pamukkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 05/02/2025

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Salih SİNOĞLU

BAZI KURUTULMUŞ KIRMIZI MEYVELERİN
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Salih SİNOĞLU

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2025

ÖZET

21. Yüzyılda hızla büyüyen çevre kirliliği sorunu, dünya genelinde tüm ülkelerde insan sağlığı üzerinde giderek artan olumsuz etkilere neden olmaktadır. Ayrıca, hızlı yaşam koşullarının bir sonucu olarak, insanlara daha fazla endüstriyel işlem görmüş hazır gıdalar sunulmaktadır. Çevre kirliliği ve aşırı miktarda paketli hazır gıda tüketimi nedeniyle ortaya çıkabilecek sağlık sorunlarına karşı koruma sağlamak isteyen bireyler, her geçen gün doğal gıdalara daha fazla ilgi göstermektedir. Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar, bitkilerde bulunan antioksidan maddeler ve fenolik bileşiklerin sağlıklı yaşam üzerindeki olumlu etkilerine odaklanmıştır. Bu tez çalışmasında, kurutulmuş tüketilebilen kırmızı meyvelerden özellikle karadut (*Morus nigra* L.), kızılçık (*Cornus mas* L.) ve kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvelerinin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan kapasiteleri değerlendirilerek temel biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kırmızı meyvelerde bulunan fenolik bileşikler ve antioksidanlar, insan sağlığı üzerindeki yararlarına önemli katkıda bulunurlar ve oksidatif stresle mücadeledeki rolleriyle bilinirler. Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda yer alan Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova ve Erbaa köylerinden temin edilen normal atmosferik şartlarda kurutulmuş olan yabani karadut, kızılçık ve kuşburnu meyveleri deney materyali olarak kullanılmıştır. Numunelerin toplam fenolik madde, toplam flavonoid içeriği ve toplam antioksidan kapasiteleri çeşitli spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan kapasite, DPPH serbest radikal süpürme testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) değeri olarak ifade edilmiştir. Farklı dört lokasyondan temin edilen kurutulmuş kırmızı meyve numunelerinde yapılan analizlerde; karadutlarda toplam fenolik madde miktarı 1906,73-2474,71 µg GAE g⁻¹, toplam flavonoid içeriği 164,61-202,75 µg QE g⁻¹; kızılçıklarda toplam fenolik madde miktarı 1597,58-1752,48 µg GAE g⁻¹, toplam flavonoid içeriği 122,02-171,88 µg QE g⁻¹; kuşburnu numunelerinde ise toplam fenolik madde miktarı 1869,48-2332,88 µg GAE g⁻¹, toplam flavonoid içeriği 142,56-199,61 µg QE g⁻¹ aralığında ölçülmüştür. DPPH serbest radikal süpürme testi için IC₅₀ değeri; karadutlarda 51,08-103,21 µg mL⁻¹; kızılçıklarda 110,64-180,20 µg mL⁻¹; kuşburnu numunelerinde ise 100,01-162,09 µg mL⁻¹ aralığında belirlenmiştir. Bulgular, kurutulmuş karadut, kızılçık ve kuşburnu meyvelerinin biyoaktif bileşikler açısından zengin kaynaklar olduğunu vurgulamaktadır. Ayrıca bu araştırma, kurutulmuş kırmızı meyvelerin güçlü antioksidan özellikleri ile insan sağlığı için besinsel potansiyelini vurgulayarak hem tüketiciler hem de gıda endüstrisi için faydalı olabilecek veriler sağlamaktadır.

Sayfa Adedi : 80
Anahtar Kelimeler : Karadut (*Morus nigra* L.), Kızılçık (*Cornus mas* L.), Kuşburnu (*Rosa canina* L.), Fenolik bileşikler, Flavonoid, Antioksidan
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Beril KOCAMAN

DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
PROPERTIES OF SOME DRIED RED FRUITS
(M. Sc. Thesis)

Salih SİNOĞLU

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
January 2025

ABSTRACT

In the 21st century, the rapidly growing problem of environmental pollution is having increasingly negative effects on human health in all countries worldwide. Additionally, because of fast-paced living conditions, more industrially processed convenience foods are being offered to people. Individuals seeking protection against health problems that may arise due to environmental pollution and excessive consumption of packaged convenience foods are increasingly showing interest in natural foods every day. Recent scientific studies have focused on the positive effects of antioxidant compounds and phenolic substances found in plants on healthy living. In this thesis, the total phenolic content and antioxidant capacities of red fruits that can be consumed in dried form, specifically black mulberry (*Morus nigra* L.), cornelian cherry (*Cornus mas* L.), and rosehip (*Rosa canina* L.), are evaluated to determine their fundamental biochemical properties. The phenolic compounds and antioxidants contained in these red fruits make significant contributions to their health benefits and are known for their roles in combating oxidative stress. Wild black mulberries, cornelian cherries, and rosehips, which were obtained from the villages of Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova, and Erbaa located in the Middle Black Sea Transition Zone and dried under normal atmospheric conditions, were used as experimental materials. The total phenolic compounds, total flavonoid content, and total antioxidant capacity of the samples were determined using various spectrophotometric methods. The antioxidant capacity was evaluated by the DPPH free radical scavenging assay, and the results were expressed as the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value. Analyses of dried red fruit samples collected from four different locations showed that total phenolic compound in black mulberries ranged from 1906,73 to 2474,71 µg GAE g⁻¹ and total flavonoid content ranged from 164,61 to 202,75 µg QE g⁻¹. Similarly, in cornelian cherries, total phenolic compound ranged from 1597,58 to 1752,48 µg GAE g⁻¹ and total flavonoid content varied between 122,02 and 171,88 µg QE g⁻¹. In rosehips, total phenolic compound ranged from 1869,48 to 2332,88 µg GAE g⁻¹ and total flavonoid content varied between 142,56 and 199,61 µg QE g⁻¹. The IC₅₀ values for DPPH radical scavenging activity were determined to be in the ranges of 51,08-103,21 µg mL⁻¹ for black mulberry, 110,64-180,20 µg mL⁻¹ for cornelian cherry, and 100,01-162,09 µg mL⁻¹ for rosehip samples. These findings highlight that dried black mulberry, cornelian cherry, and rosehip fruits are rich sources of bioactive compounds. Moreover, this research highlights the nutritional potential of dried red fruits for human health due to their strong antioxidant properties, providing valuable data for both consumers and the food industry.

Number of pages : 80

Keywords : Black mulberry (*Morus nigra* L.), Cornelian cherry (*Cornus mas* L.),
Rosehip (*Rosa canina* L.), Phenolic compounds, Flavonoid, Antioxidant

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Beril KOCAMAN

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Amasya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda tamamladığım yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan herkese içtenlikle teşekkür ederim. Danışmanım, Dr. Öğr. Üyesi Beril KOCAMAN' a, tez konumun belirlenmesinden sonuçların değerlendirilmesine kadar her aşamada verdiği bilimsel rehberlik ve destek için müteşekkirim. Doç. Dr. Ebru BATI AY' a, tez konumun belirlenmesi, çalışmaların yürütülmesi, laboratuvar aşamasında analizlerin yapılması ve sonuçların değerlendirilmesi süreçlerinde bilgi paylaşımı, yardım ve yönlendirmelerinden dolayı çok teşekkür ederim. Dr. Öğr. Üyesi Fadime SEYREKOĞLU'na, laboratuvar ortamındaki deneysel çalışmalarına verdiği dostça yardımlar için teşekkür ederim. Tez materyallerini toplarken bana yardımcı olan Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova ve Erbaa çiftçilerine teşekkür ederim. Amasya Üniversitesi, Suluova Meslek Yüksekokulu kampüsünde, başta Yüksekokul Müdürü Dr. Öğr. Üyesi Murat KARAVİN olmak üzere, tüm hocalarım ve personele, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana sundukları imkanlar ve destekler için teşekkür ederim. Bu yoğun süreçte her zaman yanımda olan hayat arkadaşım Sertaç SİNOĞLU' na, oğullarım Serkut ve Sertuğ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onların sevgi ve desteği olmadan bu başarıya ulaşamazdım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Karadut <i>Morus nigra</i> L.....	3
2.2. Kızılcık <i>Cornus mas</i> L.	4
2.3. Kuşburnu <i>Rosa canina</i> L.	6
2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	9
2.4.1. Süperoksit	13
2.4.2. Hidrojen peroksit	14
2.4.3. Hidroksil	15
2.4.4. Peroksil	16
2.4.5. Nitrik oksit	16
2.4.6. Peroksinitrit.....	17
2.5. Serbest Radikal Kaynakları.....	18
2.5.1. Mitokondri	18
2.5.2. Peroksizomlar	19

2.5.3. Endoplazmik retikulum.....	19
2.6. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılar Üzerine Etkisi.....	20
2.6.1. Deoksiribonükleik asit	21
2.6.2. Ribonükleik asit	22
2.6.3. Lipitler.....	22
2.6.4. Proteinler.....	23
2.6.5. Karbonhidratlar	24
2.7. Antioksidanlar.....	24
2.8. Biyolojik Antioksidanlar.....	26
2.8.1. Birincil enzimatik antioksidanlar.....	27
2.8.2. İkincil enzimatik antioksidanlar.....	31
2.8.3. Endojen nonenzimatik antioksidanlar.....	31
2.8.4. Ekzojen nonenzimatik antioksidanlar	34
2.9. Sentetik Antioksidanlar.....	43
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	44
3.1. Analiz Materyalleri	44
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
3.3. Yararlanılan Cihaz ve Ekipmanlar.....	45
3.4. Ekstraksiyon Yöntemi.....	45
3.5. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Yöntemi	47
3.6. Toplam Flavonoid İçeriği Analiz Yöntemi.....	48
3.7. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Analiz Yöntemi	48
3.8. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Yönteminde IC ₅₀ Değerinin Tespiti	49
3.9. İstatistiksel Analizler	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	50

4.1. Shapiro-Wilk Normallik Testi	50
4.2. Kruskal-Wallis Testi	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	80



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri	10
Çizelge 2.2. Reaktif nitrojen türleri	10
Çizelge 2.3. Serbest radikallerin oluşum mekanizmaları	11
Çizelge 2.4. Serbest radikal oluşum kaynakları	11
Çizelge 2.5. Peroksizomlarda reaktif oksijen türlerini üreten enzimler.....	19
Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türlerini üreten dışsal kaynaklar	20
Çizelge 2.7. Antioksidanların sınıflandırılması	27
Çizelge 2.8. Fenolik bileşiklerin şematik sınıflandırılması	41
Çizelge 3.1. Kurutulmuş karadut, kızılçık ve kuşburnu temin edilen lokasyonlar	44
Çizelge 4.1. Veri matrisi-TPH, toplam fenolik madde miktarı.....	51
Çizelge 4.2. Veri matrisi-TFL, toplam flavonoid içeriği	51
Çizelge 4.3. Veri matrisi-IC ₅₀ , yarı maksimal inhibitör konsantrasyon değeri	51
Çizelge 4.4. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-TPH	51
Çizelge 4.5. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-TFL	52
Çizelge 4.6. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-IC ₅₀	52
Çizelge 4.7. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi-TPH.....	53
Çizelge 4.8. Kruskal-Wallis testi çoklu karşılaştırmalar-TPH.....	54
Çizelge 4.9. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-TPH.....	54
Çizelge 4.10. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi-TFL	55
Çizelge 4.11. Kruskal-Wallis testi çoklu karşılaştırmalar-TFL	55
Çizelge 4.12. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-TFL	55
Çizelge 4.13. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi-IC ₅₀	56
Çizelge 4.14. Kruskal-Wallis testi çoklu karşılaştırmalar-IC ₅₀	56

Çizelge 4.15. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-IC ₅₀	57
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. TPH, TFL ve IC ₅₀ değerleri için normal QQ grafikleri.....	52
Şekil 4.2. Kruskal-Wallis testi TPH, TFL ve IC ₅₀ değerleri için sıralama grafikleri	57



RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kurutulmuş meyvelerden analiz numunelerinin hazırlanması	45
Resim 3.2. Numunelerin tartılması ve numune-metanol karışımının ekstraksiyonu.....	46
Resim 3.3. Ekstraksiyon işleminden elde edilen süpernatantların filtre edilmiş hali	46
Resim 3.4. Filtre edilmiş süpernatantlar	46
Resim 3.5. Çeker ocak altında su banyosunda metanolün ortamdan uzaklaştırılması ...	47
Resim 3.6. Fenolik madde ve flavonoid miktarı tayini için numunelerin hazırlanması .	47
Resim 3.7. Numunelerin spektrofotometrik absorbans değerlerinin okunması.....	49

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
<	Küçük
>	Büyük
≤	Küçük veya eşit
≥	Büyük veya eşit
¹ O ₂	Singlet oksijen
AlCl ₃	Alüminyum klorür
As	Arsenik
CCl ₄	Karbon tetraklorür
Cd	Kadmiyum
CH ₂	Metilen
cm	Santimetre
Co	Kobalt
CO ₂	Karbondioksit
Cr	Krom
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
H ₂ O	Su

H_2O_2	Hidrojen peroksit
Hg	Cıva
HNO_2	Nitrik asit
$\text{HO}_2\bullet$	Hidroperoksil
HOB _r	Hipobromöz asit
HOCl	Hipokloröz asit
kHz	Kilohertz
$\text{L}\bullet$	Lipit radikali
$\text{LOO}\bullet$	Lipit peroksil
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mg L^{-1}	mg/L
mL	Mililitre
Mn	Manganez
Mo	Molibden
N_2O_3	Dinitrojen trioksit
N_2O_4	Dinitrojen tetroksit
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
NaNO_2	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
Ni	Nikel
nm	Nanometre
NO^-	Nitroksil anyonu
NO^+	Nitrosil katyonu

$\text{NO}\bullet$	Nitrik oksit
NO_2^-	Nitrit radikali iyonu
NO_2^+	Nitronyum katyonu
$\text{NO}_2\bullet$	Nitrojen dioksit
NO_2Cl	Nitril klorit
NO_3^-	Nitrat radikali iyonu
O_2	Oksijen
$\text{O}_2\bullet^-$	Süperoksit
O_3	Ozon
$\text{OH}\bullet$	Hidroksil
ONOO^-	Peroksinitrit
ONOOH	Peroksinitrik asit
Pb	Kurşun
$\text{RO}\bullet$	Alkoksil
$\text{ROO}\bullet$	Peroksil
ROONO	Alkil peroksinitrit
Se	Selenyum
W	Watt
Zn	Çinko
α	Alfa
β	Beta
$\mu\text{g g}^{-1}$	Mikrogram/gram
$\mu\text{g mL}^{-1}$	Mikrogram/mililitre
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre

Kısaltmalar**Açıklama**

4-HNA

4-hidroksinonenal

6-PGD

6-fosfoglukonat dehidrogenaz

8-OHdG

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

8-oxo-dG

8-okso-2'-deoksiguanozin

8-oxoG

8-oksoguanin (8-hidroksiguanin)

A

Adenin

ADP

Adenozin difosfat

ALA

 α -Lipoik asit

ATP

Adenozin trifosfat

BHA

Bütilhidroksianisol

BHT

Bütilhidroksitoluen

BNDF

Beyin kökenli nörotrofik faktör

C

Sitozin

CAT

Katalaz

CoQ10

Koenzim Q10 (Ubikinon)

COX

Siklooksijenaz

CYS

Sistein

DNA

Deoksiribonükleik asit

DPPH

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

eNOS

Endoteliyal nitrik oksit sentaz

G

Guanin

G6PD

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz

GAE	Gallik asit eşdeğeri
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GTR	Glutasyon redüktaz
IC ₅₀	Yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LOX	Lipooksijenaz
MDA	Malondialdehit
MEL	Melatonin
MET	Metiyonin
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	NAD' nin indirgenmiş formu
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (Vitamin B ₃)
NADPH	NADP'nin indirgenmiş formu
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NOS	Nitrik oksit sentaz
OG	Oktil gallat
PG	Propil gallat
PPP	Pentoz fosfat yolu
QE	Kuersetin eşdeğeri
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
T	Timin

TBHQ	Tersiyer bütülahidrokinon
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilikasit
TRR	Tiyoredoksin redüktaz
U	Urasil



1. GİRİŞ

Kırmızı meyvelerin insanlar tarafından besin olarak tanınması ve kullanılması, insanlık tarihi kadar eskidir. İnsanların ilk çağlardan beri kırmızı meyveleri toplayarak bitkisel besin ihtiyaçlarının bir kısmını bu şekilde karşıladıkları bilinmektedir. Son yıllarda kırmızı meyvelerin tüketimi giderek daha fazla önem kazanmıştır. Geliştirilen detaylı bilimsel analiz yöntemleri sayesinde yapılan araştırmalar, kırmızı meyvelerin içeriğinin insan sağlığına faydalarını her geçen gün daha iyi ortaya koymuş ve bu meyvelerin her yaştan insanın günlük beslenmesine dahil edilmesini teşvik etmiştir.

Genellikle normal atmosferik şartlar altında gerçekleştirilen kurutma işlemi, yiyeceklerin korunması amacıyla kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Uzmanlar, kırmızı meyvelerin hasat döneminde ve bol miktarda toplandığında suyu uçurularak elde edilen kuru meyvelerin, lif açısından zengin olması ve sindirimi kolaylaştırıcı etkisi nedeniyle, ara öğünlerde sağlıklı bir beslenme için önemli bir gıda kaynağı olduğunu vurgulamaktadır (Asghar ve diğerleri, 2017). Kurutulmuş kırmızı meyveler, kolay bozulabilen ürünler olarak adlandırılan yaş meyvenin içerdiği %80'den fazla su oranının %10-20 seviyelerine düşürülmesiyle elde edilir (Changrue, Raghavan, Orsat ve Vijaya Raghavan, 2006).

Kurutma işlemi ile kırmızı meyvelerin içerdikleri su oranı azalır, şeker oranı yükselir ve depolama dayanıklılığı artar. Böylece kurutulmuş meyvelerin raf ömrü olarak ifade edilen tüketim süresi uzatılmış olur. Kurutma işlemi sonrasında kurutulmuş kırmızı meyvelerin içerdiği esansiyel aminoasitler, C vitamini haricindeki vitaminler, mineraller, diyet lifleri ve yararlı birçok biyokimyasal bileşiğin büyük bir kısmı korunur (Akbal ve Vural, 2018). Kurutulmuş meyvelerin içerdikleri su miktarı düşük olduğu için kimyasal ve enzimatik reaksiyonların oluşması baskılanır ve böylece bozulmaya sebebiyet verecek mikroorganizmalar gelişip çoğalamaz (İçier ve Sabancı, 2013).

Büyük bir hızla gelişen teknolojilerin yan etkisi olarak artan çevre kirliliğinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinden biri insan vücudunda serbest radikallerin oluşumuna sebep olmasıdır (Kaur ve Kapoor, 2001). Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız ve düşük molekül ağırlıklı yapıdadır (Mercan, 2004). Antioksidanlar ise serbest radikal molekülleri ile kolayca elektron alışverişine giren bir

moleküler yapıya sahiptir (Çavdar, Sifil ve Çamsarı, 1997). Gelişen hastalıklara çözüm bulabilmek, öncelikle serbest radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırarak hastalıkların oluşumunu önlemekle mümkün olabilir. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan antioksidan savunma mekanizmasının bir takım çevresel koşullar nedeniyle zayıflaması ile oluşabilecek vücut direnci düşüklüğünü gidermenin yolu fenolik bileşikler (polifenoller) ve antioksidanlar açısından zengin olan doğal ve dengeli beslenmedir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

Kurutulmuş kırmızı meyveler, içerdiği yüksek polifenol ve antioksidan seviyeleriyle vücudu öncelikli olarak serbest radikal hasarına karşı korur. Polifenoller, bitkisel gıdalarda doğal olarak bulunan ve güçlü antioksidan özelliklere sahip kimyasal bileşiklerdir. Antioksidan etkileri sayesinde vücudun iltihabı kontrol etmesine ve oksidatif strese karşı korunmasına yardımcı olan polifenoller, sağlık açısından önemli bir rol oynar. Kurutulmaya elverişli kırmızı meyvelerden karadut (*Morus nigra* L.), kızılçık (*Cornus mas* L.) ve kuşburnu (*Rosa canina* L.) doğal antioksidanlar açısından oldukça zengin bitkisel besin kaynaklarıdır.

Karadut, kızılçık ve kuşburnu, antioksidan fonksiyonel özelliğe sahip gıdalar olarak tanımlanır. Antioksidan fonksiyonel gıdalar, insanların normal fizyolojik süreçleri esnasında oluşan ya da beslenme programlarındaki gıdalar vasıtasıyla aldıkları serbest radikalleri elektron ya da hidrojen vererek indirgeyen ve bu sayede sağlığın olumsuz etkilerden korunmasına destek veren besin maddeleridir (Erbaş, Gül ve Şekerci, 2008). Serbest radikaller, vücut hücrelerinin zarlarına, hücredeki lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar vererek çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Velioğlu, 2000). Doğal ve dengeli bir beslenme ile elde edilen antioksidanlar, serbest radikallerin yol açtığı oksidasyonları engelleyerek, bu radikalleri yakalama ve stabilize etme kapasitesine sahip moleküllerdir (Elliot, 1999). Doğal antioksidanların insan sağlığı üzerindeki temel etkisi, serbest radikalleri nötralize ederek zincir reaksiyonlarının durdurulmasında oynadığı aktif rolden kaynaklanır (Başer, 2002).

Çalışmada, Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda yer alan Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova ve Erbaa bölgelerinden temin edilen normal atmosferik şartlarda kurutularak tüketilebilen kırmızı meyvelerden özellikle karadut (*Morus nigra* L.), kızılçık (*Cornus mas* L.) ve kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvelerinin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan kapasiteleri değerlendirilerek temel biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Karadut (*Morus nigra* L.)

Dut (*Morus spp.*) bitkisi, *Urticales* takımına ait *Moraceae* familyasının *Morus* cinsi içinde yer alır. Kökeni Güney Kafkasya ve Kuzey İran'a dayanan karadut bitkisi (*Morus nigra* L.), diğer dut türlerine göre daha yavaş büyür. Akdeniz bölgesi ve Güneydoğu Amerika' da doğal olarak yetişen karadut, Anadolu'da da geniş bir alana yayılmıştır (Ercişli, 2004). Karadut bitkisi, nadiren 30 metreye kadar boylanabilse de genellikle 10 metreyi aşmayan, geniş ve yuvarlak tepeli bir taç yapısına sahiptir (F. Koyuncu, E. Vural, M.A. Koyuncu ve F. Yıldırım, 2004).

Karadut bitkileri, kökleri 15 m derinliğe kadar yayılabilen, koyu gri gövdelidir. Sürgünleri ise koyu kahverengi ve yaklaşık 20 cm uzunluğundadır. Yaprakları koyu yeşil, kalın yapılı, 5-15 cm uzunluğunda, genellikle 3-5 parçalı olup oval ya da yuvarlağa yakın şekildedir (Orhan, 2009). Çiçek salkımları, bir yıllık dalların yaprak diplerinde oluşur (Lale, 1992). Karadut meyveleri, 2-3 cm uzunluğunda ve yaklaşık 5-6 gram ağırlığındadır. Siyah-mor renkteki lezzetli meyveler oldukça değerlidir. Meyveler tam olgunlaştığında ağaçtan dökülme eğiliminde olduğundan, olgunlaşmadan önce hasat edilmesi önerilmektedir. Ancak, meyvelerin daldan kopma direncinin yüksek olması nedeniyle hasat işlemi güçlük arz etmektedir (Koyuncu, Çetinbaş ve Erdal, 2014).

Son yıllarda tüketicilerin sağlıklı besinler hakkındaki farkındalığının artması ile eğilim ve taleplerinde değişim söz konusu olmuştur. Özellikle insan sağlığına olumlu etkileri çeşitli çalışmalarla gösterilen antioksidanlar, fenolik bileşikler, antosiyaninler, vitaminler ve minerallerce zengin besinler tüketici tercihlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bileşenler açısından son derece zengin olan kırmızı renkli meyveler her yaştan insan tarafından rağbet görmektedir. Başta karadut olmak üzere bu değerli biyokimyasalları içeren kırmızı renkli meyvelerin günlük diyeteye mutlaka eklenmesi tavsiye edilmektedir (Chen, Sohoulı, Nateghi, Melekoglu ve Fatahi, 2022). Karadut, taze ve kurutulularak tüketilmesinin yanında pekmez, reçel, pestil, meyve suyu konsantresi olarak ya da dondurması yapılarak da tüketilir (Kıralan ve Gündoğdu, 2021).

Karadut meyvesinin, sahip olduğu yüksek biyoaktif içerik nedeniyle önemli bir antioksidan kaynağı olduğu ifade edilmiştir (Wen ve diğeri, 2019). Uzun yıllar boyunca farklı dut türlerinin sağlık üzerine etkileri araştırılmıştır. Karadut, kök, yaprak ve meyvelerinin sağlık üzerine yararları sebebiyle çeşitli hastalıkların tedavisinde (Diyabet, AIDS, mşhil, tansiyon düşürücü, kanser önleyici) farklı şekillerde kullanılmaktadır (Venkatesh ve Seema, 2008).

Karadut kök kabuğunun ateş düşürücü etkisi olduğu halk arasında bilindiğinden dolayı çay olarak tüketilmektedir. Yaprakları ve kökleri ise tenya düşürücü, idrar söktürücü ve kan şekeri dengeleyici olarak kullanılmaktadır. Karadut meyvelerinden yapılan marmelat, şurup ve pekmezden özellikle bademcik iltihaplarının tedavisinde ve ağız ile diş yaralarının iyileştirilmesinde faydalanılır. Ayrıca, genelde küçük çocukların ağız içi veya dil yüzeyinde *Candida Albicans* adlı mantarın oluşturduğu bir mantar enfeksiyonu olan pamukçuk tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir (N. Yiğit, D. Yiğit, U. zgen ve A. E. Aktaş, 2007). Modern tıpta karadut şurubundan elde edilen ilaç, özellikle bebeklerde pamukuklara ve ağız ile boğaz hastalıklarına karşı gargara olarak kullanılmaktadır (Erdoğan ve Pırlak, 2005).

2.2. Kızılıcık (*Cornus mas L.*)

Kızılıcık, sert çekirdekli meyveler grubuna dahil olan ve *Cornales* takımının *Cornaceae* familyasına ait, çalı veya küçük ağaç formunda bir meyve türüdür. *Cornus* cinsi içinde yer alan *Cornus mas L.* türünün -20 ile -30 C sıcaklıklara kadar dayanabildiği gözlemlemiştir (Dirr, 2009). Kızılıcığın bu özelliği, yayılış alanlarının oldukça genişlemesine olanak tanımaktadır. *Cornus mas L.* türü kızılıcığın anavatanı, Anadolu, Kafkasya ve Doğu Avrupa'dır. Anadolu, coğrafi konumu ve çeşitli ekolojik koşulları nedeniyle kızılıcık bitkisinin dünya genelinde yayıldığı önemli bölgelerden biridir. Kızılıcığın diğer yayılış alanları ise Güney ve Doğu Avrupa, Kafkasya, Güney ve Batı İran ile Asya'dır (P. Brindza, J. Brindza, Tth, Klimenko, ve Grigorieva, 2006).

Çok yıllık bir bitki olan kızılıcık, dik-yayvan veya sarkık şekillidir. Kızılıcık, kışın yaprağını döken ve türlerine bağlı olarak 3-5 metre arasında boylanabilen ağaç ya da çalı formundadır (Güleryüz, Bolat ve Pırlak, 1993). İlkbaharda erken açan göz alıcı çiçekleri nedeniyle 1550'li yıllarda Büyük Britanya'da saray bahçelerinde ss bitkisi olarak kullanıldığı bilinmektedir. Alternatif tıp uygulamalarının büyük önem taşıdığı ülkelerden biri olan

Çin’de geleneksel tedavi yöntemlerinin bir parçası olarak kızılcık uzun yıllardır kullanılmaktadır (Brindza ve diğerleri, 2005).

Kızılcık meyvelerinin insanlar tarafından kullanımı oldukça eski tarihlere uzanmaktadır. Roma döneminde kızılcık meyvelerinin hem gıda olarak hem de tıbbi amaçlarla kullanıldıklarını gösteren kayıtlar mevcuttur. Ayrıca Kuzey Amerika’da *Cornus* cinsindeki bazı kızılcık türlerinin gösterişli çiçek yapıları, meyvelerinin ağaç üzerinde uzun süre kalabilmesi, renkli yaprakları ve gövde yapıları nedeniyle peyzaj bitkisi olarak değerlendirilmektedir (Swanson, 2019). Ukrayna, Bulgaristan, Slovakya, Avusturya, Sırbistan, Hırvatistan, Fransa, Almanya, Polonya ve Türkiye gibi kızılcık bitkisinin yayılım gösterdiği ülkelerde kızılcık üretimi ve ıslahına yönelik önemli araştırmalar gerçekleştirilmektedir (Klimenko, 2004). Kızılcık türleri arasında meyve kalitesi açısından öne çıkan *Cornus mas* L., dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çeşitleri içeren tür olarak bilinir (Dirr, 2009).

Türkiye’de kızılcık türleri, Karadeniz, Akdeniz, Marmara ve Ege bölgelerinin yüksek kesimlerinde doğal olarak yetişmektedir. Genellikle bahçe sınırlarının çevresine kenar ağacı ya da diğer meyve bahçelerinin içerisinde birkaç ağaç olacak şekilde dikim yapılarak da kızılcık yetiştirilmektedir. Ayrıca kırsal alanlara yakın yerlerde yaşayan çiftçiler, doğal ormanlar içerisinde kendiliğinden yetişen kızılcık meyvelerini toplayarak değerlendirmektedir. Türkiye’de en fazla kızılcık meyvesi üretimi Karadeniz ve Kuzey Anadolu Geçit Bölgesinde özellikle de Kastamonu, Sinop, Samsun, Amasya, Tokat, Giresun, Gümüşhane, Erzurum, Artvin, Bolu, Zonguldak, Karabük, Bartın ve Düzce illerinde yapılmaktadır. Bunun yanı sıra aşılı kızılcık yetiştiriciliği ise Akdeniz, Marmara ve Ege bölgelerinde oldukça yaygındır (Tangu ve Şen, 2016). Son yıllarda özellikle Malatya, Bursa ve Yalova gibi bazı bölgelerde ticari olarak aşılı fidan üretimi yapılmaya başlanmıştır (Yalçinkaya, Erbil ve Baş, 2001).

Kızılcık, ağaç kabuğu, gövdesi, kökü, yaprakları ve meyveleri ile birçok rahatsızlık için şifa kaynağıdır. Diğer kırmızı renkli meyvelerde olduğu gibi kızılcık meyveleri de antioksidan, fenolik madde, flavonoidler, antosiyaninler ve C vitamini açısından oldukça zengindir (Gündüz, Saraçoğlu, Özgen ve Serçe, 2013). Bununla birlikte potasyum, magnezyum, demir, çinko ve kükürt gibi mineral içerikleri de yoğundur (Kaya ve Canlı, 2019).

Kızılcık meyveleri ve ağaç kabukları ateş düşürücü özelliğe sahiptir. Çekirdek, çiçek, yaprak ve kökleri ise antiseptik, antimikrobiyal, antialerjik ve antihistaminik özellik gösterdiği için ateş düşürmede, yaraların tedavisinde kullanılır. Yüksek C vitamini içeriğinden dolayı da C vitamini eksikliği sebebiyle ortaya çıkan iskorbüt hastalığına karşı doğal koruyucu olarak tüketilmektedir (Ercişli, Orhan ve Eşitken, 2006). Kızılcık meyvesi, sahip olduğu yüksek antioksidan kapasitesi ve alternatif tedavi yöntemlerindeki önemi dolayısıyla son yıllarda dünya genelinde daha fazla ilgi görmektedir.

2.3. Kuşburnu (*Rosa canina* L.)

Kuşburnu bitkisinin de dahil olduğu gülgiller familyası bitki genetik çeşitliliği bakımından en zengin ailelerden biri olarak kabul edilir. Kuşburnu (*Rosa canina*) bitkisi, *Rosales* takımına ait *Rosaceae* familyasının alt familyası olan *Rosaideae*'nin *Rosa* cinsi içinde yer alır (Wissemann, 2003). Yaban gülü olarak da bilinen kuşburnu, kışın yapraklarını döken, 1-4 m boyunda, çok yıllık dik çalı veya küçük ağaç formunda gelişen, uzun ömürlü bir bitki türüdür. Dalları ve gövdesinde familyasına özgü dikenler bulunmaktadır. (Erenberk, 1991).

Anadolu, birçok meyve türünün gen merkezi olmasının yanı sıra, *Rosa* türleri açısından da büyük bir genetik çeşitliliğe ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemizdeki yenilebilir yabani meyve türlerinin çoğu halk tarafından çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Bu meyveler arasında, uzun zamandır bilinen ve kullanılanlardan biri de kuşburnudur (Ercişli ve Eşitken, 2004). Kuşburnu, Batı ve Orta Asya, Kafkasya, Avrupa, Kuzeybatı Afrika, Irak'ın kuzey ve batı bölgeleri, İran, Afganistan'ın kuzeyi, Pakistan ve Rusya'yı kapsayan geniş bir coğrafyada doğal olarak tohumdan yetişmektedir. Anavatanı arasında yer alan Türkiye'de en yoğun kuşburnu popülasyonu, Anadolu'nun orta, doğu ve kuzeydoğu kesimlerinde yaygın olarak doğal formda bulunmaktadır (Ercişli, 1996).

Kuşburnu, genellikle tek başına ya da küçük gruplar halinde bahçe ve tarla sınırlarında, ormanlık bölgelerde, nehir ve dere kenarlarında doğal olarak yetişir. Özellikle Orta ve Batı Karadeniz bölgesinde Gümüşhane, Kastamonu, Çorum, Amasya ve Tokat illerinde, Doğu Anadolu'da ise Erzincan, Erzurum, Bitlis, Van ve Hakkâri gibi sert karasal iklimin etkili olduğu bölgelerde yayılım göstermiştir (Doğan ve Kazankaya, 2006).

Kuşburnu meyveleri, geniş bir kullanım alanına sahiptir. Zengin vitamin ve mineral içeriği sayesinde tıbbi amaçlarla kullanılır. Ayrıca bazı türleri (*Rosa pimpinellifolia* L.) siyah boyar madde özelliği nedeniyle hem yünlü hem de pamuklu kumaşların boyanmasında doğal bir boyar madde olarak işlev görebilmektedir. Farklı iklim koşullarına kolayca uyum sağlayabilmesi ve az bakım gerektirmesi nedeniyle kuşburnu bitkisinin dış mekan tasarımlarında oldukça geniş kullanım alanı mevcuttur. Türüne bağlı olarak yaz mevsimi başlangıcında açan pembe, kırmızı, sarı ve beyazın çeşitli tonlarındaki çiçekleri, sonbahar mevsiminde ise göz alıcı parlak kırmızı ve turuncu renklerdeki meyveleri ile süs bitkisi olarak bahçe tasarımlarında ve açık yeşil alan mimari çalışmalarında sıkça kuşburnu bitkisinden faydalanılmaktadır.

Kuşburnu bitkisi ayrıca tarım, ormancılık ve hayvancılık amaçlarıyla kullanıma elverişli olmayan taşlık, kayalık, erozyon tehlikesi olan eğimli araziler ile bataklık, kurak ve kalkerli alanların ekonomik olarak değerlendirilmesine imkan tanır (Koçan, 2010). Yol kenarlarında ve orta refüjlerde ağaçlandırma yapmak suretiyle görsel etki yaratmak, tarla kenarlarında tarım bitkilerine rüzgar perdesi ve kış aylarında kar fırtınasına maruz kalan açık alanlarda ise kar siperi sağlamak amacıyla kuşburnu bitkisinden faydalanılır. Karayollarının kenarlarında ve orman içerisindeki açık alanlar ile orman alanlarının çevresinde doğal dikenli sınır çiti olarak da kullanılmaktadır (Yamankaradeniz, 1983).

Doğada yaban hayatın sürdürülebilirliği açısından da önemli işlevleri olan kuşburnu bitkisinin meyveleri, kış aylarında park ve bahçelerde yaşamını sürdürmeye çalışan kuşlar için önemli bir gıda kaynağıdır. Sonbahar ve kış aylarında uzun süre meyvelerinin dalında kalması sayesinde ormanlık alanlarda yaşayan birçok yaban hayvanına da besin desteği sağlamaktadır. Kuşburnu, yalnızca hayvanlara değil, toprağın korunmasına da katkı sağlayarak erozyonun önlenmesinde etkili bir bitki türüdür (Şen ve Güneş, 1996).

Besin değeri yüksek bir meyve olan kuşburnu, içerdiği vitaminler, mineraller, antioksidanlar ve fenolik bileşikler gibi yüksek miktardaki biyoaktif bileşikler sayesinde sağlığın korunmasına katkıda bulunur. Kuşburnunun başlıca biyoaktif bileşikleri, fenolik asitler (gallik asit, ellagik asit, kafeik asit, p-kumarik asit), karotenoidler (likopen, β -karoten, zeaksantin), antosiyaninler, tokoferoller (α - ve β -tokoferoller), tanenler ve flavonoidlerdir (Negrean, Farcas, Nemes, Cic ve Socaci, 2024).

Mineraller açısından incelendiğinde; potasyum, fosfor, magnezyum, kalsiyum (Koczka, Stefanovits-Bányai ve Ombódi, 2018), demir, sodyum, bakır ve çinko içerdiği görülmüştür (Özdemir, Aksu ve Nas, 1997). B1, B2, A, E ve K vitaminleri açısından oldukça zengin olan kuşburnu, özellikle C vitamini bakımından en yüksek değerlere sahip meyveler arasında yer almaktadır (Nojavan ve diğerleri, 2008).

Halk hekimliğinde çeşitli rahatsızlıkların tedavi edilmesinde fonksiyonel besin olarak kullanılan kuşburnu, yüksek A ve E vitamini içeriği sayesinde antioksidan özellikler taşımaktadır. Zengin C vitamini içeriği nedeniyle soğuk algınlığının tedavisinde de etkili olduğu bilinmektedir. Kuşburnunun en bilinen yararlarından biri, bağışıklık sistemini güçlendirmesidir. Yüksek miktardaki C vitamini içeriği sayesinde beyaz kan hücreleri ve antikor üretimini arttırarak bağışıklık sisteminin daha iyi hale gelmesine katkı sağlar (Medveckienė, Kulaitienė, Levickienė ve Hallmann, 2021).

Sağlığa yararları kanıtlanmış çok sayıda vitamin ve mineral kaynağı olan kuşburnu meyveleri, gıda, kozmetik ve ilaç sanayinde önemli hammaddelerden biri haline gelmiştir (Pieroni ve Quave, 2005). Kuşburnu tohumlarından yani meyve çekirdeklerinden elde edilen yağın yüksek miktarda tekli, ikili ve üçlü doymamış yağ asitleri içermesi sebebiyle kozmetik sektöründe birçok üründe etken madde olarak kullanılmaktadır. Bu yağ asitlerinin cilt hücreleri üzerindeki koruyucu ve yenileyici özelliklerinden faydalanılmaktadır (Kazaz, Baydar ve Erbaş, 2009).

Fonksiyonel besin gurubunda yer alan kuşburnu meyveleri, marmelat, reçel, meyve suyu olarak tüketilmektedir. Diğer bir önemli tüketim şekli ise kurutulmuş meyvelerinden hazırlanan bitki çayının sonbahar ve kış aylarında günlük vitamin ve mineral kaynağı olarak değerlendirilmesidir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki; kuşburnundan elde edilen unun ekmek hamuruna eklenmesiyle ekmeğin besin değerinde önemli ölçüde bir artış sağlanmış ve yapısal özelliklerini iyileştirmiştir (Gül ve Şen, 2017).

İnsanların kuşburnu meyvelerinden elde edilen ürünlere göstermiş olduğu talep, ekonomik olarak gelir getirmeye başlayan kuşburnu yetiştiriciliğine çiftçilerin ilgisini arttırmıştır. Bu nedenle ülkemizde pek çok yörede kuşburnu seleksiyon ıslahı çalışması yapılarak elde edilen kaliteli yeni çeşitler yetiştiricilerin hizmetine sunulmaktadır.

2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

İnsanoğlu hayatta kalabilmek için enerjiye ihtiyaç duyar. Bunun içinde insan vücudunda metabolik süreçler gerçekleşir. Alınan aminoasitler, nükleotidler, monosakkaritler ve yağ asitlerinin hücre içerisinde mitokondride ortamda oksijen olduğu halde hücresel solunum vasıtasıyla yakılarak enerji elde edilmesi esnasında ortaya çıkan yan ürünler, serbest radikallerdir. Organizmanın her nefes alışında belli bir oranda serbest radikal oluşmaktadır (Đilas, Čanadanović-Brunet ve Četković, 2002).

Serbest radikaller, bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, yüksek enerjili moleküller olup kararsız bir yapıdadırlar. Enerji üretimi sırasında oluşan bu serbest radikaller, lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişikliklere yol açabilir (Shinde, Ganu ve Naik, 2012).

Kısa ömürlü moleküller olan serbest radikaller, kararsız yapıları nedeniyle oldukça reaktiftirler ve bu durum, tüm hücresel bileşenlerle etkileşim kurabilmelerine olanak tanır. Reaktif özellikleri nedeniyle, düşük konsantrasyonlarda bulunan serbest radikaller, bulundukları yerden uzaklaşamazlar. Diğer kimyasal yapılar gibi, serbest radikallerin reaktivitesi de sıcaklık ve çevrelerindeki moleküllerin konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir (Southorn ve Powis, 1988). Radikaller bir kez oluştuğunda, diğer radikallerle veya farklı moleküllerle çeşitli etkileşimler yoluyla reaksiyona girebilirler (Aruoma ve Halliwell, 1987).

Başka bir şekilde ifade etmek gerekirse, serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının pozitif yüklü proton sayısı ile dengede olmadığı moleküllerdir (Akkuş, 1995). Eşlenmemiş elektronlar taşıyan serbest radikaller diğer bileşiklerle kolaylıkla etkileşime girebilirler. Elektronlarını çiftler halinde bulunduran atomlar veya moleküller, kararlı yapıları sayesinde serbest radikallerle karşılaştırıldığında diğer moleküllerle reaksiyona girme eğiliminde değildir. Bu nedenle, kararlı bir yapıya sahip, eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve serbest radikallerden daha zayıf etkileşimde bulunan bu moleküller nonradikal (radikal olmayan) olarak adlandırılır.

Serbest radikaller, kaynağına göre sınıflandırıldığında oksijen veya azot kökenli olabilir. Kaynağı oksijen olanlar, reaktif oksijen türleri (ROS), azot kökenli olanlar ise reaktif

nitrojen türleri (RNS) şeklinde tanımlanmaktadır (Valko ve diğerleri, 2007). Çizelge 2.1’de reaktif oksijen türleri (ROS) ve Çizelge 2.2’de ise reaktif nitrojen türleri (RNS) belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS) (Valko ve diğerleri, 2007)

Serbest Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\bullet}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\bullet}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\bullet}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil	$HO_2^{\bullet}$	Ozon	O_3
Lipit peroksil	$LOO^{\bullet}$		

Çizelge 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS) (Valko ve diğerleri, 2007)

Serbest Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	$NO^{\bullet}$	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\bullet}$	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksit	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorit	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

Serbest radikaller, normal metabolik süreçlerin bir sonucu olarak ya da hücrede enerji üretimi için gerekli çeşitli reaksiyonlar sırasında ortaya çıkabilmektedir. Serbest radikallerin oluşumu temel olarak üç farklı mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar; kovalent bağın yapısındaki iki elektronun eşit şekilde paylaşılması ile oluşan homolitik parçalanma, molekülün elektron kaybetmesi ve moleküle tek bir elektron eklenmesi şeklinde ifade edilebilir (K. Kılınç ve A. Kılınç, 2002). Çizelge 2.3’te serbest radikallerin oluşum mekanizmaları ile ilgili sınıflandırma yapılmıştır.

Çizelge 2.3. Serbest radikallerin oluşum mekanizmaları (K. Kılınç ve A. Kılınç, 2002)

Kovalent bağın homolitik parçalanması	$X : Y \rightarrow X\bullet + Y\bullet$
Molekülün elektron kaybetmesi	$A - e^- \rightarrow A\bullet + e$
Moleküle tek bir elektron eklenmesi	$A + e^- \rightarrow A\bullet^-$

Aerobik organizmaların hayatta kalabilmesi için oksijen gereklidir. Organizmanın ihtiyaç duyduğu enerjiyi üretmek için oksijen, hücrede bir dizi reaksiyona girerek suyun yapısına dahil olur. Bu süreç sırasında oksijenin bir kısmı suyun yapısına dahil olmaz ve oksijen kökenli radikaller oluşur. Bu reaksiyonlarda oksijen, bir elektron alarak indirgenirse güçlü bir indirgen olan süperoksit serbest radikali ortaya çıkar. İki elektron alarak hidrojen peroksit nonradikali, üçüncü elektronla oldukça reaktif hidroksil serbest radikali, dördüncü elektronla ise su oluşur (Miller, Buettner ve Aust, 1990). Serbest radikaller, hücresel ortamda hem içsel (endojen) hem de dışsal (ekzojen) kaynaklar aracılığıyla meydana gelme potansiyeline sahiptir (Cheeseman ve Slater, 1993). Çizelge 2.4'te serbest radikal oluşum kaynakları içsel (endojen) ve dışsal (ekzojen) sınıflandırma yapılarak verilmiştir.

Çizelge 2.4. Serbest radikal oluşum kaynakları (Cheeseman ve Slater, 1993)

İçsel (endojen) kaynaklar	Dışsal (ekzojen) kaynaklar
Mitokondri	Toksik kimyasal maddeler
Peroksizom	Anestezik maddeler
Endoplazmik retikulum	Çevresel kirleticiler
Fagosit	Radyasyon
Hücre zarı	Alkol ve sigara
Enzim reaksiyonu	Tarım ilaçları
Oto-oksidasyon reaksiyonu	Bazı beşeri ilaç aktif maddeleri
Hücrede solunumsal patlama	Hiperoksi tedavisi

Vücuttaki doğal savunma mekanizmaları, reaktif türlerin (reaktif oksijen türleri, ROS ve reaktif nitrojen türleri, RNS) zararlarını önlemek amacıyla serbest radikalleri denetim altında tutar. Bu mekanizmalar, farklı hücrelerde ve çeşitli serbest radikaller üzerinde etki gösterdikleri için birbirlerini tamamlar niteliktedir (Diplock, 1998).

Günümüzde serbest radikal reaksiyonlarının hastalıkların oluşumundaki, biyolojik süreçlerdeki, toksikolojideki ve gıda bozulmasındaki rollerinin anlaşılmasıyla birlikte, bu radikallere olan ilgi giderek daha da artmaktadır (Aruoma, 1998). Normal hücrel metabolizma sırasında üretilen serbest radikaller, kararsız yapıları ve yüksek reaktiviteleri sebebiyle denge sağlamak için kolayca diğer moleküllerle etkileşime girerler. Ayrıca, tek sayıda elektrona sahip olduklarından dolayı kısa ömürlüdürler (Phaniendra, Jestadi, ve Periyasamy, 2015).

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin üretimi ile bunları etkisiz hale getiren hücrel antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki kritik dengenin bozulması neticesinde meydana gelen oksidatif hasar durumu, oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır (Yan, 2014; Rock, Jacob ve Bowen, 1996). Hücrel antioksidanlar ile reaktif oksijen türleri (ROS) veya reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi metabolizma süreçleri esnasında üretilen reaktif serbest radikaller arasındaki dengesizlik oksidatif strese sebebiyet verir (Oliveira, Gusmão, Silva ve Coelho, 2021). Oksidatif stresin meydana gelmesi, hücrede DNA hasarı riskini artırır (Chiorcea-Paquim, 2022).

Organizmada serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir istikrar mevcuttur. Serbest radikallerin faydalı etkilerinin yanı sıra aşırı artışı veya antioksidan seviyelerinin düşmesi durumunda oksidatif stresin ortaya çıkması kaçınılmazdır. Oksidatif stres, biyolojik membranlar, lipidler, proteinler, lipoproteinler ve DNA gibi farklı hücrel yapıların zarar görmesine neden olabilen tehlikeli bir süreçtir (McCord, 2000). Serbest radikaller, sağlıklı hücrelere saldırarak onların yapısını tahrip edebilir ve işlevlerini bozabilir. Serbest radikaller ve bunlarla bağlantılı oksidatif stres, genel olarak birçok hastalığın gelişiminde önemli bir etkiye sahiptir (Bayezit ve Kart, 2021).

Travma, enfeksiyon, ısı yaralanması, hiperoksi, toksinler ve aşırı egzersiz gibi etkenlerle hasar gören dokularda kısa süreli oksidatif stres meydana gelebilir. Bu hasarlı dokular, vücudu tüm patojenlere karşı koruyan hücreler olan fagositlerin radikal üreten enzimlerinin (ksantin oksidaz, lipogenez, siklooksijenaz) aktivasyonunda artışa, serbest demir ve bakır iyonlarının salınmasına veya oksidatif fosforilasyonun elektron taşıma zincirlerinin bozulmasına neden olarak aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Kanserin başlama, ilerleme ve yayılma süreçleri, ayrıca radyasyon ve kemoterapinin yan etkileri, reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan savunma sistemi arasındaki istikrarın bozulmasıyla ilgilidir.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS), şeker hastalığının (diabetes mellitus) ortaya çıkışı ve komplikasyonları, yaşa bağlı göz hastalıkları ve Parkinson gibi sinir sistemi hastalıklarının (nörodejeneratif hastalıkları) gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (Rao, Bharani ve Pallavi, 2006).

Hücre ölümü, biyolojik sistemlerde oluşan hasar veya oksidatif stresin neden olduğu çok sayıda reaktif oksijen (ROS) veya reaktif nitrojen (RNS) türün oluşumu sonucunda meydana gelir (Pizzino ve diğerleri, 2017). Oksidatif stres, diyabet, hipertansiyon, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi 50'den fazla hastalıkla ilişkilidir (Teleanu ve diğerleri, 2022). Oksidatif stresin, ateroskleroz, iltihabi durumlar, belirli kanser türleri ve yaşlanma süreci gibi birçok hastalığın oluşumunda rol oynadığı öngörülmektedir. Oksidatif stresin tüm iltihabi hastalıklara (artrit-eklemlerin iltihaplanması, vaskülit-kan damarlarının iltihaplanması, glomerülonefrit-böbreklerdeki küçük filtrelerin iltihaplanması, lupus eritematozus-vücutta pek çok organı birden tutan romatizmal bir hastalık, yetişkin solunum hastalıkları sendromu), iskemi hastalıklarına (kalp hastalıkları, inme, bağırsak iskemi), hemokromatozis-ince bağırsak tarafından uygunsuz şekilde fazla demir emiliminin gerçekleştiği genetik bir hastalık, edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu, amfizem-akciğer içerisindeki alveollerin hasar gördüğü bir hastalık, organ nakli, mide ülserleri, hipertansiyon ve gebelik zehirlenmesi, nörolojik bozukluklar (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kas distrofisi), alkolizm, sigara ile ilgili hastalıklar ve daha pek çok önemli sağlık sorununa yol açtığı düşünülmektedir (Stefanis, Burke ve Greene, 1997). Oksidatif stresin aşırı olması, lipidlerin ve proteinlerin oksidasyonuna yol açabilir; bu da yapı ve işlevlerinde değişikliklere neden olur (Lobo, Patil, Phatak ve Chandra, 2010).

Metabolik süreç esnasında oluşabilen reaktif oksijen kaynaklı (ROS) oksidanları; süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($OH^{\bullet}$), peroksil ($ROO^{\bullet}$) (Sies ve diğerleri, 2022) ve reaktif nitrojen kökenli (RNS) oksidanları; nitrik oksit ($NO^{\bullet}$), peroksinitrit ($ONOO^-$) temsil edebilir (Apak ve diğerleri, 2022).

2.4.1. Süperoksit

Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle meydana gelir (Denklem 1). Oksijen kökenli serbest radikaller arasında en fazla ve en kolay oluşabilen bileşik olmasının yanı sıra diğer radikallerin oluşumuna da

sebebiyet verir. Çeşitli kimyasal ve biyolojik sistemlerde yer alan önemli bir serbest radikal türü olan süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) esas olarak mitokondride üretilir (Hayyan, Hashim ve AlNashef, 2016). Yarılanma ömrü 10^{-6} saniye ile oldukça kısa sürelidir (Phaniendra, Jestadi ve Periyasamy, 2015).



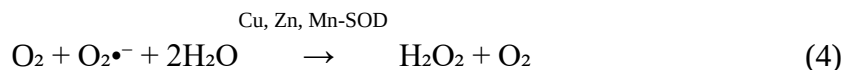
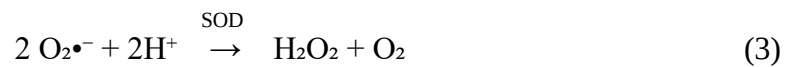
Oto-oksidasyon reaksiyonu (Denklem 2), enzimatik ve enzimatik olmayan elektron transfer reaksiyonları sonucu oluşurlar. Ayrıca, oksijenin (O_2) bir elektronunun indirgenmiş haliyle de oluşabilirler. Üretim sürecinde siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz gibi enzimlerin yardımı söz konusudur (Andrés, Pérez de la Lastra, Andrés Juan, Plou ve Pérez-Lebeña, 2023).



Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) serbest radikalleri ağırlıklı olarak mikrozomal ve mitokondriyal elektron taşıma zincirlerinden oluşur. Oksijen ara ürünlerinin indirgenmiş formunu aktif bölgesinde tutan sitokrom oksidaz haricinde, mitokondriyal solunum zincirinin diğer tüm elemanları elektronları doğrudan oksijene aktarır ve hücreyi oksidatif hasarlara karşı korumak için aktif bölgelerinde indirgenmiş oksijen ara ürünlerini tutmaz. Özellikle elektron açısından zengin bir ortam olan mitokondrinin iç zarında süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) anyonları semikinonların oto-oksidasyonu ile üretilir (Valko, Morris ve Cronin, 2005).

2.4.2. Hidrojen peroksit

Mitokondri tarafından üretilen süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) anyonlarının büyük bir bölümü ortamdaki süperoksit dismutaz (SOD) enzimi varlığında aynı anda hem oksitlenerek hem de indirgenerek (Dismutasyon reaksiyonu, Denklem 3 ve 4) hidrojen peroksit (H_2O_2) nonradikaline dönüşür (Strzelak, Ratajczak, Adamiec ve Feleszko, 2018).



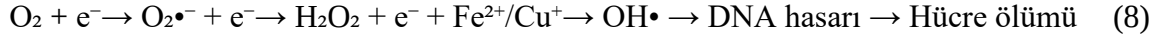
Hidrojen peroksit (H_2O_2), ortaklanmamış elektronları olmadığından dolayı serbest radikal değildir. Fakat bir elektron alarak hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikalini oluşturabilmektedir (Halliwell, Clement ve Long, 2000). Hidrojen peroksit (H_2O_2) nonradikali, süperoksit ($O_2\bullet^-$) serbest radikalinden farklı olarak yağda çözünmediği için olduğu bölgeden uzaktaki Fe^{2+} içeren hücre zarları üzerinde de hasar meydana getirebilir (Jomova ve Valko, 2011). Süperoksit ($O_2\bullet^-$) serbest radikalinden türeyen bir nonradikal olan hidrojen peroksit (H_2O_2), Fe^{2+} , Cu^+ veya diğer geçiş elementlerinin (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) ortamda bulunmasıyla indirgenerek (Fenton reaksiyonu, Denklem 5 ve 6) ya da süperoksit ($O_2\bullet^-$) serbest radikalinin varlığıyla oluşan indirgenme reaksiyonu (Haber-Weiss reaksiyonu, Denklem 7) ile en güçlü serbest radikal olan hidroksil ($OH\bullet$) meydana gelir (Das, Wati ve Fatima-Shad, 2014).



2.4.3. Hidroksil

Hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikali, son derece reaktif olup, yarılanma ömrü 10^{-10} saniye ile en kısa süreli (Kohen ve Nyska, 2002) ve reaktif oksijen türleri (ROS) arasında en güçlü toksik özelliğe sahip olanıdır (Ayala, Muñoz ve Argüelles, 2014). Aerobik hücrelerde hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikalleri olduğu bölgede bulunan tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton koparmak suretiyle yeni farklı radikallerin oluşumunu tetikler ve nihayetinde hücrede hasara sebebiyet verirler (Yin, Xu ve Porter, 2011). Hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikali, hücre organellerinden sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulumun zar bileşimlerindeki doymamış yağ moleküllerinin oksijenle yükseltgenmesi neticesinde bozulma sürecini (lipit peroksidasyonu) başlatarak zar geçirgenliğini artırır (Kıral, 2012). Karbonhidratlar, lipitler ve proteinler gibi inorganik moleküllerle güçlü bir şekilde reaksiyona girer ve ciddi zararlara yol açabilirler (Hopkins, 2016). Reaktif oksijen (ROS) türleri içerisinde yer alan süperoksit ($O_2\bullet^-$) ve hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikalleri sahip oldukları sitotoksik özellik nedeniyle hücreye toksik şekilde etki ederek hücre fonksiyonlarını durdururlar. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ise serbest radikal olmamasına rağmen süperoksit ($O_2\bullet^-$) serbest radikalinden çok güçlü toksik etkisi bulunan

hidroksil ($\text{OH}\cdot$) serbest radikalinin oluşum sürecine aracılık eder (Denklem 8). Sonuç olarak da fonksiyonları duran hücre için kaçınılmaz son olan hücre ölümüne sebep olan DNA hasarlarına yol açarlar (Halliwell, 1991).



2.4.4. Peroksil

Peroksil ($\text{ROO}\cdot$) serbest radikali, hücrel bileşenlerden lipitler ve nükleobazların (adenin-A, guanin-G, sitozin-C, timin-T, urasil-U) radikal etkileşimleri sonucunda meydana gelir. En temel peroksil ($\text{ROO}\cdot$) serbest radikal türü olan perhidroksil radikali ($\text{HOO}\cdot$), süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) serbest radikalinin protonlanmasıyla oluşur (De Grey, 2002).

Tipik bir hücre sitoplazmasında, protonlanmış haldeki süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) radikalinin toplam miktarının %0,3'ünü oluşturur. Yağ asidi peroksidasyonunu başlatır ve potansiyel olarak tümör büyümesini teşvik eder. Yaygın bir reaktif oksijen türü (ROS) olan peroksil ($\text{ROO}\cdot$) serbest radikali, membran lipitlerinin peroksidasyonu sırasında oluşur ve karbonhidratlar, nükleik asitler ve proteinler gibi farklı biyolojik moleküllerle reaksiyona girer (Baschieri, Jin ve Amorati, 2023).

2.4.5. Nitrik oksit

Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) serbest radikali, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin varlığında gerçekleşen sentez reaksiyonu ile üretilir (Andrew ve Mayer, 1999). Vücuttaki çeşitli metabolik süreçleri tetikleyerek hızlandırabilen temel amino asitlerden biri olan L-Sitrülin, bir diğer amino asit olan L-Arjinin'den sentezlenirken nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) bu dönüşüme destek olur (Radi, 2018). Bu reaksiyonda azot atomlarından biri oksidasyona uğrar ve nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) üretilir. Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) serbest radikalinin oluşumunda nöronal nitrik oksit sentaz enzimi (nNOS), endotelial nitrik oksit sentaz enzimi (eNOS) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz enzimi (iNOS) olmak üzere üç tip nitrik oksit sentaz enzimi izoformu rol oynar (Denklem 9).



Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikali, suda ve yağda (lipit) çözünebilir olduğundan, sitoplazma ve plazma zarından kolayca geçer (Chiueh, 1999). Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$), hücrede enzimatik aktiviteyi düzenler ve proteinleri nitrozilleyerek hücrel redoks dengesinde önemli bir rol üstlenir (Stamler, 1994). Protein kinaz ve guanilat siklaz enzimlerini aktive ederek kan damarlarındaki düz kasların gevşemesine yardımcı olur (Moldogazieva, Mokhosoev, Feldman ve Lutsenko, 2018). Bu, kan damarlarındaki endotel hücreleri tarafından üretilen ve kan damarlarında iltihaplanma olayının (inflamasyon) başlaması ve kontrol edilmesinde rol alan gevşeme faktörü (EDRF) ile eşdeğerdir (Ignarro, Buga, Wood, Byrns ve Chaudhuri, 1987). Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikali, kan basıncı düzenlemesi, düz kas gevşemesi, sinir iletimi, savunma mekanizmaları ve bağışıklık düzenlemesi gibi birçok biyolojik aktivitede rol alır (Koshland Jr, 1992).

2.4.6. Peroksinitrit

Nitrojen kökenli bir nonradikal olan peroksinitrit (OONO^-), oksijen kökenli süperoksit ($\text{O}_2\bullet^-$) serbest radikali ve azot kökenli nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikali arasındaki hızlı reaksiyonla oluşur. Yarılanma ömrü 10^{-3} saniye ile kısa sürelidir (Phaniendra, Jestadi ve Periyasamy, 2015) ve son derece toksiktir (Beckman ve Koppenol, 1996).

Peroksinitrit (OONO^-) nonradikali, karbondioksit (CO_2) ile doğrudan reaksiyona girerek diğer çok reaktif ve toksik nitrozo-perokso-karboksilat (ONOOCO_2^-) veya peroksinitrik asit (ONOOH) nonradikalini oluşturabilir. Oluşan peroksinitrik asit (ONOOH), serbest radikal oluşumunu sağlayan parçalanma reaksiyonu (homoliz) geçirerek hidroksil ($\text{OH}\bullet$) serbest radikali ve son derece zehirli olan nitrojen dioksit ($\text{NO}_2\bullet$) serbest radikalini oluşturabilir ya da nitrat radikali iyonuna (NO_3^-) dönüşebilir. Peroksinitrit (OONO^-) nonradikali, lipidleri, proteinlerdeki metiyonin ve tirozin kalıntılarını ve DNA'yı nitroguanin oluşturmak üzere oksitleyebilir (Douki ve Cadet, 1996). Hücrede nitrotirozin kalıntıları, peroksinitrit (OONO^-) kaynaklı hücrel hasarın bir belirtici olarak değerlendirilir (Ischiropoulos ve Al-Mehdi, 1995).

Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikali, O_2 ve H_2O ile reaksiyona girerek nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) iyonları oluşturur. Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikalının bir elektronla oksidasyonu, nitronyum katyonu ($\text{NO}_2\bullet^+$) ile sonuçlanırken, bir elektronla indirgenmesi nitroksil anyonu (NO^-) ile sonuçlanır. Bu iki iyon nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$) serbest radikali ile reaksiyona girerek

nitröz oksit (azot protoksit, N_2O) ve hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikalini oluşturabilir. Ayrıca, nitrik oksit ($NO\bullet$) serbest radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi çeşitli nonradikallerle reaksiyona girerek dinitrojen trioksit (N_2O_3) nonradikalini, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) iyonlarını oluşturabilir (Czapski ve Goldstein, 1995). Peroksinitrit ($OONO^-$) nonradikali, hipokloröz asit ($HOCl$) nonradikali ile benzer reaktiviteye ve lipid çözünürlüğüne sahiptir (Debnath, Ghosh, Nair, Pradhan ve Chatterjee, 2022).

2.5. Serbest Radikal Kaynakları

Reaktif oksijen türleri (ROS), içsel (endojen) veya dışsal (eksojen) kaynaklardan üretilir. İçsel (endojen) reaktif oksijen kaynakları (ROS) kaynakları, oksijen tüketiminin yüksek olduğu mitokondri, peroksizomlar ve endoplazmik retikulum gibi farklı hücresel organelleri içerir (Phaniendra, Jestadi ve Periyasamy, 2015).

2.5.1. Mitokondri

Hücre içindeki reaktif oksijen türlerinin (ROS) büyük bir kısmı mitokondriden kaynaklanır. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) serbest radikalleri, elektron transfer zincirinde kompleks I (NADH dehidrojenaz) ve kompleks III (ubikinon sitokrom c redüktaz) olmak üzere iki ana bölgede üretilir. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) üretimi enzimatik olmadığı için metabolik hız arttıkça reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi de o kadar fazla olur (Finkel ve Holbrook, 2000). Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), mitokondriyal süperoksit dismutaz (MnSOD) enzimi aracılığıyla hidrojen peroksit (H_2O_2) nonradikaline dönüştürülür. Oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) radikali, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) oksidan enzimleri sayesinde detoksifiye edilebilir (Phaniendra, Jestadi ve Periyasamy, 2015).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna katkıda bulunan diğer mitokondriyal bileşenler arasında monoamin oksidaz, α -ketoglutarat dehidrojenaz, gliserol fosfat dehidrojenaz ve p66Shc yer almaktadır (Starkov, 2008). Protein-p66Shc, p46Shc ve p52Shc adlı diğer iki proteinde barındıran ShcA protein ailesinin önemli bir üyesidir. Protein-p66Shc, mitokondride reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine aracılık eder. Protein-p66Shc'nin büyük kısmı sitoplazmada yer alırken, küçük bir bölümü mitokondrinin zarlar arası boşluğunda bulunur. Oksidatif stres altında, p66Shc mitokondrinin zarlar arası boşluğuna taşınır ve hareketli elektron taşıyıcısı görevini üstlenen hemoprotein kimyasal yapısında bir

solunum enzimi olan sitokrom-c ile etkileşime girerek reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini tetikler (Giorgio ve diğerleri, 2005).

2.5.2. Peroksizomlar

Ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan ve bir zarla çevrilmiş oksidatif organel olan peroksizomlarda solunum süreci, çeşitli metabolitlerden oksijene elektron transferiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) radikali oluşumuna neden olur, ancak bu transfer ATP molekülünün dehidrasyon senteziyle üretim mekanizması olan oksidatif fosforilasyon ile bağlantılı değildir; bunun yerine serbest enerji ısı olarak açığa çıkar. Peroksizomlarda üretilen diğer radikaller arasında hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil ($OH^{\bullet}$) ve nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) bulunur. Peroksizomlarda hidrojen peroksit (H_2O_2) üreten başlıca metabolik süreç, yağ asitlerinin β -oksidasyonudur. Peroksizomlarda reaktif oksijen türlerini üreten enzimler Çizelge 2.5'te verilmiştir (Schrader ve Fahimi, 2006).

Çizelge 2.5. Peroksizomlarda reaktif oksijen türlerini (ROS) üreten enzimler (Schrader ve Fahimi, 2006)

Enzim	Ortam	Reaktif oksijen türü (ROS)
Asil-CoA oksidazlar (β -oksidasyon enzimleri)	Yağ asitleri	H_2O_2
D-amino asit oksidaz	D-prolin	H_2O_2
L- α -hidroksi oksidaz	Glikolat	H_2O_2
Ürat oksidaz	Ürik asit	H_2O_2
D-aspartat oksidaz	D-aspartat	H_2O_2
Ksantin oksidaz	Ksantin	$O_2^{\bullet-}$, H_2O_2

2.5.3. Endoplazmik retikulum

Endoplazmik retikulum enzimleri olan sitokrom p-450, sitokrom b5 ve diamin oksidaz, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna katkıda bulunur (Cheeseman ve Slater, 1993). Başka bir önemli tiyol oksidaz enzimi olan Ero1p, ditiyollerden moleküler oksijene elektron transferini katalize ederek H_2O_2 oluşumuna neden olur (Gross ve diğerleri, 2006).

Diğer içsel (endojen) reaktif oksijen türü (ROS) kaynakları arasında prostaglandin sentezi, adrenalin oto-oksidasyonu, fagositik hücreler, indirgenmiş riboflavin, FMNH₂, FADH₂, sitokrom p-450, bağışıklık hücresi aktivasyonu, iltihaplanma, zihinsel stres, aşırı egzersiz, enfeksiyon, kanser, yaşlanma ve iskemi gibi faktörler bulunmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993).

Diğer taraftan, reaktif oksijen türleri (ROS), Çizelge 2.6’da belirtilen çeşitli dışsal (eksojen) kaynaklar tarafından da biyolojik sistemlerde üretilmektedir (L. A., Pham-Huy, H. He ve C., Pham-Huy, 2008). Çizelge 2.6’da reaktif oksijen türlerini (ROS) üreten dışsal (ekzojen) kaynaklar listelenmiştir.

Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türlerini (ROS) üreten dışsal (ekzojen) kaynaklar (L. A., Pham-Huy, H. He ve C., Pham-Huy, 2008)

• Hava ve su kirliliği	• Pestisitler
• Alkol	• Ultraviyole ışık
• Tütün dumanı	• Pişirme (tütsülenmiş et, kullanılmış yağ)
• Geçiş metalleri – Cd, Hg, Pb, As	• Karbon tetraklorür (CCl ₄)
• Ağır metaller – Fe, Cu, Co, Cr	• Bazı ilaçlar; Halotan, Parasetamol, Etanol
• Endüstriyel solventler	Bleomisin, Doksorubisin, Metronidazol

2.6. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılar Üzerine Etkisi

Serbest radikaller (ROS/RNS), insanlarda birçok hastalığın oluşumunda ve yaşlanma sürecinde rol oynamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Ancak şunu vurgulamak gerekir ki, serbest radikaller (ROS/RNS), normal sağlıklı dokularda, hücre dışı gerçekleşen olaylar karşısında hücrenin içinde kendi metabolizmasını korumasının (homeostaz) sağlanmasına yardımcı olmak amacıyla kontrollü bir şekilde üretilir ve bu serbest radikaller (ROS/RNS) sinyal molekülleri olarak önemli bir görev üstlenir. Çoğu hücreler, gerektiğinde süperoksit (O₂•⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve nitrik oksit (NO•) üretebilir. Bu yüzden, serbest radikallerin (ROS/RNS) önemli faydalı etkilerini vurgulamak gerekmektedir (Devasagayam ve diğerleri, 2004).

- Mitokondride ADP'den (adenozin difosfat) ATP (adenozin trifosfat) üretimi: Oksidatif fosforilasyon
- Ksenobiyotiklerin sitokrom P450 (oksidasyon enzimleri) aracılığıyla detoksifikasyonu
- Zayıf veya kusurlu hücrelerin programlanmış ölümü (apoptozis)
- Makrofajlar ve sitotoksik lenfositler tarafından mikroorganizmaların ve kanser hücrelerinin öldürülmesi
- Birçok düzenleyici işlevi olan prostaglandin ve lökotrienlerin üretimi için oksijenazlar (COX: siklooksijenaz, LOX: lipooksijenaz)

Serbest radikal üretimi (ROS/RNS) ile antioksidan savunma mekanizmaları arasında bir dengesizlik olduğunda, serbest radikaller daha yüksek konsantrasyonlarda üretilmeye başlar ve bu da oksidatif stres ve nitrozatif strese yol açar. Bu serbest radikaller son derece reaktif olduğu için, nükleik asitler (DNA/RNA), lipitler ve proteinler dahil olmak üzere üç önemli biyolojik molekül sınıfına zarar verebilirler (Dröge, 2002).

2.6.1. Deoksiribonükleik asit

Hem reaktif oksijen türleri (ROS) hem de hem de reaktif nitrojen türleri (RNS), nükleik asitlere oksidatif hasar verebilir. Mitokondriyal DNA, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretildiği bölgeye daha yakın olduğundan dolayı nükleer DNA'ya kıyasla bu saldırıya karşı daha savunmasızdır. Reaktif oksijen türlerinden (ROS), özellikle hidroksil ($\text{OH}\cdot$) serbest radikali, pürin ve pirimidin bazları ile deoksiriboz şeker omurgası dahil olmak üzere DNA'nın tüm bileşenleriyle doğrudan etkileşime girer (Halliwell ve Gutteridge, 2015) ve DNA üzerinde tek ve çift sarmal kırılmaları da dahil olmak üzere çeşitli değişikliklere yol açar. Hidroksil ($\text{OH}\cdot$) serbest radikali, hidrojen atomlarını uzaklaştırarak çeşitli modifiye pürin ve pirimidin baz yan ürünleri ile DNA-protein çapraz bağları üretir. Pirimidinler üzerindeki hidroksil ($\text{OH}\cdot$) saldırısı, farklı pirimidin eklentilerinin oluşumuna yol açar. Hidroksil ($\text{OH}\cdot$) serbest radikal saldırısı ile pürin eklentileri de oluşur. Diğer serbest radikaller de farklı DNA baz eklentilerinin oluşumuna neden olur (Dizdaroğlu, Jaruga, Birincioğlu ve Rodriguez, 2002).

Serbest radikal kaynakları, DNA'daki şeker moleküllerinin de eklentilerinin oluşumuna sebebiyet verir. 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) molekülü, oksidatif DNA hasarının biyolojik belirteci olarak kabul edilmekte olup, mutagenез, kanserojenik ve yaşlanma süreçlerinde rol oynamaktadır. 8-OHdG molekülünün seviyesi mitokondriyal DNA'da, nükleer DNA'ya kıyasla daha yüksektir (Barja, 2000). Öte yandan, en önemli reaktif nitrojen türü (RNS) olan peroksinitrit (OONO^-), guanin ile etkileşime girerek sırasıyla nitrozatif ve oksidatif DNA hasarları temsil eden 8-nitroguanin ve 8-oxo-2'-deoksiguanozin (8-oxo-dG) üretir (Hiraku, Kawanishi, Ichinose ve Murata, 2010). Oluşan 8-nitroguanin, kararsız bir bileşiktir ve kendiliğinden ortadan kalkarak ne pürin ne de pirimidin bazı olmayan (apurinik) bir bölgenin meydana gelmesine neden olabilir (Yermilov, Rubio ve Ohshima, 1995). 8-nitroguanin, kanserojen özellikte mutajenik bir DNA lezyonudur (Loeb ve Preston, 1986).

2.6.2. Ribonükleik asit

Reaktif oksijen türleri (ROS), vücutta sentezlenen farklı RNA'lara saldırabilir. RNA, oksidatif hasara daha açıktır. Bunun nedeni; RNA'nın tek sarmal yapısı, okside olmuş RNA için etkili bir onarım mekanizmasının bulunmaması, DNA'ya göre daha az protein korumasına sahip olması ve ayrıca sitoplazmik RNA'ların, reaktif oksijen türlerinin (ROS) yoğun olarak üretildiği mitokondrilere yakın bir konumda bulunmasıdır. Gerçekten de insanlarda RNA, DNA'dan daha fazla oksidatif hasara maruz kalmaktadır (Hofer ve diğerleri, 2005).

Alzheimer hastalığı (Abe, Tohgi, Isobe, Murata ve Sato, 2002), Parkinson hastalığı (Kikuchi, 2002), ateroskleroz (Martinet, De Meyer, Herman ve Kockx, 2004), hemokromatoz (Broedbaek ve diğerleri, 2009) ve miyopati (Tateyama ve diğerleri, 2003) gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkması durumunda, RNA hasar ürünü olan 8-oxoG (8-oksoguanin) molekülünün seviyesi yükselmektedir.

2.6.3. Lipitler

Hücre zarını (membran ya da plazma membranı) oluşturan üç farklı lipid türevinden (fosfolipitler, glikolipitler ve kolesterol), özellikle fosfolipitlerin çoklu doymamış yağ asidi kalıntıları, serbest radikallerin oksidasyonuna daha yatkındır (Siems, Grune ve Esterbauer, 1995). Lipit peroksidasyonu, canlılarda çeşitli rahatsızlıklara sebebiyet verdiği için oldukça

önemlidir. Lipit peroksidasyonu, zarın işlevini yitirmesine neden olur; örneğin, zarın akışkanlığının azalması ve zara bağlı enzimler ile reseptörlerin etkisiz hale gelmesi gibi sonuçlar doğurur (Bast, 1993).

Lipit peroksidasyonu, bir serbest radikalın bir yağ asidindeki (LH) metilen grubundan (CH_2) hidrojen koparmasıyla başlar ve bunun sonucunda karbon merkezli bir lipit radikali ($\text{L}\cdot$) oluşur. Lipit radikali, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek bir lipit peroksil ($\text{LOO}\cdot$) radikali meydana getirebilir. Oluşan lipit peroksil ($\text{LOO}\cdot$) radikali, bir döngüsel reaksiyon aracılığıyla endoperoksitlere dönüşerek, sonunda DNA ve proteinlere zarar veren lipit peroksidasyonunun toksik son ürünleri olan malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNA) oluşturur (Marnett, 1999). Bu lipit peroksil ($\text{LOO}\cdot$) radikalleri, diğer lipit moleküllerinden hidrojen atomları alarak peroksidasyon sürecini daha da yayabilir. İzoprostanlar (vücutta araşidonik asidin esterleşmesiyle üretilen prostaglandin benzeri maddeler), araşidonik asidin lipit peroksidasyonu sürecinde önemli bir ürün oluşturur ve oksidatif lipit hasarının belirteçleri olarak değerlendirilir (Aruoma, 1998).

2.6.4. Proteinler

Protein oksidasyonu, süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$), hidroksil ($\text{OH}\cdot$), peroksil ($\text{ROO}\cdot$), alkoksil ($\text{RO}\cdot$) ve hidroperoksil ($\text{HO}_2\cdot$) gibi serbest radikal türleri ile başlatılabildiği gibi, hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl), hipobromöz asit (HOBr), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), ozon (O_3) ve peroksinitrit (OONO^-) gibi radikal olmayan (nonradikal) türler tarafından da başlatılabilir (Dean, Fu, Stocker ve Davies, 1997).

Reaktif oksijen türleri (ROS), proteinlerde bulunan farklı amino asitleri oksitleyerek proteinler arasında çapraz bağlar oluşturur. Bu durum, proteinlerin denatüre olarak primer yapılarına dönüşmelerine ve fonksiyonlarını kaybetmesine, enzim aktivitelerinin azalmasına ve reseptörler ile taşıma proteinlerinin işlevlerini yitirmesine yol açar (Butterfield, 1998).

Kükürt içeren amino asitler olan metiyonin ve sistein, reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından oksidasyona daha yatkındır ve bu süreçte sırasıyla disülfid ve metiyonin sülfoksit dönüşürler (Pryor, Jin ve Squadrito, 1994). Ancak biyolojik sistemlerde, bu iki oksitlenmiş protein formu yalnızca iki farklı enzim olan disülfid redüktazları ve metiyonin sülfoksit redüktazları aracılığıyla tekrar doğal hallerine dönüştürülebilir (Berlett ve Stadtman, 1997).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) farklı amino asitler üzerindeki etkisi, çeşitli oksidasyon ürünlerinin meydana gelmesine neden olur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) yol açtığı oksidatif hasar, lizin, prolin, treonin ve arjinin gibi amino asit kalıntılarında karbonil türevlerinin oluşumunu sağlar. Proteinlerdeki karbonil gruplarının varlığı, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aracılığıyla gerçekleşen protein oksidasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Chevion, Berenshtein ve Stadtman, 2000).

Protein oksidasyonunun diğer spesifik belirteçleri O-tirozin (reaktif oksijen türlerinden biri olan hidroksil serbest radikali için bir gösterge) ve 3-nitrotirozin (reaktif nitrojen türleri için bir gösterge) olarak tanımlanır. Proteinlerdeki karbonil gruplarının seviyelerindeki artış, Alzheimer hastalığı (Smith, 1991), Parkinson hastalığı (Floor ve Wetzell, 1998), kas distrofisi (Murphy ve Kehrer, 1989), katarakt oluşumu (Garland, Russell ve Zigler, 1988), romatoid artrit (Chapman, Rubin ve Gracy, 1989), diyabet (Jones, ve Hothersall, 1993), erken yaşlanma (Progeria sendromu), ateroskleroz, solunum güçlüğü sendromu, Werner sendromu (Berlett ve Stadtman, 1997) ve yaşlanma (Oliver, Ahn, Moerman, Goldstein ve Stadtman, 1987) gibi birçok sağlık sorununun ortaya çıktığı durumlarda gözlemlenir.

2.6.5. Karbonhidratlar

Reaktif oksijen türlerinden hidroksil ($\text{OH}\cdot$) serbest radikali, karbonhidratlarla tepkimeye girerek karbon atomlarından herhangi birinden rastgele bir hidrojen atomu koparır ve karbon merkezli bir radikal oluşturur. Bu durum, insan vücudunda doğal olarak bulunan, şeker ve proteinden oluşan, su tutma işlevi nedeniyle biyolojik olarak hayati öneme sahip moleküllerden biri olan hyaluronik asidin yapısında zincir kopmalarına yol açar. Eklem çevresini saran eklem sıvısında (sinoviyal sıvı), iltihaplanma sırasında bağışıklık sisteminin enfeksiyonlarla savaşmasını sağlayan en yaygın beyaz kan hücrelerinden nötrofillerin birikimi ve aktif hale gelmesi, oksijen radikallerinin büyük miktarlarda üretilmesine neden olur ve bu durum romatoid artrit de ilişkilendirilir (Devasagayam ve diğerleri, 2004).

2.7. Antioksidanlar

Antioksidan terimi, önceleri özellikle oksijen tüketimini önleyen bir kimyasalı tanımlamak için kullanılmıştır. 19. yüzyılın sonları ve 20. yüzyılın başlarında, antioksidanların metal

korozyonunu önleme, kauçuğun vulkanizasyonu ve içten yanmalı motorlardaki yakıt polimerizasyonu gibi önemli sanayi süreçlerinde kullanımlarına yönelik kapsamlı çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Lobo ve diğerleri, 2010). Antioksidanların biyolojideki rolü üzerine yapılan ilk araştırmalar, bunların bozulmaya neden olan doymamış yağların oksidasyonunu önlemedeki kullanımlarına odaklanmıştı (German, 1999). Antioksidan aktivite, oksijenle dolu bir kabın içerisine yağın yerleştirilerek kabın kapatılması ve oksijen tüketim oranının ölçülmesiyle basit bir şekilde belirlenebiliyordu. Ancak, E, C ve A vitaminlerinin antioksidan olarak tanımlanması, bu alanda devrim yaratarak canlı organizmaların biyokimyasındaki antioksidanların öneminin farkına varılmasını sağladı (Jacob, 1996; Knight, 1998).

Antioksidanların etki mekanizmaları, bir maddenin antioksidan aktivite gösteriyorsa muhtemelen kolayca oksitlenebildiğinin fark edilmesiyle incelenmeye başlanmıştır. E vitamininin lipid peroksidasyonunu önleme mekanizmasına yönelik araştırmalar, antioksidanların oksidatif reaksiyonları engelleyen indirgeme ajanları olarak görev yaptığını ve çoğunlukla reaktif oksijen türlerini (ROS) hücrelere zarar vermeden önce yakalayarak bu süreci durdurduklarını göstermiştir (Wolf, 2005).

Hücrelerin, dokuların ve hücreler arası yapıların, serbest radikallerin zararlı etkilerine maruz kalması durumunda, antioksidanlar bir dizi reaksiyonu tetikleyerek serbest radikalleri ve türevlerini ortadan kaldıran çeşitli iç savunma mekanizmalarını harekete geçirir. Bu mekanizmalar şunlardır:

- **Önleyici mekanizma:** Antioksidanlar, ilk savunma hattı olarak, serbest radikallerin ve onların türevlerinin vücut içerisindeki biyolojik maddelerle reaksiyona girmesini engeller.
- **Onarıcı mekanizma:** Antioksidanlar, radikallerin sebep olduğu oksidasyon reaksiyonlarına müdahale eder.
- **Etkisizleştirici mekanizma:** Antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarının ve türevlerinin ürünlerini inaktive ederek, yapısal hasarları onarır ya da ortadan kaldırır.

Antioksidan, saldırgan bir serbest radikale elektron bağışlayarak onu nötralize edebilen ve böylece zarar verme kapasitesini azaltan yeterince kararlı bir moleküldür. Bu antioksidanlar, temel olarak serbest radikalleri süpürme yetenekleri sayesinde hücresel hasarı geciktirir veya önler (Halliwell, 1995). Bu düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar, serbest radikallerle güvenli bir şekilde etkileşime girerek hayati moleküller zarar görmeden önce zincir reaksiyonunu durdurabilir. Glutasyon, ubikinol ve ürik asit dahil olmak üzere bu tür antioksidanlardan bazıları vücutta normal metabolizma sırasında üretilmektedir (Shi, Noguchi ve Niki, 1999).

Diğer hafif antioksidanlar besinlerde bulunur. Vücutta serbest radikalleri süpüren çeşitli enzim sistemleri olmasına rağmen, temel mikro besin (vitamin) antioksidanları, E vitamini (α -tokoferol), C vitamini (askorbik asit) ve β -karotendir (Levine, Rumsey, Daruwala, Park ve Wang, 1999). Vücut bu mikro besinleri (vitaminler) üretmediğinden, bunların besinlerle karşılanması gerekmektedir.

Antioksidanlar, radikal süpürücü, hidrojen verici, elektron verici, peroksit parçalayıcı, singlet oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı ajanlar olarak görev yapar. Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini (ROS) detoksifiye etmek için hücre içi ve hücre dışı ortamda bulunur (Frei, Stocker ve Ames, 1988).

2.8. Biyolojik Antioksidanlar

Antioksidanlar, istenildiği takdirde suda çözünen, yağda çözünen, biyolojik ve sentetik olmak üzere birkaç temel kategoriye ayrılabilir (Mironczuk-Chodakowska, Witkowska ve Zujko, 2018). Suda çözünen antioksidanlar, sebze ve meyvelerde bulunur ve vücut tarafından en verimli şekilde emilir. Diğer yandan, vücut bu antioksidanları hızla idrarla atar. C vitamini ve fenolik bileşikler (polifenoller), suda çözünebilen antioksidanlara örnek teşkil eder. Lipitlerle birlikte emilen antioksidanlara lipitte çözünen ya da yağda çözünen antioksidanlar denir. Bu nedenle, lipitler olmadan vücut bu antioksidanları emip kullanma yeteneğine sahip değildir. Ancak, bunların hücrelerden ve dokulardan çıkarılmasının zor olduğunu ve zamanla birikerek yeterli miktarda alımı engelleyebileceğini unutmak gerekir. Yağda çözünen antioksidanlara verilebilecek en iyi örnek, E vitaminidir (Lazzarino ve diğerleri, 2019).

Antioksidanlar, kaynağına göre sınıflandırılırsa; biyolojik antioksidanlar ve sentetik antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Yadav ve diğerleri, 2016). Biyolojik antioksidanlarda, kendi içerisinde enzimatik ve nonenzimatik (enzimatik olmayan) biyolojik antioksidanlar olarak sınıflandırılır. Enzimatik antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini (ROS) parçalayarak vücudu serbest radikal hasarından koruma işlevi görür. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx), enzimatik antioksidanların temel sınıfı olan birincil enzimatik antioksidanları oluşturur (Fan ve diğerleri 2014). Buna karşın, glutatyon redüktaz (GTR) ve tiyoredoksin redüktaz (TRR) ise enzimatik antioksidanlar içerisinde ikincil antioksidan enzimleri olarak kabul edilir (Benhar, 2018). Nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar, serbest radikalleri enzimlerin yardımı olmaksızın etkisiz hale getirebilen bileşiklerdir. Genellikle bu işlem katalitik olarak gerçekleşmez ve bu özellik düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerde bulunur. Bu nedenle, enzimatik olmayan antioksidanlar ya endojen (ökaryotik hücreler bunları kendileri üretebilir) ya da ekzojen (antioksidanların vücut dışından alınması gerekir) olarak iki gruba ayrılır (Tumilaar, Hardianto, Dohi ve Kurnia, 2024). Çizelge 2.7’de Antioksidanların sınıflandırılması şematik olarak verilmiştir (Mirończuk-Chodakowska ve diğerleri, 2018)

Çizelge 2.7. Antioksidanların sınıflandırılması (Mirończuk-Chodakowska ve diğerleri,2018)

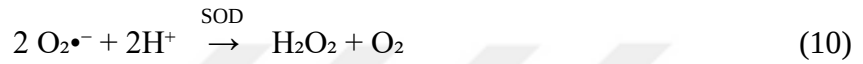
Antioksidanlar				
Biyolojik				Sentetik
Enzimatik		Nonenzimatik		
Birincil	İkincil	Endojen	Ekzojen	BHT
SOD	GTR	MEL	Vitaminler	BHA
CAT		ALA	Mineraller	OG
GPx	TRR	GSH	Flavonoidler	TBHQ
G6PD		CoQ10	Karotenoidler	PG

2.8.1. Birincil enzimatik antioksidanlar

Organizma vücudunda serbest radikallere karşı bir savunma mekanizması barındırır. Her hücre, oksijen metabolizması sırasında hücreleri koruyan bir antioksidan enzim salgılar ve zararlı serbest radikalleri su gibi dengeli moleküllere dönüştürür (Lobo ve diğerleri, 2010).

Süperoksit dismutaz (SOD)

İnsan biyolojik sistemlerinde sentezlenen süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, hücre dışı sıvıları ve aerobik hücreleri içerir (Fernando ve Soysa, 2015; Bardaweel ve diğerleri, 2018). Canlı organizmalar, serbest radikallerin ve reaktif türlerin süpürülmesi için bir sistem geliştirmiştir. Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) anyonlarının hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene (O_2) dönüşümünü hızlandırır (Winterbourn, 2020; Khorobrykh, 2019) ve ortadan kaldırır (Dismutasyon reaksiyonu, Denklem 10).



Bir sonraki adımda, üretilen hidrojen peroksit (H_2O_2) nonradikali, glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) sistemi tarafından yok edilir. Süperoksit dismutazın (SOD) çeşitli izoenzimleri, serbest radikallerin süpürülmesinde görev alır (Kowald, Lehrach ve Klipp, 2006).

Hepsi metal kofaktörlere bağlı olduğu halde süperoksit dismutazın (SOD) üç temel türü bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), çinko (Zn), bakır (Cu), manganez (Mn), demir (Fe) veya nikel (Ni) bağlanır (Islam ve diğerleri, 2022). Yüksek rakım bitkilerinde, bakır (Cu) ve çinko (Zn) bağlı süperoksit dismutazlar (SOD), genellikle hücre dışı boşluklarda (apoplast), peroksizomlarda, kloroplastlarda ve hücre içi sıvılarda (sitozol) bulunur. Manganez (Mn) bağlı süperoksit dismutaz (SOD) ise peroksizomlarda ve mitokondride, demir (Fe) bağlı süperoksit dismutaz (SOD), genellikle kloroplastlarda ve peroksizomlarda, bakır (Cu) bağlı süperoksit dismutaz (SOD) ise sitoplazmada bulunur (Abedi ve Shahpiri, 2024).

İnsanlarda süperoksit dismutaz (SOD) sınıflandırması ayrıca çinko (Zn) bağlı süperoksit dismutaz (SOD), tip 1 ve manganez (Mn) bağlı süperoksit dismutaz (SOD), tip 2 olarak da ikiye ayrılabilir. Tip 1 ve 2 enzimlerin her ikisi de sitoplazmada bulunur. Sonuncusu ise çinkoyu (Zn) hücre dışında bağlayan süperoksit dismutaz (SOD), tip 3'tür (Kambe, Taylor ve Fu, 2021; Chen ve diğerleri, 2024; He, Eslamfam, Ma ve Li, 2016).

Süperoksit dismutaz enziminin (SOD) işlevine dair, dönüşümü sınırlayan iki farklı mekanizma bildirilmiştir; 1) Süperoksit dismutaz (SOD), esas olarak hücre zarı seviyesinde etkili olur ve lipid peroksidasyonundan kaynaklanabilecek radikallerin oluşumunu engeller veya ortadan kaldırır. Bu radikaller, hücre dışı ve hücre içi bir dizi olayı başlatarak nihayetinde dönüşüme yol açabilir. Bu kavram, kromozomal anormalliklere aracılık eden bir membran modelini açıklamaktadır, 2) Oksijen radikallerinin bir büyüme ortamında oluşabileceği ve dönüşümün teşvik edici bir unsuru olarak işlev görebileceği, ayrıca süperoksit dismutaz (SOD) tarafından ortadan kaldırılabilmesi bildirilmiştir (Kowald ve diğerleri, 2006).

Katalaz (CAT)

Oksijenle ilgili süreçlerde yer alan hemen hemen tüm canlı organizmalar, Hidrojen peroksiti (H_2O_2) su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştürmek için ortak bir katalaz enzimi içerir (Grigoras, 2017). Katalaz enzimi, yalnızca peroksizomlarda yer alır. Saflaştırılmış katalaz, her biri aktif bölgesine bağlı bir Fe III-protoporfirin grubu içeren dört protein alt birimine sahiptir. Katalaz enziminin çift işlevli olduğu bildirilmiştir (Nandi, Yan, Jana ve Das, 2019).

1. Hidrojen peroksitin (H_2O_2) parçalanmasında katalizör görevi üstlenir (Denklem 11).



2. Hidrojen bağışlayıcılarının (AH_2) oksitlenmesinde peroksidik bir rol üstlenir (Denklem 12).



DNA'nın X-ışını ve mitomisin-C (*Streptomyces caespitosus* olarak adlandırılan bir tür toprak mantarından elde edilen anti-tümör özellikli, antibiyotik yapısında bir kemoterapi ilacı aktif maddesi) tarafından kesilmesinin, katalaz enzimi tarafından baskılanan kötü huylu (habis) dönüşüme neden olduğu bulunmuştur. Bazı çalışmalar, beyin kökenli nörotrofik faktör (BNDF) ve stres gibi etmenlerin, çeşitli endojen antioksidanların antioksidan aktivitesinde rol oynadığını göstermektedir (Lobo ve diğerleri, 2010).

Stres koşullarında beyin kökenli nörotrofik faktör (BNDF) eksikliği olan fareler, stres altındaki normal vahşi farelere göre katalaz enziminde daha yüksek bir aktivite sergiledi. Bu durum, serbest radikalleri süpürme kapasitesinin azaldığını gösterir ve normal vahşi tür farelerin, beyin kökenli nörotrofik faktörü (BNDF) heterojen olan farelere kıyasla daha iyi bir tolerans yeteneğine sahip olduğunu ortaya koyar (Hacıoğlu, Şentürk, İnce ve Alver, 2016).

İnsan biyolojik sisteminde, son derece toksik olan hidrojen peroksitin (H_2O_2) temel bileşenleri veya metabolik aktivite yan ürünleri bulunmaktadır. Bu molekül, hücresel yapıya zarar vermemesi için diğer bileşenlere dönüştürülmesi gerekmektedir. Hidrojen peroksitin (H_2O_2) vücutta katalaz (CAT) enzimleri tarafından hızlı bir şekilde dönüştürülmesiyle, daha az zararlı olan gaz halindeki su ve oksijen molekülleri üretilir (Andrés, Pérez de la Lastra, Juan, Plou ve Pérez-Lebeña, 2022).

Katalaz (CAT) enziminin peroksinitrit ($ONOO^-$) nonradikali üzerindeki işlevi hakkında önemli tartışmalar bulunmasına rağmen, mevcut çalışma katalaz (CAT) enziminin peroksinitrit ($ONOO^-$) nonradikalini süpürebilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Tejero, Shiva ve Gladwin, 2019).

Glutasyon peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz (GPx), organik hidroperoksitler ($ROOH$) ile hidrojen peroksitlerin (H_2O_2) parçalanmasını katalize eden ve 4 birim selenyum kofaktörü içeren bir enzimdir. Hayvanlarda dört farklı glutasyon peroksidaz izoenziminin bulunduğu belirtilmiştir. Glutasyon peroksidaz 1, hidrojen peroksit (H_2O_2) nonradikali için etkili bir süpürücüdür; glutasyon peroksidaz 4'ün ise lipid hidroperoksitleri üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir (Cardoso, Hare, Bush ve Roberts, 2017). Bu enzimler, karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve detoksifikasyon süreçlerine de yardımcı olurlar (Lobo ve diğerleri, 2010).

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)

Oksidatif strese karşı koruma, büyük ölçüde nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) indirgeme gücüne bağlıdır ve bu seviyenin değerlendirilmesi glukoz-6-fosfat

dehidrogenaz (G6PD) yardımıyla yapılmaktadır. Hayvan hücreleri, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) üretebilen birkaç enzim içerir ve bunlar arasında glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) en önemlisidir (Peters ve Noorden, 2009).

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) katalizi, pentoz fosfat yolunun (PPP) hız belirleyici adımındır. Bu yol, DNA replikasyonu için nükleotid öncüleri temin eder ve aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonu ile yeni lipit sentezi için nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) indirgeme gücü sağlar (Stanton, 2012).

Pentoz fosfat yolu (PPP) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenazın (G6PD) reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonundaki ilişkisi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliği olan farelerin beyinlerinde artan oksidatif hasar seviyeleriyle ortaya konulmuştur. Hayvan hücreleri, oksidatif strese karşı yanıt verirken pentoz fosfat yoluyla (PPP) yönlendirilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) üretimlerini artırarak da savunma mekanizmasını güçlendirirler. Örneğin, sirke sineğinde (*drosophila melanogaster*) glukoz-6-fosfat dehidrogenazın (G6PD) aşırı üretimi, oksidatif strese karşı koruma sağlar ve ayrıca yaşam sürelerini uzatabilir (Nóbrega-Pereira ve diğerleri, 2016).

2.8.2. İkincil enzimatik antioksidanlar

Glutatyon redüktaz (GTR) ve tiyoredoksin redüktaz (TRR), ikincil antioksidan sistemde görev yapan redüktaz enzimleridir. Bu enzimler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini dengelemek amacıyla sürekli olarak nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) üreterek kritik bir rol üstlenirler. Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), insan vücuduna giren toksik moleküllerin etkilerini nötralize edebilir (Taraftar ve Pula, 2018). Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) metabolizmasının bir diğer kaynağı, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGD) enzimlerinin yardımıyla pentoz fosfat yoludur (Fan ve diğerleri, 2014).

2.8.3. Endojen nonenzimatik antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, hücrelerde sentezlenir ve enzimatik ile nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Önemli endojen enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) yer alır.

Bu enzimler, radikalleri ve reaktif türleri (ROS/RNS) etkisiz hale getirerek oksidatif stresi önleyerek hücre bileşenlerine zarar gelmesini engeller.

Hücrelerdeki başlıca endojen nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar ise melatonin (MEL), α -lipoik asit (ALA), glutatyon (GSH) ve koenzim Q10 (CoQ10) diğer adıyla ubikinon'dur. Glutatyon (GSH), hem bağımsız bir antioksidan olarak görev yapar hem de glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi ile birlikte çalışarak hücreden hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi oksidanları uzaklaştırır. Endojen enzimatik ve nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar bir arada çalışarak hücreleri radikal kaynaklı oksidatif hasarlardan korur (Powers ve Jackson, 2008).

Melatonin (MEL)

Melatonin (MEL), kimyasal olarak N-asetil-5-metoksitriptamin olarak adlandırılan (Nassar ve diğerleri, 2007), hayvanlar ve algler gibi bazı diğer canlı organizmalarda doğal olarak bulunan bir hormondur (Caniato ve diğerleri, 2003). Melatonin (MEL), hücre zarlarını ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilen güçlü antioksidanlardan biridir (Reiter, Carneiro ve Oh, 1997; Kopustinskiene ve Bernatoniene, 2021). Bu sayede hücre zarlarını lipid peroksidasyonundan korur (Kopustinskiene ve Bernatoniene, 2021). Melatonin (MEL) hormonunun kaynağı amino asit triptofandır. Melatonin, redoks döngüsüne katılmadığı için terminal antioksidan olarak adlandırılır. Redoks döngüsü, moleküllerin tekrar eden oksidasyon ve indirgenme süreçlerinden oluşan bir döngüdür (Tretter, Hochreiter, Zach, Krenn ve Klein, 2021). Diğer antioksidanların aksine melatonin (MEL), bir molekülün tekrar tekrar indirgenme ve oksidasyona uğrama yeteneği olan redoks döngüsüne girmez. Melatonin (MEL), bir kez oksitlenince serbest radikallerle reaksiyona girerek birkaç stabil nihai ürün oluşturduğundan eski haline indirgenemez yani başlangıçtaki haline geri dönemez (Tan ve diğerleri, 2000; Boutin, Liberelle, Yous, Ferry ve Nepveu, 2024).

α -Lipoik asit (ALA)

α -Lipoik asit ya da 1,2-ditiyolan-3-pentanoik asit, metal şelasyonu gerçekleştiren ve aktif reaktif oksijen türlerini (ROS) süpürmek için redoks döngülerine giren bir disülfid bileşiktir. α -Lipoik asit, radikallerdeki Fenton reaksiyonlarını önleyebilir ve C ve E gibi vitaminleri

aktif bir formda yeniden sentezleyebilir (Zhang ve Tsao, 2016). Bu bileşik, glutaredoksin proteini gibi bir tiyol antioksidanı olarak da görev yapabilir (Aslani ve Ghobadi, 2016).

Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH), çoğu aerobik yaşam biçiminde bulunan sistein içeren bir peptittir (Meister ve Anderson, 1983). Besinlerle alınması gerekmez (Meister, 1988), bunun yerine hücrelerin yapı taşı olan amino asitlerden sentezlenir (Aquilano, Baldelli ve Ciriolo, 2014). Hücrelerde, glutasyonun (GSH) indirgenmiş formu, glutasyon redüktaz (GTR) enzimi tarafından korunur ve bu şekilde diğer metabolitleri ve enzim sistemlerini indirgerken oksidanlarla da doğrudan reaksiyona girer (Meister, 1988).

Glutasyon (GSH), vücuttaki antioksidan savunma süreçlerini düzenleyen bir protein olmayan tiyoldur. Glutasyon (GSH) düzeyindeki değişikliklerin birçok komplikasyona yol açtığı bildirilmiştir. Metiyonin (MET), sistein (CYS) ve glutasyon (GSH) gibi tiyol bileşiklerinin kullanımının hayvanlar ve insanlar üzerinde oksidatif strese karşı koruyucu bir etki gösterdiği bilinmektedir. Tiyollerin indirgenmiş formu, C vitamini ve E vitamini gibi diğer antioksidanların geri kazanımında kullanılmıştır (Noctor, Queval, Mhamdi, Chaouch ve Foyer, 2011).

Glutasyon (GSH), geri dönüşümlü bir şekilde oksitlenip indirgenebilme yeteneği ve sisteminde bulunan indirgeme ajanı tiyol grubu sayesinde tiyol gruplarının antioksidan özelliklerine sahiptir (Gaucher ve diğerleri, 2018). Glutasyon (GSH), hücrenin redoks dengesini koruma konusundaki önemi ve yüksek konsantrasyonu nedeniyle hücresel bir antioksidandır. Hücrelerde oksidanlarla doğrudan reaksiyona girerek diğer metabolitleri azaltabilir (Aquilano, Baldelli ve Ciriolo, 2014).

Koenzim Q10 (CoQ10)

Koenzim Q10 (CoQ10), 2,3-dimetoksi-5-metil-6-poliizopren parabenzokinon veya sıklıkla ubikinon olarak adlandırılır. İzoprenoid oligomerizasyonu ve mevalonat yoluyla sentezlenir. Mevalonat yolu, izopentenil pirofosfat ve dimetilalil pirofosfat ile başlar (Tafazoli, 2017). Ubikinon (CoQ10), yağda çözünebilen bir antioksidan moleküldür ve vücudu lipid peroksidasyonundan ve oksidatif hasardan korur. Bazı reaktif oksijen türlerini (ROS)

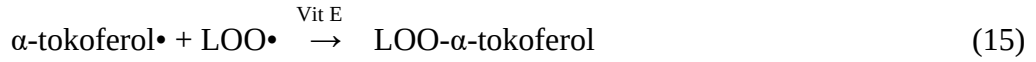
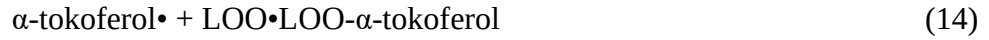
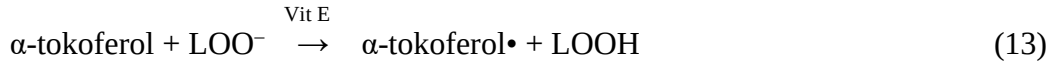
süpürebilir ve diğer oksitlenmiş antioksidanları yeniden sentezleyebilir (Lee, Tan, Kawamukai ve Chen, 2017).

2.8.4. Ekzojen nonenzimatik antioksidanlar

Ekzojen nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar, sentez yolları genellikle bitki hücrelerinde veya mikroorganizmalarda olduğu için düzenli olarak tüketilmelidir. Vitaminler (vitamin E, vitamin C, vitamin A), mineraller (selenyum, çinko, bakır), flavonoidler (flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, flavonoller, flavanoller ve antosiyanidinler) ve karotenoidler (likopen, β -karoten, lutein), antioksidan aktiviteye sahip ekzojen nonenzimatik moleküllere örnek olarak verilebilir. İnsanlar, antioksidan açısından zengin olan meyve ve sebzeleri tüketerek antioksidan savunmalarını güçlendirebilirler (Langhans, 2017).

Vitaminler (Vitamin E, Vitamin C, Vitamin A)

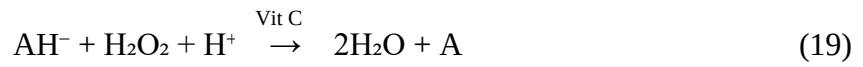
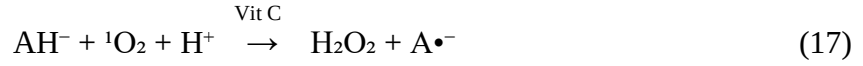
Vitamin E (α -tokoferol), doğal olarak oluşan ve suda çözünebilir bir antioksidandır. Kimyasal olarak tokoferoller grubuna dahil olup, bu grubun en yüksek antioksidan kapasitesine sahip bileşiği α -tokoferoldür. Vitamin E, serbest radikallerin mitokondriyal zar ve endoplazmik retikulumda tetiklediği zincirleme reaksiyonu keser, genellikle lesitinlerle etkileşime girerek onları serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasardan korur. Vitamin E'nin dahil olduğu reaksiyonların mekanik süreçleri oldukça karmaşıktır. Bu reaksiyonlarda vitamin E, α -tokoferoksil radikaline dönüşür ve sonrasında vitamin C aracılığıyla tekrar vitamin E'ye geri dönebilir (Packer, Slater ve Willson, 1979). Vitamin E, insanlarda oksidasyon zinciri kırma sürecine dahil olan önemli bir antioksidan olarak değerlendirilmektedir. Hücre zarında lipit peroksidasyonunu kesintiye uğratmakta ve reaktif oksijen ara ürünlerine (ROI) bağlı hücre sinyalizasyon yollarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bunlar ayrıca, hidroksil ($\text{OH}\cdot$), süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) gibi reaktif türleri doğrudan süpürerek yok edebilirler (Traber ve Atkinson, 2007). Vitamin E, kanser vakalarını azaltmada da güçlü bir rol oynamaktadır. Hidrojeni lipit peroksil radikallerine verip lipit peroksidasyon sürecini kesintiye uğratarak çalışır (Denklem 13). Ayrıca, aşağıda gösterildiği gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girme potansiyeline de sahiptir (Denklem 14 ve 15):



Denklemlerde sentezlenen vitamin E'nin, diğer peroksil radikalleriyle tepkimeye girerek LOO- α -tokoferol eklentisini oluşturmalarını sağlayan rezonans ile stabilize edilmiş bir konformasyona sahip olduğu kabul edilmektedir. Alfa-tokoferol, yeni serbest radikallerin oluşumunu sınırlandırırken, gama-tokoferol mevcut reaktif türleri nötralize eder veya yakalar. Reaktif oksijen türleri (ROS), çeşitli olası hastalıklarla bağlantılıdır; ancak vitamin E, serbest reaktif moleküllerle ilişkili kronik hastalıkların gecikmesine veya önlenmesine yardımcı olmaktadır (Traber ve Stevens, 2011). Vitamin E, antioksidan özellikleri bulunan ve yüksek biyoyararlanıma sahip, suda çözünebilen bir vitamin olarak tanımlanabilir (Yaman ve diğerleri, 2021). Alfa-tokoferol, peroksidasyon reaksiyon zincirindeki radikallerle etkileşerek hücre zarlarını oksidasyondan korur. Bu etkileşim, yayılmanın devamını engelleyerek serbest radikal ara ürünlerini ortadan kaldırabilir (Salehi ve diğerleri, 2019). Vitamin E'nin başlıca kaynakları mısır yağı, ayçiçeği yağı, soya yağı, yer fıstığı, fındık, ayçiçeği çekirdeği, yumurta sarısı, avokado, kuruyemişler, fasulye ve palamut ile uskumru gibi balıklardır (Chun, Lee, Ye, Exler ve Eitenmiller, 2006).

Vitamin C (askorbik asit), oksijen radikallerini süpüren hidrofilik maddeler olarak görev yapar (Lobo ve diğerleri, 2010). Askorbik asit mineral tuzu olan doğal askorbat, hayvanlara verilen çeşitli nitrozo bileşiklerini etkisiz hale getirerek kanserojen süreci durdurur. Vitamin C, basit bir indirgeme işlemiyle canlı organizmadaki farklı organik bileşikleri detoksifiye etmek için kullanılabilir (Combet ve diğerleri, 2007). Askorbik asit, biyolojik sistemde reaktif türlerin güçlü bir süpürücüsü ve indirgeyici ajanıdır. Antioksidanların ilk savunma hattında yer alarak proteinleri ve lipid zarını hasardan korur (Pehlivan, 2017). Suda çözünebilen yapısı nedeniyle vitamin C hem hücrelerin içinde hem de dışında çalışabilir ve herhangi bir hasarı önlemek için serbest reaktif türleri nötralize edebilir. Vitamin C, kararlılıklarını elde etmek için bir elektron bulan reaktif türler için mükemmel bir elektron kaynağı olarak çalışır. Serbest radikallere elektron vererek onların reaktivitelerini etkisiz hale getirebilirler (Padayatty ve Levine, 2016). Vitamin C, singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) (Denklem 17), peroksil radikali ($\text{ROO}\cdot$) (Denklem 18), hidrojen peroksit (H_2O_2) (Denklem 19) ve

hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) (Denklem 16) ile reaksiyona girerek dehidroaskorbik asit (A) ve semidehidroaskorbik radikali ($\text{A}\cdot^-$) oluşturur.



Vitamin C, neredeyse tüm hayvanlar tarafından sentezlenirken, insanlar bu konuda önemli bir istisnadır. Bu nedenle, C vitamini hayati bir besin maddesi olup, beslenme yoluyla edinilmesi gerekmektedir (Linster ve Van Schaftingen, 2007). Vitamin C'nin antioksidan olarak bir diğer temel rolü, vitamin E'nin okside olmuş formu β -tokoferol'ü, vitamin E'nin aktif hali olan α -tokoferol'e geri döndürmek için, vitamin E'nin oksijen radikallerini nötralize ederken oluşan radikalleri azaltmaktır. Vitamin E'nin geri dönüşümü, hücre zarlarında glutatyon (GSH) veya diğer indirgeyicilerle birlikte gerçekleştirilir (Kojo, 2004). Benzer şekilde vitamin C'de çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) reaksiyonlarda elektron vererek antioksidan ve indirgeyici ajan olarak etki eder. Birkaç biyosentetik enzimin geçiş metal iyonlarını indirger, böylece makromoleküllerin biyolojik oksidasyonunu önler.

Vitamin C, bitkilerde toksik hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya (H_2O) dönüştüren askorbat peroksidaz enziminin bir kaynağı olarak işlev görmektedir (Noctor ve Foyer, 1998). Bu vitamin dünya genelinde ilaçlarda, ön tedavi uygulamalarında ve diyet takviyelerinde en yaygın olarak kullanılan vitamindir (Moussa, Judeh ve Ahmed, 2019). Sebzeler arasında vitamin C açısından en önemli kaynaklar; su teresi, brokoli, yabani lahana, Çin brokolisi, alabaş ve biberler gibi sebzelerdir. Meyveler arasında ise, son derece yüksek vitamin C içeriğine sahip kamu-kamu ($2780 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), guava, portakal, kivi, kaju, muz, çarkıfelek meyvesi, çilek, misket limonu, limon ve greyfurt gibi meyveler bulunmaktadır (Dosedël, 2021).

Vitamin A (retinol), doymamış yağda çözünen bir vitamin olup hem retinoidleri (retinol, retinal, retinoik asit ve retinil palmitat) hem de provitamin A karotenoidlerini (α -karoten, β -karoten ve β -kriptoksantin) bünyesinde barındırır (Moussa ve diğerleri, 2019). Dolayısıyla, retinol bir hidroksil grubu, retinal bir aldehit fonksiyonu, retinoik asit bir terminal karboksilik asit grubu ve retinil palmitat bir ester grubu içerir (Parker, 1996).

Vitamin A, Serbest radikalleri yok etmenin yanı sıra, sağlıklı görmenin sürdürülmesinde de önemli bir rol oynar. Vitamin A'nın aldehit formu olan retinal, retinanın hem renkli hem de alacakaranlık görüşü için gerekli olan ışık emici molekül rodopsini oluşturması için gereklidir (Wolf, 2001). Öte yandan, tamamen geri dönüşümsüz olarak oksitlenmiş retinol formu, epitel hücreleri ve diğer hücre türleri için bir büyüme faktörü olarak oldukça farklı bir şekilde işlev görür. Retinol, özellikle organların yüzeylerini ve vücut boşluklarını kaplayan epitel dokularında hücre büyümesinin ve farklılaşmasının düzenlenmesinde hayati bir rol oynar (Vieira, Schneider ve Vieira, 1995). Vitamin A, lipid peroksid radikallerini ($LOO\bullet$) süpürerek antioksidan olarak görev yapar (Nimse ve Pal, 2015).

Mineraller (Selenyum, Çinko, Bakır)

Selenyum (Se), bazı selenoproteinlerde selenosisteine ihtiyaç duyulmasından ötürü beslenmede gerekli olan bir mikro besin maddesidir. Bir iz element olan selenyum, reaktif oksijen türleri (ROS) kaynaklı hücre hasarına karşı koruma sağladığı bilinmektedir; bu koruma esas olarak glutatyon peroksidazları (GPx) ve selenoprotein P'nin işlevleriyle gerçekleşir (Chen ve Berry, 2003). Glutatyon peroksidaz (GPx), serbest radikallere karşı birinci savunma hattını oluşturur. Öncelikle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksidasyonuna karşı etkili olarak, beyin oksidatif strese karşı korur ve bu durum Alzheimer hastalığında önemli bir rol oynar. Selenyum eksikliği, glutatyon peroksidazın (GPx) işlevini bozar ve bu da oksidatif strese yol açar. Beyin fonksiyonları için en önemli selenoprotein, beyinde sentezlenen ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayan selenoprotein P'dir (Schweizer, Schomburg ve Savaskan, 2004; Crack, Cimdins, Ali, Hertzog ve Iannello, 2006). Bu da göstermektedir ki; selenyum hastalığın ilerlemesini doğrudan bir antioksidan olarak ya da dolaylı olarak beyindeki metabolizmayı iyileştirerek etkileyebilir (Staehelein, 2005). Selenyum eksikliği görülen son organ beyin olmasına rağmen, bu element temin edildiğinde yeterli selenyum seviyelerine ulaşan ilk organ da yine beyindir. Bu durum,

antioksidan özelliğe sahip selenyumun beyin fonksiyonlarındaki önemini göstermektedir (Benton, 2002).

Selenyum, kanser oluşumunu azaltma potansiyeli nedeniyle ilgi odağı haline gelen doğal bir elementtir. Selenyumun vitamin C ile ilişkili antioksidan etkinliği üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılmıştır (Tan, Norhaizan, Liew ve Sulaiman Rahman, 2018). Selenyum eksikliği, hücrelerde ve dokularda hasara yol açarak lipidlerin peroksidasyonunu artırır ve serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Lipitlerin peroksidasyon reaksiyonu sonucu hücre altı zarındaki doymamış yağ asitlerine verilen zarar, selenyum ve vitamin E ile azaltılabilir (Mourente, Bell ve Tocher, 2007). Selenyum ve vitamin E metabolizmaları birbirleriyle ilişkilidir ve vitamin E'nin depolanmasında selenyum önemli bir rol oynar (Chaudhary ve diğerleri, 2023).

Çinko (Zn), insan sağlığı için gerekli bir iz element olarak kabul edilir; eksikliği, sinir sistemi ve bağışıklık sistemi bozukluklarıyla yakından ilişkilidir (Lee, 2018). Bağışıklık sisteminin doğru çalışması ve hücrelerin oksidatif strese korunması için çinko gereklidir (Prasad, 2009). Bu mineral bileşen, bir nörotransmitter ve nöromodülatör olarak işlevi nedeniyle beyin için önemli bir rol oynamaktadır (Bitanirwe ve Cunningham, 2009). İleri yaştaki bireyler üzerinde yapılan araştırmalar, serum çinko düzeyleri ile bazı bilişsel işlevler arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, çinko seviyeleri yüksek olduğunda depresyon riskinin daha düşük olduğu saptanmıştır (Markiewicz-Żukowska, Gutowska ve Borawska, 2015). Çinkonun antioksidan özelliği, serbest radikal oluşumunu engellemesi ve oksidatif strese koruyucu rol oynamasından kaynaklanmaktadır. Redoks stabilitesi yüksek olan çinko, kritik hücre içi ve dışı bölgelerde demir ve bakır gibi redoks reaktif metalleri ikame eder. Ayrıca, çinko, serbest radikallerin zararlı etkilerinden dokuları koruyan hücre içi protein olan metalloproteinlerin ve antioksidan özelliklere sahip süperoksit dismutaz enziminin yapısında yer alır (Belgemen ve Akar, 2004).

Bakır (Cu), biyolojik sistemlerde hem antioksidan hem de Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarında olduğu gibi redoks döngüsünün gerçekleşmesini sağlayan oksitleyici geçiş elementi olarak işlev görebilir. Bu yüzden vücuda uygun seviyelerde alınması önemlidir. Bakır yetersiz alındığında vücudun antioksidan dengesi bozulur, bu da lipid peroksidasyonunun ve hücre hasarının artmasına yol açar. Bakır eksikliği, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin

seviyesini düşürerek, vücudun antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına yol açar (Velioğlu, 2000).

Bakır, canlılarda hücre metabolizması ve aktivitesi için gerekli bir elementtir. Bakır metabolizmasında en kritik organ karaciğerdir. İnce bağırsakta emilen bakır, karaciğerde depolanır, plazmaya salınarak dolaşıma katılır ve ardından safra yoluyla vücuttan atılır. Bakırın serbest radikal hasarının oluşumunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bakır, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikallerinden hidroksil ($OH^{\bullet}$) radikali oluşumunu katalizleyerek (Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu) oksidatif hasarın meydana gelmesine yol açar. Cu^+ ve Cu^{2+} iyonları, oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarında önemli bir görev yapar. Vitamin C ve glutatyon (GSH) gibi biyolojik indirgeme ajanlarının etkisiyle Cu^{2+} iyonları Cu^+ iyonlarına dönüşür (Valko ve diğerleri, 2005). Bakır kaynaklı oksidatif hasarın, β -karoten, α -lipoik asit ve polifenoller tarafından azaltılabildiği belirtilmiştir (Çınar ve Şahin, 2018).

Bakır, oksidaz ve oksijenaz gibi enzimlerin aktif merkezi olarak oksijen radikallerinin seviyesini kontrol etmede büyük öneme sahiptir; çinko ise doğrudan antioksidan aktivite ve detoksifikasyon süreçlerinde rol oynar. Bu nedenle, serum bakır ve çinko düzeyleri oksidatif stresin belirteçleri olarak değerlendirilebilir. Çinko ve bakır, bazı taşıyıcıların ve metal bağlayıcı proteinlerin bağlanma yerleri için rekabet eder. Bu durum, düşük çinko seviyelerinin artan bakır konsantrasyonu ile sonuçlandığı olumsuz bir ilişkiye yol açar (Sensi, Granzotto, Siotto ve Squitti, 2018). Alzheimer hastalığında, iz elementlerin anormal dengesi önemli bir katkı faktörü olarak görülmektedir (Pfaender ve Grabrucker, 2014). Sonuçlar kesin olmasa da bakır ve çinkonun yaşlılık plağı yükü ile Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısındaki azalma arasında ters bir ilişki gösterdiği görülmektedir (Strozyk ve diğerleri, 2009). Beyindeki bakır ve demir birikiminin Alzheimer hastalığında artan oksidatif stresle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Cornett, Markesber ve Ehmann, 1998). Anormal protein birikimlerine (NFT), yaşa bağlı plaklara, nükleik asitlere ve artan lipid peroksidasyonuna yönelik oksidatif hasarın, redoks aktif metalleri olan bakır ve demirin hücre içi dengesindeki bozulmadan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Perry, Cash ve Smith, 2002). Yaşa bağlı plaklarda bol miktarda bulunan bakır, oldukça reaktif olan hidroksil ($OH^{\bullet}$) radikalinin aracılığını yapar ve bu nedenle Alzheimer hastalığında oksidatif stresin artmasına katkıda bulunur (Huang, Zhang ve Chen, 2016). Şu anda Alzheimer

hastalığını tamamen tedavi edecek bir yöntem bulunmamaktadır. Sadece hastalığın seyrini yavaşlatmak ve bazı semptomları hafifletmek mümkündür (Socha ve diğerleri, 2021).

Flavonoidler (Flavon, İzoflavon, Flavanon, Flavonol, Flavanol ve Antosiyanidin)

Fenolik bileşikler (polifenoller), bitki aleminde yaygın olarak bulunan heterojen bir fitokimyasal grubudur. Polifenoller, yapısal özellikleri ve bulundurdıkları kimyasal halka yapısına göre; flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler, lignanlar olmak üzere beş ana grupta toplanabilir (Kolaç, Gürbüz ve Yetiş, 2017).

Bitkilerde yapraklara, meyvelere ve çiçeklere çeşitli renkler veren flavonoidler, doğal olarak meydana gelen polifenolik bileşiklerin alt sınıflarından birini oluşturur (Chaudhary ve diğerleri, 2023). Flavonoidler; flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, flavonoller, flavanoller ve antosiyanidinler gibi farklı sınıflara ayrılmaktadır. Flavonoid sınıfları arasındaki farklılıklar, hidroksil gruplarının dizilimi ve sayısı ile bu grupların glikozilasyonu veya alkilasyonu ile ilgilidir. Flavonoidlerin çok çeşitli türleri ve içeriklerindeki büyük farklılıklar, günlük flavonoid alımını tahmin etmeyi güçleştirmektedir (Panche, Diwan ve Chandra, 2016). Çizelge 2.8’de Fenolik bileşiklerin (polifenoller) sınıflandırılması şematik olarak verilmiştir.

Fenolik bileşikler (polifenoller) ve özellikle de flavonoidler çeşitli yollarla antioksidan görevi görürler. Bu yollardan en etkili olanı ise polifenollerin birçok serbest radikal zincir reaksiyonunu kırarak serbest radikalleri süpürmesi yani yok etmesidir. (Kaurinovic ve Vastag, 2019). Polifenolik bir molekülün antioksidan olarak hareket edebilmesi için, iki kriteri karşılaması gerekir:

1. Düşük konsantrasyonlarda, polifenolik molekül kimyasal maddenin oksidasyonunu önleyebilmelidir.
2. Polifenoller üzerinden oluşan radikal, kendisinin zincir uzatan radikal olarak hareket etmesini engelleyecek kadar stabil olmalıdır.

Bu stabilizasyon genellikle hücre içi hidrojen bağları ve elektron dağılımı ile ya da diğer lipit radikalleriyle tepkimeye girerek ve daha fazla oksidasyonla sağlanır (Dangles, 2012).

Çizelge 2.8. Fenolik bileşiklerin şematik sınıflandırılması (Panche ve diğerleri, 2016)

Fenolik Bileşikler (Polifenoller)			
Flavonoidler	Fenolik asitler	Stilbenler	Lignanlar
Flavonlar; . Apigenin . Luteolin	Hidroksibenzoik asitler; . Protokateşoik asit . Gallik asit	. Resveratrol . Pterostilben . Piceatannol	. Enterolakton . Enterediol . Kumestrol
İzoflavonlar; . Genistin . Genistein . Daidzin . Daidzein . Glisitin	Hidroksisinnamik asitler; . Kumarik asit . Kafeik asit . Klorojenik asit . Ferulik asit . Sinapik asit		
Flavanonlar; . Naringenin . Eriodiktiol . Hesperitin			
Flavonoller; . Kamferol . Kuersetin . Mirisetin			
Flavanoller; . Kateşin . Epikateşin . Gallokateşin			
Antosiyanidinler; . Siyanidin . Delphinidin . Peonidin . Pelargonidin . Petunidin . Malvidin			

Flavonoller ve flavanoller, soğan, brokoli ve elmada bol miktarda bulunur. Kateşin, farklı çay ve meyvelerde bulunan başka bir flavanoldür. Naringenin, greyfurt meyvesinin içerdiği başlıca flavanondur. Soya fasulyesi ise izoflavonlardan glisitin, genistein ve daidzein içerir.

Karotenoidler (Likopen, β -Karoten, Lutein)

Tetraterpenoidler olarak da bilinen karotenoidler, bitkiler ve algler ile bazı bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen bir fitobesin grubudur (Stahl ve Sies, 2003). Uzun doymamış hidrokarbon alkil zinciri karotenoidleri yüksek oranda yağda çözünür (lipofilik) hale getirir. Bu nedenle, lipoproteinlerin ve hücre zarlarının lipid peroksidasyonundan korunmasında önemli bir rol oynarlar ve diğer reaktif oksijen türlerine (ROS) kıyasla peroksil ($\text{ROO}\bullet$) radikallerine karşı özellikle etkili süpürme kapasitesi gösterirler. Yağda çözünen antioksidanlar arasında karotenoidler, en yaygın olarak tanınmaktadır (Muller ve Bohm, 2011; Mortensen, Skibsted ve Truscott, 2001). Karotenoidler, peroksil ($\text{ROO}\bullet$) radikallerini indirgeyerek rezonansla stabilize edilmiş karbon merkezli bir radikal ürünü oluştururlar (Moussa ve diğerleri, 2019). 1100'den fazla karotenoid tanımlanmış ve öncelikle olarak iki gruba ayrılmıştır: oksijen içeren ksantofiller (β -kriptoksantin, zeaksantin ve lutein) ve tamamen hidrokarbon olan karotenler (likopen, α -karoten ve β -karoten) (Dewick, 2009).

Likopen ve β -karoten en önemli ve güçlü karotenoid antioksidanlardır. Yapılarında bulunan yüksek sayıda eşlenik trans-konfigürasyon çift bağı nedeniyle özellikle güçlü bir singlet oksijen sönmüleyicilerdir. Genel olarak, karotenoidlerdeki genişletilmiş eşlenik sistem güçlü bir indirgeme özelliğine sahiptir. Bu durum hidrojen atomlarının doymamış karbon atomuna bitişik bir yerden (allilik pozisyon) doymamışlık merkezlerinin birbirine bağlanmak üzere (konjugasyon) çekilmesini kolaylaştırır. Ayrıca serbest radikal ekleme reaksiyonlarının kolaylıkla ilerlemesine de olanak tanır. Örneğin, likopen, peroksil ($\text{ROO}\bullet$) radikallerini elektron transferi ile indirger ve böylece tepkimeye girmeyen, rezonansla stabilize olmuş bir karbon merkezli radikal meydana getirir (Moussa ve diğerleri, 2019). Likopen, domates, karpuz, greyfurt, kayısı, kuşburnu ve papaya gibi meyvelere kırmızı rengini veren doğal bitki metabolitidir (Giovannucci ve diğerleri, 1995). Sıcaklığın artması, tüm karotenoidlerde olduğu gibi, likopen üzerinde de olumlu etki yapar. Sıcaklığın olumlu etkisiyle likopen trans formundan kolayca cis formuna dönüşür. Likopen zengini besinler (örneğin domates) pişirilerek tüketildiğinde, insan metabolizması cis formundaki likopeni daha kolay bünyesine alacağı için vücuda yararlılığı artar (Männistö ve diğerleri, 2007).

Karotenoidler içerisinde bağırsaklarda nadir emilebilenlerden olan likopen, plazmada en çok bulunan karotenoiddir. İnsanlar karotenoidleri sentezleyemediği için bu bileşikler dışarıdan, besin yoluyla almak zorundadır (Bramley, 2000).

β -karoten, likopen gibi tamamen hidrokarbon olan karotenler sınıfına dahildir. Bitkilere sarı, turuncu ve kırmızı renkleri kazandırır. Gıda sanayinde renk verici madde ve antioksidan olarak kullanılan β -karoten, ısıya, oksijene ve ışığa son derece duyarlıdır. β -karoten, vitamin A'nın en önemli provitaminidir ve vitamin A eksikliğinde vücutta vitamin A'ya dönüştürülür. β -karoten de diğer karotenoidler gibi yağda çözünür ve antioksidan aktivite gösterir. Ayrıca, lipid peroksidasyonlarına karşı lipozomları hasardan koruma özelliğine sahiptir (Woodall, Lee, Weesie, Jackson ve Britton, 1997).

Lutein ve zeaksantin insan serumunda bulunmasının yanı sıra, retina, makula (gözün merkezi bölgesi) ve lenslerde de mevcuttur. Lutein, retinadaki temel pigment olarak görev yapar. Makula, göze gelen ışığın odaklandığı ve keskin görmeyi sağlayan merkez bölgedir. Makula, göze özgü sarı pigmentler olan lutein ve zeaksantin tarafından fazla ışık hasarından korunmaktadır (Landrum, Bonet ve Kilburn, 1996). Retinadaki lutein miktarı, yaşa bağlı olarak azalmaktadır. Lutein, gözün merkez bölgesi makulayı korumanın yanı sıra güneş ışığına karşı lensi korur ve katarakt gelişimini yavaşlatarak engeller (Hammond, Wooten ve Snodderly, 1997). Lutein, gözdeki üvea tabakasını oluşturan iris (renkli kısım), koroid (besleyici damar tabakası) ve siliyer cisim (göz içindeki mercek formasyonu) yapılarının iltihaplanmasına yol açan lipopolisakkaritlere karşı gözü kısmen korur (He ve diğerleri, 2011). Ayrıca, lutein ateroskleroza karşı da koruyucu olabilir (Dwyer ve diğerleri, 2001).

2.9. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, metal iyon bağlanması, oksijen deaktivasyonu, radikal türlerin radikal olmayan türlere dönüşümü ve UV ışınımının doyurulması yoluyla serbest radikal türleriyle etkileşime girer (Carsono, Tumilaar, Kurnia, Latipudin ve Satari, 2022). Sentetik antioksidan örnekleri arasında propil gallat (PG), oktil gallat (OG), tersiyer bütildihidrokinon (TBHQ), bütildihidroksitoluen (BHT) ve bütildihidroksianisol (BHA) bulunmaktadır (Gülçin, 2020; Moharram ve Youssef, 2014). Bütildihidroksitoluen (BHT), iki sterik (iyonların ve moleküllerin şeklini ve reaktivitesini etkileyen bağ oluşturmamayan etkileşim) olarak engellenmiş tersiyer bütıl grubuna sahip olduğundan, bütildihidroksianisol (BHA) kadar etkili

değildir. Bütilhidroksianisol (BHA), kısa zincirli lipidlerin oksidasyonunu kontrol etmede oldukça etkilidir. Bütilhidroksianisol (BHA) ve bütilhidroksitoluen (BHT), tersiyer bütilhidrokinon (TBHQ) ile karşılaştırıldığında reaktif oksijen türlerinin (ROS) aktivitesini engellemede daha az etkilidir (Ahmed, Khaleeq ve Ahmad, 2014; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Bu durum, tersiyer bütilhidrokinonun (TBHQ) antioksidan aktivitesinden sorumlu olan iki para-hidroksil grubundan kaynaklanmaktadır (Nath, Yehye ve Johan, 2021). Propil gallat (PG), hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumu nedeniyle meydana gelen bozulmalara karşı yağları ve gıdaları koruma özelliğiyle güvenli bir antioksidan olarak kabul edilir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Ayrıca propil gallat (PG) gıdaların ve kozmetiklerin stabilizasyonunu sağlar. Oktil gallat (OG), gallik asit ve 1-oktanolün esterinden oluşan bir gıda koruyucu olarak tanımlanabilir. Bütilhidroksitoluen (BHT) ve bütilhidroksianisol (BHA), gıda sanayinde çok yaygın olarak kullanılan antioksidanlardır (Koudelka ve diğerleri, 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kurutulmuş karadut, kızılık ve kuşburnu meyvelerinin temel biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.1. Analiz Materyalleri

Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda yer alan Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova, Erbaa köylerinden temin edilen normal atmosferik şartlarda kurutulmuş olan yabancı karadut, kızılık ve kuşburnu meyveleri deney materyali olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kurutulmuş karadut, kızılık ve kuşburnu temin edilen lokasyonlar

No	Karadut	No	Kızılık	No	Kuşburnu
1	Merzifon-Çaybaşı	5	Amasya-Ermiş	9	Amasya-Saraycık
2	Gümüşhacıköy-Çetmi	6	G. hacıköy-Ovabaşı	10	Merzifon-Çaybaşı
3	Taşova-Mercimek	7	Taşova-Alpaslan	11	Gümüşhacıköy-Kırca
4	Erbaa-Gökal	8	Erbaa-Gökal	12	Erbaa-Gökal

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarda; Alüminyum klorür (CAS n° 7446-70-0), BHA (CAS n° 25013-16-5), BHT (CAS n° 128-37-0), DPPH Serbest radikal (CAS n° 1898-66-4), Etanol (CAS n° 64-

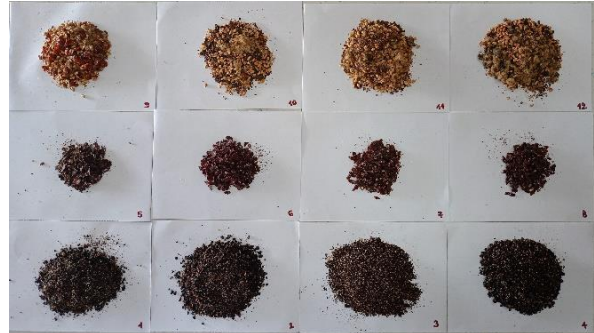
17-5), Folin-Ciocalteu reaktifi (CAS n° 12111-13-6), Gallik asit (CAS n° 149-91-7), Kuersetin (CAS n° 117-39-5), Metanol (CAS n° 67-56-1), Saf su (CAS n° 7732-18-5), Sodyum hidroksit (CAS n° 1310-73-2), Sodyum karbonat (CAS n° 497-19-8), Sodyum nitrit (CAS n° 7632-00-0), Troloks (CAS n° 53188-07-1) kimyasalları kullanılmıştır.

3.3. Yararlanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Deneyisel çalışmalar, Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu kampüsündeki laboratuvarlarda; Analitik Terazî (RADWAG AS 220.R2 PLUS), Laboratuvar Tipi Şarjlı Blender, Mikropipetler (ISOLAB Hacim Ayarlı Mikropipet 10-100 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL), Saf Su Cihazı (ELGA PURELAB Quest Ultra), Sıcak Su Banyosu (WITEG WiseBath), Spektrofotometre Cihazı (ThermoFisher SCIENTIFIC GENESYS 10S UV-VIS Spectrophotometer), Ultrasonik Banyo (Elma Elmasonic S 60 H Ultrasonic Bath, 37 kHz, 600 W) cihaz ve ekipmanları kullanılarak yürütülmüştür.

3.4. Ekstraksiyon Yöntemi

Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda yer alan Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova, Erbaa köylerinde normal atmosferik şartlarda kurutulmuş olan yabani karadut, kızılıcık ve kuşburnu meyveleri temin edildikten sonra analiz yapılana kadar bir hafta süreyle oda sıcaklığında (20-25 °C) fermuarlı plastik deney materyal torbaları içerisinde muhafaza edilmiştir. Laboratuvarda numuneler safsızlıklarından (sap, yaprak kırıntıları vb.) arındırıldıktan sonra önce porselen havan içerisinde büyük parçalara ayrılmıştır. Akabinde laboratuvar tipi blender ile numuneler daha küçük parçacıklar haline getirilmiştir. Bu şekilde her bir numuneden yaklaşık olarak 20 g hazırlanmıştır. Deney materyali olarak meyvelerin sadece kurumuş kabuk kısımları değerlendirilmiştir.



Resim 3.1. Kurutulmuş meyvelerden analiz numunelerinin hazırlanması

Küçük parçacıklar haline getirilmiş olan 12 adet kurutulmuş meyve örneğinden, hassas terazi kullanılarak her biri $1 \text{ g} \pm 0,0001$ olacak şekilde numuneler tartıldı. Bu numuneler kapaklı cam kavanozlara alındı ve her birine 100 mL metanol eklenerek ekstraksiyon işlemi için hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan numune-metanol karışımı optimum ekstraksiyon koşullarını sağlamak amacıyla, 45°C ' de 2 saat ultrasonik banyoda (37 kHz, 600 W) ekstrakte edildi.



Resim 3.2. Numunelerin tartılması ve numune-metanol karışımının ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işleminin tamamlanmasının ardından, elde edilen süpernatant filtre kağıdı yardımıyla katı kısımdan ayrılmıştır.



Resim 3.3. Ekstraksiyon işleminden elde edilen süpernatantların filtre edilmiş hali



Resim 3.4. Filtre edilmiş süpernatantlar (karadut, kıızılcık ve kuşburnu)

Filtre edilen süpernatantlar metanolün ortamdaki uzaklaştırılması için çeker ocak altında 45 °C’de 48 saat su banyosunda tutulmuştur.



Resim 3.5. Çeker ocak altında su banyosunda metanolün ortamdaki uzaklaştırılması

3.5. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Yöntemi

Kuru meyve (karadut, kıızılcık ve kuşburnu) ekstraktlarındaki toplam fenolik madde miktarı, Slinkard ve Singleton (Slinkard ve Singleton, 1977) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemiyle (Folin ve Ciocalteu, 1927) belirlenmiştir. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyerek mavi renkli bir kompleks oluşturması prensibine dayanmaktadır. Hazırlanan örnekler, Folin-Ciocalteu yöntemine göre spektrofotometrik olarak analiz edildi. Deney tüplerine 100 μ L ekstrakt, 4,5 mL saf su, 100 μ L Folin-Ciocalteu reaktifinden sonra 300 μ L %2 sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. Deney tüpleri 2 saat boyunca karanlıkta bekletildi ve akabinde 760 nm’ de absorbansları ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı, gallik asit standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.



Resim 3.6. Fenolik ve flavonoid madde miktarı tayini için numunelerin hazırlanması

3.6. Toplam Flavonoid İçeriği Analiz Yöntemi

Kuru meyve (karadut, kızılcık ve kuşburnu) özütlerindeki toplam flavonoid içeriği, Park ve arkadaşlarının kuersetin esaslı yöntemine (Park ve diğerleri, 2008) göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Deney tüplerine 100 µL ekstrakt ve 2 mL saf suyun ardından 150 µL 0,5 M sodyum nitrit (NaNO_2) çözeltisi ve 150 µL 0,3 M alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi sırasıyla eklenmiştir. Bu karışımın 5 dakika boyunca bekletilmesinin ardından, 1 mL 1 M sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından 510 nm’ de absorbansları ölçülmüştür. Toplam flavonoid içeriği, kuersetin standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre µg QE g⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

3.7. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Analiz Yöntemi

Antioksidan kapasiteyi ölçmek için DPPH serbest radikal süpürme yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem, antioksidanların, mor renkli bir boyar madde olan DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini sarı renge dönüştürme yeteneğine dayanır. Antioksidanlar, DPPH radikaline hidrojen atomu vererek bu dönüşümü sağlar ve onları daha kararlı hale getirir. Bu sayede, antioksidanın gücü, mor rengin kaybolma miktarı ile doğru orantılı olarak ölçülür. Bu ölçüm, spektrofotometre cihazı ile 517 nm dalga boyunda yapılır (Benabadji, Wen, Zheng, Dong ve Yuan, 2004). Mor renkli DPPH serbest radikalinin sarı renge dönüşmesiyle birlikte, çözeltideki ışık Emilimi azalır. Bu azalma, antioksidanın serbest radikalleri ne kadar etkili bir şekilde süpürdüğünün bir göstergesidir. Yani, absorbans değeri ne kadar düşükse, antioksidan aktivite o kadar yüksek demektir (Gülçin, Küfrevioğlu, Oktay ve Büyükokuroğlu, 2004). Kuru meyvelerden elde edilen ekstraktlar, farklı derişimlerde (25-400 µg mL⁻¹) hazırlandı. Bu ekstraktların her birinden 500 µL alınarak, üzerine 3 mL etanol ve 20 mg L⁻¹ konsantrasyonda DPPH çözeltisinden 300 µL eklenmiştir. Kuru meyve ekstraktlarını içeren çözeltilere, sentetik antioksidanlar olan BHA (bütilhidroksianisol), BHT (bütilhidroksitoluen) ve Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (100-500 µg mL⁻¹) farklı konsantrasyonlarda eklenmiştir. Bu karışım iyice karıştırıldıktan sonra, 517 nm dalga boyunda ışık Emilimi (absorbans) ölçülerek, antioksidanların DPPH serbest radikalini ne kadar etkili bir şekilde giderdiği belirlenmiştir. Absorbans değeriindeki azalma, antioksidan etkinliğin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Deneyde, ekstraktlar yerine 750 µL saf su kullanılarak bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Bu sayede, herhangi bir antioksidanın bulunmadığı bir ortamda DPPH

radikalinin stabilitesini belirlemek amaçlanmıştır. Elde edilen absorbans verileri kullanılarak, antioksidanların DPPH serbest radikalini hangi oranda inhibe ettiği (% olarak) hesaplanmıştır (Denklem 20). Radikal süpürme aktivitesi, RSA (%) olarak ifade edilmiştir.

$$\text{RSA (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \cdot 100 \quad (20)$$

A_0 , kontrol çözeltisinin, A_1 ise incelenen örnek çözeltisinin 517 nm’deki absorbans değerini temsil eder.



Resim 3.7. Numunelerin spektrofotometrik absorbans değerlerinin okunması

3.8. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Yönteminde IC_{50} Değerinin Tespiti

DPPH serbest radikal süpürme deneyinde IC_{50} değeri (yarı maksimal inhibitör konsantrasyon), kullanılan numunenin DPPH radikalini tam olarak yarıya indirgeyebildiği, yani %50 oranında etkisiz hale getirebildiği en düşük konsantrasyonu ifade eder (Deng, Cheng ve Yang, 2011). IC_{50} değeri, bir numunenin antioksidan etkinliğini ölçmek için kullanılan önemli bir parametredir. Bu değer ne kadar düşükse, numunenin DPPH radikalini nötralize etme gücü o kadar yüksek demektir (Scherer ve Godoy, 2009).

IC_{50} değeri, sigmoidal eğri analizi olarak bilinen doğrusal olmayan regresyon yöntemiyle hesaplanmalıdır. Bu hesaplamada hem pozitif hem de negatif yanıtları modellemeye uygun olan Hill denklemi kullanılır. Başka bir deyişle, gözlemlenen yanıt, artan konsantrasyonlarla hem artabilir hem de azalabilir. Dört parametrelili Hill denklemi kullanarak hesaplanan IC_{50} değerleri daha tutarlı ve doğru sonuçlardır (Sebaugh, 2011).

3.9. İstatistiksel Analizler

Araştırma, Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda doğal olarak yetişen ve güneşte doğal olarak kurutulmuş yabani karadut, kıızılcık ve kuşburnu gibi üç farklı kırmızı meyve çeşidi üzerinde, Gümüşhacıköy, Merzifon, Amasya, Taşova ve Erbaa ilçelerinin köylerinden olmak üzere dört farklı lokasyondan temin edilen örneklerle gerçekleştirilmiştir. DPPH serbest radikal süpürme deneyinde IC_{50} değerleri, "Quest Graph™ IC_{50} Calculator" kullanılarak tespit edilmiştir. Kurutulmuş üç farklı kırmızı meyve çeşidi üzerinde yapılan deneylerden elde edilen toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid (TFM) ve yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değerlerine ait veri matrisleri oluşturulduktan sonra üç veri matrisine de GraphPad Prism 10 istatistiksel programı kullanılarak 0,05 anlamlılık düzeyinde Shapiro-Wilk normallik testi uygulanmıştır. Shapiro-Wilk normallik testi sonuçları ve QQ grafikleri incelenmiş ve parametrik olmayan verileri analiz etmek için kullanılabilen tek yönlü varyans analizi ANOVA testlerinden biri olan Kruskal-Wallis testi uygulanarak veriler değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Kurutulmuş yabani karadut, kıızılcık ve kuşburnu meyvelerinin deneysel sonuçlarına (TPH, TFL ve IC_{50}) ait verilere uygulanan istatistiksel analizlerden elde edilen bulgular ayrı başlıklar altında ele alınarak tartışılmıştır.

4.1. Shapiro-Wilk Normallik Testi

Shapiro-Wilk testi, bir veri setinin normal dağılıma uygun olup olmadığını değerlendirmek için kullanılan bir hipotez testidir. Test, sıfır hipotezini (verilerin normal dağıldığını) esas alarak bir örneklemden elde edilen verileri analiz eder. Yüksek bir P değeri, veri setinin normal dağılıma uygun olduğunu işaret ederken, düşük bir P değeri, normal dağılıma uymadığını gösterir (Malato, 2023).

Öncelikle toplam fenolik madde (TPH), toplam flavonoid (TFL) ve yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) için veri matrisleri oluşturulmuştur (Çizelge 4.1, 4.2 ve 4.3).

Çizelge 4.1. Veri matrisi-TPH, toplam fenolik madde miktarı ($\mu\text{g GAE g}^{-1}$)

No	Karadut	No	Kızılcık	No	Kuşburnu
1	2399,54	5	1597,58	9	1876,01
2	2474,71	6	1752,48	10	2332,88
3	2053,14	7	1649,22	11	2117,84
4	1906,73	8	1727,65	12	1869,48

Çizelge 4.2. Veri matrisi-TFL, toplam flavonoid içeriği ($\mu\text{g QE g}^{-1}$)

No	Karadut	No	Kızılcık	No	Kuşburnu
1	164,61	5	139,75	9	199,61
2	170,43	6	171,88	10	199,52
3	198,38	7	122,02	11	181,06
4	202,75	8	122,52	12	142,56

Çizelge 4.3. Veri matrisi-IC₅₀, yarı maksimal inhibitör konsantrasyon değeri ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

No	Karadut	No	Kızılcık	No	Kuşburnu
1	103,04	5	141,10	9	100,01
2	103,21	6	110,64	10	107,03
3	88,82	7	165,34	11	105,37
4	51,08	8	180,20	12	162,09

Akabinde her değişken için ayrı ayrı Shapiro-Wilk normallik testi uygulanmış ve QQ grafikleri de dikkate alınarak irdelenmiştir (Çizelge 4.4, 4.5, 4.6 ve Şekil 4.1).

Çizelge 4.4. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-TPH

Shapiro-Wilk test for normal dağılımı - TPH	Karadut	Kızılcık	Kuşburnu
W	0,9017	0,9363	0,8724
P değeri	0,4393	0,6320	0,3074
Passed normality test (alpha=0,05)?	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	ns
Number of values	4	4	4

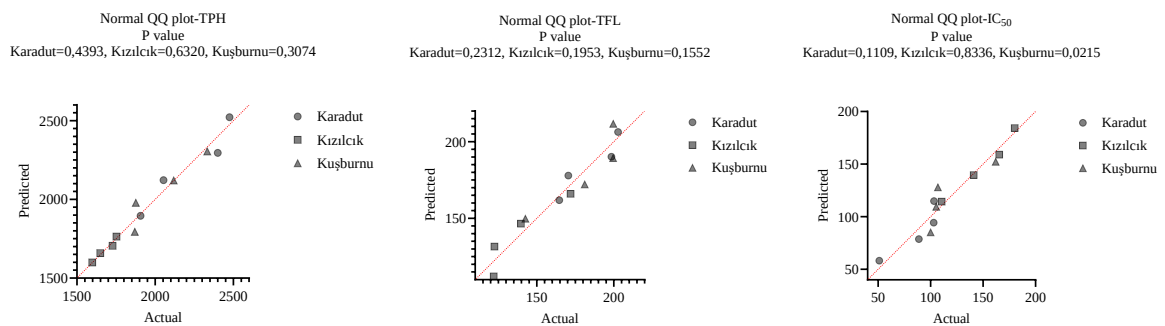
Çizelge 4.5. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-TFL

Shapiro-Wilk test for normal distribution - TFL	Karadut	Kızılcık	Kuşburnu
W	0,8516	0,8400	0,8250
P value	0,2312	0,1953	0,1552
Passed normality test (alpha=0,05)?	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	ns
Number of values	4	4	4

Çizelge 4.6. Shapiro-Wilk normal dağılım testi-IC₅₀

Shapiro-Wilk test for normal distribution - IC ₅₀	Karadut	Kızılcık	Kuşburnu
W	0,8047	0,9687	0,7243
P value	0,1109	0,8336	0,0215
Passed normality test (alpha=0,05)?	Yes	Yes	No
P value summary	ns	ns	*
Number of values	4	4	4

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre; karadut, kıızılcık ve kuşburnu için toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid içeriği değerlerine ait P değerleri, $P > 0,05$ değerini işaret etmekle birlikte, yarı maksimal inhibitör konsantrasyon değerlerinde karadut ve kıızılcık için $P > 0,05$ koşulu sağlanmasına rağmen kuşburnu için P değerinin ($P = 0,0215$) $P < 0,05$ olduğu yani normal dağılıma uymadığını göstermiştir.

Şekil 4.1. TPH, TFL ve IC₅₀ değerleri için normal QQ grafikleri

Saphiro-Wilk normallik testindeki bir veya daha fazla veri matrisinin normal dağılıma uymadığını göstermesi nedeniyle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan verileri analiz etmek için kullanılabilen tek yönlü ANOVA testlerinden biri olan Kruskal-Wallis testi uygulanarak verilerin değerlendirilmesine karar verilmiştir.

4.2.Kruskal-Wallis Testi (Parametrik Olmayan Tek Yönlü ANOVA Testi)

Kruskal-Wallis testi, üç veya daha fazla bağımsız grup arasındaki farkları karşılaştırmak için kullanılan bir istatistiksel testtir. Bu test, verilerin normal dağılım göstermesi gibi katı varsayımlar gerektirmez, bu nedenle parametrik olmayan bir test olarak kabul edilir. Kruskal-Wallis testi, parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi olarak da adlandırılır (MacFarland ve Yates, 2016).

Kurutulmuş karadut, kızılçık ve kuşburnu numunelerinin toplam fenolik madde miktarları (TPH), Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi ile $P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde incelenmiştir. Analiz sonucunda $P = 0,0048$ değeri elde edilmiş ve medyan toplam fenolik madde miktarı $2226 \mu\text{g GAE g}^{-1}$ olan karadut numunelerinin, kızılçık ve kuşburnu numunelerine göre belirgin şekilde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarları açısından numuneler; karadut > kuşburnu > kızılçık sıralamasına göre gruplandırılmıştır (Çizelge 4.7, 4.8 ve 4.9).

Çizelge 4.7. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi-TPH

Kruskal-Wallis test ANOVA	
Table Analyzed	TPH
Kruskal-Wallis test	
P value	0,0048
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Do the medians vary significant ($P < 0,05$)?	Yes
Number of groups	3
Kruskal-Wallis statistic	8,000
Data summary	

Çizelge 4.7.(Devamı)

Number of treatments (columns)	3
Number of values (total)	12

Çizelge 4.8. Kruskal-Wallis testi çoklu karşılaştırmalar-TPH

Kruskal-Wallis test çoklu karşılaştırmalar-TPH						
Number of families	1					
Number of comparisons per family	3					
Alpha	0,05					
Dunn's multiple comparisons	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P value		
Karadut vs. Kızılçık	7,000	Yes	*	0,0181	A-B	
Karadut vs. Kuşburnu	2,000	No	ns	> 0,9999	A-C	
Kızılçık vs. Kuşburnu	- 5,000	No	ns	0,1496	B-C	
Test details	Mean rank 1	Mean rank 2	Mean rank diff.	n1	n2	Z
Karadut vs. Kızılçık	9,500	2,500	7,000	4	4	2,746
Karadut vs. Kuşburnu	9,500	7,500	2,000	4	4	0,784
Kızılçık vs. Kuşburnu	2,500	7,500	- 5,000	4	4	1,961
Compact letter display						
Karadut	A					
Kuşburnu	A B					
Kızılçık	B					

Çizelge 4.9. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-TPH

Kruskal-Wallis test descriptive statistics-TPH	Karadut	Kızılçık	Kuşburnu
Number of values	4	4	4
Minimum	1907	1598	1869
25% Percentile	1943	1610	1871
Median	2226	1688	1997
75% Percentile	2456	1746	2279
Maximum	2475	1752	2333
Mean	2209	1682	2049
Std. Deviation	272,4	71,30	221,7
Std. Error of Mean	136,2	35,65	110,9
Lower 95% CI	1775	1568	1696
Upper 95% CI	2642	1795	2402
Mean ranks	9,500	2,500	7,500

Kurutulmuş karadut, kızılçık ve kuşburnu numunelerinin toplam flavonoid içerikleri (TFL), Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi ile $P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde analiz edilmiştir. Elde edilen $P = 0,0859$ değeri, bu numuneler arasında toplam flavonoid içeriği açısından anlamlı bir farklılık olmadığını göstermiştir. Bu nedenle,

Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırma testi sonucunda toplam flavonoid içeriklerine göre numuneler sıralanarak gruplandırılmamıştır. (Çizelge 4.10, 4.11 ve 4.12).

Çizelge 4.10. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi-TFL

Kruskal-Wallis test ANOVA results	
Table Analyzed	TFL
Kruskal-Wallis test	
P value	0,0859
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Do the medians vary significant ($P < 0,05$)?	No
Number of groups	3
Kruskal-Wallis statistic	4,885
Data summary	
Number of treatments (columns)	3
Number of values (total)	12

Çizelge 4.11. Kruskal-Wallis testi çoklu karşılaştırmalar-TFL

Kruskal-Wallis test çoklu karşılaştırmalar-TFL						
Number of families			1			
Number of comparisons per family			3			
Alpha			0,05			
Dunn's multiple comparisons	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P value		
Karadut vs. Kızılıcık	4,750	No	ns	0,1873	A-B	
Karadut vs. Kuşburnu	- 0,2500	No	ns	> 0,9999	A-C	
Kızılıcık vs. Kuşburnu	- 5,000	No	ns	0,1496	B-C	
Test details	Mean rank 1	Mean rank 2	Mean rank diff.	n1	n2	Z
Karadut vs. Kızılıcık	8,000	3,250	4,750	4	4	1,863
Karadut vs. Kuşburnu	8,000	8,250	- 0,2500	4	4	0,098
Kızılıcık vs. Kuşburnu	3,250	8,250	- 5,000	4	4	1,961
Compact letter display						
Karadut	A					
Kuşburnu	A					
Kızılıcık	A					

Çizelge 4.12. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-TFL

Kruskal-Wallis test descriptive statistics-TFL		Karadut	Kızılıcık	Kuşburnu
Number of values		4	4	4
Minimum		164,6	122,0	142,6

Çizelge 4.12. (Devamı)

25% Percentile	166,1	122,1	152,2
Median	184,4	131,1	190,3
75% Percentile	201,7	163,8	199,6
Maximum	202,8	171,9	199,6
Mean	184,0	139,0	180,7
Std. Deviation	19,31	23,39	26,87
Std. Error of Mean	9,654	11,70	13,44
Lower 95% CI	153,3	101,8	137,9
Upper 95% CI	214,8	176,3	223,4
Mean ranks	8,000	3,250	8,250

Kurutulmuş karadut, kızılçık ve kuşburnu numunelerinin yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değerleri, Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi ile $P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde incelenmiştir. Analiz sonucunda $P = 0,0107$ değeri elde edilmiş ve medyan IC_{50} değeri $95,93 \mu g mL^{-1}$ olan karadut numunelerinin, kızılçık ve kuşburnu numunelerine göre belirgin şekilde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre IC_{50} değerleri dikkate alınarak antioksidan aktivitesi açısından numuneler; karadut > kuşburnu > kızılçık sıralamasına göre gruplandırılmıştır (Çizelge 4.13, 4.14 ve 4.15).

Çizelge 4.13. Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi- IC_{50}

Kruskal-Wallis test ANOVA results	
Table Analyzed	IC_{50}
Kruskal-Wallis test	
P value	0,0107
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Do the medians vary significant ($P < 0,05$)?	Yes
Number of groups	3
Kruskal-Wallis statistic	7,538
Data summary	
Number of treatments (columns)	3
Number of values (total)	12

Çizelge 4.14. Kruskal-Wallis çoklu karşılaştırmalar testi- IC_{50}

Kruskal-Wallis test çoklu karşılaştırmalar- IC_{50}	
Number of families	1

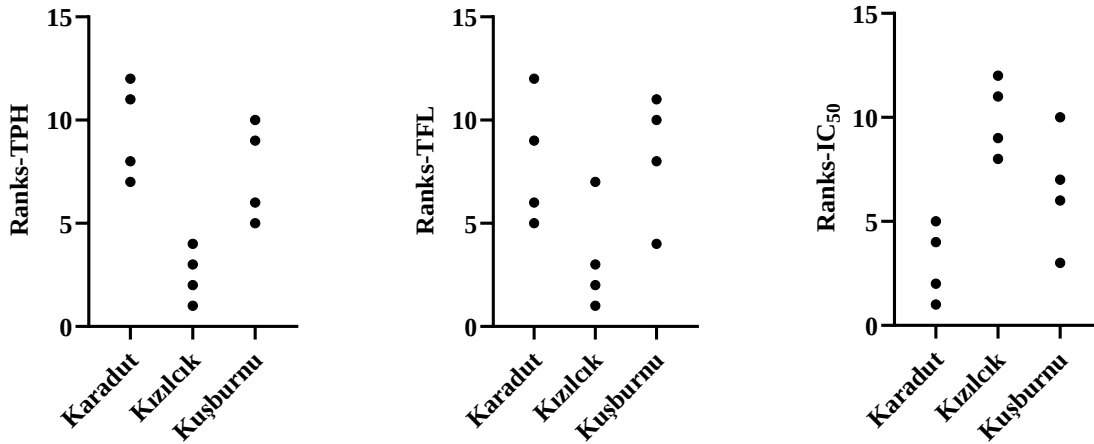
Çizelge 4.14. (Devamı)

Number of comparisons per family			3			
Alpha			0,05			
Dunn's multiple comparisons	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P value		
Karadut vs. Kızılıcık	- 7,000	Yes	*	0,0181	A-B	
Karadut vs. Kuşburnu	- 3,500	No	ns	0,5094	A-C	
Kızılıcık vs. Kuşburnu	3,500	No	ns	0,5094	B-C	
Test details	Mean rank 1	Mean rank 2	Mean rank diff.	n1	n2	Z
Karadut vs. Kızılıcık	3,000	10,00	- 7,000	4	4	2,746
Karadut vs. Kuşburnu	3,000	6,500	- 3,500	4	4	1,373
Kızılıcık vs. Kuşburnu	10,00	6,500	3,500	4	4	1,373
Compact letter display						
Kızılıcık	A					
Kuşburnu	A B					
Karadut	B					

Çizelge 4.15. Kruskal-Wallis testi tanımlayıcı istatistikler-IC₅₀

Kruskal-Wallis test descriptive statistics-IC₅₀	Karadut	Kızılıcık	Kuşburnu
Number of values	4	4	4
Minimum	51,08	110,6	100,0
25% Percentile	60,52	118,3	101,4
Median	95,93	153,2	106,2
75% Percentile	103,2	176,5	148,3
Maximum	103,2	180,2	162,1
Mean	86,54	149,3	118,6
Std. Deviation	24,58	30,41	29,13
Std. Error of Mean	12,29	15,20	14,57
Lower 95% CI	47,42	100,9	72,27
Upper 95% CI	125,7	197,7	165,0
Mean ranks	3,000	10,00	6,500

Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testinden elde edilen sıralama sonuçları, Şekil 4.2' de grafiksel olarak sunulmuştur.



Şekil 4.2. Kruskal-Wallis testi TPH, TFL ve IC₅₀ değerleri için sıralama grafikleri

Bu araştırmada, kurutulmuş karadut, kızılcık ve kuşburnu meyvelerinden elde edilen metanolik özütlerde bulunan toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid içeriği ve antioksidan aktivite (yarı maksimal inhibitör konsantrasyon, IC₅₀) değerleri belirlenmiş ve bu meyveler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Bugüne kadar yapılan pek çok bilimsel araştırmada, bitkisel özütlerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için farklı çözücüler kullanıldı. Bu çalışmaların büyük bir kısmı, metanol ile hazırlanan özütlerin diğer çözücülerle hazırlanan özütlere göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. (Miliauskas, Venskutonis ve Van Beek, 2004; Arıdurur ve Arabacı, 2013; Antasionasti, Riyanto ve Rohman, 2017). Bu nedenle çalışmamızda metanol özütü kullanılmıştır.

Yapılan birçok bilimsel araştırma, bitkilerin antioksidan potansiyelini belirleyen asıl bileşenin fenolik maddelerden kaynaklandığını göstermektedir (Proestos, Lytoudi, Mavromelanidou, Zoumpoulakis ve Sinanoglou, 2013). Flavonoidler, hücrelere zarar veren süperoksit (O₂^{•-}) anyonu, hidroksil (OH[•]) radikali ve peroksil (ROO[•]) radikali gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisini nötralize ederek antioksidan özellik gösterirler. Ayrıca, singlet oksijenin (¹O₂) neden olduğu oksidatif hasarı da önlerler (Ratty ve Das, 1988). Flavonoidler, bitkisel kaynaklı antioksidanlar arasında en önemlilerinden biridir. Bu bileşikler hem doğrudan serbest radikalleri süpürerek hem de vücudun doğal antioksidan savunma sistemi olan glutatyon (GSH) seviyesini artırarak hücreleri oksidatif hasardan korurlar (O'Byrne, Devaraj, Grundy ve Jialal, 2002). Ayrıca, bitkilerin çiçek, yaprak, kök, gövde, meyve ve tohum gibi hemen her bölümünde bulunmaları, beslenmemiz yoluyla bu faydalı bileşiklere ulaşmamızı kolaylaştırır (Işık, 2005).

Bu çalışmada elde edilen veriler, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasite ile doğrudan ilişkili olduğunu göstererek, bu konudaki bilimsel literatürü desteklemektedir. Özellikle, karadut, kıvılcık ve kuşburnu gibi kırmızı meyvelerde yüksek miktarda fenolik bileşik bulunması, bu meyvelerin potansiyel antioksidan kaynakları olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir (Velioglu, Mazza ve Oomah, 1998; Patel, Kumar, Laloo ve Hemalatha, 2011; Akure, 2014).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye' nin Orta Karadeniz Geçit Kuşağı'nda yetişen ve doğal kurutma yöntemleriyle elde edilen karadut, kıvılcık ve kuşburnu gibi kırmızı meyveler, yüksek antioksidan kapasiteleri ile öne çıkmaktadır. Bu meyvelerin toplam fenolik madde (TPH) miktarları ve toplam flavonoid (TFL) içerikleri incelendiğinde, karadutun kıvılcık ve kuşburnuna kıyasla daha zengin olduğu belirlenmiştir. Kurutulmuş karadut, kıvılcık ve kuşburnu meyveleri kullanılarak yapılan bu çalışmada toplam fenolik madde miktarı ile serbest radikalın %50' sini süpürebilen konsantrasyonu ifade eden IC₅₀ değeri arasında genellikle ters orantılı bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Bunun nedeni, fenolik bileşiklerin güçlü antioksidan özelliklere sahip olmasıdır; daha yüksek fenolik madde miktarı, daha fazla serbest radikalın etkisiz hale getirilmesi anlamına gelir ve bu da daha düşük IC₅₀ değeriyle sonuçlanır. Ancak bu ilişki her zaman doğrusal olmayabilir ve numunenin bileşimindeki fenolik bileşiklerin türü, etki mekanizmaları ve diğer faktörler de bu ilişkiyi etkileyebilir.

Araştırmada uygulanan istatistiksel yöntem olan Kruskal-Wallis parametrik olmayan tek yönlü ANOVA testi ile $P < 0,05$ anlamlılık düzeyindeki çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri açısından numuneler; karadut > kuşburnu > kıvılcık sıralamasına göre gruplandırılmıştır.

Bu çalışma, kurutulmuş karadut, kıvılcık ve kuşburnu meyvelerinin biyoaktif bileşikler açısından zengin birer kaynak olduğunu bilimsel olarak doğrulamaktadır. Elde edilen bulgular, söz konusu kurutulmuş kırmızı meyvelerin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve insan sağlığına olan potansiyel faydalarını ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar hem beslenme bilimleri alanındaki araştırmalara hem de gıda endüstrisine önemli katkılar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- AAT Bioquest, Inc. (2024). *Quest Graph™ IC50 Calculator*. AAT Bioquest.
<https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>
- Abe, T., Tohgi, H., Isobe, C., Murata, T. and Sato, C. (2002). Remarkable increase in the concentration of 8-hydroxyguanosine in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease. *Journal of neuroscience research*, 70(3), 447-450.
- Abedi, H. and Shahpiri, A. (2024). Functional characterization of a manganese superoxide dismutase from *Avicennia marina*: insights into its role in salt, hydrogen peroxide, and heavy metal tolerance. *Scientific Reports*, 14(1), 406-414.
- Ahmed, M., Khaleeq, A. and Ahmad, S. (2014). Antioxidant and antifungal activity of aqueous and organic extracts of liquorice. *World Applied Sciences Journal*, 30(11), 1664-1667.
- Akbal, N. ve Vural, A. (2018). Kurutulmuş meyve örneklerinde mikrobiyolojik kalite özelliklerinin araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(2), 93-97.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1, 57-63.
- Akure, P. M. B. (2014). Comparative study of the aqueous and ethanolic extract of *Momordica foetida* on the phenolic content and antioxidant properties. *International Food Research Journal*, 21(1), 401-405.
- Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Juan, C. A., Plou, F. J. and Pérez-Lebeña, E. (2022). Chemistry of hydrogen peroxide formation and elimination in mammalian cells, and its role in various pathologies. *Stresses*, 2(3), 256-274.
- Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Andrés Juan, C., Plou, F. J. and Pérez-Lebeña, E. (2023). Superoxide anion chemistry-Its role at the core of the innate immunity. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 1841-1844.
- Andrew, P. J. and Mayer, B. (1999). Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovascular research*, 43(3), 521-531.
- Antasionasti, I., Riyanto, S. and Rohman, A. (2017). Antioxidant activities and phenolics contents of Avocado (*Persea americana* Mill.) Peel in vitro.
- Apak, R., Calokerinos, A., Gorinstein, S., Segundo, M. A., Hibbert, D. B., Gülçin, İ. and Arancibia-Avila, P. (2022). Methods to evaluate the scavenging activity of antioxidants toward reactive oxygen and nitrogen species (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 94(1), 87-144.
- Aquilano, K., Baldelli, S. and Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in pharmacology*, 5, 196-212.

- Arıduru, R. ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Sakarya University Journal of Science*, 17(2), 241-246.
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212.
- Aruoma, O. I. and Halliwell, B. (1987). Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation?. *Biochemical Journal*, 241(1), 273-278.
- Asghar, M. A., Ahmed, A., Zahir, E., Asghar, M. A., Iqbal, J. and Walker, G. (2017). Incidence of aflatoxins contamination in dry fruits and edible nuts collected from Pakistan. *Food Control*, 78, 169-175.
- Aslani, B. A. and Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*, 146, 163-173.
- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014(1), 360-438.
- Bardaweel, S. K., Gul, M., Alzweiri, M., Ishaqat, A., ALSalamat, H. A. and Bashatwah, R. M. (2018). Reactive oxygen species: The dual role in physiological and pathological conditions of the human body. *The Eurasian journal of medicine*, 50(3), 193.
- Barja, G. (2000). The flux of free radical attack through mitochondrial DNA is related to aging rate. *Aging Clinical and Experimental Research*, 12, 342-355.
- Baschieri, A., Jin, Z. and Amorati, R. (2023). Hydroperoxyl radical (HOO•) as a reducing agent: unexpected synergy with antioxidants. A review. *Free Radical Research*, 57(2), 115-129.
- Bast, A. (1993). Oxidative stress and calcium homeostasis. *DNA and free radicals*. London: Ellis Horwood, 95-108.
- Başer, K. H. C. (2002). Fonksiyonel Gıdalar ve Nutrasötikler. 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir.
- Bayezit, M. ve Kart, A. (2021). Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Hücresel Hasar. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 7(3), 1-16.
- Beckman, J. S. and Koppenol, W. H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *American Journal of Physiology-cell physiology*, 271(5), C1424-C1437.
- Belgemen, T. ve Akar, N. (2004). Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 57(3), 161-166.

- Benabadji, S. H., Wen, R., Zheng, J. B., Dong, X. C. and Yuan, S. G. (2004). Anticarcinogenic and antioxidant activity of diindolylmethane derivatives. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(5), 666-671.
- Benhar, M. (2018). Roles of mammalian glutathione peroxidase and thioredoxin reductase enzymes in the cellular response to nitrosative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 160-164.
- Benton, D. (2002). Selenium intake, mood and other aspects of psychological functioning. *Nutritional neuroscience*, 5(6), 363-374.
- Berlett, B. S. and Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313-20316.
- Bitanhirwe, B. K. and Cunningham, M. G. (2009). Zinc: the brain's dark horse. *Synapse*, 63(11), 1029-1049.
- Boutin, J. A., Liberelle, M., Yous, S., Ferry, G. and Nepveu, F. (2024). Melatonin facts: Lack of evidence that melatonin is a radical scavenger in living systems. *Journal of Pineal Research*, 76(1), e12926.
- Bramley, P. M. (2000). Is lycopene beneficial to human health?. *Phytochemistry*, 54(3), 233-236.
- Brindza, P., Brindza, J., Tóth, D., Klimenko, S. V. and Grigorieva, O. (2006). Biological and commercial characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) population in the Gemer region of Slovakia. In *I International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits 818* (pp. 85-94).
- Brindza, P., Horcin, V., Brindza, J., Tóth, D., Gazo, J. and Holeciová, J. (2005). Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as alternative species for utilization in diet, landscape architecture and pharmacy. In *proceedings of the seventh international botanical congress, Vienna, Austria, July* (pp. 17-23).
- Broedbaek, K., Poulsen, H. E., Weimann, A., Kom, G. D., Schwedhelm, E., Nielsen, P. and Böger, R. H. (2009). Urinary excretion of biomarkers of oxidatively damaged DNA and RNA in hereditary hemochromatosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(8), 1230-1233.
- Butterfield, D. A., Koppal, T., Howard, B., Subramaniam, R. A. M., Hall, N., Hensley, K. and Carney, J. (1998). Structural and Functional Changes in Proteins Induced by Free Radical-mediated Oxidative Stress and Protective Action of the Antioxidants N-tert-Butyl- α -phenylnitron and Vitamin E a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854(1), 448-462.
- Caniato, R., Filippini, R., Piovan, A., Puricelli, L., Borsarini, A. and Cappelletti, E. M. (2003). Melatonin in plants. *Developments in tryptophan and serotonin metabolism*, 593-597.

- Cardoso, B. R., Hare, D. J., Bush, A. I. and Roberts, B. R. (2017). Glutathione peroxidase 4: a new player in neurodegeneration?. *Molecular Psychiatry*, 22(3), 328-335.
- Carsono, N., Tumilaar, S. G., Kurnia, D., Latipudin, D. and Satari, M. H. (2022). A review of bioactive compounds and antioxidant activity properties of piper species. *Molecules*, 27(19), 6774-6822.
- Changrue, V., Raghavan, V. G., Orsat, V. and Vijaya Raghavan, G. (2006). Microwave drying of fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 2(6), 1-7.
- Chapman, M. L., Rubin, B. R. and Gracy, R. W. (1989). Increased carbonyl content of proteins in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*, 16(1), 15-18.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B. and Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.
- Cheeseman, K. H. and Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.
- Chen, B., Yu, P., Chan, W. N., Xie, F., Zhang, Y., Liang, L. and To, K. F. (2024). Cellular zinc metabolism and zinc signaling: from biological functions to diseases and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 6.
- Chen, J. and Berry, M. J. (2003). Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *Journal of neurochemistry*, 86(1), 1-12.
- Chen, X., Sohoul, M. H., Nateghi, M., Melekoglu, E. and Fatahi, S. (2022). Impact of mulberry consumption on cardiometabolic risk factors: A systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 47(12), 1982-1993.
- Chevion, M., Berenshtein, E. and Stadtman, E. R. (2000). Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free radical research*, 33, S99-108.
- Chiorcea-Paquim, A. M. (2022). 8-oxoguanine and 8-oxodeoxyguanosine Biomarkers of Oxidative DNA Damage: A Review on HPLC–ECD Determination. *Molecules*, 27(5), 1620.
- Chiueh, C. C. (1999). Neuroprotective properties of nitric oxide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 890(1), 301-311.
- Chun, J., Lee, J., Ye, L., Exler, J. and Eitenmiller, R. R. (2006). Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 196-204.

- Combet, E., Paterson, S., Iijima, K., Winter, J., Mullen, W., Crozier, A. and McColl, K. E. (2007). Fat transforms ascorbic acid from inhibiting to promoting acid-catalysed N-nitrosation. *Gut*, 56(12), 1678-1684.
- Cornett, C. R., Markesber, W. R. and Ehmann, W. D. (1998). Damage in Alzheimer's Disease Brain. *Neurotoxicology*, 19(3), 339-346.
- Crack, P. J., Cimdins, K., Ali, U., Hertzog, P. J. and Iannello, R. C. (2006). Lack of glutathione peroxidase-1 exacerbates A β -mediated neurotoxicity in cortical neurons. *Journal of Neural Transmission*, 113, 645-657.
- Czapski, G. and Goldstein, S. (1995). The role of the reactions of $\cdot$ NO with superoxide and oxygen in biological systems: A kinetic approach. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(6), 785-794.
- Çavdar, C., Sifil, A. and Çamsarı, T. (1997). Reactive oxygen particles and antioxidant defence. *Office Journal of the Turkish Nephrology, Association*, 3(4), 92-5.
- Çınar, M. and Şahin, Y. (2018). Hayvanlarda çevre kirletici maddelerin oksidatif hasar üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 4(1), 46-57.
- Dangles, O. (2012). Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry*, 16(6), 692-714.
- Das, T. K., Wati, M. and Fatima-Shad, K. (2014). Oxidative stress gated by Fenton and Haber Weiss reactions and its association with Alzheimer's disease. *Archives of Neuroscience*, vol. 2, no. 3, pp. 1-8, 2014.
- De Grey, A. D. (2002). HO $_2\cdot$: the forgotten radical. *DNA and cell biology*, 21(4), 251-257.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R. and Davies, M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324(1), 1-18.
- Debnath, S., Ghosh, R., Nair, R. R., Pradhan, D. and Chatterjee, P. B. (2022). Advances in the development of water-soluble fluorogenic probes for bioimaging of hypochlorite/hypochlorous acid in cells and organisms. *ACS omega*, 7(43), 38122-38149.
- Deng, J., Cheng, W. and Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430-1435.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. and Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52(4), 794-804.
- Dewick PM. (2009). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. West Sussex, United Kingdom: John Wiley and Sons; 3rd ed. 298-300.

- Dilas, S. M., Čanadanović-Brunet, J. M. and Četković, G. S. (2002). Antioxidants in food. *Hemijska industrija*, 56(3), 105-112.
- Diplock, A. (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59.
- Dirr, M. A. (2009). Manual of woody landscape plants: Their Identification, ornamental characteristics, propagation and uses. *Stipes Publishing Company, Champaign, Illinois*, 6th ed. 305-307.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. and Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115.
- Doğan, A. and Kazankaya, A. (2006). Fruit properties of rose hip species grown in lake Van basin (Eastern Anatolia Region). *Asian Journal of Plant Sciences*, 5(1), 120-122.
- Doseděl, M., Jirkovský, E., Macáková, K., Krčmová, L. K., Javorská, L., Pourová, J. and Oemonom. (2021). Vitamin C-sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination. *Nutrients*, 13(2), 615.
- Douki, T. and Cadet, J. (1996). Peroxynitrite mediated oxidation of purine bases of nucleosides and isolated DNA. *Free radical research*, 24(5), 369-380.
- Dröge W. (2002). Review Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 82(1):47–95.
- Dwyer, J. H., Navab, M., Dwyer, K. M., Hassan, K., Sun, P., Shircore, A. and Fogelman, A. M. (2001). Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: the Los Angeles atherosclerosis study. *Circulation*, 103(24), 2922-2927.
- Elliott, G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*. 53: 46-48.
- Erbaş, M., Gül, S. ve Şekerci, H. (2008). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak diyetel antioksidanlar. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 1053-1056.
- Ercişli, S., 1996. Gümüşhane ve İlçelerinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnuların (*Rosa* spp.) Seleksiyon Yoluyla Islahı ve Çelikle Çoğaltma İmkanları Üzerinde Bir Araştırma (Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, 1996). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ercişli, S. (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 419-435.
- Ercişli, S. ve Eşitken, A. (2004). Fruit characteristics of native rose hip (*Rosa* spp.) selections from the Erzurum province of Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32(1), 51-53.

- Ercişli, S., Orhan E. and Eşitken, A. (2006). Genetic Diversity in Fruit Quality Traits in Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.). *Asian Journal of Chemistry* 18(1):650–654.
- Erdoğan, Ü. ve Pırlak, L. (2005). Ülkemizde dut (*Morus* spp.) üretimi ve değerlendirilmesi.
- Erenberk, H. (1991). Gül ve Gülcülük. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*, 265, 42-43.
- Fan, J., Ye, J., Kamphorst, J. J., Shlomi, T., Thompson, C. B. and Rabinowitz, J. D. (2014). Quantitative flux analysis reveals folate-dependent NADPH production. *Nature*, 510(7504), 298-302.
- Fernando, C. D. and Soysa, P. (2015). Optimized enzymatic colorimetric assay for determination of hydrogen peroxide (H₂O₂) scavenging activity of plant extracts. *MethodsX*, 2, 283-291.
- Finkel, T. and Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *nature*, 408(6809), 239-247.
- Floor, E. and Wetzel, M. G. (1998). Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *Journal of neurochemistry*, 70(1), 268-275.
- Folin, O. and Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. biol. Chem*, 73(2), 627-650.
- Frei, B., Stocker, R. and Ames, B. N. (1988). Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(24), 9748-9752.
- Garland, D., Russell, P. and Zigler, J. S. (1988). The oxidative modification of lens proteins. *Oxygen radicals in biology and medicine*, 347-352.
- Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P. and Parent, M. (2018). Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants*, 7(5), 62.
- German, J. B. (1999). Food processing and lipid oxidation. *Impact of processing on food safety*, 23-50.
- Giorgio, M., Migliaccio, E., Orsini, F., Paolucci, D., Moroni, M., Contursi, C. and Pelicci, P. G. (2005). Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell*, 122(2), 221-233.
- Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Colditz, G. A. and Willett, W. C. (1995). Intake of carotenoids and retino in relation to risk of prostate cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 87(23), 1767-1776.
- Grigoras, A. G. (2017). Catalase immobilization-A review. *Biochemical Engineering Journal*, 117, 1-20.

- Gross, E., Sevier, C. S., Heldman, N., Vitu, E., Bentzur, M., Kaiser, C. A. and Fass, D. (2006). Generating disulfides enzymatically: reaction products and electron acceptors of the endoplasmic reticulum thiol oxidase Ero1p. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(2), 299-304.
- Gül, H. and Şen, H. (2017). Effects of rosehip seed flour on the rheological properties of bread dough. *Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies*, 21.
- Gülçin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M. and Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.
- Güleryüz, M., Bolat, I. and Pırlak, L. (1998). Selection of table cornelian cherry (*Cornus mas* L.) types in Coruh Valley. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22(4): 357-364.
- Gündüz, K., Saraçoğlu, O., Özgen, M. and Serçe, S. (2013). Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) at different stages of ripeness. *Acta Scientiarum Pololonorum Hortorum Cultus*, 12(4): 59-66.
- Hacıoğlu, G., Sentürk, A., Ince, I. and Alver, A. (2016). Assessment of oxidative stress parameters of brain-derived neurotrophic factor heterozygous mice in acute stress model. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(4), 388-393.
- Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American journal of medicine*, 91(3), 14-22.
- Halliwell, B. (1995). How to characterize an antioxidant: an update. In *Biochemical Society Symposia* (Vol. 61, pp. 73-101). Portland Press Limited.
- Halliwell, B., Clement, M. V. and Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS letters*, 486(1), 10-13.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hammond Jr, B. R., Wooten, B. R. and Snodderly, D. M. (1997). Density of the human crystalline lens is related to the macular pigment carotenoids, lutein and zeaxanthin. *Optometry and Vision Science*, 74(7), 499-504.
- Hayyan, M., Hashim, M. A. and AlNashef, I. M. (2016). Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chemical reviews*, 116(5), 3029-3085.
- He, L., Eslamfam, S., Ma, X. and Li, D. (2016). Autophagy and the nutritional signaling pathway. *Front Agr Sci Eng*, 3(03), 222-230.

- He, R. R., Tsoi, B., Lan, F., Yao, N., Yao, X. S. and Kurihara, H. (2011). Antioxidant properties of lutein contribute to the protection against lipopolysaccharide-induced uveitis in mice. *Chinese Medicine*, 6, 1-8.
- Hiraku, Y., Kawanishi, S., Ichinose, T. and Murata, M. (2010). The role of iNOS-mediated DNA damage in infection-and asbestos-induced carcinogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203(1), 15-22.
- Hofer, T., Badouard, C., Bajak, E., Ravanat, J. L., Mattsson, Å. and Cotgreave, I. A. (2005). Hydrogen peroxide causes greater oxidation in cellular RNA than in DNA.
- Hopkins, R. Z. (2016). Superoxide in biology and medicine: an overview. *Reactive Oxygen Species*, 1(2), 99-109.
- Huang, W. J., Zhang, X. I. A. and Chen, W. W. (2016). Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical reports*, 4(5), 519-522.
- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E. and Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9265-9269.
- Ischiropoulos, H. and Al-Mehdi, A. B. (1995). Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS letters*, 364(3), 279-282.
- Islam, M. N., Rauf, A., Fahad, F. I., Emran, T. B., Mitra, S., Olatunde, A. and Mubarak, M. S. (2022). Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(26), 7282-7300.
- Işık, F. E. (2005). Edirne bölgesinde yetişen *Trifolium resupinatum* L. var. *microcephalum* bitkisinin fitokimyasal incelenmesi (Doctoral dissertation, Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü).
- İçier, F. ve Sabancı, S. (2013). Kurutma ve İşletmede Hijyen. 11. *Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi*, 17-20 Nisan 2013, İzmir.
- Jacob, R. A. (1996). Introduction: three eras of vitamin C discovery. *Subcellular Biochemistry: Ascorbic Acid: Biochemistry and Biomedical Cell Biology*, 1-16.
- Jomova, K. and Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2-3), 65-87.
- Jones, R. H. and Hotherhall, J. S. (1993). The effect of diabetes and dietary ascorbate supplementation on the oxidative modification of rat lens β L crystallin. *Biochemical medicine and metabolic biology*, 50(2), 197-209.
- Kambe, T., Taylor, K. M. and Fu, D. (2021). Zinc transporters and their functional integration in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, 296.

- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5), 226-234.
- Kaur, C. and Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International journal of food science & technology*, 36(7), 703-725.
- Kaya, S. Y. ve Canlı, D. (2019). Kızılcık meyvesi ve kullanıma potansiyeli. *Dünya Sağlık ve Tabiat Bilimleri Dergisi*, 2(2): 59-65.
- Kaurinovic, B. and Vastag, D. (2019). *Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants* (pp. 1-20). London, UK: IntechOpen.
- Kazaz, S., Baydar, H. and Erbas, S. (2009). Variations in chemical compositions of Rosa damascena Mill. and Rosa canina L. fruits. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(3).
- Khorobrykh, A. (2019). Hydrogen peroxide and superoxide anion radical photoproduction in PSII preparations at various modifications of the water-oxidizing complex. *Plants*, 8(9), 329-417.
- Kılınç, K. ve Kılınç, A. (2002). Oksijenin Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 100-118.
- Kıral, M. (2012). Turnike Uygulanan Ortopedi Hastalarında İskemi-Reperfüzyon Hasarı Sonucu Oluşan Oksidatif Hasara Karşı C ve E Vitamininin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması (Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2012). Ankara, 1-30.
- Kıralan, M. ve Gündoğdu, M. (2021). Dut türlerine ait meyvelerin organik asit ve C vitamini içerikleri üzerine farklı kurutma tekniklerinin etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(3), 404-411.
- Kikuchi, A., Takeda, A., Onodera, H., Kimpara, T., Hisanaga, K., Sato, N. and Itoyama, Y. (2002). Systemic increase of oxidative nucleic acid damage in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Neurobiology of disease*, 9(2), 244-248.
- Klimenko, S. (2004). The cornelian cherry (Cornus mas L.): collection, preservation, and utilization of genetic resources. *J. Fruit Ornam. Plant Res*, 12, 93-98.
- Knight, J. A. (1998). Free radicals: their history and current status in aging and disease. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 28(6), 331-346.
- Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É. and Ombódi, A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some Rosa species. *Medicines*, 5(3), 84.
- Koçan, N. (2010). Peyzaj planlama ve tasarım çalışmalarında kuşburnu (Rosa canina l.) bitkisinin değerlendirilmesi. *Journal of the Faculty of Agriculture of Harran University (Turkey)*, 14(4).

- Kohen, R. and Nyska, A. (2002). Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
- Kojo, S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 11(8), 1041-1064.
- Kopustinskiene, D. M. and Bernatoniene, J. (2021). Molecular mechanisms of melatonin-mediated cell protection and signaling in health and disease. *Pharmaceutics*, 13(2), 129-219.
- Koshland Jr, D. E. (1992). The molecule of the year. *Science*, 258(5090), 1861.
- Koudelka, S., Knotigova, P. T., Masek, J., Prochazka, L., Lukac, R., Miller, A. D. and Turanek, J. (2015). Liposomal delivery systems for anti-cancer analogues of vitamin E. *Journal of Controlled Release*, 207, 59-69.
- Kowald, A., Lehrach, H. and Klipp, E. (2006). Alternative pathways as mechanism for the negative effects associated with overexpression of superoxide dismutase. *Journal of theoretical biology*, 238(4), 828-840.
- Koyuncu, F., Çetinbas, M. and Erdal, İ. (2014). Nutritional constituents of wild-grown black mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87, 93-96.
- Koyuncu, F., Vural, E., Koyuncu, M. A., and Yildirim, F. (2004). Evaluation of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from lakes region, Turkey. *European Journal of Horticultural Science.*, 69(3), 125-131.
- Lale, H. (1992). Dut türlerinin pomolojik, fenolojik ve meyve kalite özellikleri üzerinde bir çalışma (Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, 1992). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Landrum, J. T., Bonet, R. A. and Kilburn, M. D. (1996). The macular pigment: a possible role in protection from age-related macular degeneration. *Advances in pharmacology*, 38, 537-556.
- Langhans, W. (2017). Food components in health promotion and disease prevention. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(10), 2287-2294.
- Lazzarino, G., Listorti, I., Bilotta, G., Capozzolo, T., Amorini, A. M., Longo, S. and Bilotta, P. (2019). Water-and fat-soluble antioxidants in human seminal plasma and serum of fertile males. *Antioxidants*, 8(4), 96.
- Lee, S. Q. E., Tan, T. S., Kawamukai, M. and Chen, E. S. (2017). Cellular factories for coenzyme Q 10 production. *Microbial cell factories*, 16, 1-16.
- Lee, S. R. (2018). Critical role of zinc as either an antioxidant or a prooxidant in cellular systems. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018(1), 9156285.
- Levine, M., Rumsey, S. C., Daruwala, R., Park, J. B. and Wang, Y. (1999). Criteria and recommendations for vitamin C intake. *Jama*, 281(15), 1415-1423.

- Linster, C. L. and Van Schaftingen, E. (2007). Vitamin C: Biosynthesis, recycling and degradation in mammals. *The FEBS journal*, 274(1), 1-22.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118-126.
- Loeb, L. A., and Preston, B. D. (1986). Mutagenesis by apurinic/apyrimidinic sites. *Annual review of genetics*, 20(1), 201-230.
- MacFarland, T. W. and Yates, J. M. (2016). Kruskal–Wallis H-test for oneway analysis of variance (ANOVA) by ranks. *Introduction to nonparametric statistics for the biological sciences using R*, 177-211.
- Malato, G. (2023). An introduction to the shapiro-wilk test for normality.
- Männistö, S., Yaun, S. S., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Adami, H. O., Albanes, D. and Smith-Warner, S. A. (2007). Dietary carotenoids and risk of colorectal cancer in a pooled analysis of 11 cohort studies. *American journal of epidemiology*, 165(3), 246-255.
- Markiewicz-Żukowska, R., Gutowska, A. and Borawska, M. H. (2015). Serum zinc concentrations correlate with mental and physical status of nursing home residents. *PLoS One*, 10(1), e0117257.
- Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 83-95.
- Martinet, W., De Meyer, G. R. Y., Herman, A. G., and Kockx, M. M. (2004). Reactive oxygen species induce RNA damage in human atherosclerosis. *European Journal of Clinical Investigation*, 34(5), 323-327.
- McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 108(8), 652-659.
- Medveckienė, B., Kulaitienė, J., Levickienė, D. and Hallmann, E. (2021). The effect of ripening stages on the accumulation of carotenoids, polyphenols and vitamin C in rosehip species/cultivars. *Applied Sciences*, 11(15), 6761.
- Meister, A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *Journal of biological chemistry*, 263(33), 17205-17208.
- Meister, A. and Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 52(1), 711-760.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.

- Miller, D. M., Buettner, G. R. and Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95-108.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M. and Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
- Moharram, H. A. and Youssef, M. M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.
- Moldogazieva, N. T., Mokhosoev, I. M., Feldman, N. B. and Lutsenko, S. V. (2018). ROS and RNS signalling: adaptive redox switches through oxidative/nitrosative protein modifications. *Free radical research*, 52(5), 507-543.
- Mortensen, A., Skibsted, L. H. and Truscott, T. G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of biochemistry and Biophysics*, 385(1), 13-19.
- Mourente, G., Bell, J. G. and Tocher, D. R. (2007). Does dietary tocopherol level affect fatty acid metabolism in fish?. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, 269-280.
- Moussa, Z., Judeh, Z. M. and Ahmed, S. A. (2019). Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. *Free radical medicine and biology*, 1, 11-22.
- Muller, L. and Bohm, V. (2011). Antioxidant activity of β -carotene compounds in different in vitro assays. *Molecules*, 16(2), 1055-1069.
- Murphy, M. E. and Kehrer, J. P. (1989). Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy. *Biochemical Journal*, 260(2), 359-364.
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K. and Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019(1), 1-19.
- Nassar, E., Mulligan, C., Taylor, L., Kerkick, C., Galbreath, M., Greenwood, M. and Willoughby, D. S. (2007). Effects of a single dose of N-Acetyl-5-methoxytryptamine (Melatonin) and resistance exercise on the growth hormone/IGF-1 axis in young males and females. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 4, 1-13.
- Nath, A. R., Yehye, W. A. and Johan, M. R. B. (2021). Butylated hydroxy benzylidene ring: an important moiety for antioxidant synergism of semicarbazones. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 146, 2101-2114.
- Negrean, O. R., Farcas, A. C., Nemes, S. A., Cic, D. E. and Socaci, S. A. (2024). Recent advances and insights into the bioactive properties and applications of *Rosa canina* L. and its by-products. *Heliyon*.

- Nimse, S. B. and Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- Nóbrega-Pereira, S., Fernandez-Marcos, P. J., Brioché, T., Gomez-Cabrera, M. C., Salvador-Pascual, A., Flores, J. M. and Serrano, M. (2016). G6PD protects from oxidative damage and improves healthspan in mice. *Nature communications*, 7(1), 10894.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.
- Noctor, G., Queval, G., Mhamdi, A., Chaouch, S. and Foyer, C. H. (2011). Glutathione. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 9, 1-32.
- Nojavan, S., Khalilian, F., Kiaie, F. M., Rahimi, A., Arabanian, A. and Chalavi, S. (2008). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. *Journal of food composition and analysis*, 21(4), 300-305.
- O'Byrne, D. J., Devaraj, S., Grundy, S. M. and Jialal, I. (2002). Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids α -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *The American journal of clinical nutrition*, 76(6), 1367-1374.
- Oliveira, T. H. B., Gusmão, N. B., Silva, L. A. D. and Coelho, L. C. (2021). Free radicals and actinobacteria as a misexplored goldmine of antioxidant compounds. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93, e20201925.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S. and Stadtman, E. R. (1987). Age-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262(12), 5488-5491.
- Orhan, E. (2009). Oltu ve Olur ilçelerinde yetiştirilen dutların (*Morus spp.*) seleksiyon yoluyla seçimi ve seçilen tiplerde genetik akrabalığın RAPD yöntemiyle belirlenmesi (Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, 2009). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Özdemir, F., Aksu, M. İ. ve Nas, S. (1997). Isıl işlemsiz elde edilen kuşburnu pulplarından farklı pulp/şeker oranlarında üretilen marmelatların kalite özellikleri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3(2), 353-358.
- Packer, J. E., Slater, T. and Willson, R. L. (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature*, 278(5706), 737-738.
- Padayatty, S. J. and Levine, M. (2016). Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral diseases*, 22(6), 463-493.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.

- Park, Y. S., Jung, S. T., Kang, S. G., Heo, B. G., Arancibia-Avila, P., Toledo, F. and Gorinstein, S. (2008). Antioxidants and proteins in ethylene-treated kiwifruits. *Food Chemistry*, 107(2), 640-648.
- Parker, R. S. (1996). Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *The FASEB Journal*, 10(5), 542-551.
- Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D. and Hemalatha, S. (2011). Evaluation of phytochemical and antioxidant activities of the different fractions of *Hybanthus enneaspermus* (Linn.) F. Muell.(Violaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(5), 391-396.
- Pehlivan, F. E. (2017). Vitamin C: An antioxidant agent. *Vitamin C*, 2, 23-35.
- Perry, G., Cash, A. D. and Smith, M. A. (2002). Alzheimer disease and oxidative stress. *BioMed Research International*, 2(3), 120-123.
- Peters, A. L. and Noorden, C. J. V. (2009). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria: cytochemical detection of heterozygous G6PD deficiency in women. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 57(11), 1003-1011.
- Pfaender, S. and Grabrucker, A. M. (2014). Characterization of biometal profiles in neurological disorders. *Metallomics*, 6(5), 960-977.
- Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89-96.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.
- Pieroni, A. and Quave, C. L. (2005). Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 258-270.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V. and Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017(1), 8416763.
- Powers, S. K. and Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*, 88(4), 1243-1276.
- Prasad, A. S. (2009). Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 12(6), 646-652.
- Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P. and Sinanoglou, V. J. (2013). Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*, 2(1), 11-22.

- Pryor, W. A., Jin, X. and Squadrito, G. L. (1994). One-and two-electron oxidations of methionine by peroxynitrite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(23), 11173-11177.
- Radi, R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23), 5839-5848.
- Rao, A. L., Bharani, M. and Pallavi, V. (2006). Role of antioxidants and free radicals in health and disease. *Adv Pharmacol Toxicol*, 7(1), 29-38.
- Ratty, A. K. and Das, N. P. (1988). Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. *Biochemical medicine and metabolic biology*, 39(1), 69-79.
- Reiter, R. J., Carneiro, R. C. and Oh, C. S. (1997). Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Hormone and Metabolic Research*, 29(08), 363-372.
- Rock, C. L., Jacob, R. A. and Bowen, P. E. (1996). Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(7), 693-702.
- Salehi, B., Jornet, P. L., López, E. P. F., Calina, D., Sharifi-Rad, M., Ramírez-Alarcón, K. and Sharifi-Rad, J. (2019). Plant-derived bioactives in oral mucosal lesions: a key emphasis to curcumin, lycopene, chamomile, aloe vera, green tea and coffee properties. *Biomolecules*, 9(3), 106.
- Scherer, R. and Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, 112(3), 654-658.
- Schrader, M. and Fahimi, H. D. (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1763(12), 1755-1766.
- Schweizer, U., Schomburg, L. and Savaskan, N. E. (2004). The neurobiology of selenium: lessons from transgenic mice. *The Journal of nutrition*, 134(4), 707-710.
- Sebaugh, J. L. (2011). Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. *Pharmaceutical statistics*, 10(2), 128-134.
- Sensi, S. L., Granzotto, A., Siotto, M. and Squitti, R. (2018). Copper and zinc dysregulation in Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39(12), 1049-1063.
- Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- Shi, H., Noguchi, N. and Niki, E. (1999). Comparative study on dynamics of antioxidative action of α -tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and α -tocopherol against lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(3-4), 334-346.

- Shinde, A., Ganu, J. and Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63-66.
- Siems, W. G., Grune, T. and Esterbauer, H. (1995). 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life sciences*, 57(8), 785-789.
- Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E. and Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(7), 499-515.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Smith, C. D., Carney, J. M., Starke-Reed, P. E., Oliver, C. N., Stadtman, E. R., Floyd, R. A. and Markesbery, W. R. (1991). Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(23), 10540-10543.
- Socha, K., Klimiuk, K., Naliwajko, S. K., Soroczyńska, J., Puścion-Jakubik, A., Markiewicz-Żukowska, R. and Kochanowicz, J. (2021). Dietary habits, selenium, copper, zinc and total antioxidant status in serum in relation to cognitive functions of patients with Alzheimer's disease. *Nutrients*, 13(2), 287.
- Southorn, P. A. and Powis, G. (1988). Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 63, No. 4, pp. 381-389). Elsevier.
- Staehelin, H. B. (2005). Micronutrients and Alzheimer's disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64(4), 565-570.
- Stahl, W. and Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.
- Stamler, J. S. (1994). Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*, 78(6), 931-936.
- Stanton, R. C. (2012). Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB life*, 64(5), 362-369.
- Stefanis, L., Burke, R. E. and Greene, L. A. (1997). Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Current opinion in neurology*, 10(4), 299-305.
- Strozyk, D., Launer, L. J., Adlard, P. A., Cherny, R. A., Tsatsanis, A., Volitakis, I. and Bush, A. I. (2009). Zinc and copper modulate Alzheimer A β levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiology of aging*, 30(7), 1069-1077.
- Strzelak, A., Ratajczak, A., Adamiec, A. and Feleszko, W. (2018). Tobacco smoke induces and alters immune responses in the lung triggering inflammation, allergy, asthma and

- other lung diseases: a mechanistic review. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 1033.
- Swanson, M. A. (2019). *Cornus mas* L. cultivar selection based on hardiness and propagation (Master's thesis, North Dakota State University).
- Şen, S. M. ve Güneş, M. (1996). Kuşburnunun beslenme değeri, kullanım alanları ve Tokat yöresi açısından önemi. *Kuşburnu Sempozyumu*, 5-6.
- Tafazoli, A. (2017). Coenzyme Q10 in breast cancer care. *Future Oncology*, 13(11), 1035-1041.
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W. P. P. and Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1162.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J., Qi, W. B., Karbownik, M. and Calvo, J. R. (2000). Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Neurosignals*, 9(3-4), 137-159.
- Tangu, N. A., Şen, A. (2016). Türkiye'nin ilk tescilli kızılıçık çeşitleri. *Meyve Bilimi*, 1: 80-84.
- Tarafdar, A. and Pula, G. (2018). The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 3824-3919.
- Tateyama, M., Takeda, A., Onodera, Y., Matsuzaki, M., Hasegawa, T., Nunomura, A. and Itoyama, Y. (2003). Oxidative stress and predominant A β 42 (43) deposition in myopathies with rimmed vacuoles. *Acta neuropathologica*, 105, 581-585.
- Tejero, J., Shiva, S. and Gladwin, M. T. (2019). Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation. *Physiological reviews*, 99(1), 311-379.
- Teleanu, D. M., Niculescu, A. G., Lungu, I. I., Radu, C. I., Vladăcenco, O., Roza, E. and Teleanu, R. I. (2022). An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases. *International journal of molecular sciences*, 23(11), 5938.
- Traber, M. G. and Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 43(1), 4-15.
- Traber, M. G. and Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free radical biology and medicine*, 51(5), 1000-1013.
- Tretter, V., Hochreiter, B., Zach, M. L., Krenn, K. and Klein, K. U. (2021). Understanding cellular redox homeostasis: A challenge for precision medicine. *International journal of molecular sciences*, 23(1), 106-126.

- Tumilaar, S. G., Hardianto, A., Dohi, H. and Kurnia, D. (2024). A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. *Journal of Chemistry*, 2024(1), 5594386.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Valko, M. M. H. C. M., Morris, H. and Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Velioglu, S. (2000). Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda*, 25(3), 167-176.
- Venkatesh Kumar, R. and Chauhan, S. (2008). Mulberry: life enhancer. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(10), 271-278.
- Vieira, A. V., Schneider, W. J. and Vieira, P. M. (1995). Retinoids: transport, metabolism, and mechanisms of action. *Journal of endocrinology*, 146(2), 201-207.
- Wen, P., Hu, T. G., Linhardt, R. J., Liao, S. T., Wu, H. and Zou, Y. X. (2019). Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology. *Trends in food science & technology*, 83, 138-158.
- Winterbourn, C. C. (2020). Biological chemistry of superoxide radicals. *ChemTexts*, 6(1), 7-13.
- Wissemann, V., 2003. Conventional Taxonomy (Wild Roses). in: Roberts. A. Debener, T. and Gudin. S. (Eds.). Encyclopedia of Rose Science. Elsevier. Oxford. 111–117.
- Wolf, G. (2001). The discovery of the visual function of vitamin A. *The Journal of nutrition*, 131(6), 1647-1650.
- Wolf, G. (2005). The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill. *The Journal of nutrition*, 135(3), 363-366.
- Woodall, A. A., Lee, S. W. M., Weesie, R. J., Jackson, M. J. and Britton, G. (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1336(1), 33-42.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivatva, S. and Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci*, 9(11), 1328-1331.

- Yalçinkaya, E., Y. Erbil ve M. Baş. (2001). Marmara Bölgesi Kızılcık Popülasyonlarının Meyve Özelliklerinin Karşılaştırılması. *I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu*, 25-28 Eylül 2001, Yalova. s:69-73.
- Yaman, M., Çatak, J., Uğur, H., Gürbüz, M., Belli, İ., Tanyıldız, S. N. and Yıldız, M. C. (2021). The bioaccessibility of water-soluble vitamins: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 552-563.
- Yamankaradeniz, R. (1983). Kuşburnu (*Rosa* sp) değerlendirme olanakları. *Gıda*, 8(4).
- Yan, L. J. (2014). Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox biology*, 2, 165-169.
- Yermilov, V., Rubio, J. and Ohshima, H. (1995). Formation of 8-nitroguanine in DNA treated with peroxynitrite in vitro and its rapid removal from DNA by depurination. *FEBS letters*, 376(3), 207-210.
- Yiğit, N., Yiğit, D., Özgen, U. ve Aktaş, A. E. (2007). Kara dut (*Morus nigra* L.)'un antikandidal aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(3), 169-173.
- Yin, H., Xu, L. and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944-5972.
- Zhang, H. and Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Salih SİNOĞLU

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1-) Sinoğlu, S. (2023), Şeker Pancarı Tohumu Kaplama Prosesinde Kurutma Aşamasının Yanıt Yüzey Metodu Kullanılarak Optimizasyonu. Optimization of Drying Stage in Sugar Beet Seed Pelleting Process Using Response Surface Methodology. *Bitkisel Ürünlerin Gıdalarda Kullanımı*, Bölüm II: 13-38.

