

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**BURSA İLİNDE YETİŞEN OSMANOĞLU VE SARIAŞLAMA
KESTANELERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, FENOLİK
KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ ÜZERİNE HAŞLAMA
VE FIRINLAMANIN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı EYMİR

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fulya BENZER

TUNCELİ – 2017

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BURSA İLİNDE YETİŞEN OSMANOĞLU VE SARIAŞLAMA
KESTANELERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, FENOLİK
KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ ÜZERİNE HAŞLAMA
VE FIRINLAMANIN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Aslı EYMİR
(142101111)

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fulya BENZER

TUNCELİ – 2017

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BURSA İLİNDE YETİŞEN OSMANOĞLU VE SARIAŞLAMA
KESTANELERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, FENOLİK
KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ ÜZERİNE HAŞLAMA
VE FIRINLAMANIN ETKİSİ**

Aslı EYMİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez / /2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Fulya BENZER

(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Doç. Dr. Olcay KAPLAN
İNCE

(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Yrd. Doç. Dr. Nurullah
DEMİR

(Bingöl Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLTUB016-01

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Kestane; vitaminler, mineraller, amino asitler ve antioksidan özelliği olan fenolik bileşikler içermektedir. Kestanenin besin değeri kestanenin türüne, çeşidine, yetiştiği çevre şartlarına bağlı olarak farklılık gösterebilir. Ayrıca işleme teknolojileri de besin değerinde değişikliklere sebep olabilmektedir. Literatür verilerine bakıldığında da kestanenin kimyasal özelliklerinin oldukça değişken olduğu görülmektedir. Çevre ve büyüme şartlarına göre fenolik bileşenlerin değişim gösterdiği ve toprağın cinsine göre kestanenin protein içeriğinin değiştiği çalışmalarla belirlenmiştir.

Bu çalışma Bursa ilinde yetişen Osmanoğlu ve Sariaşlama kestanelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde miktarları ve kompozisyonları ile antioksidan kapasiteleri üzerine haşlama ve fırınlamanın etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan kapasitesi DPPH· radikal giderme aktivitesi ile, fenolik madde kompozisyonları ise HPLC yöntemi kullanılarak belirlendi.

Çiğ kestanenin bazı fiziksel ve biyokimyasal özelliklerine bakılmış ve bunun sonucunda, nem % 48.78–56.57, kül 1.11–1.27 g 100 g⁻¹, su aktivitesi 0.705–0.844, pH 7.03–7.29, renk L^* 60.52; a^* 0.13; b^* 12.39 olarak bulundu. Toplam fenolik madde miktarı çiğ kestanede 129.17±6.23, haşlanmış kestanede 180.97±18.25, fırınlanmış kestanede 149.86±7.95 mmol GAE kg⁻¹ bulundu. DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite çiğ kestanede 0.42±0.01, haşlanmış kestanede 0.31±0.03, fırınlanmış kestanede 0.40±0.01 µmol askorbik asit eşdeğeri g⁻¹ olarak bulundu.

DPPH yöntemine göre haşlama işlemi antioksidan kapasitede anlamlı bir azalmaya neden olurken fırınlama işlemi değişikliğe neden olmadı. Toplam fenolik miktarında haşlama ve fırınlama işlemi ile önemli bir artış olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Serbest Radikal, Antioksidan, Fenolik Madde, Kestane, Antioksidan Aktivite

ABSTRACT

The Effect of Boiling and Baking on Total Phenolic Substance Amount, Phenolic Composition and Antioxidant Capacities of Osmanoğlu and Sariaşlama Chestnuts Grown in Bursa Province

Chestnut contains vitamins, minerals, amino acids and phenolic compounds with antioxidant properties. The nutritional value of chestnut may vary depending on chestnut type, environmental conditions in which it is grown. Processing technologies can also cause changes in nutritional value. The chemical properties of chestnut are also very variable when we look at the literature data. It has been determined by studies that phenolic components vary according to environmental and growth conditions and protein content of chestnut is changed according to the type of soil.

This study was carried out to investigate the effect of heat treatment on some physical and chemical properties, total phenolic substance amounts and compositions and antioxidant capacities of Osmanoğlu and Sariaşlama chestnuts grown in Bursa province.

Total amount of phenolic substance Folin-Ciocalteu method, antioxidant capacity by DPPH, radical scavenging activity, phenolic compound compositions were determined using the HPLC method.

Some of the physical and biochemical properties of raw chestnuts fruit were investigated and as a result humidity % 48.78 - 56.57, ash 1.11-1.27 g 100 g⁻¹, water activity 0.705-0.844, pH 7.03-7.29, color L^* 60.52; a^* 0.13; b^* 12.39 was found to be. The total amount of phenolic substance was 129.17±6.23 in raw chestnut, 180.97±18.25 in boiled chestnut and 149.86±7.95 mmol GAE kg⁻¹ in oven chestnut. The antioxidant capacity determined by DPPH method was found as 0.42±0.01 in raw chestnut, 0.31±0.03 in boiled chestnut and 0.40±0.01 µmol ascorbic acid equivalent g⁻¹ in fried chestnut.

According to the DPPH method, the firing process caused a significant decrease in the antioxidant capacity, but the firing process did not cause any change. The total amount of phenol was found to increase significantly with boiling and firing.

Key Words: Free Radical, Antioxidant, Phenolic Matter, Chestnut, Antioxidant Activity

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Fulya BENZER'e, gıda mühendisliği bölümündeki bütün hocalarıma özellikle Prof. Dr. Murat ÇİMEN, Doç. Dr. Olcay KAPLAN İNCE, Doç. Dr. Alper GÜVEN, araştırma görevlisi Emrah KARAKAVUK hocama ve arkadaşım Şenay KASUN'a teşekkürlerimi sunarım. Araştırmayı maddi yönden destekleyen Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (MUNİBAP) Yönetim Birimine teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, beni her zaman destekleyen aileme, sevgili eşim Mustafa EYMİR'e ve güzel oğlum Mehmet Efe EYMİR'e sonsuz teşekkürler...

Ash EYMİR

TUNCELİ - 2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER TABLOSU	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
RESİMLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller	3
1.1.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması	4
1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	8
1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri	11
1.2. Antioksidan	14
1.2.1. Endojen Antioksidanlar	17
1.2.2. Ekzojen Antioksidanlar	22
1.3. Kestane	25
2. MATERYAL VE METOT	29
2.1. Örneklerin Temini ve Hazırlanışı	29
2.2. Fizikokimyasal Analizler	29
2.3. Antioksidan Analizler	30
2.3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini	30
2.3.2. Antioksidan Kapasite Tayini	31
2.3.3. Fenolik Bileşik Kompozisyonu	31
3. BULGULAR	33
3.1. Fizikokimyasal Analizler	33
3.1.1. Su Aktivitesi (a_w)	34
3.1.2. Toplam Kuru Madde Oranı (%)	34
3.1.3. pH	35
3.1.4. Renk	35
3.1.5. Kül (%)	36
3.2. Antioksidan Analizler	36
3.2.1. Fenolik Bileşikler	37
3.2.2. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	38
3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı	39
4. TARTIŞMA	41
5. SONUÇLAR	45
6. ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR	48
EKLER	59
ÖZGEÇMİŞ	61

Şekil 1.1. Serbest radikal eşlenmemiş elektrona sahiptir	4
Şekil 1.2. Serbest radikal oluşumunun temsili gösterimi	5
Şekil 1.3. Antioksidanların etki ettiği yere göre şematik gösterimi	15
Şekil 1.4. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması	16
Şekil 1.5. Enzimatik antioksidanlar	17
Şekil 1.6. SOD çalışma mekanizması.....	18
Şekil 1.7. Serbest radikal nötralizasyonunda enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların etkisi	22
Şekil 3.1. Kestanelerin DPPH serbest radikal giderme yöntemi ile antioksidan kapasitesinin hesaplanmasında kullanılan standart askorbik asit eğrisi	38
Şekil 3.2. Kestanelerin Folin-Ciocalteu fenol ayırıcı yöntemiyle toplam fenolik madde içeriklerinin hesaplanmasında kullanılan tipik bir gallik asit standart eğrisi	39

Tablo 1.1. Başlıca reaktif oksijen türleri	6
Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin analizinde kullanılan çözücü programlaması	32
Tablo 3.1. Çiğ kestanelerde yapılan bazı fiziksel ve biyokimyasal analizler	33
Tablo 3.2. Kestane örneklerinin su aktivitesi değerleri	34
Tablo 3.3. Kestane örneklerinin toplam kuru madde oranı değerleri	34
Tablo 3.4. Kestane örneklerinin pH oranı değerleri	35
Tablo 3.5. Kestane örneklerinin renk değerleri	35
Tablo 3.6. Kestane örneklerinin kül oranı değerleri	36
Tablo 3.7. Kestane örneklerindeki fenolik bileşik miktarları	37
Tablo 3.8. DPPH yöntemine göre sarılaşma ve osmanoğlu çeşitlerinin toplam antioksidan miktarı	38
Tablo 3.9. Sarılaşma ve osmanoğlu çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarı	39

RESİMLER LİSTESİ

Tablo No

Resim 1.1. Serbest radikallerin etkileri.	12
Resim 1.2. Kestane	26



KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
FRAP	: Demir (III) iyonu indirgeme gücü
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSH-Red	: Glutasyon Redüktaz
GSSG	: Okside Rlutasyon
HEM	: Hemoglobin
HOCI	: Hipokloröz Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
RDI	: Vücudun günlük ihtiyacını karşılamak için gereksinim duyulan minimum miktar
SOD	: Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

Serbest radikal bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Bu atom ve moleküller eşleşmemiş elektronları nedeniyle reaktivitesi yüksek yapılardır. Bu basitçe kaybedilen elektronunu geri kazanma ve istikrar sağlama çabası olarak tanımlanabilir. Bu yüzden, serbest radikaller vücut bileşenlerine saldırabilirler. Saldırıya uğrayan molekül elektronunu kaybedince, serbest radikal haline dönüşerek bir dizi zincir reaksiyon oluşumuna sebep olur. Proses başladıktan sonra nihayetinde canlı hücrelerin parçalanmasına neden olur ve sonuç olarak dokular arasındaki bağlar kopar ve doku hasarı meydana gelir (Devasagayam ve ark., 2003).

Serbest radikaller normal metabolizmada oluşabilen doğal bir yan üründür ve hayat için şarttır. Vücutta yararlı amaçlara hizmet ederler, ancak bazı durumlarda vücudumuzda çeşitli zararlı etkilere neden olurlar. Serbest radikallerden tamamen kaçınılması ne mümkündür ne de arzu edilir. Düşük konsantrasyonlarda serbest radikaller insan vücudu için faydalıdır. Bağışıklık sistemi bu serbest radikalleri patojenlere karşı savunmaya yardımcı olmak için kullanır (Rahman, 2007). Yani hücrelerimize bakteriler, mantarlar ve parazitler bulaştığında savunma sistemimiz mikropları öldürmek için bu serbest radikalleri kullanarak vücudumuzu korur.

Serbest radikallerin zararlarından korunmak için organizmada koruyucu sistemler vardır. Bu sistemlerden bazıları serbest radikallerin oluşumunu engellerken, bazıları oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu etkileri sağlayan bileşiklere antioksidanlar denir (Ames ve ark., 1993; Frei, 1994; Akkuş, 1995; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999; Aydın, 2011). Antioksidanlar, bir zincir reaksiyonunda oksidasyon oluşumunu engelleyebilir veya başlamış bir reaksiyonu geciktirebilir (Halliwell ve ark., 1992; Barreira ve ark., 2008). Antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonunu durdurarak kendilerini istikrarsızlaştırmadan bir elektron verebilirler.

Serbest radikallerin yaşla biriktiklerini belirtmek önemlidir. Yaşam modifikasyonu ile serbest radikal üretiminin en aza indirgenmesi ve antioksidanın kullanılabilirliğinin en üst düzeye çıkarılması önemlidir. Bu değişiklikler, sigarayı bırakma, güneşe maruz kalmanın en aza indirgenmesi, hava kirliliğinin önlenmesi ve egzoz dumanı gibi zehirli kimyasalların teneffüs edilmemesi ve alkol alımının azaltılmasını içerir. Meyveler, hububatlar, baklagiller ve sebzeler, gerçek doğal ilaç olarak işlev gören fitokimyasal element olarak bilinen zengin

antioksidanlardır (Gemma ve ark., 2007). Meyve ve sebzelerde bulunan antioksidanlar, hücreleri, metabolik yan ürünlerin (serbest radikallerin) yanı sıra gıda ve çevreye ait zehirli maddelerin neden olduğu zararlardan korurlar.

Epidemiyolojik araştırmalar, reaktif oksijen türlerine karşı bitki kaynaklarının faydalı olduğunu göstermiştir; meyve ve sebzelerin koruyuculuğu içerdikleri C vitamini, E vitamini, karotenoidler, glutatyon, flavonoidler ve fenolik asitlerden kaynaklanmaktadır (Halvorsen ve ark., 2002). Bitkilerdeki toplam fenolik içeriği ile antioksidan kapasite arasında doğrudan bir ilişki bulunmuştur (Robards ve ark., 1999; Ferreira ve ark., 2007; Barreira ve ark., 2008).

Anadolu, birçok meyve türünün anavatanıdır. Kestane de bu coğrafyada hayat bulmuş meyvelerden bir tanesidir (Soylu, 2004). Kestane çok eski zamanlardan beri insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan bir meyvedir, günümüzde taze olarak ve sanayinin birçok alanında kullanılmaktadır. Kestaneler; taze olarak meyve şeklinde, sanayide şekerleme yapılarak, öğütülerek vs. kullanılır. Ayrıca meyve kabuklarından tanin üretilmekte, yaprak ve çiçekleri ise tıpta ve kozmetik alanında kullanılmaktadır (Atasoy ve Altıngöz, 2011).

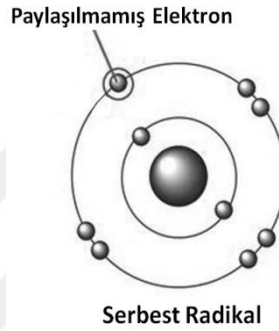
Son yıllarda, kestane besin değerleri ve yararlı sağlık etkileri nedeniyle insan sağlığı için daha önemli hale gelmiştir. Kestane; vitaminler, mineraller, amino asitler ve antioksidan özelliği olan fenolik bileşikler içerir. Bu yüzden insan beslenmesinde önemli bir rol oynar (Şengül ve İlgin, 2017). Kestane sağlığa olumlu etki eden antioksidan bileşenler içermektedir (Barros ve ark., 2011).

Kestanenin besin değeri kestanenin türüne, çeşidine, yetiştiği çevre şartlarına bağlı olarak farklılık gösterebilir. Ayrıca sanayiye işleme teknolojilerine göre de değişikliklere uğramaktadır. Literatür verilerine bakıldığında da kestanenin kimyasal özelliklerinin oldukça değişken olduğu görülmektedir, bu da kestane çeşitlerinin kimyasal özelliklerini tanımlamayı zorlaştırmaktadır. Fenolik bileşenler çevre ve büyüme şartlarına göre değişim gösterir ve toprağın cinsine göre kestanenin protein içeriğinin değiştiği belirlenmiştir (Ferreira, 1999; Şengül ve İlgin, 2017).

1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal çok reaktif bir kimyasal bağa sahiptir. Molekül yapmak için atomları bir arada tutan kimyasal bağlar elektron çiftlerini içerir. Örneğin, su molekülündeki bağların her birinde hidrojen oksijene iki elektron ile tutunur. İki elektron atomlar arasındaki baği sabitleştirir. Bununla birlikte, bazı moleküller (özellikle oksijen içeren moleküller), bu birleşim elektronlarından yalnızca bir tanesini kolayca kazanabilir. Aslında bir serbest radikal,

eşleşmeyen elektronları içeren bir moleküldür. Eşlenmemiş elektron, molekülü çok reaktif yapar. Şekil 1.1. de gösterildiği gibi serbest radikaller son yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunan atom ya da bileşiklerdir ve bu açığı kapatabilmek için başka bileşiklerin elektronlarına saldıran, yüksek aktiviteye sahip yapılardır (Thomas, 2000; Halliwell, 2009; Erbaş ve Şekerci, 2011). Çok kısa ömürlüdürler, çok tehlikelidir çünkü radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek onları da radikal haline dönüştürüp, bir dizi zincirleme reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşumuna sebep olurlar (Akkuş, 1995; Dikici, 1999; Tekkeş, 2006).



Şekil 1.1. Serbest radikal eşlenmemiş elektrona sahiptir (Arnarson , 2017)

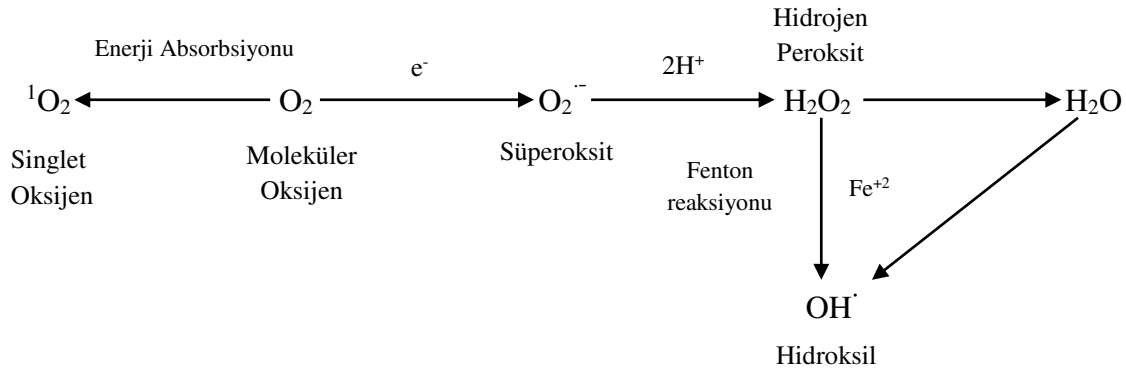
Serbest radikaller 3 biçimde oluşabilir (Cheesman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Onat ve ark., 2002; Wu ve Cederbaum, 2003; Kayış, 2010; İşbilir, 2008) :

- Kovalent bağların homolitik ayrılması ile; kovalent bağlı molekülün ayrılması sonucunda yapısında bulunan iki elektron atomlar arasında paylaşılır.
- Normal molekülün elektron kaybı sonucu; radikal olmayan molekülden bir elektron kaybı sonrasında dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron kalarak radikal forma dönüşür.
- Normal moleküle elektron transferiyle; radikal özellikte olmayan molekül bir elektron alarak radikal forma dönüşür.

1.1.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması

Oksijen, insanların hayatlarını devam ettirebilmeleri için elzem bir moleküldür. Moleküler oksijen, serbest radikal tanımına göre, bir biradikal (diradikal) olarak görülmektedir. Moleküler oksijen, reaktif oksijen türleri oluşturmaya meyillidir, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girerken radikal maddelerle çok kolay reaksiyona girer

(Halliwell ve Guttridge, 1989; Maltaş, 2011). Aşağıdaki şekilde reaktif oksijen türlerinin üretimi şematize edilmiştir;



Şekil 1.2. Serbest radikal oluşumunun temsili gösterimi (Bhattacharya, 2015)

Canlı yapılardaki çoğu serbest radikal oksijen ihtiva eder. Organik moleküllerin oksitleyici radikallere karşılaşması sonucu oluşurlar. Aşağıdaki tabloda başlıca radikal ve non-radikal oksijen türleri ile bu türler hakkında kısaca bilgi verilmektedir.

Tablo 1.1. Başlıca reaktif oksijen türleri (Halliwell, 1994; Uysal, 1998; Cooper ve ark., 2002; Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

Radikaller	Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Oksijen merkezli radikaldır. Organizmada çeşitli kaynaklardan oluşur. Oluşum yerinde difüzenir.
	Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)	En reaktif oksijen radikalidir. İnsan vücudunda bulunan tüm moleküllere saldırabilir. H_2O_2 ve metal iyonu varlığında oluşan radikallerdir.
	Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)	NO sentaz ile endojen iyonlarına bağlıdır. Oksijen ve oksijen içeren radikallerle birlikte farklı reaktif nitrojen türleri üretir.
	Peroksil ($RO_2^{\cdot}$) Alkoksil ($RO^{\cdot}$)	Organik peroksitlerin yıkımı sırasında oluşur, oksijen merkezlidir.
	Lipid Peroksil ($LOO^{\cdot}$)	Membranlara yakın bölgelerde oluşan $OH^{\cdot}$ radikalinin, zar fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur.
	Hidroperoksil radikali ($HO_2^{\cdot}$)	$O_2^{\cdot-}$ radikalinin düşük pH'da protonlanması sonucu oluşur, daha kuvvetli bir oksidandır.
Non-Radikaller	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Serbest radikal değildir. Ortamda geçiş metalleri olduğunda serbest radikal oluşturur, hücre zarından içeri ve dışarı geçebilir.
	Singlet oksijen (1O_2)	Oksijenin güçlü oksidatif formudur.
	Hipokloröz Asit ($HOCl$)	H_2O_2 klorür iyonu ile birleşerek antibakteriyel bir ajan olan $HOCl$ 'ye dönüşür.
	Lipid Peroksit ($LOOH$)	Hücre zarındaki yağ asitleri ile reaksiyona girerek karbon merkezli radikaller oluşturur, kendileri de açığa çıkan $H^{\cdot}$ parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler.
	Ozon (O_3)	
	Peroksinitrit ($ONOO^-$)	Serbest radikal değildir, fakat güçlü bir oksitleyici ajan olarak, radikal NO_2 (nitrojendioksit) oluşturabilir.

1.1.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Aşağıda gösterildiği gibi $O_2^{\cdot-}$, tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alması sonucu oluşur (Fridovich, 1975).



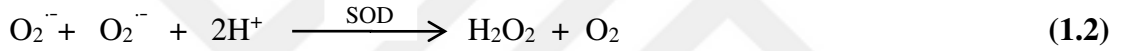
$O_2^{\cdot-}$ çoğunlukla mitokondriyal elektron transport zincirindeki sızıntıdan kaynaklanır, ekzojen bileşenler (redoks dönüşüm bileşikler) varlığında kolayca oluşur (Halliwell ve Gutteridge, 1990, Halliwell, 1999).

$O_2^{\cdot -}$ bir serbest radikaldir, ancak çok zararlı değildir. Önemli olmasının sebebi H_2O_2 olması ve geçiş metalleri inçeyicisi olmasıdır (Akkuş, 1995; İşbilir, 2008).

$O_2^{\cdot -}$ doğrudan toksik olabilirken, yağlarla ile birlikte reaktivitesi sınırlıdır ve gerçek toksisitesi hakkında soru işaretleri verir. Bu nedenle, aktivitesinin, demir katalizörlüğündeki Haber-Weiss reaksiyonu ile çok daha reaktif OH türünün ikincil bir üretiminden kaynaklandığı düşünülür (Fridovich, 1986).

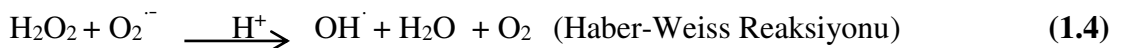
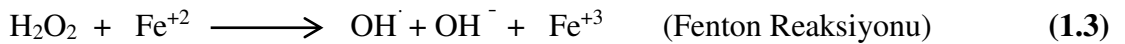
1.1.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 , oksijenin iki elektron alarak indirgenmesinden üretilebilir. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$ kaynaklı üretilir: İki $O_2^{\cdot -}$ molekülü birlikte tepkimeye girerek H_2O_2 ve O_2 oluşturur, bu tepkime aşağıda şematize edilmiştir (URL-1, 2015).



H_2O_2 , reaktif oksijen türleri arasında en az reaktif olup metal iyonlarının yokluğunda, fizyolojik pH ve sıcaklık altında dengeli olan nötr bir moleküldür. Çok diffüzyiftir, özellikle yapısı su olan biyolojik membranlardan kolayca geçebilir ve geniş alanlara hızla yayılabilir. OH $\cdot$ ve HOCl başta olmak üzere birçok oksidanı oluşturabilir (Deaton ve Marlin, 2003; Kayış, 2010). H_2O_2 protein molekülünde bulunan hem grubundaki demir ile reaksiyona girebilir, bunun sonucunda reaktif demir oluşumuna sebep olur. Oluşan reaktif demir yüksek oksidatif özelliktedir, birçok önemli zincir reaksiyonlarını başlatabilir (Cihaner, 2009).

Aşağıdaki şekilde görüldüğü üzere, H_2O_2 ortamda geçiş metal iyonları olduğunda Fenton reaksiyonu; $O_2^{\cdot -}$ olduğunda Haber-Weiss reaksiyonu sonucu OH $\cdot$ oluşumuna sebep olabilir (Halliwell ve ark., 2000; İşbilir, 2008).



1.1.1.3. Hidroksil Radikali (OH[•])

OH[•], biyolojik sistemlerde birçok reaksiyon sonucu üretilebilir. Bunlardan biri geçiş metalleri tarafından katalize edilen Fenton reaksiyonudur. Diğer OH[•] oluşum kaynaklarına iyonize radyasyon, HOCl ve O₂^{•-} arasındaki reaksiyon, ultrasonografi ve dondurarak kurutma sayılabilir (Tongul, 2013).

OH[•] hücrede 10⁻⁹ sn'lik bir yarı ömre sahiptir, bulunduğu ortamdaki tüm moleküllerle reaksiyona girebilir. Bu yüzden biyolojik sistemdeki en reaktif serbest radikal türü olarak kabul edilir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Akkuş, 1995; Akyüz, 2007; İşbilir, 2008; Maltaş, 2011).

OH[•]'nin hücrede verdiği en büyük zarar, lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan serbest radikal zincir reaksiyonuna sebep olmasıdır. Hücre zarının yapısını protein ve yağlar oluşturur, bu yüzden OH[•] öncelikli olarak yağ asitlerine saldırır. Zardaki lipidlerin peroksidasyonu, zarın yapısını bozarak geçirgenliğini artırır ve hücrenin ölmesine neden olur (Balcı, 2007; Turna, 2008; Oğuz, 2008).

1.1.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

¹O₂, zıt yönlerde bir çift elektronun spinlenmesi ile karakterize edilen elektronik olarak uyarılmış ve daha yüksek enerjili bir oksijen formudur. Oksijene radyasyon sonucu enerji girişi ile üretilebilir. Aynı zamanda peroksidazların veya lipoksigenazların etkisiyle veya H₂O₂, hipoklorit (ClO⁻) veya ONOO⁻ ile reaksiyonu veya fagositlerin solunum patlaması sırasında enzimatik olarak da üretilebilir (Steinbeck ve ark., 1992) .

¹O₂ hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girer ve lipid peroksit oluşturabilir (Balcı, 2007).

1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller, aerobik hücre metabolizmasının doğal yan ürünüdür. Üretim, endojen (vücut içinde) veya ekzojen (vücut dışında) kaynaklı olabilir. Ekzojen serbest radikal kaynağı çevreye aittir. Bunlar oksitleyici ajan yani iyonlaştırıcı radyasyonları (sanayi, güneşe maruz kalma, kozmik ışınlar, tıbbi x-ray); ozon, azot oksit (esas olarak otomobil egzozundan); ağır metaller (cıva, kadmiyum ve kurşun gibi); sigara (her ikisi de aktif ve pasif); alkol; doymamış yağ ve diğer kimyasallar (zirai mücadele ilaçları), gıda, su, ilaçlar ve

havadaki bileşiklerdir. Endojen serbest radikal oluşumu hem enzimatik hem de enzimatik olmayan reaksiyonların sonucu olarak hücrelerde sürekli olarak meydana gelir (Lobo ve ark., 2010).

Aşağıda serbest radikal oluşumuna sebep olan endojen ve ekzojen kaynaklar gösterilmiştir;

1.1.2.1. Endojen Kaynaklar

Elektron Transport Zinciri; Serbest radikallerin ana kaynakları; mitokondrianın, kloroplastların ve endoplazmik retikulumun elektron taşıma zincirlerinde oluşan kaçaklardır. Evrensel enerji moleküllerini üreten hücre içi enerji merkezi olan mitokondriyum, normal işlemi sırasında oksijeni tüketir ve onu suya dönüştürür. Bununla birlikte, H_2O_2 ve $OH^\cdot$ gibi istenmeyen yan ürünler, oksijen molekülünün eksik tamamlanması nedeniyle kaçınılmaz olarak üretilmektedir (Sen, 1995; Neeraj, 2013).

Otooksidasyon; aerobik iç ortamın bir yan ürünüdür. Otooksidasyona katılan moleküller, katekolaminler, tioller, flavinler, hemoglobin, miyogloblin gibi moleküllerdir. Yukarıda bahsedilen moleküllerin otomatik oksidasyonu oksijen diradikalinin indirgenmesi ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuyla sonuçlanır. $O_2^{\cdot-}$ oluşan ana radikaldir. Aynı zamanda Fe^{+3} ; tiyoller, askorbatlar, v.s. yardımcı ile Fe^{+2} iyonuna indirgenir. Daha sonra Fe^{+2} iyonu da otomatik oksidasyon işlemi ile oksijenin elektronunu çalarak $O_2^{\cdot-}$ ve Fe^{+3} üretir (Fridovich, 1986).

Enzimatik oksidasyon; serbest radikallerin oluşumunu katalizleyen iki büyük enzim grubu vardır. Birincisi, elektron transport sisteminde yer alan flavin içeren enzimler, ikincisi hem içeren peroksidazlar ve peroksidaz benzeri enzimlerdir. Enzimatik oksidasyon reaksiyonlarında yalnız hidroperoksit oluşur. Aktive edilmiş nötrofiller içerisinde üretilen enzim olan miyeloperoksidaz, klorür iyonlarını güçlü oksidan olan $HOCl$ içine oksidize etmek için H_2O_2 kullanır (Halliwell ve ark., 1994).

Solunum patlaması; fagositoz sırasında fagositik hücrelerin büyük miktarda oksijen tüketme sürecini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Bu fagositik hücreler membrana bağlı flavoprotein sitokrom-b-245 NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) oksidaz sistemine sahiptir. NADPH-oksidad gibi hücre zarı enzimleri inaktif bir formda bulunur.

Bununla birlikte, NADPH-oksidaz enzimini aktive eden immunoglobulin kaplı bakteriler, immün kompleksler, kompleman fragmanı (C5a) veya lökotrien'e maruz kalma olaylarıdır. Bu aktivasyon hücre zarında solunum patlamasını başlatır ve $O_2^{\cdot-}$ oluşturur (Baboir, 1978).

Subselüler organeller; mitokondri, kloroplastlar, mikrozomlar, peroksizomlar ve çekirdekler gibi organellerin $O_2^{\cdot-}$ ürettiği gösterilmiştir. Mitokondriyum, hücresel oksidasyon reaksiyonları için ana hücre organelidir ve hücredeki indirgenmiş oksijen türlerinin ana kaynağıdır. Mitokondriyumun $O_2^{\cdot-}$ üretiminin oksijen konsantrasyonunun büyük oranda arttığı veya solunum zinciri hızının tamamen azaldığı durumlarda arttığı gösterilmiştir (Halliwell ve ark., 1994).

Geçiş metal iyonları; demir ve bakır gibi geçiş metalleri, serbest radikallerin hasar görmesinde ve lipid peroksidasyonunun kolaylaştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Geçiş metali iyonları, Haber-Weiss reaksiyonu ve Fenton reaksiyonuna katılırlar (Halliwell ve ark., 2000).

İskemi reperfüzyon hasarı; iskemi, serbest radikallerin üretimine katkıda bulunan bazı etkilere sahiptir. Normal olarak ksantinoksidazın, hipoksantin'i ksantin'e ve ardından ksantin'den ürik aside reaksiyonunu katalize ettiği bilinmektedir. Bu reaksiyon kofaktör şeklinde bir elektron alıcısına ihtiyaç duyar. İskemi sırasında ilk olarak ksantin üretilir ve ksantinoksidazın etksi daha da artırılır. İkinci olarak SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin her ikisinin de etkisinin azaldığı görülür. Reperfüzyon sırasında moleküler oksijen elektron alıcısı olarak görev alır ve ksantinoksidazın kofaktörü olarak $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 oluşumuna sebep olur (URL-2, 2017).

1.1.2.2. Ekzojen kaynaklar

Radyasyon; radyoterapi, serbest radikallerin sebep olduğu doku hasarına neden olabilir. Elektromanyetik radyasyon (X ışınları, gama ışınları) ve parçacık radyasyonu (elektronlar, fotonlar, nötronlar, alfa ve beta partikülleri) enerjilerini su gibi hücresel bileşenlere aktararak serbest radikaller üretirler. Bu radikaller, çözünmüş oksijen veya hücresel çözeltiler ile ikincil reaksiyona sebep olabilir (Devasagayam ve Kesavan, 1996).

Sigara; tütün dumanı oksidatiflerinin, oksidatif strese bağlı bir mekanizma ile in vivo olarak akciğer hücrelerindeki hücre içi antioksidanları ciddi şekilde tükettiği gösterilmiştir.

Her duman püskürtüsünde muazzam miktarda oksidan madde bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunlara aldehitler, epoksitler, peroksitler ve alveollere zarar verecek kadar yeterince uzun süre yaşayabilen diğer serbest radikaller dahildir. Ayrıca NO^{*}, peroksil kökleri ve karbon merkezli kökler gaz fazında bulunur. Buna ek olarak, katran fazı nispeten kararlı radikaller de içerir. Katran fazındaki radikallere örnek olarak, çeşitli kuinonlardan ve hidrokuinondan türetilen semikinon parçaları gösterilebilir. Sigara içenlerin alt solunum yollarında nötrofil miktarlarının artmasıyla serbest radikal konsantrasyonunun daha da yükselmesine katkıda bulunabileceği de tespit edilmiştir (URL-2, 2017).

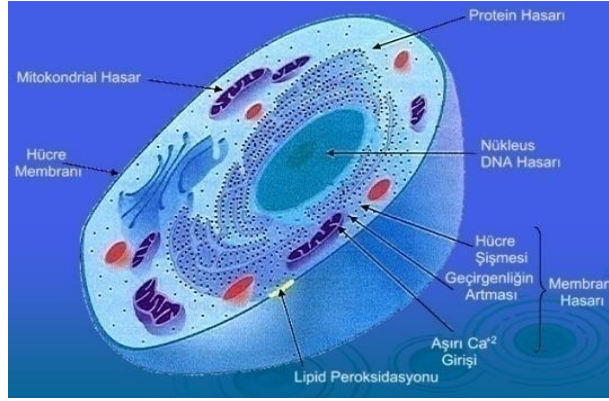
Ozon (O₃); bir serbest radikal değil, çok güçlü bir oksitleyici ajandır. Ozon, eşlenmemiş iki tane elektron içerir ve ozonun biyolojik substratlar ile reaksiyona girerek serbest radikaller oluşturduğu düşünülür (URL-2, 2017).

Çoklu doymamış yağlar; radikal üretimine katkıda bulunurlar, çünkü okside olmuş ve lipid peroksit radikalleri şeklinde artmış serbest radikal üretimine neden olan çoklu çift bağa sahiplerdir (URL-2, 2017).

Çevresel ajanlar; pestisitler, çözücüler, anestetik maddeler, egzoz dumanları ve aromatik hidrokarbonların genel sınıfı olan fotokimyasal hava kirleticiler de dahil olmak üzere çok çeşitli çevresel ajanlar hücrelerde serbest radikal hasarına neden olurlar (URL-2, 2017).

1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikalın aşırı üretimi, oksidatif stres oluşturur; bu da, biyolojik sistemin reaktif ara maddeleri detoksifiye etme yeteneği veya ortaya çıkan hasarı onarma yeteneği arasındaki dengesizliği yansıtan oksidatif stresi meydana getirir. Serbest radikallerin aşırı üretimi, hücrenin temel makromoleküllerinde hasara, anormal gen ekspresyonuna, reseptör aktivitesinde dengesizliklere, hücre değişimi ve proliferasyonuna, bağışıklığın bozulmasına, mutagenize, protein çökeltisine, lipid, DNA ve protein de dahil olmak üzere hücrenin tüm bileşenlerine hasar verir (Bhattacharya, 2015).



Resim 1.1. Serbest radikallerin etkileri (URL-5, 2017)

Reaktif oksijen türleri, proteinler, lipitler ve DNA da dahil olmak üzere çoğu hücre sel makromolekül ile reaksiyona girebildikleri için hücreler açısından toksiktir. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin belirtilen etkilerinin sonucunda hücre hasarı oluşur (URL-1, 2015). Yukarıda serbest radikallerin hücredeki hasarı şematik olarak gösterilmiştir (URL-5, 2017).

Hücrelerin yanı sıra çekirdek ve mitokondri gibi diğer hücre sel yapıları çevreleyen zarlar, lipid bileşenleri içinde yüksek miktarda doymamış yağ asitleri içerir. Subselüler organellerde bulunan membran lipidleri, serbest radikal hasarına son derece duyarlıdır. Lipidler serbest radikallerle reaksiyona girdiğinde, doğrudan ve dolaylı etkilere yol açan zincirleme lipid peroksidasyonunun başlamasına sebep olabilir. Lipit peroksidasyonu sırasında çok sayıda zehirli yan ürün de oluşur. Lipit peroksidasyonunun neden olduğu hasar, hücrenin işleyişine oldukça zarar verir (Devasagayam ve ark., 2003) .

Serbest radikal, hücre içi zarların ve lipoproteinlerin yağ asidi yan zincirlerine saldırabilir. Lipid peroksidasyonu olarak bilinen bir zincirleme reaksiyon meydana gelir. Lipid peroksidasyon ürünü, membran proteinlerine daha da zarar verebilir ve hücre zarını geçirgen hale getirir ve sonunda membran bütünlüğünün kaybına yol açar (Bhattacharya, 2015).

Serbest radikaller, protein fonksiyonuna müdahale ederek düzensiz, anormal metabolizma ve hızlı yaşlanmaya neden olabilir. Proteinlerin reaktif oksijen ve nitrojen ile oksidasyonu, özellikle geçiş metali iyonlarıyla etkileşime girdiklerinde, protein hidroperoksitleri gibi kararlı ve aynı zamanda reaktif ürünler oluşturabilir.

Fonksiyonel açıdan aktif olmayan oksitlenmiş proteinlerin çoğu hızlı bir şekilde uzaklaştırılrsa da, bazıları zamanla aşamalı olarak birikebilir ve böylece çeşitli hastalıkların

yanı sıra yaşlanmayla ilişkili zarara katkıda bulunur (Stadtman, 1992; Devasagayam ve ark., 2004).

Proteinlerin reaktif oksijen ile indüklenen oksidasyonu proteinlerin üç boyutlu yapısının bozulmasının yanı sıra proteinlerin parçalanması, toplanması veya çapraz bağlanmasına yol açabilir (Beckman ve Ames, 1997; Bhattacharya, 2015).

Proteinler serbest radikallere lipidlerden daha az duyarlıdır. Afinite dereceleri, içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Protein oksidasyon ürünleri genellikle aldehitler ve ketonlar gibi karbonillerdir (Wu ve Cederbaum, 2003; Bhattacharya, 2015).

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Serbest radikaller, karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomunu rastgele çalarak karbon merkezli bir radikal üretir. Bu, hiyalüronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar.

Glikoz, mannoz ve deoksi şekerler, fizyolojik koşullar altında otomatik oksidasyona uğrar ve O_2^- , H_2O_2 ve oksaldehit oluştururlar (Yanbeyi, 1999; Tekkeş, 2006).

DNA, hücrenin genetik materyalidir. Bireysel hücrelerin ya da tüm organizmanın DNA'nın bozulmadan varlığını sürdürmesi şarttır. DNA'ya kalıcı hasar vermek proteinlerin bozunmasına veya etkilenen proteinlerin tamamen inaktivasyona neden olabilir (Bhattacharya, 2015).

DNA'nın oksidatif hasarı, DNA'nın reaktif oksijen veya nitrojen türleri ile etkileşiminin bir sonucudur. Serbest radikaller, şeker parçasından alınan hidrojen atomlarının bazlarına veya soyutlamalarına eklenerek DNA ile reaksiyona girer. Serbest radikaller, aynı zamanda, şeker parçasına, şeker $RO_2^{\cdot}$ üretilmesine üretilmesine ve bu şekilde iplikçik kırılmasına neden olabilirler (Bhattacharya, 2015).

Serbest radikal, DNA bazlarının değiştirilmesi, tek veya çift sarmal DNA kopmaları, pürinlerin kaybı (apurinik bölgeler), deoksiriboz şekerin hasarlanması, DNA-protein çapraz bağlanması gibi DNA hasarının önemli bir kaynağıdır (Spencer ve ark., 1996).

Reaktif oksijen türlerinden, $OH^{\cdot}$ DNA hasarının potansiyel uyarıcılarından biridir. $OH^{\cdot}$ kökünün DNA ile tepkimesinde bir çeşit katılma ürünü şekillenir. $OH^{\cdot}$ pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak $OH^{\cdot}$ katılma ürünleri oluşturabilir, ki bu ürünler doğal şartlarda bazen modifiye baz katyonlarını uyarabilir ve bazen de baz salınımlarını uyarak hem oksitleyici hem de redükleyici olabilir (Bhattacharya, 2015).

Hücreler, DNA'daki doğal olarak meydana gelen değişiklikleri düzeltmek için onarım mekanizmaları geliştirmiş olsalar da, reaktif oksijen veya diğer ajanlardan kaynaklanan ek

veya aşırı değişimler, DNA'da kalıcı değişikliklere neden olarak hücre ölümleri, mutajenez, karsinogenez ve yaşlanma gibi hasarlar oluşturabilir (Bhattacharya, 2015; Devasagayam ve ark., 2004).

1.2. Antioksidan

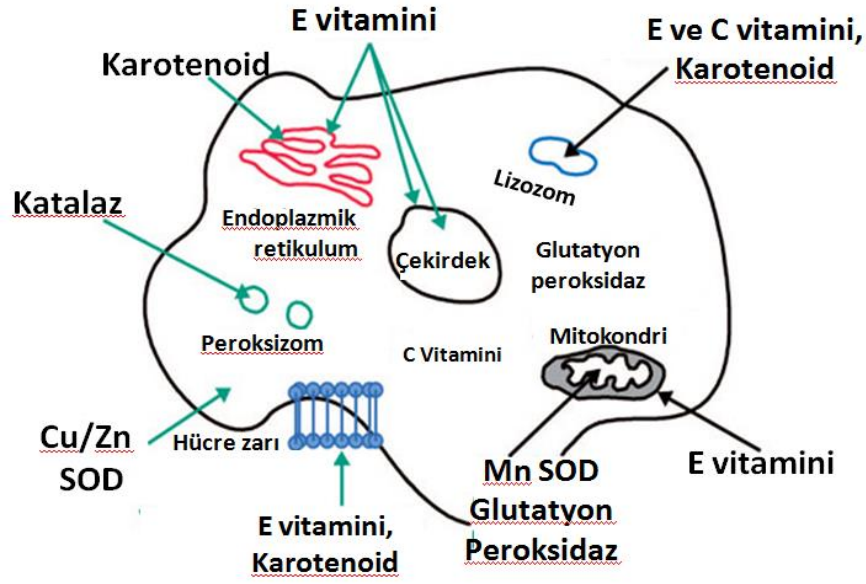
Antioksidanlar; serbest radikallerin oluşumunu önleyen, oluşmuş serbest radikallerin zararını en aza indirmeye çalışan bileşiklerdir. Antioksidanlar oksidasyonla mücadele ettikleri için bu ismi alırlar. Bunlar, vücut kimyasallarını, serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek oksidasyon sürecini engelleyen maddelerdir. Antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonunu durdurmak için kendilerini istikrarsızlaştırmadan elektron vererek serbest radikalın açığını kapatır (Szalay, 2016).

Antioksidanlar oksidanları dört ana yolla nötralize eder (Uğuzlar, 2009; Maltaş, 2011):

- 1) Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerinin ya elektronları tutarlar ya da onları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürürler. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu şekilde etki eder.
- 2) Serbest radikallerden kaynaklanan hasar antioksidan moleküller tarafından onarılır.
- 3) Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerine hidrojen vererek onların inaktivasyonunu sağlar. Vitaminler ve flavanoidler bu şekilde hareket eder.
- 4) Antioksidan molekülleri serbest oksijen radikallerini bağlayarak peroksidasyon zincirini durdurarak zincir kırıcı etki gösterir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

Tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), β -karoten, glutatyon, ürik asit, bilirubin gibi maddeler ve glutatyon peroksidaz (selenyum), katalaz (demir), süperoksit dismutaz (bakır, çinko, manganez gibi) dahil olmak üzere birçok metalloenzimler vücudu serbest radikal hasarına karşı korur (Machlin ve Bendich, 1987).

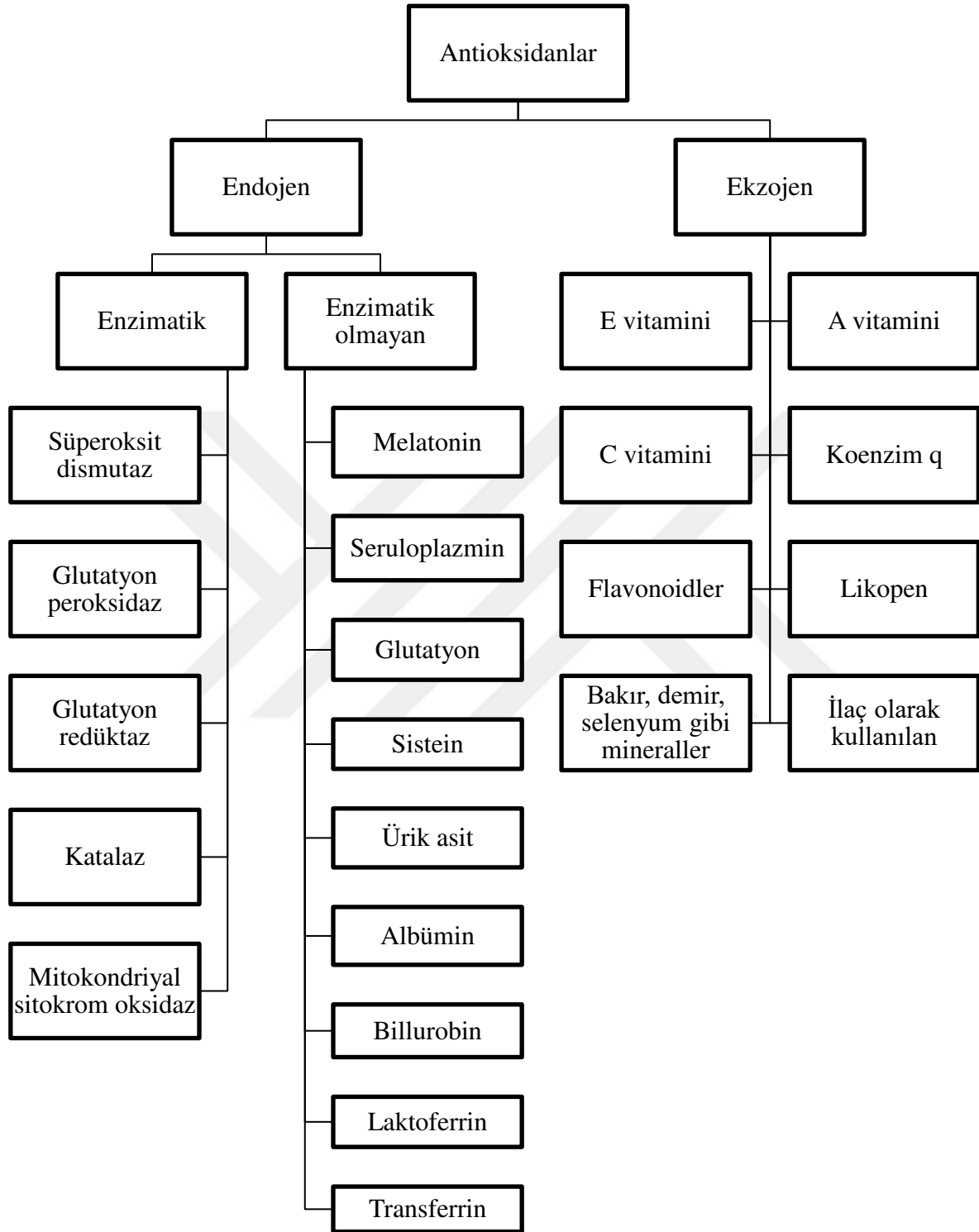
Bir serbest radikal başka bir molekül ile etkileşime girdiğinde, daha radikal türler üretmek için diğer hedeflerle reaksiyona girebilen ikincil radikaller üretilebilir. Böyle bir zincirleme reaksiyonun klasik örneği lipid peroksidasyondur ve iki radikal birleşerek dengeli bir ürün oluşturana kadar reaksiyon yayılmaya devam edecek veya radikaller zincir kırıcı bir antioksidan ile nötrleştirilecektir (Young ve Woodside, 2001).



Şekil 1.3. Antioksidanların etki ettiği yere göre şematik gösterimi (URL-6, 2017)

Antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarını inhibe eden veya söndüren ve hücresel hasarı geciktiren veya inhibe eden moleküllerdir. Antioksidanlar hem hücre içi hem de hücre dışı ortamda, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan formlarda bulunur. Yukarıdaki şekilde hücrede antioksidanlar etki ettiği yere göre gösterilmiştir. Enzimatik antioksidanlar serbest radikalleri parçalayıp uzaklaştırarak etki eder. Antioksidan enzimler, tehlikeli oksidatif ürünleri, bakır, çinko, manganez ve demir gibi kofaktörlerin bulunduğu çok aşamalı bir süreçte H_2O_2 ve daha sonra H_2O dönüştürürler. Non-enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak çalışırlar. Enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak C vitamini, E vitamini, bitki polifenolü, karotenoidler ve glutasyon gösterilebilir (Shahidi ve Zhong, 2010; Nimse ve Pal, 2015).

Aşağıdaki şekildedeki gösterildiği gibi antioksidanlar basitçe ikiye ayrılır (Akkuş, 1995).

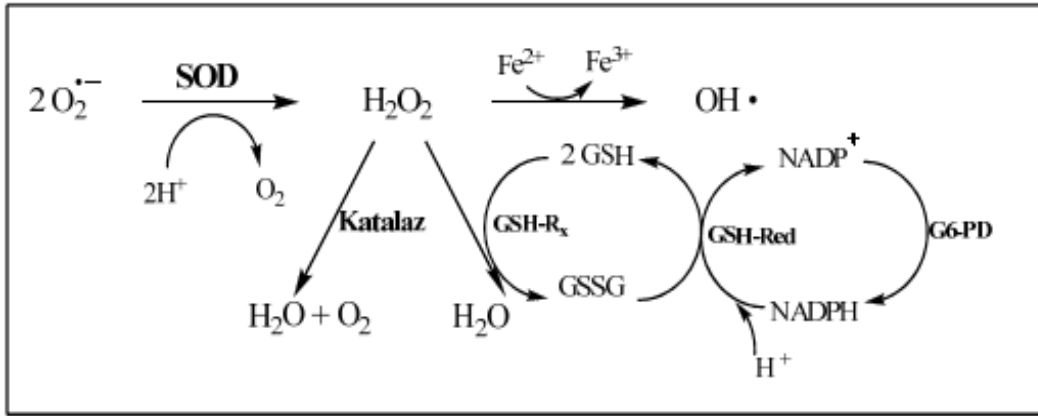


Şekil 1.4. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması (Akkuş, 1995)

1.2.1. Endojen Antioksidanlar

1.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

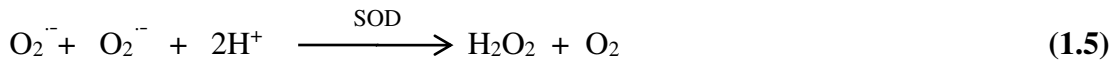
Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve Glutasyon redüktaz (GSH-Red) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır. Aşağıda serbest oksijen radikallerinin metabolizmasının biyokimyasal reaksiyon zinciri gösterilmektedir (Çatalyürek ve ark., 1998).



Şekil 1.5. Enzimatik antioksidanlar (Çatalyürek ve ark., 1998)

a. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, vücuttaki her hücrede bulunan, endojen olarak üretilen bir hücre içi enzimdir. Organizmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı SOD enzimi gerçekleştirir. Aşağıda görüldüğü gibi $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2 dönüşümünü katalizler (Aydın, 2011).

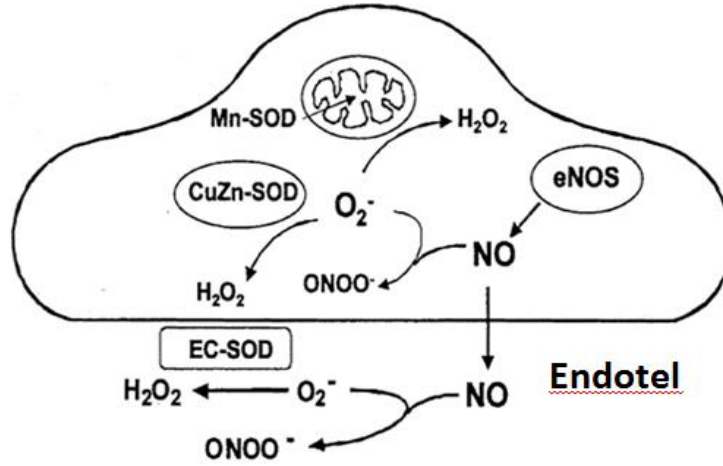


H_2O_2 daha sonra CAT veya GSH-Px ile hücreden uzaklaştırılır.

Organizmada metalloenzim şeklinde bulunur ve tüm hücrelerde üretilir. Memeli dokularda her biri spesifik bir subselüler konuma ve daha farklı doku dağılımına sahip olan üç süperoksit dismutaz biçimi vardır ve aşağıdaki şekilde gösterilmektedir (Young ve Woodside, 2001):

(1) Bakır çinko süperoksit dismutaz (CuZnSOD): CuZnSOD, hemen hemen tüm memelilerin sitoplazma ve organellerinde bulunur.

- (2) Manganez süperoksit dismutaz (MnSOD): MnSOD neredeyse tüm hücrelerin mitokondriyasında bulunur.
- (3) Ekstraselüler süperoksit dismutaz (ECSOD): Hücre dışı sıvılarda bulunur.



Şekil 1.6. SOD çalışma mekanizması (Faraci, 2003)

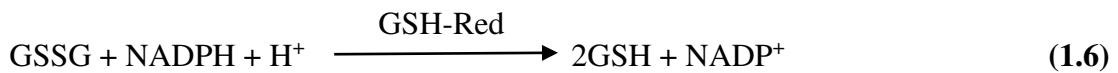
b. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px'in aktivitesi için selenyum gerekir ve yetersiz selenyum eksikliği GSH-Px eksikliğine sebep olabilir. GSH-Px'in plazma biçiminin esas olarak böbrekte sentezlendiğine inanılmaktadır (Roxborough ve ark., 1999; Young ve Woodside, 2001).

GSH-Px hemen hemen tüm dokularda yaygın olarak bulunur, ancak en yüksek konsantrasyonu karaciğerde bulunur. Başlıca subselüler dağılım sitozol ve mitokondriyondur, bu da GSH-Px'in bu subselüler bölmelerdeki H_2O_2 'in ana toplayıcısı olduğunu düşündürmektedir. Enzimin aktivitesi, indirgenmiş glutasyonun sürekli bulunabilirliğine bağlıdır (Holben ve Smith, 1999; Young ve Woodside, 2001).

c. Glutasyon Redüktaz (GSH-Red)

Okside glutasyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü sağlar (Halliwell, 1994; Aydın, 2011).



Bu enzim tarafından GSH'ın arzını doldurması için gereken NADPH, pentoz fosfat yolu ile sağlanır.

d. Katalaz (CAT)

CAT hayvan dokularındaki aerobik hücrelerin çoğunda bulunan bir protein enzimidir. CAT büyük oranda H_2O_2 üretebilen enzimlerin çoğunu içeren peroksizom hücrelerinde bulunur. CAT ve GSH-Px H_2O_2 'i arar ve onu H_2O ve iki atomlu O_2 'e dönüştürür (Sen, 1995; Neeraj, 2013).



e. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olup O_2 'in uzaklaştırılmasını sağlar (Özel ve Birdane, 2014).

1.2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

a. Melatonin

Melatonin bağışıklık, uyku, üreme ve yaz-kış, uzun gün-kısa gün, aydınlık-karanlık siklusün düzenlenmesi gibi birçok biyolojik fonksiyonda yer alan bir hormondur (Reiter, 1998). Melatonin en reaktif serbest radikal olan $OH^\cdot$ 'in nötralizasyonunu sağlar. Melatonin, hem suda hem yağda çözünebilir, böylece geniş bir alanda antioksidan aktivite gösteren güçlü bir antioksidandır (Yazıcı ve Köse, 2004; İşbilir, 2008).

b. Seruloplazmin

Ferro demirin (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltgenmesini sağlar. Bu sayede Fenton reaksiyonunun oluşumunu dolayısıyla $OH^\cdot$ oluşumunu önler (Aydın, 2011; URL-1, 2015).

c. Glutasyon (GSH)

GSH glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan, intraselüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. GSH, GSH redoks döngüsünde bir substrat olarak rolüne ek olarak, aynı zamanda $\text{OH}^\cdot$ ve $^1\text{O}_2$ bir toplayıcısıdır. Doğrudan reaktif oksijenleri süpürebilir veya enzimatik olarak GSH-Px vasıtasıyla çözebilir (URL-3, 2017).

GSH'nin çoğunluğu karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık % 40 safra içinde salgılanır. Safradaki GSH'nin biyolojik rolü, bağırsağın lümeninde diyetdeki ksenobiyotiklere ve lipid peroksidasyona karşı savunma ve bağırsak epitelinin oksijen radikal saldırısından korunmasını sağladığı düşünülmektedir (URL-3, 2017). Neredeyse her yaşayan hücrede bulunur ve mitokondriyanın enerji üretimi için şarttır.

Proteinlerdeki SH gruplarının korunması ve bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanı sıra amino asitlerin transportunda, protein ve DNA sentezinde de önemli rol oynar (Ziegler, 1985; Konukoğlu ve Akçay, 1995). Glutasyon dokularda birbiriyle dengede bulunan, GSH ve GSSG olmak üzere iki şekilde bulunur. İntrasellüler GSH, selenyum içeren GSH-Px enzimi ile GSSG dönüştürülür (Arrick ve Nathan, 1984; Konukoğlu ve Akçay, 1995).

d. Sistein

Vücut tarafından üretilen aminoasitlerden sisteinin bir türü olan N-asetil sistein (NAS), önemli bir antioksidan olan glutasyonun üretilmesine yardım eder. $\text{O}_2^\cdot$ ve $\text{OH}^\cdot$ toplayıcısıdır (Aydın, 2011).

e. Ürik Asit

Endojen radikal bir toplayıcı ve antioksidan gibi davranır. Ürik asit, $^1\text{O}_2$, $\text{RO}_2^\cdot$ ve $\text{OH}^\cdot$ güçlü bir süpürücüsüdür (Halliwell, 1994).

Plazmadaki ürik asit, güçlü radikal temizleme aktivitesine sahiptir (Stinefelt ve ark., 2005; Galano ve Alvarez-Idaboy, 2011; Nimse ve Pal, 2015). Ürik asit, insanlarda bulunan en bol sulu antioksidandır. Plazmada serbest radikal temizleme faaliyetlerinin üçte ikisine katkıda bulunur (Warning, 2002; Nimse ve Pal, 2015). Ürik asit hidrofilik ortamda karbon merkezli radikaller ve $\text{RO}_2^\cdot$ güçlü bir temizleyicisidir. Bununla birlikte, lipid zarlarında radikal süpürücü etkinliğini kaybeder (Muraoka ve Miura, 2003; Nimse ve Pal, 2015).

Ancak, ürik asitin $O_2^{\cdot-}$ süpürüp atamayacağına dikkat etmek önemlidir. Üstelik ürik asit, peroksinitritlerin tamamen temizlenmesi için askorbik asit ve tiyollerin varlığına ihtiyaç duyar. Ayrıca, geçiş metalleri ile bağ yaparak C vitamininin oksitlenmesini engeller (Cereser ve ark., 2001; Kayış, 2010) ve bu özelliği antioksidan aktivitesinden daha önemli bulunmaktadır (Keaney ve Frei, 1994; İşbilir, 2008).

f. Albumin

Albüminin molekül başına bir sülfhidril grubuna sahip olması gerçeğine bağlı olarak, birçok serbest radikallerini temizler (Halliwell, 1994) ve bu nedenle birincil hücre dışı savunma sistemlerinden biri olarak düşünülebilir. LOOH ve HOCl toplayıcısıdır (Aydın, 2011).

g. Bilirubin

HEM metabolizmasının memelilerdeki son ürünlerinden biri olan bilirubin, ürat ve askorbat ile birlikte plazmadaki üç temel antioksidandan biridir (Stryer, 1995; Seven ve Candan, 1996; İşbilir, 2008).

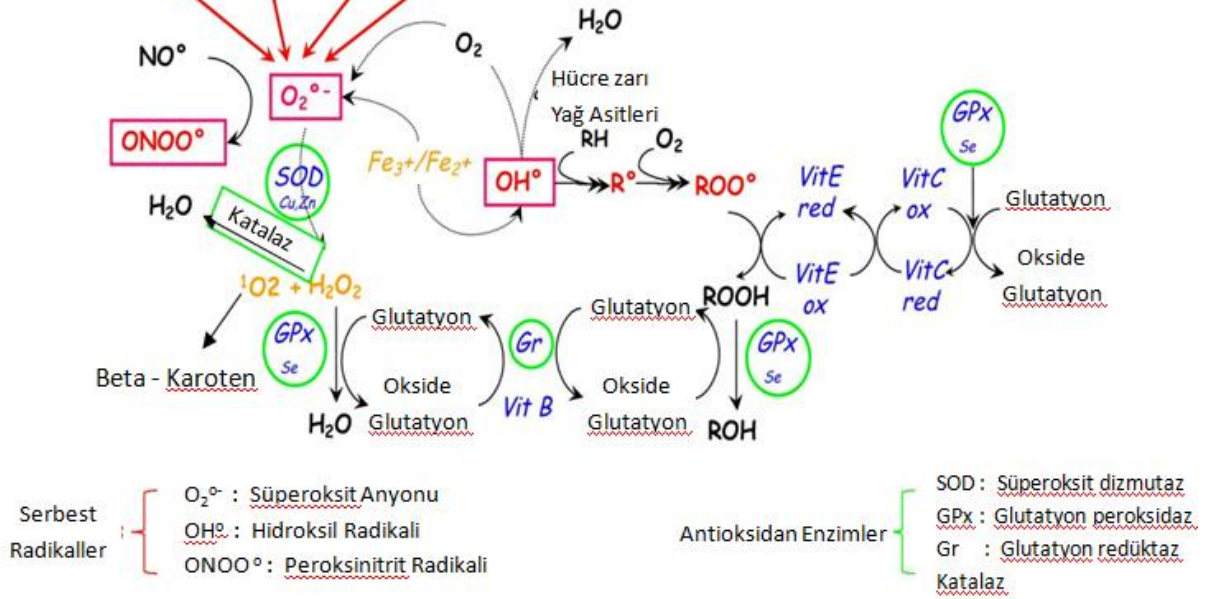
Suda çözünen peroksitleri etkileyerek zincir kırıcı etki gösterir (Kayış, 2010). Düşük konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonunu önlediği gözlenmiştir (Yeşilkaya ve ark., 1998; İşbilir, 2008).

h. Transferrin ve Laktoferrin

Dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar (Aydın, 2011).

Aşağıdaki şekilde de gösterdiği üzer enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler birbirine yakından bağlıdır ve birbirleriyle etkileşime girmiş haldedir. Hem C vitamini hem de GSH, alfa-tokoferol radikallerinin geri dönüşümü ile ilişkilendirilmiştir. Ek olarak selenyum, manganez, bakır ve çinko eser elementleri de besleyici antioksidan kofaktörler olarak önemli roller oynamaktadır. Selenyum GSH-Px enzimi için bir kofaktör ve manganez, bakır ve çinko SOD için kofaktörlerdir (URL-3, 2017).

Çevre kirliliği, Yaşam biçimi, Stres, UV ışınları



Şekil 1.7. Serbest radikal nötralizasyonunda enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların etkisi (URL-7, 2017)

1.2.2. Ekzojen Antioksidanlar

1.2.2.1. C Vitamini

Askorbik asit vücutta sentezlenemeyen ve suda çözünebilir bir vitamindir. Bu sayede, vücudun sudan oluşmuş bölümlerindeki temel antioksidandır. Organizmada birçok bileşik için indirgeyici bir madde olarak işlev görür. Aynı zamanda güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır (Halliwell, 1999; URL-1, 2015).

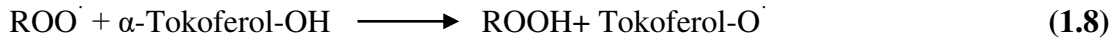
Askorbik asit H_2O_2 , ClO^- , O_2 , $OH^{\bullet}$ ve $RO_2^{\bullet}$ radikalleri ile kolayca reaksiyona girer ve bu radikallerin temizlenmesinde görev alır (Murray ve ark., 1993; Özel ve Birdane, 2014).

Askorbik asit, E vitamini yenilenmesinde görev almaktadır (Halliwell, 1994; Akkuş, 1995).

C vitamini fagositoz için de önemlidir; aktif nötrofillerin sebep olduğu peroksidasyona karşı plazma lipidlerini korur ve güçlü bir hipoklorat gidericisidir (Seven ve Candan, 1996; İşbilir, 2008).

1.2.2.2. E Vitamini

E vitamini, α , β , γ , δ -tokoferol olarak adlandırılan bileşiklere verilen genel bir isimdir. α -Tokoferol, tokoferollerin en güçlü antioksidandır ve aynı zamanda insanlarda en bol antioksidandır (Saldamlı ve Sağlam, 1998; Anıl, 2006). Antioksidan aktivitesi yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkadan kaynaklanır (Akkuş, 1995). α -tokoferol kolayca okside olmaktadır. Bu sayede antioksidan aktivite göstermektedir (Kayış, 2010).



α -Tokoferolün OH grubundaki H atomu kolayca uzaklaştırılabildiği için lipit peroksidasyonu sırasında oluşan $\text{RO}_2^\cdot$ ve $\text{RO}^\cdot$ komşu bir yağ asidi ile birleşmeden doğrudan α -tokoferol ile birleşir. Bu olay zincir reaksiyonunu sonlandırdığı için lipit peroksidasyonu da sonlanmış olur. α -Tokoferol bu etkisinden dolayı zincir kırıcı bir antioksidan olarak adlandırılır (Murray ve ark., 1993; Halliwell, 1999; Blokhina ve ark., 2003; URL-1, 2015). α -Tokoferol, askorbat (May ve ark., 1998; Young ve Woodside, 2001) veya indirgenmiş glutatyon veya ürat gibi bir başka sulu faz zinciri kırma antioksidanı ile reaksiyona girerek yenilenebilir (Kagan ve Tyurina, 1998; Young ve Woodside, 2001).

E vitamini, bir vitaminden çok antioksidan olarak tanımlanır. Bunun nedeni, birçok vitaminin aksine, enzimatik reaksiyonlar için bir eş faktör olarak davranmamalarıdır. Bu nedenle, asıl görevi $\text{RO}_2^\cdot$ yakalamak ve lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu kırmaktır (Burton ve Ingold, 1986; Young ve Woodside, 2001).

E vitamininin yağ dokusunda depolandığı gösterilmiştir. E vitamini, gıdada bulunduğu bir antioksidan gibi davranır ve diğer besleyicileri oksidasyona karşı korur, örneğin A vitamini E vitamini ile korunur (Onyeka, 2005; Elochukwu, 2015).

GSH-Px ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GSH-Px oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller (Aydın ve ark., 2001; Masella ve ark., 2005; Özel ve Birdane, 2014).

Antioksidan rolüne ek olarak, E vitamini zarları dengelemek için yapısal bir role de sahip olabilir (Urano ve ark., 1992; Young ve Woodside, 2001).

1.2.2.3. A Vitamini

Karotenoidler meyve ve sebzelerde bulunan pigmentli mikro besinlerdir. Karotenoidler, A vitamini öncülleri olup antioksidan etkilere sahiptir. 600'den fazla karotenoid bulunmasına karşın, en yaygın biçimler alfa-karoten, beta-karoten, lutein, likopen, krosetin ve zeaksantindir (Sergio ve ark., 1999; Neeraj, 2013).

Antioksidan etkisi yapısında bulunan çift bağlarından ileri gelir. Yapılarındaki çift bağların yerleşik olmayan eşleşmemiş elektronlara bağlanması sonucu antioksidan aktivite gösterirler. Serbest radikaller ile karotenoidler arasındaki ilişkide temel olarak üç mekanizma göze çarpar. Serbest radikallere yeni bir radikal ekleme, yapısından bir hidrojen kopararak radikali etkisiz hale getirme ve yapısından bir elektron transfer ederek radikali yüksüzleştirme şeklindedir (Larson 1997; Özel ve Birdane, 2014).

Beta-karotenin antioksidan fonksiyonu, 1O_2 'i söndürme, serbest radikalleri temizleme ve hücre zarı lipidlerini oksidatif bozunmanın zararlı etkilerinden koruyabilme yeteneğine bağlıdır (Krinsky ve Deneke, 1982; URL-3, 2017).

Karotenoid, özellikle 1O_2 'in etkili bir şekilde temizlenmesini sağlar (Fukuzawa,1998; Young ve Woodside, 2001), aynı zamanda düşük oksijen basıncında $RO_2^{\cdot}$ radikallerini en azından α -tokoferol kadar etkili bir şekilde yakalayabilirler. Karotenoidler diğer reaktif oksijen türleri ile karşılaştırıldığında $RO_2^{\cdot}$ radikallerini daha verimli bir şekilde süpürdüğü bilinmektedir. Bu aktivitesi nedeniyle reaktif oksijen türlerine karşı hücresel membranların ve lipoproteinlerin korunmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Stahl ve Sies, 2003; Nimse ve Pal, 2015).

1.2.2.4. Likopen

Likopen kırmızı renkli bir karotenoiddir. Yapısındaki çift bağ fazlalığı nedeniyle diğer karotenoidlerden daha fazla 1O_2 yakalar. Aynı zamanda H_2O_2 ve NO_2 de zararsız hale getirir. Lenfositleri, azot dioksitin neden olduğu membran hasarından ve hücre ölümünden korurlar. Likopenin antioksidan özellikleri yanında hücreler arası iletişimdeki rolü de hücreleri hastalıklara karşı korur (Cadenas ve Packer, 1996; Özel ve Birdane, 2014).

1.2.2.5. Flavonoidler

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenolik bileşiklerdir. Halka yapılarına göre flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, kateşinler ve izoflavonoidler olarak sınıflandırılır (Bilaloğlu ve Harmandar, 2000; Aydın, 2011).

Antioksidatif etkilerini; enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek, serbest radikalleri yakalayarak gösterirler (Cadenas ve Packer, 1996; Özel ve Birdane, 2014).

1.2.2.6. Koenzim Q

Yağda çözünen tüm membranlarda bulunan bir antioksidandır. E vitamini ile sinerjistik çalışır (Podda, 2001; Derviş, 2011).

Mitokondriyal enerji metabolizmasında rol oynar. Bütün canlılarda çeşitli oranlarda bulunan vitamin benzeri bir antioksidandır. B3 vitamini ile DNA onarımında görev almaktadır. Vücut tarafından sentezlendiği gibi besinlerle dışarıdan da alınabilir (Aydemir ve Sarı, 2009).

Koenzim Q10, radikal formundan E vitamini yenileyebilen ve oksijen radikallerini temizleyebilen ve lipid hücre membranlarının bozulmasını önleyen bir antioksidandır (Sen, 1995; Neeraj, 2013).

1.3. Kestane

Badem, fındık, ceviz, antep fıstığı gibi meyvelerin olduğu gibi kestane de sert kabuklu meyveler grubunda yer alır. Fındık, kestane, ceviz ve pekan cevizi gibi ağaçta yetişen meyveler en yüksek antioksidan içeriğe sahiptir (Blomhoff ve ark., 2006; Barros ve ark., 2011).



Resim 1.2. Kestane

Kestane, *castanea* cinsinin ağaçlarına ve bu ağaçların yenilenebilir tohumlarına verilen genel bir addır. Bilinen 13 kestane türü genellikle kuzey yarımkürede farklı bölgelere yayılmıştır. Bu türlerin doğal yayılış alanları Çin, Kore, Japonya, Türkiye, Güney Avrupa ve Kuzey Amerika'dır. Türkiye bu sıralamada 49.000 ton ile Çin, İtalya ve Kore' den sonra 4. sırada yer almaktadır (MEB 2013).

Türkiye, dünya ölçeğinde birçok meyve türünün kökeni olarak bilinir. Ülkemizde ekolojik koşullarla uyumlu meyve türlerinden biri de kestanedir. Yetiştigi mevsim nedeniyle hüznün meyvesi olarak da adlandırılan kestaneye, bazı yörelerde halk arasında dağların ekmeği adı da verilir. Antik çağlardan beri insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir ve ilk kez Alp Bölgesi'nde yaşayan insanların 4-6 ay boyunca kestane ağırlıklı diyetle geçirdikleri bilinmektedir (Karahocagil ve Tosun, 2004; Karadeniz, 2013).

Kestane, doğada tamamen doğal koşullar altında yetiştirilen ve tarım ilaçları, suni gübre kullanmayan organik bir tarım ürünüdür. *Castanea sativa* Mill. türü Akdeniz havzasında doğal olarak yetişen yerli bir kestane türüdür (Soylu, 2004; Erdal, 2013). Kestane, başta Karadeniz Bölgesi olmak üzere, Marmara Bölgesinin çevresi ve Batı Anadolu'dan Antalya kıyılarına kadar nemli orman bölgelerinde yetişebilmektedir (Soylu, 1984; Erdal, 2013). Karadeniz Bölgesinde kestaneden daha çok kereste yapımı için faydalanılırken, Ege ve Marmara Bölgelerinde ise kestanenin meyve kısmı değerlendirilir (Erdal, 2013).

Kestane meyvesi normal koşullarda % 40-45 su, % 3-6 protein, % 3-5 yağ, % 40-45 karbonhidrat, % 1,3 kül bulunmaktadır. Besleyici ve kalori değeri yüksek bir besin olan kestane B₁, B₂ ve C vitaminleri açısından oldukça zengindir. Kestanede bol miktarda yağ ve protein bulunmaktadır. Ayrıca potasyum, fosfor, magnezyum, klor, kalsiyum, demir, sodyum minerallerini de içermektedir (Şenel ve Eltan, 2016).

100 gr taze kestane (yenebilir kısmı) besin ögeleri (Şenel ve Eltan, 2016):

Kalori (kcal) : 160, Karbonhidrat (g) : 34, Şeker (g) : 9,6, Protein (g) : 3,2, Yağ (g) : 1,8, Sodyum (mg) : 9, Potasyum (mg) : 395

Kestane besleyici değerleri kestane türüne, çeşidine, yetiştiği ekolojik şartlara göre değiştiği gibi uygulanan işleme tekniklerine göre de değişmektedir.

Türkiye’de yetişen başlıca kestane çeşitleri:

Osmanoğlu: Ağacı orta kuvvette ve yayvan gelişir. Verimli bir çeşittir. Meyveleri küçük-orta, iri genişçe oval şekilli, meyve eti krem rengindedir. Eylül ayının üçüncü haftası olgunlaşır.

Sarıslama: Ağacı orta kuvvette ve yarı dik gelişir. Verimli bir çeşittir. Meyveleri orta-iri, genişçe oval şekilli, meyve kabuğu ince kahverengi meyve eti krem rengindedir. Sofralık tüketime ve kestane hamuru yapımına uygun bir çeşittir.

Hacıbiş: Ağacı orta kuvvette ve yayvan gelişir. Verimi orta derecededir. Meyveleri genellikle çok küçük genişçe ovaldır. Meyve kabuğu kalın, meyve eti krem renginde ve kalitesi iyidir. Eylül ayının üçüncü haftasında olgunlaşır.

Hacıömer: Ağaçları orta kuvvette ve yayvan gelişir. Meyveleri orta iriliktir. Verimli bir çeşittir. Eylül ayının üçüncü haftası hasat edilir.

Mahmutmolla: Ağaçları orta kuvvette ve dik gelişir. Verimli bir çeşittir. Meyveler orta iriliktir. Eylül ayının son haftasında hasat edilir.

Kestaneler; meyve, şekerleme, bal ve kereste olarak kullanılır, ayrıca kabukları tanin üretiminde, yaprak ve çiçekleri ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır.

Kestane sağlığa olumlu etki eden önemli bileşenler içermektedir; bunlar L-askorbik asit, E vitamini (Barreira ve ark., 2009; De Vasconcelos ve ark., 2010), karotenoidler (Vasconcelos ve ark., 2010) ve polifenoller (özellikle gallik ve elagik asitler) (Vasconcelos ve ark., 2007, 2009, 2010; Goncalves ve ark., 2010) gibi antioksidanlar bileşiklerdir (Desmaison ve Adrian, 1986; Ribeiro ve ark., 2007; Neri ve ark., 2010; Vasconcelos ve ark., 2010; Barros ve ark., 2011).

Kestanelerin çok düşük bir yağ içeriği vardır, bu yağ içeriği de ağırlıklı olarak doymamış yağ asitlerinden oluşur. Kestanelerin yağ ve yüksek lif içeriği onları sağlık açısından faydalı bir gıda ve iyi bir enerji kaynağı haline getirir. Kestaneler ayrıca kolesterol içermezler ve çok miktarda C vitamini içerirler (Gold ve ark., 2006).

Kestane meyvelerinin (Ribeiro ve diğerleri, 2007) ve yapraklarının (Calliste ve ark., 2005) fenolik bileşikler içerdiği gösterilmiş olmakla birlikte, antioksidan potansiyeli vb. diğer kestane özleri hakkında çok az şey bilinmektedir (Barreira ve ark., 2008).

Fenolik bileşenler, meyve, sebze, tahıl gibi gıdalarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Meyve ve sebzelerin renk, tat ve aromasından sorumludur. Reaktif oksijen türlerine karşı koymak için bitki savunma mekanizmalarında görev yapan başta fenolikler olmak üzere bitkiler tarafından sentezlenen antioksidan bileşiklerin sayısının 4000 ila 6000 arasında olduğu düşünülmektedir (Robards ve ark., 1999; Wollgast ve Anklam, 2000; Havsteen, 2002; Barreira ve ark., 2008).

Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, serbest radikal temizleme, hidrojen bağıışı, $^1\text{O}_2$ söndürme, metal iyonu kenetleme, $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve $\text{OH}^{\cdot}$ radikaller için bir substrat gibi davranma şeklindeki bir dizi farklı mekanizmalarla ilgilidir. Bitkilerin antioksidan kapasiteleri ile toplam fenolik içerikleri arasında doğrudan bir ilişki bulunmuştur (Robards ve ark., 1999; Ferreira ve ark., 2007; Barreira ve ark., 2008).

Diyette mevcut olan veya sentetik olarak hazırlanan doğal antioksidan fenolik asitler ve bunların türevlerinin gelecekteki gelişim için umut verici ajanlar olarak tanımlanan umut verici kemopreventif (kimyasalların zararlı etkilerini önleyici) özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir (Fang ve ark., 2002; Barreira ve ark., 2008).

Çeşitli bileşimlerden ve sağlık araştırmalarından, kestane meyvelerinin ve potansiyel olarak kestane ağaçlarından elde edilen diğer ürünlerin(kereste, kestane unu, kestane balı vb.) işlevsel olarak önemli bir potansiyele sahip oldukları açıktır (De Vasconcelos, 2010).

Son yıllarda pazardaki kestane çeşitliliği, kestanenin kullanım ve tüketim artışına neden olmuştur. Bununla birlikte, tüketiciler daha iyi kalite ve sağlıklı olduğunu düşündükleri için taze kestaneyi tercih etmektedir. Taze kestane genellikle haşlama veya kavurma ile tüketilir.

Bu çalışmanın amacı, kestaneyi haşlayarak ve fırında pişirerek uygulanan ısıl işlemlerin kestanede bulunan antioksidan aktiviteler üzerine etkilerini araştırmaktır. Böylece endüstriyel işlemenin kestanenin besleyici özelliği üzerine etkisi optimize edilebilir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Örneklerin Temini ve Hazırlanışı

Çalışmada kullanılan kestanelerin türü *Castanea sativa* Mill. 'dir. 2015 yılı Ekim ayında Bursa iline bağlı Karacabey ilçesinin Kurşunlu köyünden, Bursa merkeze bağlı Cumalıkızık, Yiğitalı ve Kirazlı köylerinden temin edildi. Kestane çeşidi olarak Osmanoğlu ve Sariaşlama kullanıldı. Çiğ kestaneler iç ve dış kabukları temizlendikten sonra parçalayıcı kullanılarak küçük parçalara ayrıldı. Bu örnekler fiziksel analiz ve antioksidan analizler için kullanıldı.

Haşlanmış kestane için kestaneler kaynar suyun içinde 30 dk pişirildikten sonra iç ve dış kabuklarından ayrıldı ve ezilerek homojen hale getirildi. Örneklerden 5'er gr tartılarak çiğ kestanedeki işlemler tekrar edildi. Fırında pişirilen kestane için kestanelerin üzeri + şeklinde çizildikten sonra fırında 180 °C'de 30 dk pişirildi ve yukarıdaki işlemlerin aynısı uygulanarak analize hazır hale getirildi. Antioksidan aktivite tayini ve fenolik madde tayininde hazırlanmış olan bu örnekler kullanıldı.

2.2. Fizikokimyasal Analizler

Su aktivitesi (a_w); çiğ kestanelerin iç ve dış kabukları soyulduktan sonra blender yardımıyla homojen hale getirildi. Bu homojenattan alınan bir miktar örnek ile su aktivitesi su aktivite tayin cihazı (Novasina, Labmaster) ile 25° C' de ölçüldü.

Toplam kuru madde tespiti için; çiğ kestanelerin iç ve dış kabukları soyulduktan sonra blender yardımıyla homojen hale getirildi, oluşan bu homojen karışımdan önceden darası alınmış petri kapları içerisine 4 g alındı, vakumlu etüvde 70 °C (200 mgHg)'de 24 saat bekletilerek kurutuldu ve daha sonra hassas terazi ile tartımları yapıldı.

Renk ölçümü; kestane meyve eti rengi için kabukları soyulmuş kestaneler Hunter (L^* , a^* , b^*) renk ölçüm sisteminde renk ölçer (Konica Minolta, CR-400, Japan) ile oda sıcaklığında ölçülerek belirlendi. Kestane meyvesinin meyve eti rengi L^* , a^* , b^* cinsinden ölçüldü. L^* parlaklık/koyuluk, a^* kırmızılık (+)/yeşillik (-), b^* sarılık (+)/mavilik (-) değerini ifade etmektedir.

pH tayini için; çiğ kestanelerin iç ve dış kabukları soyulduktan sonra blender yardımıyla homojen hale getirildi, daha sonra bu karışımdan 5 gr örnek alınarak 25 ml saf su ile seyreltilerek süspansiyon hazırlandı. Oluşan süspansiyon 20 dk aralıklarla karıştırıldıktan sonra 20 °C’de pH metre (Thermo Scientific, Orion3Star, Singapur) ile ölçüldü.

Kül tayini için; çiğ kestanelerin iç ve dış kabukları soyulduktan sonra blender yardımıyla homojen hale getirildi, bu karışımdan alınan 4 g örnek, darası önceden alınmış porselen kroze içerisinde tartıldı. Krozelerin içine daha sonra % 95’lik etil alkol dökülerek kömürleşinceye kadar yakıldı. Kömürleşen örnek kül fırınında 550 °C’de siyah nokta kalmayınca kadar yakıldı.

Fiziksel analiz sonuçları için Mann Whitney U testi kullanılarak istatistiki karşılaştırma yapıldı.

2.3. Antioksidan Analizler

2.3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Ekstraktlardaki toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve ark. (1999) metoduna modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Folin- Ciocalteu metodu, yönteme adını veren reaktif vasıtasıyla oluşan renk yoğunluğuna göre absorbens ölçümüne dayanmaktadır (Huang ve ark., 2005). Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Öncelikle kalibrasyon eğrisi çizmek amacıyla 25 mg gallik asit 25 mL’lik balon jojeye alınıp son hacim 25 mL’ye saf su ile tamamlanarak stok çözelti hazırlandı ve bu stok çözeltiden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Daha sonra farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltilerinden 1000 µL alınıp 100 mL’lik balon jojelere koyuldu. Üzerine 45 mL saf su, 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra da % 3’lik Na₂CO₃ çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Böylece toplam hacim 50 mL’ye tamamlandı. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalanarak daha sonra numunelerin absorbensı spektrometrede 720 nm’de saf suya karşı okundu. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbens değerleri grafiğe geçirildi. Aynı işlemler analiz numuneleri için de tekrarlandı. Numunelerin absorbens değerlerine karşılık gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edilerek, sonuçlar gallik asit eşdeğeri şeklinde hesaplandı.

2.3.2. Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktivitenin saptanması için DPPH radikal giderme aktivitesi yöntemi kullanıldı. Antioksidan kapasite sonuçları için Mann Whitney U ve Tek Yönlü Manova ve Duncan çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı.

2.3.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Kestanelerin antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) antioksidan aktivite yöntemine göre belirlendi. 0.1 ml ekstrakt alınarak üzerine 3.9 ml DPPH çözeltisi (6×10^{-5} M) ilave edildi. 30 dakika sonra örneklerin 515 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okundu ve askorbik asit ile çizilen kalibrasyon grafiğine göre örneklerdeki antioksidan aktivite değerleri hesaplandı. Sonuçlar μmol askorbik asit eşdeğeri g^{-1} yaş ağırlık olarak verildi (Sánchez -Moreno ve ark., 1998; Çoklar ve Akbulut, 2015).

2.3.3. Fenolik Bileşik Kompozisyonu

Analizi yapılacak olan kestane örneklerinden 5'er g tartılarak üzerine 25 mL metanol eklendi. Bu karışım 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendi (Centurion Scientific K3 Series). Süpernatant kısmından alınan örnekler $0.45 \mu\text{m}$ 'lik filtreler ile süzülerek HPLC cihazı ile analiz edildi. Okuma sırasında kullanılan kromatogramlar Ekler kısmında gösterilmektedir.

HPLC cihazı (Shimadzu, Japonya), degazör (DGU-20 A5 Promience), pompa (LC-20 AT Promience), dedektör (SPD-M10AVP DAD), otomatik örnekleyici (SIL-10AXL) ve kolon fırınından (CTO-10AS VP) oluşmaktadır. Diğer koşullar ise aşağıda sıralanmıştır;

Kolon : C18 (250x4mm ID)

Mobil Faz A : Metanol

Mobil Faz B : % 2 Asetik asit glasiyel

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin analizinde kullanılan çözücü programlaması

Süre (dk)	A Konsantrasyonu (%)	B Konsantrasyonu (%)
0	0	100
3	5	95
18	20	80
25	20	80
30	25	75
35	30	70
40	40	60
55	50	50
65	60	40
67	0	100
68	0	100

3. BULGULAR

3.1. Fizikokimyasal Analizler

Aşağıda çiğ kestanelere uygulanan bazı fiziksel ve biyokimyasal analizler tablo haline getirilerek gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Çiğ kestanelerde yapılan bazı fizikokimyasal analizler

		Sarıaşılama	Osmanoğlu
Su Aktivitesi		0.784±0.02	0.728±0.01
Toplam Kuru Madde		48.82±1.19	46.96±1.17
pH		7.18±0.05	7.26±0.04
Kül		1.11±0.14	1.27±0.15
Renk	L^*	61.02±3.37	60.01±2.50
	a^*	-0.05	0.29
	b^*	12.94±1.90	11.84±1.20

3.1.1. Su Aktivitesi (a_w)

Tablo 3.2. Kestane örneklerinin su aktivitesi değerleri

Kestaneler	Su aktivitesi
Sarıaşılama	0.784±0.02 **
Osmanoğlu	0.728±0.01

** (p<0.01)

Su aktivitesi değerleri bakımından sarıaşılama çeşidinin su aktivitesi osmanoğlu çeşidine göre daha yüksek ortalama değerler göstermiştir (p<0.01). Beslenme fizyolojisi açısından gıdalarda bulunan vitamin ve minerallerin korunması, işleme ve depolama koşullarına bağlıdır. İşleme ve depolamada özellikle suyun fiziksel ve kimyasal durumu gıdaların kalitesini etkilemektedir. Kestane çeşitleri de bu özellikler dikkate alınarak seçilmelidir.

Su aktivitesi, gıdadaki suyun buhar basıncının, aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı veya gıdaların atmosferden aldığı veya verdiği suyun nispi nem dengesinin 1/100'i şeklinde tanımlanmaktadır (Erdal, 2013). Gıdaların bozulmalarında içerdikleri su niceliğinden çok su aktivitesinin önemli rolü bulunmaktadır. Yaptığımız çalışmada su aktivitesi değeri 0.705–0.844 olarak bulunmuştur.

3.1.2. Toplam Kuru Madde Oranı (%)

Tablo 3.3. Kestane örneklerinin toplam kuru madde oranı değerleri

Kestaneler	Toplam Kuru Madde Oranı(%)
Sarıaşılama	48.82±1.19
Osmanoğlu	46.96±1.17

(p>0.05)

Toplam kuru madde bakımından sarıaşılama ve osmanoğlu çeşidi arasında istatistiki bir fark bulunmadı (p>0.05).

Bütün gıdalar genel olarak su ve katı maddeler olmak üzere başlıca iki kısımdan oluşur. Bunlarda su, gıdanın yöntemine göre ve uygun sıcaklıkta bir kurutma dolabında

tutulmasıyla buharlaştırılarak uzaklaştırılır. Böylece geride katı kısım kalır. Gıdalarda nem tayini genellikle bu yolla yapılır. Suyun buharlaştırılarak uzaklaştırılması ile geriye kalan kısma “toplam kuru madde” adı verilir. Yani bir gıdada toplam kuru madde tayini yapılırken aynı zamanda nem tayini de yapılmış olmaktadır (Cemeroğlu, 2007).

$$\text{Nem Tayini (\%)} : 100 - \text{Toplam Kuru Madde Oranı (\%)} \quad (3.1)$$

Bu çalışmada toplam kuru madde oranlarının % 43.43–51.22 arasında değiştiği tespit edildi. Yani nem oranı % 48.78–56.57 olarak bulundu.

3.1.3. pH

Tablo 3.4. Kestane örneklerinin pH oranı değerleri

Kestaneler	pH
Sarıaşlama	7.18 ± 0.05
Osmanoğlu	7.26 ± 0.04**

** (p<0.01)

Osmanoğlu çeşidinin pH değeri sarıaşlama çeşidine göre önemli düzeyde yüksek bulundu (p<0.01).

pH terimi, etkili asitliği yani; asitlik derecesini veya başka bir ifadeyle asitliğin gücünü tanımlamak için kullanılır. pH'yı etkileyen faktör, aktif hidrojen iyonu konsantrasyonudur. pH ‘hidrojen iyonları konsantrasyonunun negatif logaritmasıdır’ şeklinde de tanımlanabilir. Yaptığımız çalışmada çiğ kestanelerde pH'nın 7.03–7.29 arasında değiştiği görüldü.

3.1.4. Renk

Tablo 3.5. Kestane örneklerinin renk değerleri

Kestaneler	Renk		
	L^*	a^*	b^*
Sarıaşlama	61.02±1.12	-0.05	12.94±0.63
Osmanoğlu	60.01±0.83	0.29	11.84±0.38

(p>0.05)

Renk parametreleri bakımından (L^*, a^*, b^*) sariaşlama ve osmanoğlu çeşidi arasında istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Renk, ışığın spektral dağılımına bağlı olarak ortaya çıkan görsel bir özelliktir. Rengin gıdalarda önem kazanmasının başlıca nedenleri; tüketicici tercihleri açısından gıdanın beğenirliliğinde rol alması; gıdaların rengindeki değişim olgunlaşma ve tat, dokudaki değişimle birlikte bozulma ile ilgili fikir vermesi olmasıdır. Yaptığımız çalışmada ise L^* , 60.52; a^* , 0.13; b^* , 12.39 bulundu.

3.1.5. Kl (%)

Tablo 3.6. Kestane rneklerinin kül oranı değerleri

Kestaneler	Kl (%)
Sariaşlama	1.11 ± 0.14
Osmanoğlu	1.27 ± 0.15

($p>0.05$)

Kül oranı bakımından sariaşlama ve osmanoğlu çeşidi arasında istatistiki bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Kl, gıdalar gibi organik maddeler yakılınca arta kalan gri beyaz renkli inorganik kalıntıdır. Bu kalıntı bize gıdada ne kadar mineral maddenin olduğunu gösterir ve mineral madde miktarı gıdadan gıdaya değişir.

Kestanelerle ilgili yapılan bu çalışmada ise kül miktarı $1.11\text{--}1.27 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ bulunmuştur.

3.2. Antioksidan Analizler

Kestanelerin antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı ve fenolik bileşik kompozisyonları incelendi. Fenolik bileşik kompozisyonu için çiğ, haşlanmış, fırınlanmış kestaneler HPLC cihazı ile analiz edildi.

Kestanelerin antioksidan aktivitesi DPPHradikal giderme aktivitesi ile ölçüldü, toplam fenolik madde içerikleri ise Folin-Ciocalteu ayıracı ve Singleton ve ark. (1999) metodunda değişiklikler yapılarak belirlendi.

3.2.1. Fenolik Bileşikler

Tablo 3.7. Kestane örneklerindeki fenolik bileşik miktarları

Fenolik Bileşikler (mg / kg)	Çiğ	Haşlanmış	Fırınlanmış
(-)-Kateşin gallat	8.27±6.31	TE	3.34±0.08
(-)-Kateşin	TE	TE	TE
(-)-Epigallokateşingallat	TE	TE	TE
(-)Epigallokateşin	40.48±14.18	30.73±4.17	38.31±11.88
(-)-Gallokateşingallat	1.14±0.05	TE	1.71
Klorojenik asit	1.74±0.18*	1.14±0.02	1.45±0.23
Epikateşin	TE	TE	TE
Gallik asit	1.50±0.36	2.97±0.72*	2.09±1.35
Kaempferol	TE	TE	TE
Kerasiyanin klorit	TE	TE	TE
ProsiyanidinB ₂	15.71±4.97	15.77±2.94	22.24±4.63
Protokateşuik asit	6.26±3.25	3.97±1.79	3.82±0.73
Kuersetin-3-glukozit	TE	TE	TE
Rutin	0.96±0.25	3.58±1.10	1.64±0.47

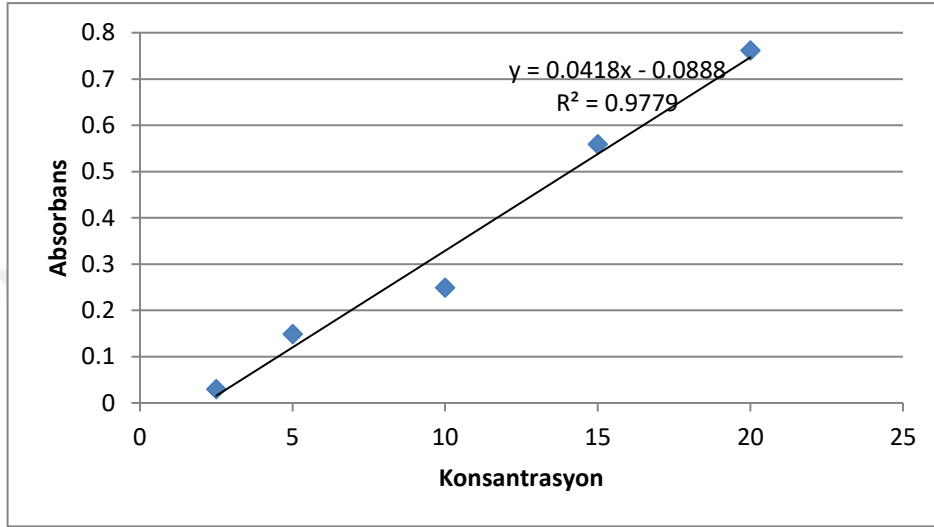
Değerler ortalama ± standart sapma esasına göre. TE: Tespit edilemedi

Yukarıda kestanede bulunan fenolik bileşenler tablo halinde sunulmuştur. Fenolik maddeler arasında klorojenik asit ve gallik asit bakımından haşlama ve fırınlama sonucunda çiğ kestane ile karşılaştırıldığında istatistiki farklılık bulunmuş, diğer fenolik maddeler arasında antioksidan aktivite üzerine önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Haşlama işleminin klorojenik asit miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya, gallik asit miktarı bakımından ise artışa neden olduğu görülmüştür.

3.2.2. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH miktarı aşağıda verilen askorbik asit eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitlikten yararlanarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Kestanelerin DPPH serbest radikal giderme yöntemi ile antioksidan kapasitesinin hesaplanmasında kullanılan standart askorbik asit eğrisi

Tablo 3.8. DPPH yöntemine göre sarılaşma ve osmanoğlu çeşitlerinin toplam antioksidan miktarı

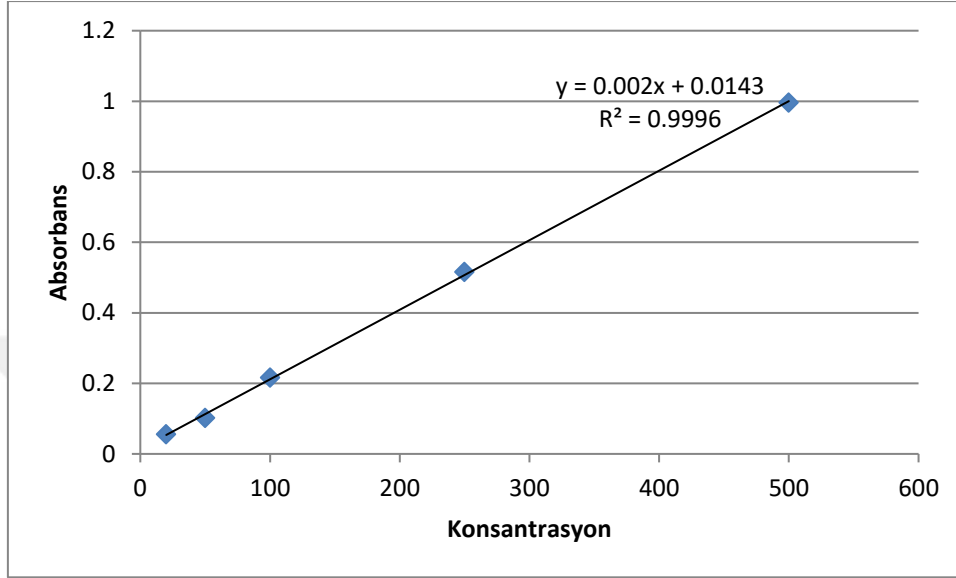
DPPH (μmol askorbik asit eşdeğeri g ⁻¹)	Sarılaşma	Osmanoğlu
Çiğ	0.41±0.01 b	0.42±0.01 b
Haşlanmış	0.3 ±0.04 a	0.30±0.02 a
Fırınlanmış	0.38±0.01 b	0.42±0.01 b

Değerler ortalama ± standart sapma esasına göre dir. Aynı sütundaki değişik harflere sahip ortalamaların farkı istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Her iki çeşitte de çiğ ve fırınlanmış kestanelerin antioksidan kapasiteleri benzerdir ve haşlanmış kesteneden yüksektir (p<0.05). DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite 0.23–0.46 μmol askorbik asit eşdeğeri/g örnek arasında değiştiği tespit edildi.

3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik madde miktarları standart gallik asit eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitlikten yararlanarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Kestanelerin Folin-Ciocalteu fenol ayırıcı yöntemiyle toplam fenolik madde içeriklerinin hesaplanmasında kullanılan tipik bir gallik asit standart eğrisi

Tablo 3.9. Sariaşlama ve osmanoğlu çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarı

Toplam Fenolik	Sariaşlama	Osmanoğlu
Çiğ	121.06±7.45 a	137.28±5.00 a
Haşlanmış	175.11±13.39 b	186.83±23.10 b
Fırınlanmış	144.11±10.46 ab	155.61±5.43 ab

Değerler ortalama ± standart sapma esasına göre. Aynı sütundaki değişik harflere sahip ortalamaların farkı istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$).

Sariaşlama çeşidinde haşlanmış kestane toplam fenolik miktarı fırınlanmış kestane ile benzer, çiğ kestaneden yüksek değerde bulundu. Osmanoğlu çeşidinde haşlanmış kestanenin toplam fenolik miktarı fırınlanmış kestane ile benzer, çiğ kestaneden yüksek değerde bulundu ($p < 0.05$). Toplam fenolik 96–285.5 mmol gallik asit eşdeğeri/g örnek bulundu.

DPPH yöntemine göre haşlama işlemi antioksidan kapasitede anlamlı bir azalmaya neden olurken fırınlama işlemi değışkliğe neden olmadı. Toplam fenolik miktarında haşlama ve fırınlama işlemi ile önemli bir artış olduğu görüldü.



4. TARTIŞMA

Kestanenin biyokimyasal yapısının, % 40-45'ini karbonhidrat, % 3-10'unu protein ve % 1-10'unu ise yağ oluşturur (Jaynes, 1979; Payne ve ark., 1983) ve bu oranlar türüne, çeşidine, yetiştiği ekolojik şartlara göre değişir (Payne ve ark., 1983). Kestane diğer sert kabuklu meyvelerin aksine karbonhidrat bakımından zengin, yağ (% 1.5-2) ve protein (% 2.5-3) açısından fakirdir.

Bu çalışmada kestanenin fizikokimyasal ve antioksidan analizleri yapıldı. Fiziksel analizler genellikle uyumlu bulunmuş, antioksidan analizlerde farklılıklar olduğu görülmüştür. Yapılan fiziksel analizler; su aktivitesi, toplam kuru madde yani dolaylı olarak nem tayini, pH, renk ve küldür.

Yaptığımız çalışmada su aktivitesi değeri 0.705- 0.844 bulundu. Erdal (2013), yaptığı çalışmada iç ve dış kabuğu soyulmuş kestanede su aktivitesini 0.952-0.963 arasında bulmuştur. Bu farklılıklar kestanenin yetiştirilme ortamındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada toplam kuru madde oranlarının % 43.43–51.22 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Yani nem oranı % 48.78–56.57 bulunmuştur. Nem içeriğini; Yıldız ve ark. (2009) 54.84, Otles ve Selek (2012) % 26.14–44.99, Er ve ark. (2013) % 52.6-56.9, Mert ve Ertürk (2017) % 46.52-59.47 bulmuşlardır. Çalışmamızda bulunan sonuçlar önceki sonuçlar ile uyumludur.

Erdal (2013), yaptığı çalışmada L^* 96.07; a^* -3.89; b^* 7.44; Algül ve ark. (2016) ise L^* 89.93; a^* -2.18; b^* 5.20 tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmada ise L^* 60.52; a^* 0.13; b^* 12.39 bulunmuştur. Bu farklılığın sebebi her ne kadar kestaneler toplandıktan sonra uygun koşullarda saklanmış olsa bile bekleme süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ertürk ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada kül miktarını 1.02-3.22 g 100 g⁻¹; Üstün ve ark. (1999) 1.40-4.92 g 100 g⁻¹; Yıldız ve ark. (2009) ise kül miktarını 1.078 g 100 g⁻¹ bulmuşlardır. Mert ve Ertürk (2017) ise 2.09 g 100 g⁻¹ ile 4.39 g 100 g⁻¹ arasında değiştiğini ve ortalama 3.00 g 100 g⁻¹ olduğunu belirtmişlerdir. Kestanelerle ilgili yapılan bu çalışmada ise kül miktarı 1.11–1.27 g 100 g⁻¹ olarak bulunmuştur.

Önceki çalışmalar çoğunlukla çiğ kestanelerin bileşimi üzerinde yoğunlaşmıştır. Farklı pişirme prosedürlerini kullandıktan sonra kestanenin kompozisyonundaki muhtemel değişiklikler hakkında bilgi nispeten sınırlıdır.

Kestane, sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı gittikçe önem kazanmaktadır. Kestane meyveleri gluten içermez ve bu nedenle buğday/tahıl içeren gıdalar yerine kestane ve kestane unundan türetilmiş birçok yeni ürün bulunur. Kestanenin içerdiği temel besin öğeleri ve mineraller açısından iyi bir kaynak olduğu açıktır. Düşük yağ oranı, bu yağdaki yüksek çoklu doymamış yağ asitleri içermesi kestaneyi çok kıymetli kılmaktadır. Serbest şekerler ve yüksek nişasta içeriği ile yüksek enerji içerir.

Doğada kendiliğinden yetişen, bakım istemeyen yani organik bir orman ürünü olarak kabul edebileceğimiz bir meyve olan kestane evde, endüstride birçok alanda kullanım alanı bulmaktadır. Kestane çiğ olarak da haşlanmış, fırınlanmış olarak da iyi bir antioksidan kaynakve besleyici özelliği yüksek olan bir gıdadır. Genel olarak ısı ile antioksidan kapasitesinin arttığını söylemek mümkündür.

Isıl işlem, gıda üretiminde sıkça kullanılan yöntemlerden birisidir. Meyve, sebzelerle ilgili yapılan çok sayıda çalışmada, ısıl işlemin fenolik bileşenler üzerine olumsuz bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Zhang ve Hamauzu (2004), brokolinin antioksidan aktivitesinin ısıl işlem uygulaması sonrası azaldığını belirtmişlerdir (Meral, 2016). Perla ve ark. (2012), farklı patates çeşitlerine ısıl işlem uyguladıkları çalışmalarında ısıl işlemin antioksidan aktiviteyi ve toplam fenolik madde miktarını azalttığını ifade etmişlerdir (Meral, 2016). Isıl işlemin, ısıya duyarlı fenolik bileşiklerin yıkımına sebep olduğu bu yüzden antioksidan aktivitede düşüş olduğu ifade edilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, ısıl işlemin fenolik bileşenlerin miktarını arttırabileceğini de göstermiştir. Bunun sebebinin ise, ısıl işlem ile yeni antioksidan bileşiklerin oluşabileceği, antioksidan aktiviteyi engelleyen enzimlerin inaktivasyonu, bazı fenolik bileşiklerin ısıl işlem ile serbest hale geçmesi şeklinde olabileceği açıklanmaktadır (Pinelo ve ark., 2005). Örnek verecek olursak; Gahler ve ark. (2003), ısıl işlem uygulamasının domatesin antioksidan aktivitesini artırdığını ve bu artışın yapısında bulunan likopen maddesinin serbest kalması sonucu olduğunu ifade etmişlerdir (Meral, 2016).

Shin ve ark. (1981), kavurma işleminin kestanede su içeriğinde azalmaya ve protein içeriğinde hafif bir düşüşe neden olduğunu söylemişlerdir. Öte yandan, Künsch ve ark. (1999), pişirmenin proteinin içeriği üzerinde önemli bir etkisi olmadığını belirtmiştir. Ribeiro ve ark. (2007), kavurma, kaynatma ve kızartmanın kestanenin toplam organik asit içeriğinin önemli oranda azalmasına neden olduğuna karar vermiştir. Buna karşılık, daha önce Künsch ve ark. (2001), kavurmanın kestanenin kompozisyonunda çok az değişikliğe neden olduğunu belirtmişlerdir.

Barros ve ark. (2011); kestanenin toplam C vitamini içeriğini (askorbik asit+dehidroaskorbik asit) ve çiğ ve pişmiş kestanelerde antioksidan aktiviteyi incelemişlerdir.

Kavrulmuş ve haşlanmış kestanede antioksidan miktarı sırasıyla % 51 ve % 88 oranında düşüş gözlenmiştir (Barros ve ark., 2011). Li ve ark. (2016), Çin kestanelerindeki önemli besleyicilerin ve uçucuların içeriği üzerine farklı pişirme yöntemlerinin etkilerini araştırmışlardır. Haşlanmış, kavrulmuş, kızarmış kestanelerin indirgeyici şeker, sükroz, organik asitler ve toplam flavonoidler gibi bileşiklerin, pişirdikten sonra taze kestane çeşitlerinden önemli ölçüde düşük olduğunu tespit etmişlerdir ($p<0.05$). Taze kestane içerisindeki toplam polifenol içeriği (2.24 mg/g) kavurma sonrasında (2.26 mg/g) değişmeden kalmış ve kaynadıktan (2.03 mg/g) ve kızartıldıktan (2.08 mg/g) sonra ise düşmüştür. Toplam flavonoid içeriğinde (2.62 mg/g) de kaynama (2.12 mg/g), kavurma (2.25 mg/g) ve kızartılma (2.13 mg/g) işlemlerinden sonra düşüş görülmüştür (Li ve ark., 2016). Barros ve ark. (2011) ve Li ve ark. (2016) çiğ kestanenin antioksidan değerinin daha yüksek olduğunu ve ısıtma işlemin kestanenin antioksidan değerinde düşüşe sebep olduğunu tespit etmişlerdir, ancak Gonçaves ve ark. (2010) kavrulmuş ve haşlanmış kestanenin antioksidan değerinin çiğ kestaneye göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Gonçaves ve ark. (2010), kestanenin (*Castanea sativa* Mill.) pişirme sırasında metabolik bileşimini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda kavrulmuş kestanenin, galik asit ve toplam fenolik içeriğinin yüksek olduğu ($p < 0.0001$) ve haşlanmış kestane, çiğ kestane ile karşılaştırıldığında daha yüksek galik ve elagik asitlere sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Neri ve ark. (2010) kestanenin antioksidan aktivitesini ABTS yöntemi ile 4.77-8.15 μ moles Trolox eşdeğeri g^{-1} d.w. aralığında olduğunu saptamıştır. Abe ve ark. (2010) kestanenin antioksidan aktivitesini DPPH metodunu kullanarak 6.2 mmol Trolox eşdeğerliği g^{-1} DM olarak ifade etmişlerdir. Otles ve Selek (2012), çiğ kestanelerin toplam antioksidan kapasitelerini FRAP yöntemine göre 9.08-14.15 mM $FeSO_4$ g^{-1} d.m. aralığında değiştiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasitenin 0.23–0.46 μ mol askorbik asit eşdeğeri g^{-1} arasında değiştiği tespit edildi. Elde edilen verilere göre bizim kullandığımız kestanelerin antioksidan değeri diğerlerine göre düşük bulundu.

Er ve ark. (2013), kestane meyvelerinin toplam fenol içeriğini 21.8-24.7 g GAE 100 g^{-1} arasında değiştiğini tespit etmiştir. Neri ve ark. (2010), çiğ kestanenin toplam fenolik içeriğini 112.06 mg GAE g^{-1} d.m., Otles ve Selek (2012) yaptığı çalışmada ise 5–32 mg GAE g^{-1} d.m., Suárez ve ark. (2012) 2.84 $\pm$ 0.67 g GAE kg^{-1} d.w. olduğunu bulmuşlardır. Toplam fenolik 96–285.5 mmol GAE kg^{-1} bulundu.

Fenolik kompozisyon açısından kestanenin kateşin galat, epigallokateşin, gallokteşingallat, klorojenik asit, galik asit, prosiyanidin B₂, protokateşuik asit, rutin içerdiği görülmüştür. Çiğ kestane klorojenik asit bakımından haşlanmış kestaneye göre istatistiki

açıdan yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Haşlanmış kestanede bulunan gallik asit miktarı da çiğ kestaneye göre daha yüksek değerde bulunmuştur. Güçlü bir antioksidan, antimutagenik ve antikarsinojenik ajan olan gallik asidin kestane meyvelerinde yüksek bir içeriğe sahip olduğu bildirilmiştir (Gunckel ve ark., 1998). Gonçalves ve ark. (2010), kestanelerde bulunan fenolik asitlerin çoğunlukla gallik ve ellagik asit olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, bu iki fenolik asidin miktarının pişirme işlemi ile birlikte arttığını da bildirmişlerdir (Gonçalves ve ark., 2010).

Otles ve Selek (2012), kestanenin gallik asit, vanilik asit, rutin, ellagik asit, klorojenik asit, kateşin, kumarik asit, naringin, ferulik asit, siringik+kafeik asit fenolik asitleri içerdiğini ve bütün kestane örneklerinde, vanilik asitin en belirgin fenolik bileşik olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda ellagik asit ve vanilik asit tespit edilmemiştir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, Bursa ilinin farklı yerlerinde yetişen kestanelerin bazı fizikokimyasal analizleri ve DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite ile toplam fenolik madde miktarı ve fenolik bileşik kompozisyonları incelenmiştir.

Serbest radikaller normal metabolizma sırasında oluşan doğal bir yan üründür. Serbest radikali önemli kılan vücuttaki miktarıdır. Vücudumuzda serbest radikal oluşumunu dengede tutmak için savunma sistemleri vardır. Bunlar yetersiz kaldığında DNA, proteinler ve hücre membranları da dahil olmak üzere hücrelerin tüm önemli bileşenlerine zarar verebilir.

Vücut, serbest radikalleri nötralize etmek için kullandığı antioksidanlardan bazılarını yapar. Bu antioksidanlara endojen antioksidanlar denir. Bununla birlikte, vücut, ihtiyaç duyduğu antioksidanların geri kalanını elde etmek için başta diyet olmak üzere dışsal kaynakları kullanmaktadır. Meyve, sebze ve tahıl; besin antioksidanlarının zengin kaynaklarıdır. Kestane de antioksidan içeren yiyecekler arasındadır.

Kestaneler karbonhidrat bakımından zengindir ve esansiyel yağ asitleri ve mineraller için iyi bir kaynaktır (Künsch ve ark., 1999; Borges, Carvalho, Correia, ve Silva, 2006; Borges ve ark., 2008). Buna ek olarak, birçok vitamin ve kayda değer miktarda lif sunarlar (Vaughan ve Geissler, 1997; Borges ve ark., 2008).

Mineral içeriği ile ilgili olarak kestane, K, Mg, Fe, Mn ve Cu için de iyi bir kaynaktır (Borges ve ark., 2008).

Amino asit profili, L-aspartik asit, bunu takiben L-glutamik asit, Lösin, L-alanin ve Arginin tarafından baskındır (Borges ve ark., 2008).

Kestane, diyet lifi, tekli doymamış yağ, omega yağ asitleri ve antioksidan bakımından zengindir. Oleik, linoleik, palmitik asitler gibi mono-doymamış yağ asitlerinin zengin bir kaynağıdır (Barreira ve ark., 2012).

Diyet lifi için mükemmel bir kaynaktırlar; 100 g başına 8.1 g (yaklaşık % 21 RDI) lif sağlamaktadır. Lif, bağırsaklardaki aşırı kolesterol emilimini sınırlandırarak kan kolesterol düzeylerini düşürmeye yardımcı olur (URL– 4, 2017).

Vitamin C bakımından son derece zengindirler. 100 g başına 43 mg vitamin C sağlar (RDI % 72). Güçlü bir antioksidan olarak, zararlı serbest radikallerden koruma sağlar (URL– 4, 2017).

Yapılan araştırma sonucunda, kestane meyveleri üzerine yapılan çalışmalara göre fizikokimyasal analizler genellikle uyumludur. Bazı parametrelerdeki farklılıkların kestanenin tür ve çeşidi, yetiştiği ekolojik şartlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Antioksidan analizlerde ise çiğ kestanede toplam fenolik miktarı bazı çalışmalarla uyumlu bazılarına göre yüksek değerde bulunmuştur. Oluşan farklılığın sebebi genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanabilir. Mevsimsel farklılıklarda kestanenin içeriğini önemli ölçüde etkilemektedir. Ancak aynı zamanda hesaplamada yapılabilecek yanlışlar, ölçmede yapılan hatalar, sistematik hata, rastlantısal hatalar da bu farklılığa sebep olmuş olabilir. DPPH yöntemine göre haşlama işlemi antioksidan kapasitede anlamlı bir azalmaya neden olurken fırınlama işlemi değişikliğe neden olmadı. Toplam fenolik miktarında haşlama ve fırınlama işlemi ile önemli bir artış olduğu görüldü.

Fenolik kompozisyon açısından kestanenin kateşin galat, epigallokateşin, gallokateşingallat, klorojenik asit, gallik asit, prosiyanidinB₂, protokateşuik asit, rutin içerdiği görülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışmada Bursa yöresinde yetişen iki farklı kestane türünün bazı fizikokimyasal ve antioksidan özellikleri belirlenmiş, haşlama ve fırınlamanın kestanenin antioksidan özelliği ve fenolik madde üzerine etkilerine bakılmıştır. Elde edilen verilere göre kestanenin antioksidan değerinden ve fenolik içeriğinden en iyi şekilde faydalanabilmek için fırınlama yönteminin tercih edilebileceği sonucuna varılabilir.

6. ÖNERİLER

Çeşitli sağlık araştırmalarından, kestane meyvelerinin ve potansiyel olarak kestane ağaçlarından elde edilen diğer ekstraktların fonksiyonel gıdalar ya da gıda katkı maddeleri olarak önemli potansiyele sahip oldukları açıktır. Kestanenin genetik kaynakların korunması, geliştirilmesi ve daha etkin ıslah programlarının geliştirilmesiyle, beslenme ve diğer ekonomik açıdan önemli niteliklerin geliştirilmesi mümkündür. Kestanenin insan sağlığına etkilerinin daha anlaşılır olması için metabolizma, gen çalışmaları, çeşitli hastalıklar üzerine etkilerinin araştırılması şeklindeki çalışmalara ağırlık verilebilir.

Kestane meyvelerinin doğal bileşimleri ile ilgili yapılmış çalışmalar azdır. Yapılan çalışmalar genellikle yöresel çeşitlerin toplam karbonhidrat, toplam nişasta, toplam şeker, protein, yağ ve bazı mineral maddelerin tespitinden ibarettir. Bu yüzden kestane verimliliği, hastalıklarla mücadele, hasat, depolama ve sanayinin birçok dalında kullanılması artıracak konulardan seçilmesi daha yararlı olabilir.

Kestane ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle çiğ kestanenin bileşimine yönelik yapılan çalışmalardır. Isıl işlemin kestaneye olan etkisi ile yapılan çalışmalar daha sınırlıdır. Bu konu ile daha çok çalışmalar yapılarak hangi ısıl işlemin ve ne kadar süre uygulanması gerektiği tespit edilerek sağlık deposu olan kestanenin besleyici özelliğinden daha fazla yararlanmak mümkündür.

Kestane üretimi ormandan aşılı ya da aşısız ağaçlardan yapılmaktadır. Bu durum kalite ve verimin düşük olmasına neden olmaktadır. Çünkü ormanlık alandaki ağaçların bakımı, zirai mücadele çalışmaları ve hasadı daha zordur. Kestane hasadı genellikle ağaca sınırlarla vurularak yapılır, bu yöntem ağaçlarda yaralanmalara sebep olur ve hastalıklara açık hale getirir. Kestanenin iklim bağımlılığı yüksektir, mevsimsel değişiklikler kestanenin kalitesini etkiler. Bu sorunları ortadan kaldırmanın yolu verim ve kalite bakımında üstün olan çeşitlerin seleksiyonu ile kurulmuş bahçelerin yaygınlaştırılması ile mümkün olacaktır.

Kestane yetiştiriciliği, depolama ve pazarlama ile ilgili üreticilerin bilgi eksikliğini gidermek veya mevcut bilgilerini artırmak için üreticilerin eğitilmesi ve bu konuda daha detaylı çalışmaların teşvik edilmesi ile hem kalite ve üretimin artması hem de kestanenin en faydalı şekilde kullanılması sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

- URL-1**, 2015. <http://www.mustafaaltinisik.org>, 20.04.2015
- URL-2**, 2017. <http://www.doctorslounge.com/primary/articles/freeradicals/index.htm>, 10.04.2017
- URL-3**, 2017. <http://www.doctorslounge.com/primary/articles/antioxidants/index.htm>, 15.04.2017
- URL-4**, 2017. <http://www.nutrition-and-you.com/chestnuts.html>, 10.05.2017
- URL-5**, 2017. <http://slideplayer.biz.tr/slide/2283007/>, 01.08.2017.
- URL-6**, 2017. http://www.nanowerk.com/nanoparticles_free_radicals_and_oxidative_stress.php, 01.08.2017.
- URL-7**, 2017. <http://newsnaturalusa.com/648/2015/11/27/what-are-our-nidative-system/>, 01.08.2017.
- Abe L.T., Lajolo F.M., Genovese M.I.**, 2010. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 30 (Suppl. 1), 254-259.
- Akkuş, İ.**, 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*. Konya.
- Akyüz, E.**, 2007, *Polygonum bistorta* ssp. *Carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon.
- Algül B. E., Ertan E., Dünder A.**, 2016. Farklı Ambalaj ve Raf Koşullarının Kestane Muhafazası Üzerine Etkileri. *VII. Bahçe Ürünlerinde Muhafaza ve Pazarlama Sempozyumu, 04-07 Ekim 2016*.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM.**, 1993. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci*.90:7915–22.
- Anıl, M.**, 2006. Antioksidan olarak tahıllar. *Hububat - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.

- Arnarson A.,** 2017. Antioxidants Explained in Human Terms. <https://authoritynutrition.com/antioxidants-explained/>, 01.08.2017.
- Arrick BA, Nathan CF.,** 1984. Glutathion metabolism as a determinant of the therapeutic efficacy. *Cancer Res*; 44:4224-32.
- Atasoy E., Altıngöz Y.,** 2011. Dünya ve Türkiye’de Kestanenin Önemi ve Üretimi. *Coğrafya Dergisi*: Sayı 22, Sayfa 1-13.
- Aydemir B., Sarı E.,** 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*: 2 (2): 56-60.
- Aydın H.,** 2011. Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Baboir, B. M.,** 1978. Oxygen dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). *New England J. Med.* 29: 629-668.
- Balcı, N.,** 2007. Sürekli Gürültüye Maruz Kalınan Bazı İş Kollarında Çalışan Kişilerde Serum Total Sialik Asit, Ksantin Oksidaz, Malondialdehit, Nitrik Oksit, Arginaz ve Ornitin Degerleri. Yüksek Lisans Tezi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi*.
- Barreira, J. C. M., Ferreira, I. C. F. R., Oliveira, M. B. P. P., Pereira, J. A.,** 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, 107, 1106–1113.
- Barreira J. C. M., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., Casal, S., Ferreira, I. C. F. R., & Pereira, J. A.,** 2009. Vitamin E Profile as a reliable authenticity discrimination factor between chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5524–5528.
- Barreira J. C. M., Casal S., Ferreira Isabel C.F.R., Peres António M., Pereira J. A., Oliveira M. B.,** 2012. Chemical characterization of chestnut cultivars from three consecutive years: Chemometrics and contribution for authentication. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 2311–2317
- Barros A. I., Nunes F. M., Gonçalves B., Bennett R. N., Silva A. P.,** 2011. Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *Food Chemistry*, 128, 165-172
- Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Cees, J. A. D.,** 1997. Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine*, 91, (Suppl 3C), 30, 3C-2S_3C-13S.
- Beckman KB, Ames BN,** 1997. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem* 272:19633–19636
- Bhattacharya, S.,** 2015. Reactive Oxygen Species and Cellular Defense System. *Free Radicals in Human Health and Disease*. XVI, 60-84.
- Bilaloğlu G. V., Harmandar M.,** 2000. Flavonoidler: Molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri, *Aktif Yayınevi*, İstanbul.

- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V.,** 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann. Bot.*, 91, 179–194.
- Blomhoff, R., Carlsen, M. H., Andersen, L. F., & Jacobs, D. R.,** 2006. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96, S52–S60.
- Borges, O., Carvalho, J., Correia, P., & Silva, A. P.,** 2006. Lipid and fatty acid profile of *Castanea sativa* Mill. nuts of seventeen native Portuguese cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 80–89.
- Borges O. , Goncalves B., Carvalho J. S., Correia P., Silva A. P.,** 2008. Nutritional quality of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars from Portugal. *Food Chemistry* 106, 976–984
- Burton GW, Ingold KU.,** 1986. Vitamin E: applications of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc Chem Res*; 19:194–201.
- Cadenas E, Packer L.,** 1996. Handbook of antioxidants. Marcel dekker New York.
- Calliste, C.-A., Trouillas, P., Allais, D.-P., & Duroux, J.-L.,** 2005. *Castanea sativa* Mill. leaves as new sources of natural antioxidant: An electronic spin resonance study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 282–288.
- Cemeroğlu, B.,** 2007. Gıda Analizleri. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. S45.
- Cereser, C., Guichard, J., Draï, J., Bannier, E., Garcia, I., Boget, S., Parvaz, P. And Revol, A.,** 2001. Quantitation of Reduced and Total Glutathione at the Femtomole Level by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection: Application to Red Blood Cells and Cultured Fibroblasts, *J. Chromatogr. B*, 752, 123–132.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F.,** 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.*, Jul; 49(3), 481–93.
- Cihaner S. S.,** 2009. İndol-Amino Asit Türevi Yeni İlaç Etken Maddelerinin Sentezleri Ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Ankara Üniversitesi*.
- Cooper, C. E., Vollaard, N.B., Choeiviri, T., Wilson, M. T.,** 2002. Exercise, Free Radicals and Oxidative Stres. *Biochem. Soc. Trans.* 30 : 280 – 285.
- Çatalyürek H., Oto Ö., Hazan E., Metin K., Silistreli E., Güner G., Açikel Ü.,** 1998. Soğuk Kan Kardiyoplejisi Tekniğinde Hot Shot Sıcak Uygulaması: Her Zaman Gerekli mi? *GRDC Dergisi*, 6: 457–464.
- Çoklar H.ve Akbulut M.,** 2016. "Olgunlaşma ile Alıç (*Crataegus orientalis*) Meyvesinin Antioksidan Aktivite, Toplam Fenolik Madde ve Fenolik Profilineki Değişim." *Meyve Bilimi* 3.2 : 30–37.

- De Vasconcelos M. CBM, Bennett R. N., Rosa E. AS and Ferreira-Cardoso J. V,** 2010. Composition of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. *J Sci Food Agric*; 90: 1578–1589
- Deaton C.M. and Marlin D.J.,** 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clin. Tech. Equine Pract*, Vol 2, No 3, 278-291.
- Derviş, E.,** 2011. Oral Antioksidanlar. SB. Haseki Eğitim Hastanesi, Dermatoloji Kliniği. *Dermatoz*; 2(1): 263-267.
- Desmaison, A. M., & Adrian, J.,** 1986. La place de la châtaigne en alimentation. *Medicinal Nutrition*, 22, 175–179.
- Devasagayam TPA and Kesavan PC,** 1996. Radioprotective and antioxidant action of caffeine: Mechanistic considerations. *Indian J Expt Biol*; 34, 291-7.
- Devasagayam TPA, Boloor KK and Ramsarma T.,** 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J Bioche Biophys*;40:300-8.
- Devasagayam TPA , Tilak JC , Boloor KK, Sane Ketaki S, Ghaskadbi Saroj S, Lele RD,** 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India*. VOL. 52
- Dikici, İ.** (1999). Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. *Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya*, 73s.
- Elochukwu, C.,** 2015. Generation and Reaction of Free Radicals in the Human Body: A Major Cause of Aging and Chronic Degenerative Diseases. *EC Nutrition* 1.3: 132 136
- Er F., Ozcan M. M., Duman E., Endes Z.,** 2013. Some Chemical Properties Of Chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) Fruit Collected From Different Locations In Turkey. *İnternational Anatolia Academic Online Journal, Scientific Science*, 1 (1), 9-12
- Erdal E.,** 2013. Kestanelerde (*Castanea sativa* Mill.) Hasat Öncesi ve Sonrası Dönemlerde Meyve Kalite Özelliklerinin Değişimi Üzerine Bir Araştırma. *Adnan Menderes Üniversitesi*.
- Ertürk Ü., Mert C., Soylu A.,** 2006. Chemical Composition of Fruits of Some Important Chestnut Cultivars. *Brazilian Archives Of Biology And Technology* Vol.49, n. 2 : pp. 183-188, March 2006 ISSN 1516-8913.
- Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G.,** 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 872–879.
- Ferreira-Cardoso JV., Sequeira CA., Rodrigues L., Gomes EF.,** 1999. Lipid composition of *Castanea sativa* Mill. fruits of some native portuguese cultivars. *Acta Horticulturae* 494:133–138.

- Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L.,** 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal. *Food Chemistry*, 100, 1511–1516.
- Faraci F. M.,** 2003. Vascular Protection. *Stroke*; 34:327-329.
- Frei, B.,** 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action., *The American Journal of Medicine*, 97(Suppl 3A), 26, 3A-5S- 3A-12S.
- Fridovich, I.,** 1975. Superoxide Dismutase. *Ann. Rev. Biochem.*, 44, 147-159.
- Fridovich I.,** 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys*. May 15;247(1):1–11.
- Fukuzawa K, Inokami Y, Tokumura A, et al.,** 1998. Rate constants for quenching singlet oxygen and activities for inhibiting lipid peroxidation of carotenoids and alpha-tocopherol in liposomes. *Lipids*; 33:751–6.
- Gahler, S., Otto, K., Bohm, V.,** 2003. Alterations of vitamin C, total phenolics and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 7962-7968.
- Galano A. and Alvarez-Idaboy J. R.,** 2011. *RSC Adv.*, 1, 1763–1771 .
- Gemma C, Vila J, Bachstetter A, et al.,** 2007. “Oxidative Stress and the Aging Brain: From Theory to Prevention.” In: Riddle DR, editor. *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis;. Chapter 15.
- Gold, M. A., Cernusca, M. S., Godsey, L. D.,** 2006. Competitive market analysis: Chestnut producers. *HortTechnology*, 16(2), 360-369.
- Gonçalves, B., Borges, O., Costa, H. S., Bennett, R., Santos, M., & Silva, A. P.,** 2010. Metabolite composition of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon cooking: Proximate analysis, fibre, organic acids and polyphenols. *Food Chemistry*, 122, 154 160.
- Gunckel, S., Santander, P., Gordano, G., Ferreira, J., Munoz, S., Nunez-Vergara, L. J., et al.,** 1998. Antioxidant activity of gallates: An electrochemical study in aqueous media. *Chemico-Biological Interactions*, 114(1–2), 45–59.
- Gümüştas K, Atukeren P.,** 2008. Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklar ile ilişkisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Türkiye’de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar. *Sempozyum Dizisi*;62;329-340.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.,** 1989. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. *Oxford: Clarendon Press*, 188-196.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.,** 1990. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease. *Methods Enzymol.*, 280, 1-85.

- Halliwell, B., Gutteridge, J. M., & Cross, C. E.,** 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119, 598–620.
- Halliwell, B.,** 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutr. Rev.* 52, 253-265.
- Halliwell, B.,** 1999. Antioxidant Defence Mechanisms: From the Beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.*, 31, 261-272.
- Halliwell B., Clement Mv., Long Lh.,** 2000. “Hydrogen peroxida in the human body.” *FEBS Letter*, 486, 10-13.
- Halliwell B.** 2009. The wanderings of a free radical. *Free Radical Bio Med*, 46: 531-542.
- Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MCW, Barikmo I, Hvattum E, Remberg SF, Wold AB, Haffner K, Baugerod H, Andersen LF, Moskaug JO, Jacobs DR, Blomhoff R.,** 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr*;132:461–471.
- Havsteen, B. H.,** 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96, 67–202.
- Holben DH, Smith AM.** 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J Am Diet Assoc*; 99:836–43.
- İşbilir Ş. S.,** 2008. Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. *Trakya Üniversitesi*.
- Jaynes, R. A.,** 1979. Chestnuts, nut tree culture in North America. Northern Nut Grw. Assoc. Inc. Hamdem, Connecticut 06518. 111-127 pp.
- Kagan VE, Tyurina YY.,** 1998. Recycling and redox cycling of phenolic antioxidants. Towards prolongation of the healthy life span. *Ann N Y Acad Sci*;854:425–34.
- Karadeniz V.,** 2013. Türkiye’de Kestane Tarımı ve Başlıca Sorunları. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*. Cilt: 6, Sayı: 27, 1307-9581.
- Karahocagil, P. ve Tosun, İ.,** 2004. “Kestane”, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Bakış, Sayı: 7, s. 1-4.
- Kayış T.,** 2010. Diazinon’un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimpla Turionellae* L.’nin Eşey Oranı Ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. *Çukurova Üniversitesi*.
- Keaney JF., Frei B.,** 1994. “ Antioxidant protection of LDL and its role in the prevention of atherosclerotic vascular disease.” p.303-309, In: *Natural Antioxidants in Health and Disease*, Ed: Frei B., Academic Pres Inc.

- Konukoğlu D., Akçay T.,** 1995. Glutasyon Metabolizması ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri*. 15: 214-218.
- Krinsky N.I., Deneke S.M.** 1982. Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoid. *J.Natl.Cancer Inst.* 69, 205-209.
- Künsch, U., Scharer, H., Conedera, M., Sassella, A., Jermini, M., & Jelmini, G.,** 1999. Quality assessment of chestnut fruits. *Acta Horticulturae*, 494, 119–122.
- Künsch, U., Schärer, H., Patrian, B., Höhn, E., Conedera, M., Sassella, A., et al.,** 2001. Effects of roasting on chemical composition and quality of different chestnut (*Castanea sativa* Mill) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1106–1112.
- Larson RA.,** 1997. Naturally occurring antioxidants. Lewis publishers. *New York*.
- Li Q., Shi X., Zhao Q., Cui Y., Ouyang J., Xu F.,** 2016. Effect of cooking methods on nutritional quality and volatile compounds of Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume). *Food Chemistry* 201, 80–86.
- Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N.,** 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* Jul;4(8):118-26.
- Machlin, L. J., Bendich, A.,** 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1: 441-415.
- Maltaş E.,** 2011. *Ginkgo Biloba*'nın Kimyasal Ve Moleküler Yöntemlerle Analizi. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi*
- Masella R, Di Benedetto R, Vari R.,** 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *J Nutr Biochem.*; 1610: 577-586.
- May JM, Qu ZC, Mendiratta S.,** 1998. Protection and recycling of alpha-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. *Arch Biochem Biophys*; 349:281 9.
- Meb,** 2013. Kestane Yetiştiriciliği. *Milli Eğitim Bakanlığı*.
- Meral R.,** 2016. Farklı Isıl İşlem Uygulamalarının Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi/ Journal of The Institute of Natural & Applied Sciences* 21 (1):55-67.
- Mert C.ve Ertürk U.,** 2017. Chemical Compositions and Sugar Profiles of Consumed Chestnut Cultivars in the Marmara Region, Turkey. *Not Bot Horti Agrobo*, 45(1).
- Muraoka S. and Miura T.,** 2003. *Pharmacol. Toxicol.*, 93, 284–289

- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K. and Radwell, V.W.,** 1993. Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof.Dr. Biltan Ersöz. *Baris Kitabevi*.
- Neeraj, Pramod J., Singh S. And Singh J.,** 2013. Antioxidants To The Rescue Of Cell Under Invasion Of Free Radicals – A Review. *International Journal Of Basic And Applied Medical Sciences*, 3 (2) May-August, pp.190-200.
- Neri, L., Dimitri, G., & Sacchetti, G.,** 2010. Chemical composition and antioxidant activity of cured chestnuts from three sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) ecotypes from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 23–29.
- Nimse S. B., Pal D.,** 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. <http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/ra/c4ra13315c>, 01.04.2017
- Oğuz A.,** 2008. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Yüksek Lisans Tezi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi*.
- Onat T., Emerk K., Sözmen EY.,** 2002. İnsan Biyokimyası, *Palme Yayıncılık*, Ankara.
- Onyeka UE.,** 2005. “Food & Nutrition, Charismatic Forum Pub”. *Owerri*, Nigeria.
- Otles S., Selek İ.,** 2012. Phenolic compounds and antioxidant activities of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruits. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 4, 199–205.
- Özel G. S., Birdane Y. O.,** 2014. Antioksidanlar. *Kocatepe Vet J.* (2): 41-52
- Payne, J. A., Jaynes, R. A., Kays, S. J.,** 1983. Chinese chestnut production in the United States: practice, problems and possible solutions. *Economic Bot.*, 37 (2): 187-200.
- Perla, V., Holm, d.G., Jayanty, S.S.,** 2012. Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT*, 45: 161-171.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sinerio, J., Nunez, M.J.,** 2005. A thermal treatment to increase the antioxidant capacity of natural phenols: catechin, resveratrol and grape extract cases. *European Food Research and Technology*, 221. 284-290.
- Podda M.,** 2001. Grundmann- Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*; 26: 578-582.
- Rahman, K.,** 2007. “Studies on Free Radicals, Antioxidants, and Co-Factors.” *Clinical Interventions in Aging* 2.2 (2007): 219–236. Web. 14 Dec. 2016.
- Reiter R. J.,** 1998. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog. Neurobiol.*, 56: 359-384.
- Ribeiro, B., Rangel, J., Valentão, P., Andrade, P. B., Pereira, J. A., Bolke, H., et al.,** 2007. Organic acids in two Portuguese chestnut (*Castanea sativa* Miller) varieties. *Food Chemistry*, 100, 504–508.

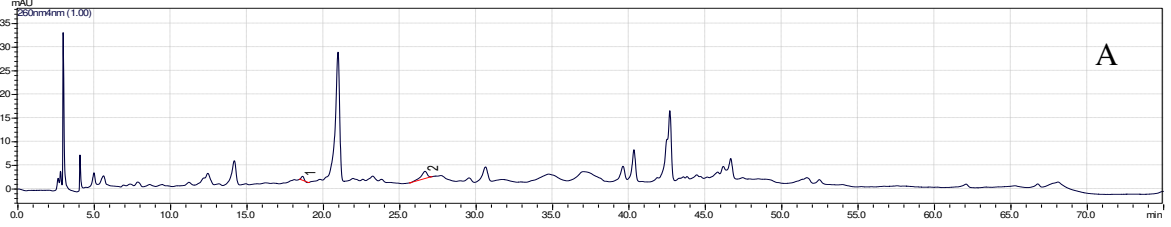
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W.,** 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Roxborough HE, Mercer C, McMaster D,** 1999. Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients. *Nephron*; 81:278–83.
- Saldamlı, İ. ve Sağlam, F.,** 1998. Vitaminler ve mineraller. Gıda Kimyası, Ed: Saldamlı, İ., Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 337-398.
- Sen Chandan K.,** 1995. Oxygen Toxicity And Antioxidants: State Of The Art. *Indian Journal Of Physiology And Pharmacology*, 39(3) 177-196.
- Sergio AR Paiva and Robert M Russell,** 1999. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 18 (5) 426-433.
- Seven A., Candan G.,** 1996: “Antioksidan savunma sistemleri.” *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.
- Shahidi F., Zhong Y.,** 2010. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112, 930–940.
- Shin, D. H., Oh, M. J., & Kim, S. Y.,** 1981. Effect of heat treatments on the chemical composition of flesh in chestnut processing. *Research report in agricultural science and technology* (Vol. 8, pp. 117–125). Korea: Chungnam University.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M.,** 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*. 299:152-178.
- Soylu, A.,** 2004. Kestane Yetiştiriciliği ve Özellikleri, *HASAD Yayıncılık*, İstanbul.
- Soylu A.,** 1984. Kestane Yetiştiriciliği ve Özellikleri. *Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü*. Yayın No: 59, Yalova.
- Suárez M. H. , Galdón B. R., Mesa D. R. , Romero C. D., Rodríguez E.,** 2012. Sugars, Organic Acids and Total Phenols in Varieties of Chestnut Fruits from Tenerife (Spain). *Food and Nutrition Sciences*, 3, 705-715.
- Spencer JPE, Jenner A, Aruoma OI, Cross CE,** 1996. Oxidative DNA damage in human respiratory tract epithelial cells. Time course in relation to DNA strand breakage. *Biochem Biophys Res Commun* 224:17–22
- Stadtman ER.,** 1992. Protein oxidation and aging. *Science*;257:1220-25.
- Stahl W. and Sies H.,** 2003. *Mol. Aspects Med.*, , 24, 345–351

- Steinbeck ML, Khan AU, Karnovsky MJ.**, 1992. Intracellular singlet oxygen generation by phagocytosing neutrophils in response to particles coated with a chemical trap. *J Biol Chem* 267:13425–13433
- Stinefelt B., Leonard S. S., Blemings K., Shi P X. and Klandorf H.**, 2005. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 35, 37–45.
- Stryer L.**, 1995. Biochemistry, 4th Ed., W.H. *Freeman and Company*, New York.
- Szalay J.**, 2016. What Are Free Radicals. <https://www.livescience.com/54901-free-radicals.html>, 29.04.2017.
- Şengül Ü., İlgün R.**, 2017. Giresun/Türkiye Orijinli Doğal Tatlı Kestanelerde İz Element İçeriği. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2): 185-190.
- Şenel R., Eltan C.**, 2016. Kestane Eylem Planı. Bursa Orman Genel Müdürlüğü. <http://bursaobm.ogm.gov.tr/Documents/Subeler/Silvikultur/KEP.pdf>
- Tekkeş Y.**, 2006. Streptozotosin İle Diabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin ve E Vitaminin dokularda Lipid Peroksidasyonu Ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş.
- Thomas MJ.** 2000. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*, 16: 7-8.
- Tongul B.**, 2013. The antioxidant response mechnasims of phanerochaete chrysosporium depending menadione stress factor. *Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Turna, G.**, 2008. Ehrlich Asit Solid Tümör Modeli Olusturulmus Farelerde Thymus Sipleus ve Taurinin Karaciger MDA, Glutatyon, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi), *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı*, Ankara.
- Uğuzlar, H.**, 2009, Antalya’da yetişen *Araceae arum*’un antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Urano S, Inomori Y, Sugawara T, et al.**,1992. Vitamin-E inhibition of retinol-induced hemolysis and membrane stabilizing behavior. *J Biol Chem*; 267:18365–70.
- Uysal M.**, 1998. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*. 11: 336-41.
- Üstün, N.; Tosun Y. and Serdar, Ü.**, 1999. Technological properties of chestnut varieties grown in Erfelek district of Sinop city. *Acta Hort*, 494, 107-110.
- Vasconcelos, M. C. B. M., Bennett, R. N., Rosa, E. A. S., & Ferreira-Cardoso, J. V.**, 2007. Primary and secondary metabolite composition of kernels from three cultivars of Portuguese chestnut (*Castanea sativa Mill.*) at different stages of industrial transformation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3508 3516.

- Vasconcelos, M. C. B. M., Bennett, R. N., Rosa, E. A. S., & Ferreira-Cardoso, J. V.,** 2009. Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.). 2. Crude protein, free amino acids and phenolic phytochemicals. *International Journal of Food Science & Technology*, 44, 2613–2619.
- Vasconcelos, M. C. B. M., Nunes, F., Viguera, C. G., Bennett, R. N., Rosa, E. A. S., & Ferreira-Cardoso, J. V.,** 2010. Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.) 3. Minerals, free sugars, carotenoids and antioxidant vitamins. *International Journal of Food Science & Technology*, 45, 496–505.
- Vaughan, J. G., ve Geissler, C. A.,** 1997. The new Oxford book of food plants. New York: Oxford University Press.
- Warning W. S.,** 2002. *QJM: An International Journal of Medicine*, 95, 691–693.
- Wollgast, J., & Anklam, E.,** 2000. Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33, 423–447.
- Wu D, Cederbaum AI,** 2003. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Res Health* 27(4):277–284.
- Yanbeyi, S.** (1999). Aspirin Ve Antioksidant butylated hydroxyanisole’ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz Ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. *Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı*, Doktora Tezi, Samsun, 88s.
- Yazıcı C., Köse K.,** 2004. “Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü.” *Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-65.
- Yeşilkaya A., Yeğin A., Özdem S., Aksu T.,** 1998. “The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide-treated erythrocytes.” *International Journal of Clinical and Laboratory Research*, 28, 230–234.
- Yıldız M. U., Özcan M. M., Çalışır S., Demir F., Er F.,** 2009. Physico-Chemical Properties Of Wild Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Fruit Grown in Turkey. *World Applied Science Journal* 6 (3): 365-372.
- Young I S, Woodside J V,** 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54:176–186
- Zhang, D., Hamauzu, Y.,** 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88: 503-509.
- Ziegler DM.,**1985. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in Metabolic regulation. *Ann Rev Biochem*; 54:305-2229.

EKLER

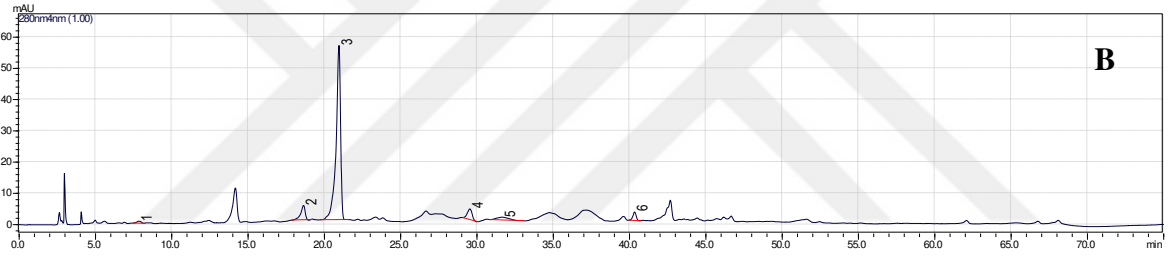
Şekil 8.1. 260 nm kromotogram



1: (-)- epigallokateşin

2: (-)- epigallokateşin galat

Şekil 8.2. 280 nm kromotogram



1: gallik asit

2: (-)- kateşingallat

3: prosiyanidin B2

4: epikateşin

5: gallokateşin galat

6: (-)- kateşin

Şekil 8.3. 294 nm kromotogram



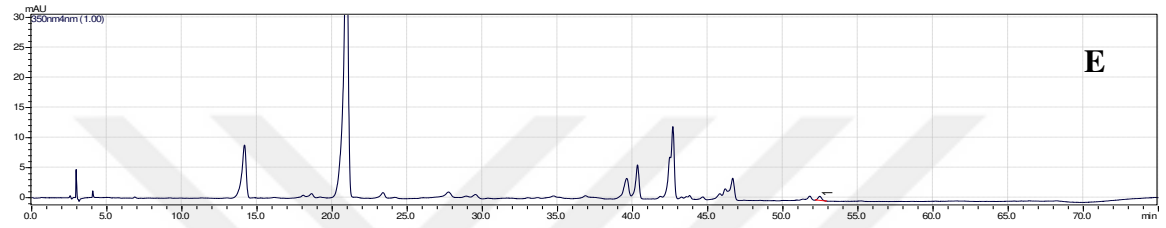
1: prokateşuik asit etil ester

Şekil 8.4. 320 nm kromotogram



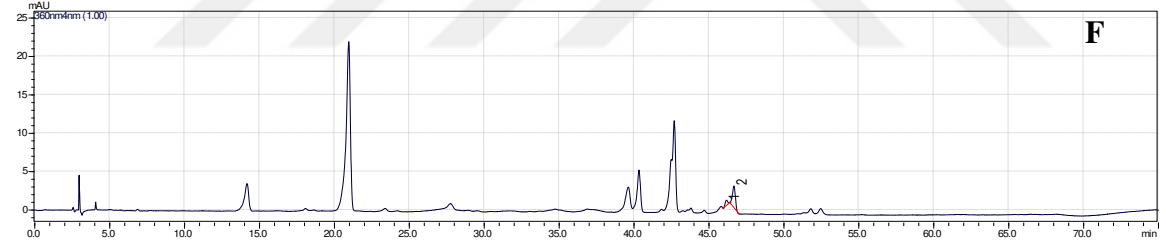
1: klorojenik asit

Şekil 8.5. 350 nm kromotogram



1: kaempferol

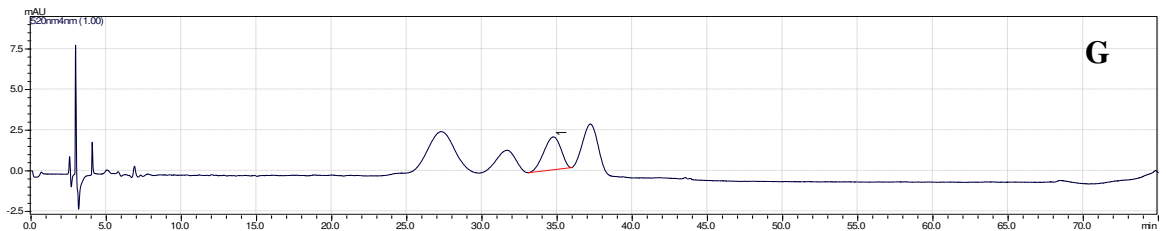
Şekil 8.6. 360 nm kromotogram



1: kuersetin-3-glukozit

2: rutin

Şekil 8.7. 520 nm kromotogram



1: kerasiyanin klorit

ÖZGEÇMİŞ

- Kişisel Bilgiler

Doğum tarihi: 1987

Doğum Yeri: Turgutlu / Manisa

Medeni durumu : Evli

- Eğitim Durumum

1993 - 2001 : Cumhuriyet İlköğretim Okulu - Turgutlu / Manisa

2001 - 2004 : Niyazi ÜZMEZ Lisesi – Turgutlu / Manisa

2005 - 2010 : Süleyman DEMİREL Üniversitesi Gıda Mühendisliği - Isparta

2014 - : Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Müdürlüğü Gıda Mühendisliği Bölümü (Yüksek Lisans)