T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

Zeynep KALAYCI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
2021-ANTALYA

HİNT İNCİRİ (*OPUNTIA FICUS INDICA*) MEYVESİNİN İN VİTRO ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Zeynep KALAYCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2021-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

HİNT İNCİRİ (*OPUNTIA FICUS INDICA*) MEYVESİNİN İN VİTRO ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Zeynep KALAYCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

"Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir"

2021-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme ve Diyetetik Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 22/11/2021

İmza

Tez Danışmanı : ..... ……..
(Ünvanı, Adı Soyadı)
(Üniversite)

Üye : ..... ……..
(Ünvanı, Adı Soyadı)
(Üniversite)

Üye : ..... ……..
(Ünvanı, Adı Soyadı)
(Üniversite)

Üye : ..... ……..
(Ünvanı, Adı Soyadı)
(Üniversite)

Üye : ..... ……..
(Ünvanı, Adı Soyadı)
(Üniversite)

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ……/……./……... tarih ve ……/…….. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Melike CENGİZ

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Zeynep KALAYCI
İmza

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN
İmza

TEŞEKKÜR

‘’Hint İnciri (*Opuntia Ficus Indica*) Meyvesinin İn Vitro Antibakteriyel Ve Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması’’ adlı bu çalışma Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN danışmanlığında hazırlanmış olup, Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstütüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı’na yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek lisans eğitimim boyunca tüm olanak ve bilgilerini sağlayan, tezin gelişimini titizlikle inceleyen ve yöneten sayın hocam Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN’a, araştırmanın yürütülmesinde bilimsel alt yapı imkânlarını sağlayan ve deneyimleriyle çalışmanın verimli olmasına katkıda bulunan Dr. Kübra YILDIRIM, Doç. Dr. Ece ŞİMŞEK ve Serhat BOZKURT’a teşekkürlerimi sunarım.

Hiçbir zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve tüm yaşantım boyunca her zaman yanımda olan sevgili aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Zeynep KALAYCI

Antalya, 2021

ÖZET

Amaç: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre; meyve, sebze ve posa tüketimini artırmak, bulaşıcı olmayan hastalık riskini azaltmak için kilit rol oynayan yaşam tarzı değişiklikleridir. Tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerden olan Hint inciri (*Opuntia ficus indica*) bitkisi, özellikle Akdeniz ikliminin görüldüğü ülkelerde faydalı özellikleri ile bilinmektedir. Bu çalışmada, Hint inciri meyvesinin içerdiği bazı biyoaktif bileşiklerin, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi ve literatüre yeni bilgiler kazandırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda, Hint inciri meyvesinin, toplam fenolik bileşikler, flavonoidler ve antioksidan aktivitesi, spektrofotometrik yöntemle, C vitamini ve E vitamini içeriği kromatografik yöntemle analiz edilmiştir. Antibakteriyel aktivite tayininde metanol, etanol ve su ekstraktları kullanılmış ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda analiz ettiğimiz Hint inciri meyvesinin toplam fenolik bileşik içeriği 57.01 mg Gallik asit eşdeğeri/100 g yaş örnek, toplam flavonoid bileşikler içeriği 22.92 mg Kateşin eşdeğeri/100 g yaş örnek, Kaempferol -3-O-β-rutinoside flavonoid içeriği 1,671 mg/kg yaş örnek olarak bulundu. C vitamini içeriği, 23.84 mg L-Askorbik asit/100 g yaş örnek olarak bulunurken; E vitamini içeriği 1.01 mg α-Tokoferol/100 g yaş örnek olarak bulundu. Meyvenin antioksidan aktivitesi 25.80 mg Trolox eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak bulundu. Su ekstraktı, kullanılan bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermedi. Metanol ekstraktı, *Enterococcus Faecalis*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* izolatların karşı; etanol ekstraktı, *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus'*a karşı antibakteriyel aktivite gösterdi.

Sonuç: Hint inciri, yüksek polifenol içeriği nedeniyle; antioksidan, antiinflamatuar ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Hint incirinin ülkemizde de, gıda ve ilaç sektöründe kullanımı teşvik edilmelidir. Hint inciri meyvesinin günlük diyette tüketimi artırılmalı ve yaygınlaştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: hint inciri, antioksidan, fenolik bileşik, flavonoid, antibakteriyel

ABSTRACT

Objective: According to the World Health Organization (WHO); It is a lifestyle that plays a role in the care of vegetables and pulp, in order not to be affected by the disease. The Indian fig (Opuntia ficus indica) plant, which is a plant in medicinal use, is known to be in good condition, especially in the conditions of the Mediterranean climate. In this study, it is aimed to provide students with bioactive of clue fig fruits, the course of positive and negative results and to give new information to the literature.

Method: In our study, total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of the prickly pear fruit were analyzed by spectrophotometric method, and vitamin C and vitamin E content were analyzed by chromatographic method. In the determination of antibacterial activity, methanol, ethanol and water extracts were used and analyzed by liquid microdilution method.

Results: Total phenolic compound content of prickly pear fruit we analyzed in our study is 57.01 mg Gallic acid equivalent/100 g fresh sample, total flavonoid compounds content is 22.92 mg Catechin equivalent/100 g wet sample, Kaempferol -3-O-β-rutinoside flavonoid content 1.671 mg/kg age was found as an example. Vitamin C content is 23.84 mg L-Ascorbic acid/100 g wet sample; Vitamin E content was found as 1.01 mg α-Tocopherol/100 g wet sample. The antioxidant activity of the fruit was found to be 25.80 mg Trolox equivalent/100 g wet sample. The water extract did not show antibacterial activity against the bacterial strains used. Methanol extract against Enterococcus Faecalis, Escherichia coli and Staphylococcus aureus isolates; The ethanol extract showed antibacterial activity against Enterococcus faecalis and Staphylococcus aureus.

Conclusion: Indian fig, due to its high polyphenol content; It has antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties. The use of Indian figs in the food and pharmaceutical industry should also be encouraged in our country. The consumption of Indian fig fruit in the daily diet should be increased and expanded.

Key words: prickly pear, antioxidant, phenolic compound, flavonoid, antibacterial

İçindekiler

ÖZET i

ABSTRACT ii

TABLOLAR DİZİNİ v

ŞEKİLLER DİZİNİ vi

SİMGELER ve KISALTMALAR vii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1.Vitaminler 7

2.1.1.Yağda Çözünen Vitaminler 7

2.1.2.Suda Çözünen Vitaminler 10

2.2.Fenolik Bileşikler 16

2.3.Serbest Radikaller 19

2.4.Antioksidanlar 27

2.4.1.Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri 30

2.5.Antibakteriyel Aktivite 35

2.6.Klasik Antimikrobiyal Duyarlilik Test (Ast) Yöntemleri 37

2.6.1.Difüzyon Yöntemleri 37

2.6.2.Dilüsyon Yöntemleri 38

3. GEREÇ ve YÖNTEM ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar 42

3.1.3. Çalışmdada Kullanılan Mikroorganizmalar 43

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Araçlar, Besiyerleri Ve Kimysallar 43

3.2.Yöntem 43

3.2.1.Meyve Ekstraktlarının Hazırlanması 43

3.2.2.Toplam Fenolik Bileşikler, Toplam Flavonoid Bileşikler, Flavonoidler, C Vitamini, E Vitamini, Antioksidan Aktivite Tayinleri 44

3.2.3.Meyve ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi 45

4. BULGULAR 46

4.1.Toplam Fenolik Bileşik, Toplam Flavonoid, Flavonoidler Tayini Sonuçları 46

4.2. C Vitamini ve E Vitamini Tayini Sonuçları……..47
4.3.Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları…….47
4.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Sonuçları……48
5. TARTIŞMA 52
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 56
ÖZGEÇMİŞ 65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Opuntia Türlerinin Kimyasal Kompozisyonları	6
Tablo 2.2.	Opuntia Ficus Indica **(**OFI**)** Pulpundaki Antioksidan ve Fitokimyasallar	6
Tablo 2.3.	E Vitamini İçin Önerilen Yeterli Alım Miktarları (AI)	9
Tablo 2.4.	Meyve ve Sebzelerin 100 Gramında Bulunan C Vitamini Düzeyleri	11
Tablo 2.5.	C Vitamini İçin Önerilen Yeterli Alım Miktarları	12
Tablo 4.1.	Toplam Fenolik Bileşik, Toplam Flavonoid, Flavonoidler Tayini Sonuçları	46
Tablo 4.2.	C Vitamini ve E Vitamini Tayini Sonuçları	47
Tablo 4.3.	Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları	47
Tablo 4.4.	Bakteriyel Üreminin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Metanolik Ekstrakt	49
Tablo 4.5.	Bakteriyel Üremenin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Etanolik Ekstrakt	50
Tablo 4.6.	Bakteriyel Üreminin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Sulu Ekstrakt	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	18
Şekil 2.2.	Non Enzimatik, Endojen Ve Ekzojen Antioksidanlar	28
Şekil 3.1.	Çalışmada Kullanılan O. Ficus-Indica Meyvesi	42
Şekil 3.2.	Çalışmada Kullanılan Evaporatör	44

SİMGELER ve KISALTMALAR

SİMGELER

$O_2^{-\bullet}$, $O_2^{\bullet\bullet}$	:Süperoksit, oksijen radikali
$OH^{\bullet}$	:hidroksil
$RO^{\bullet}$	:alkoksiradikali
$ROO^{\bullet\bullet}$	:peroksil radikali
$NO^{\bullet}$	:nitrik oksit
$NO_2^{\bullet}$	:nitrojen dioksit
H_2O_2	:hidrojen peroksit
HOCl	:hipokloröz asit
HOBr	:hipobromöz asit
O_3	:ozon
$^1O_2$	:singlet oksijen
HNO_2	:nitröz asit
NO^+	:nitrosil katyon
NO^-	:nitroksil anyon
N_2O_3	:dinitrojen trioksit
N_2O_4	:dinitrojen tetraoksit
NO_2^+	:nitronyum katyon
ROOH	:organik peroksitler
HCOR	:aldehitler
ONOOH	:peroksinitrit

KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
BOH	: Bulaşıcı olmayan hastalıklar

OFI : Opuntia Ficus Indica

FAO : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

MAD : Malonaldehit

SOD : Süperoksit dismutaz

UVB : Ultraviyole B

MK : Menakinon

IL : İnterlökin

ATP : Adenozin trifosfat

ROS : Reaktif oksijen türleri

RNS : Reaktif nitrojen türleri

DNA : Deoksiribo nükleik asit

NAD(P)H : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

XO : Ksantin oksidaz

NF-KB : Nükleer faktörü kappa B

ORAC : Oksijen radikal absorbans kapasitesi

TRAP : Toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre

TEAC : Trolox eşdeğer antioksidan kapasite

DPPH : 2,2-difenil-1-pikrihidrazil

FRAP : Ferrik indirgeyici antioksidan güç

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

CLSI : Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

EUCAST : Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) tahminlerine göre, 2012 yılında gerçekleşen erken ölümlerin %52'sinin bulaşıcı olmayan hastalıklara (BOH) bağlı olarak gerçekleştiği; ölümlerin %75'inden fazlasının kardiyovasküler hastalık, kanser, diyabet ve kronik solunum yolu hastalığıyla bağlantılı olduğu bildirilmiştir. BOH'ların günümüzde, gelişmekte olan ülkelerin yanı sıra, gelişmiş ülkeler için de önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu düşünülmektedir. DSÖ'ne göre; meyve, sebze ve posa tüketimini artırmak, bulaşıcı olmayan hastalık riskini azaltmak için kilit rol oynayan yaşam tarzı değişiklikleridir (Fraga ve ark., 2019).

Meyve ve sebzeler, esansiyel vitaminler ve mineraller gibi besin ögelerine ek olarak; sağlık üzerinde olumlu etkileri olan, posa, karotenoidler, fitosteroller gibi birçok bitki kaynaklı bileşiği de içermektedir. Özellikle polifenoller olarak adlandırılan fitokimyasallar sınıfı, bulaşıcı olmayan hastalıklarla da ilişkili olan, birçok yarar sağlayabilmektedir. Bu bileşiklerle ilgili yapılan birçok gözlemsel ve randomize klinik çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, umut verici sonuçların ortaya çıktığı söylenebilir (Kennedy, 2014).

Biyoaktif bileşikler, fizyolojik ve hücresel aktiviteleri etkileyerek sağlık üzerine olumlu etkiler sağlayan ikincil metabolitlerdir. Vitaminler, gama aminobütürik asit, fenolik bileşikler, melatonin, karotenoidler vb. biyoaktif bileşiklere örnek olarak verilebilir. E vitamini, C vitamini, A vitamini gibi antioksidan vitaminler ve polifenoller antioksidan etki göstererek, vücudu serbest radikal hasarına karşı korurlar (Bulca, 2014).

Antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel kullanımıyla birlikte oluşan antimikrobiyal direnç, günümüzde büyük bir küresel sorun haline gelmiştir. Antimikrobiyal ajanların zengin bir kaynağı olan bitkisel ilaçlar, tarih boyunca birçok bulaşıcı hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Bitkisel kökenli antimikrobiyaller ile yapılan pek çok çalışmadan elde edilen olumlu sonuçlar, bitkiler ve bitkisel etken maddelerle daha fazla araştırma yapılmasına teşvik etmektedir. Tıbbi bitkiler, potansiyel terapötik etkilere sahip maddelerin ana kaynağıdır. Bitkilerin tohum, kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek gibi

bölümlerinden farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılanarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Fenolik bileşikler de, bitkilerde bulunan ve antimikrobiyal etki gösteren bileşik gruplarından birisidir (Pooja ve Vidyasagar, 2016; Rao ve ark., 2021).

Gıda endüstrisinde mikrobiyal bozulmayı yavaşlatmak ve raf ömrünü uzatmak için gıdalara sentetik koruyucular yaygın olarak eklenmektedir. Ancak taze etler gibi bazı gıda ürünlerine, antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösteren katkı maddelerinin eklenmesi yasaklanmıştır. Bu düzenlemeler sebebiyle, zararlı sentetik gıda katkı maddeleri eklenmeden gıda kalitesinin ve güvenliğinin sağlanmasının önemine yönelik tüketici hassasiyeti her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle son yıllarda bitki kaynaklı doğal bileşiklere yönelik yapılan çalışmalar hız kazanmıştır (Hintz ve ark., 2015).

Sentetik bileşiklere iyi bir alternatif olmalarının yanı sıra, maliyetler açısından da üretiminin kolay olması, antimikrobiyal ve antioksidan bileşiklerce zengin olması ve ucuz hammadde olması, bitki ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanılmasında da avantaj sağlamaktadır (Palmeri ve ark., 2018). Günümüzde sağlık profesyonelleri ve tüketiciler besinlerin ve bunların insan sağlığı üzerine potansiyel yararlarının giderek daha fazla farkına varmaktadır. Besin maddelerinin besinsel bileşimi, biyoaktif bileşikleri ve ayrıca hastalıkların önlenmesi üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle bu alandaki çalışmalara olan ilgi artmıştır. Öte yandan gıda endüstrisi tarafından atıkların azaltılması da Avrupa Komisyonu'nun temel hedeflerinden biri haline gelmiştir. Bu nedenle, Avrupa Komisyonu gıda israfına karşı çeşitli tedbirler almaktadır. Belirlenen çözüm önerilerinden birisi de, yeni ürünlerin formülasyonunda bitkisel yan ürünlerin kullanılmasıdır. Bu nedenle, bitkilerin besin bileşimi ve biyoaktif bileşikler açısından incelenmesi son derece önemli hale gelmiştir (Palmeri ve ark., 2018).

Hint inciri olarak da bilinen *Opuntia ficus-indica*, Meksika kökenli ve Cactaceae familyasına ait bir bitkidir. Bu bitki ayrıca tüm Amerika'da, Afrika, Avustralya ve Akdeniz havzasında yayılım göstermektedir. *O. ficus-indica* kurak iklim şartları altında büyüyebildiği için dünya çapında ilgi görmektedir. Hint inciri, diyette kullanımının yanı sıra, yüksek polifenol içeriği ve antioksidan, antiinflamatuar ve anksiyolitik özellikleri nedeniyle yabancı ülkelerde sağlık alanında da kullanılmaktadır. *O. ficus-indica*, yalnızca

gıda ve yem sağlamak için değil, aynı zamanda sağlığı teşvik eden biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak çok amaçlı bir üründür (Aragona ve ark., 2018; El-Mostafa ve ark., 2014). Bu çalışmada, Antalya bölgesinde yetişen Hint inciri (*Opuntia ficus-indica)* meyvesinin içerdiği fenolik bileşikler, C vitamin, E vitamin içeriği, antioksidan aktivitesi ve antibakteriyel aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Opuntia ficus-indica (L.) Miller, Meksika kökenli ve Cactaceae (kaktüsgiller) ailesine ait bir bitkidir. Güney ve Orta Amerika, Afrika ve Akdeniz'in kurak ve yarı kurak bölgelerinde doğal olarak yetişen bir bitkidir (El-Mostafa ve ark., 2014). Cactaceae (kaktüsgiller) ailesi: Pereskiae, Opuntieae ve Cereae olarak üç gruba ayrılır. Opuntia cinsi: *Platyopuntia, Cylindropuntia, Tephrocactus* ve *Brasiliopuntia* olmak üzere dört alt türe ayrılır. Platyopuntia alt türü, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller'i içeren Ficus-indica grubunu içerir. Farklı yazarlar, türler arası ve cinsler arası hibridizasyonun yanısıra, çevresel koşullara bağlı fenotip değişkenliği nedeniyle bu bitkilerin taksonomileri hakkında belirsizliklere dikkat çekmektedir. Opuntia ficus-indica (L.) Miller'in ana çeşitleri: Gialla di Sarroch, Gialla di Bonacardo, Bianca di Macomer, Gialla di Ozeri, Bianca di Bronte, Rossa di Castelsardo, Hybrid Gialla× Rossa, Nopalea cochenillifera Salm –Dick 'tir (Beccaro ve ark., 2015). Bu sulu bitki zorlu iklim koşullarına iyi uyum sağlar ve düşük su gereksiniminde hızlı bir büyüme gösterir.

Opuntia ficus-indica (L.) Miller'in farklı bölümleri olan meyve, kladodlar ve çiçekler, beslenme özellikleri ve faydaları sebebiyle tarih boyunca insan ve çiftlik hayvanları için besin olarak kullanılmıştır. Geleneksel tıpta kullanımı da yaygındır (Pérez-Torrero ve ark, 2017). Hint inciri meyveleri iki betalain pigmentinin kombinasyonuna göre; sarı, turuncu, kırmızı, mor ve beyaz renklere sahip olabilmektedir (Fernández-López ve Almela, 2001). Farklı renkteki çeşitler arasında, özellikle turuncu ve yeşil meyve pulpu arasında fiziksel ve kimyasal farklılıklar vardır (Méndez ve ark., 2015). Meyveler; meyve suyu, alkollü içecek, reçel ve doğal tatlandırıcı üretiminde kullanılmıştır (Sáenz ve ark., 1998). Genel kladodlar, antioksidan özelliklerinden dolayı, faydalı etkiler göstermektedir (E. M. Galati ve ark., 2003). Çiçekler genellikle sarıdır, aynı zamanda turuncu, pembe, mor, kırmızı ve beyaz da olabilmektedir. Ancak çiçek açma süreleri sınırlı olduğu için, çok az çalışılmışlardır. Ancak geleneksel tıpta, temizlik ve idrar söktürücü özelliklerinden dolayı değer arz etmektedir (Imène Ammar ve ark., 2012). Ayrıca Opuntia ficus-indica çiçeklerinden hazırlanan kaynatma ve infüzyonlar, besin değeri açısından analiz edilmiştir ve mineral (potasyum ve kalsiyum) içeriği açısından zengin bulunmuştur. Ayrıca

fitokimyasal analizinde, polifenoller, flavonoidler ve taninler gibi fitokimyasal içeriklerin varlığı tespit edilmiştir (Imene Ammar ve ark., 2015). Hint inciri tohumları geniş çapta araştırılmıştır. Tohumlar yüksek seviyede kalsiyum, potasyum, magnezyum ve fosfor içeriğine sahiptir; dolayısıyla mikro ve makro minerallerin iyi bir kaynağıdır (Al-Juhaimi ve Özcan, 2013). Yağ asitleriyle ilgili araştırmalarda ise, palmitik, oleik, linoleik ve stearik asit içerikleri öne çıkmaktadır (Matthäus ve Özcan, 2011). Opuntia ficus-indica (L.) Miller tohumlarının nutrasötik ajanlar olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Özcan ve Al Juhaimi, 2011). Ayrıca birkaç çalışmada, Opuntia ficus-indica (L.) Miller kladodlarının uçucu yağ içerikleri analiz edilmiş ve Opuntia littonalis ve Opuntia prolifera gibi diğer Opuntia türlerinin uçucu yağ içerikleri ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalarda Cactaceae ailesinin fitokimyasal çeşitliliği vurgulanmıştır (Wright ve Setzer, 2014).

Günümüzde *O. ficus-indica*'nın gıda ve ilaç endüstrisindeki önemi giderek artmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), bitkinin ekiminin yaygınlaşmasını desteklemektedir (E. Galati ve ark., 2002). Kladodların, gastrit, hiperglisemi, hiperkolesterolomi, ateroskleroz, diyabet, prostatik hipertrofinin tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, gastrointestinal sistem üzerine; hipolipidemik etki bağışıklığı düzenleme yoluyla etki ettiği bildirilmektedir (El-Mostafa ve ark., 2014). Besin endüstrisinde ise bitkinin kladodları, lif ve gıda renklendiricisi gibi jelleşme özellikleri açısından yaygın olarak kullanmıştır (Ayadi ve ark., 2009). Opuntianın farklı ekstraktları, pektin içeriği açısından gıda endüstrisinde jelleşme ve stabilizatör özellikleri nedeniyle de tercih edilmektedir (Lefsih ve ark., 2017).

Son yıllarda bitki ekstraktlarının diyetlerde kullanılması oldukça popüler olmaya başlamıştır (Carbone ve Faggio, 2016). Opuntia Ficus Indica (OFI), Sicilya'nın sembolüdür ve faydalı özellikleri, OFI'nin kimyasal yapısıyla ilgilidir. Birkaç araştırmaya göre; Opuntia meyveleri ve kladodları önemli besin ögelerini yüksek miktarda içermektedir. Opuntia kladodları mineraller, aminoasitler, vitaminler ve sterollerce zengindir. Kimyasal kompozisyonu ve antioksidan vitaminler içeriği Tablo 2.1. ve Tablo 2.2.'de gösterilmiştir (Aragona ve ark., 2018). Ayrıca, Opuntia ficus-indica (L.) Miller'in farklı olgunlaşma aşamalarında yapılan kimyasal analizlerde; yaşlı dikenli kladodların, süt ürünü mevcudiyetinin düşük olduğu ve sindirim güçlüğü çeken bireyler için iyi bir

kalsiyum kaynağı olduğu bildirilmiştir (Hernández-Urbiola ve ark., 2011). Hint inciri meyvesinin Sicilya'da yetişen çeşidinin kimyasal analizinde polifenollerin ve bunların arasında da özellikle flavonoidlerin (rutin ve izorhamnetin türevleriyle temsil edilir) çoğunluğu oluşturduğu ve iyi bir C vitamini kaynağı olduğu gösterilmiştir (E. M. Galati ve ark., 2003).

Son zamanlarda Opuntia ficus-indica (L.) Miller'in su ve etanol ekstraktları, sıçan böbreğindeki kalsiyum oksalat, malonaldehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bu ekstraktlar, antioksidan etki göstermiştir(Partovi ve ark., 2018).

Tablo 2.1. Opuntia Türlerinin Kmyasal Kompozisyonları (Aragona ve ark., 2018)

Toplam lif / posa %	5.37 ± 0.87
Protein %	0.90 ± 0.26
Yağ %	0.50 ± 0.13
Kül %	0.392 ± 0.085
pH	6.32 ± 0.17
Asitlik (g/100g)	0.078 ± 0.034
Na (mg/kg)	6.25 ± 8.22
K (mg/kg)	1583 ± 328
Ca (mg/kg)	263 ± 76
Mg (mg/kg)	251 ± 57
Fe (mg/kg)	1.98 ±0.57
Cu (mg/kg)	0.389 ± 0.095
Zn (mg/kg)	2.05 ± 0.51
Mn (mg/kg)	3.03 ± 1.58
Ni (mg/kg)	0.285 ± 0.10
Cr (mg/kg)	0.109 ± 0.036

Not: Ortalama ± standart sapma

Tablo 2.2. Opuntia Ficus Indica **(**OFI) Pulpundaki Antioksidan ve Fitokimyasallar (Luisa Tesoriere ve ark, 2004)

Bileşik	Değer (100 g pulp için)
C vitamini (mg)	29 ± 2
A-tokoferol (µg)	80 ± 5
B-karoten (µg)	1.5 ±0.2
Betanin (mg)	1.21 ± 0.15
İndiksantin (mg)	9.3 ±0.68
Polifenoller	ND

Notlar: ± 5 lot meyve üzerinde iki kopya halinde gerçekleştirilen 5 belirlemenin standart sapması. ''ND'', tespit edilemez.

2.1. Vitaminler

Vitaminler, vücuttaki metabolik reaksiyonları katalizleyen organik bileşikler olarak tanımlanırlar ve elektron donörü, antioksidan ve transkripsiyon efektörü olarak işlev görürler. Bu zamana kadar on üç vitamin tanımlanmıştır ve eksikliğin görülmemesi için, her bir vitaminin minimum düzeyde alınması gereklidir. Vitaminler, yağda çözünen ve suda çözünen olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Gossweiler ve Martinez-Mier, 2020).

Vücudumuz birçok vitamini üretemez ve bu vitaminlerin besinlerden alınması gerekmektedir. Bu süreçte vitaminin biyoyararlanımını belirleyen; besinin kalitesi ve besin ögelerinin absorbe edilen ve kullanılan miktarıdır. Biyoyararlanım, gastrointestinal absorbsiyonun ve sindirimin ne kadar etkili olduğunu içeren fizyolojik faktörlerden etkilenir veya bu faktörler tarafından regüle edilir. Besin ögelerinin kaynağı ve besin işlemede kullanılan metotlar, biyoyararlanımı etkileyen föktörlerdir (Gibson, 2007). Triptofan aminoasitinden üretilen niasin, 7-dehidrokolesterolden kısa dalga ultraviyole B (UVB) ışınlarının etkisiyle üretilen D vitamini bazı önemli istisnalardır. Bağırsak mikrobiyomumuz, kobalamin (B12 vitaminin), pridoksal fosfat (B6 vitamininin aktif formu), pantotenik asit (B5 vitamini), niasin (B3 vitamini) biotin, tetrahidrofolat ve K vitamini gibi birçok vitamini üretmektedir (Wilson, 2009). Bütün vitaminler için diyetle tavsiye edilen referans alım önerileri, yaş, fizyolojik durum, cinsiyet gibi faktörlere bağlıdır.

2.1.1. Yağda Çözünen Vitaminler

A Vitamini

A vitamini, retinol, retinal, retinoik asit ve provitamin A karotenoidlerini içeren bir grup organik bileşiktir. Retinoik asit, çoğunlukla hayvan dokularında bulunur ve retinolün oksidasyonundan elde edilir. Retinal bir polien kromoforudur ve genellikle opsin olarak bilinen bir dizi proteine bağlıdır. Karotenoidler, bitkiler, algler, bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen organik pigmentlerdir (Kau ve ark., 2011).

A vitamini, hücresel farklılaşmayı sürdürmek, epitel bütünlüğü korumak, kırmızı kan hücresi üretimi ve enfeksiyonlara karşı direnç geliştirmek için gereklidir. A vitamini eksikliği, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir (Akhtar ve ark., 2013). Şiddetli A vitamini eksikliği, görme problemlerine (kseroftalmi) neden olur. A vitamini eksikliği; sıklıkla diyetlerinde yeterli miktarda hayvansal ürün içermeyen toplumlarda, görülmektedir (Akhtar ve ark., 2013).

D Vitamini

D vitamini, güneşten gelen ultraviyole ışınların ciltte bulunan 7-dehidrokolesterol üzerindeki fotolitik etkisiyle üretilen bir hormondur (Combs Jr ve McClung, 2016). 1,25-dihidroksivitamin D veya kalsitriol olarak bilinmektedir ve diyet ve takviyelerinde D2 veya ergokalsiderol ve D3 veya kolekalsiferol olmak üzere iki ana formda bulunmaktadır. D2 ve D3'ün başlıca doğal kaynakları; organ etleri (karaciğer), yağlı balıklar (somon, sardalya, ringa balığı ve ton balığı), yumurta sarısı ve balık yağıdır (Combs Jr ve McClung, 2016).

D vitamini, kalsiyum/fosfat homeostazının sağlanması, kemiğin yeniden şekillenmesinin regülasyonu, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının sağlanmasından sorumludur. Şiddetli D vitamini eksikliği; rikets, osteoporoz, osteomalazi, miyopati, şiddetli hiperparatiroidizm, bağışıklık sistemi ve kardiyak fonksiyonların bozulması ve ölümle ilişkilendirilmektedir (Herrmann ve Obeid, 2010).

D vitamini eksikliği sıklıkla, yeterli güneş ışığına maruz kalmamanın sonucunda (özellikle ultraviyole ışınları) veya D vitamininden zengin besinlerin yeterli düzeyde tüketilmemesi sonucunda oluşmaktadır. Bağırsak, karaciğer ve böbrek hastalıklarında, D vitaminin absorbsiyonu ve dönüşümünün sınırlı olduğu hastalarda eksiklik görülebilmektedir. D vitamini eksikliğinin, inflamatuar bağırsak rahatsızlığı olan çocuklarda yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Pappa ve ark., 2012).

E Vitamini

E vitamini; tokoferol ve tokotrienolleri içeren organik bileşik grubudur. E vitamini doğada, α-, β-, γ- ve δ-tokoferoller ve α-, β-, γ- ve δ-tokotrienoller olmak üzere sekiz

formda bulunmaktadır (Hess, 2017). E vitamininin besinsel içeriği α-tokoferol aktivitesi olarak tanımlanmaktadır. γ- ve β-tokoferol, E vitaminin Amerikan diyetinde en yaygın bulunan iki formudur. γ -Tokoferol en çok margarin, mısır ve soya fasulyesi yağında bulunmaktadır. α-Tokoferol en çok buğday tohumu, ayçiçek ve ayçiçek yağında bulunmaktadır. Vitaminin iki formu da yapraklı sebzeler ve zenginleştirilmiş tahıllarda bulunabilmektedir (Combs Jr ve McClung, 2016).

E vitamini, özellikle α-tokoferol, glutatyon peroksidaz yolağında antioksidan olarak fonksiyon göstermektedir. Aynı zamanda, lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunda üretilen radikallerle reaksiyona girerek, hücre zarını oksidayondan korumaktadır. Enzimatik aktivite ve gen ekspresyonunda da görev almaktadır. Göz ve nörolojik fonksiyonu destekleyici ve trombosit pıhtılaşmasını engelleyici görevleri de bulunmaktadır (Hess, 2017).

Diyet yağı ve yağda çözünen vitaminlerin absorbsiyonunun engellendiği hastalıklarda, E vitamini eksikliği sıklıkla görülebilmektedir. Bu hastalıklara; kistik fibroz, pankreatit ve kolestaz örnek olarak verilebilir (Hess, 2017). Sağlıklı bireylerde E vitamini eksikliği nadirdir ve semptomları 1980'e kadar tanımlanmamıştır. E vitamini eksikliği; kas kütlesi kaybı, zayıflıkla sonuçlanan ataksi, enfeksiyonda artış, anemi, büyümede gecikme, hamilelik döneminde hem annede hem de bebekte olumsuz sağlık çıktılarıyla ilişkilendirilmiştir (Combs Jr ve McClung, 2016).

Tablo 2.3.E Vitamini İçin Önerilen Yeterli Alım Miktarları (TÜBER, 2015)

Yaş (yıl) ve cinsiyet	**E vitamini[1] (mg)**
Çocuk	
2	6
3-4	9
Erkek	
5-9	9
≥10	13
Kadın	
5-9	9
≥10	11
Gebe	11
Emzikli	11

[1]α-tokoferol

K Vitamini

K vitamini; γ-glutamil karboksilaz için kofaktör aktivitesine sahip bileşikler için kullanılan bir terimdir. Sentezlerine göre doğada iki formda bulunurlar: K1 vitamini (yeşil bitkiler tarafından sentezlenir) ve Menakinonlar (anaerobik bakteriler tarafından sentezlenir) (Herrmann ve Obeid, 2010). Menakinon (MK) serisi vitaminler veya menakinonlar, anaerobik bakteriler tarafından üretilmektedirler. Birçok menakinon formu tanımlanmıştır ancak sadece MK-7, -8 ve -9 insan kolonundaki bakteriler tarafından üretilmektedir. İnsan metabolizması için gerekli bir diğer baskın menakinon formu ise, karaciğer ve kan damarları gibi hayvan dokularında bulunan MK-4'tür. En yüksek K1 vitamini, brokoli, ıspanak gibi yeşil yapraklı sebzelerde bulunmaktadır. Aynı zamanda, soya fasulyesi ve kanola yağı gibi bazı katı ve sıvı yağlarda da bulunabilmektedir. MK'lar, peynir ve fermente soya fasulyesi ürünlerinde de bulunabilmetedir (Kau ve ark., 2011).

K vitamininin kan koagülasyonu, kemik metabolizması ve aterosklerozun önlenmesinde rolü bulunmaktadır. Yetişkinlerde K vitamini eksikliği, gizli kanama ve anormal kan koagülasyonuna neden olmaktadır. Bebeklerde, yenidoğanın hemorojik hastalığı ve kanamadan sorumludur (Cozzolino ve ark., 2019).

2.1.2. Suda Çözünen Vitaminler

C Vitamini

Askorbik asit ve dehidroaskorbik asit olarak da ifade edilen C vitamini, biyosentetik ve gen düzenleyici enzim aileleri için güçlü bir antioksidan ve kofaktördür. Monooksijenaz, dioksijenaz ve karışık fonksiyonlu oksijenazlar tarafından katalize edilen biyokimyasal reaksiyonlarda görev almaktadır. Prokolajen genlerin transkripsiyonunu artırarak kolajen sentezini stimüle etmek, C vitaminin başlıca görevlerinden bir biridir. C vitamini, hem doğuştan gelen hem de uyarlanabilir bağışıklık sisteminin çeşitli hücresel işlevlerini destekleyerek bağışıklık savunmasına katkıda bulunmaktadır. C Vitamini, patojenlere karşı epitel bariyer işlevini ve cildin oksidan temizleme aktivitesini destekler, böylece potansiyel olarak çevresel oksidatif strese karşı koruma sağlar (Carr ve Maggini, 2017).

Aynı zamanda karnitin ve katekolamin metabolizması ve diyetle alınan demirin emiliminde görev almaktadır.

İnsanlar C vitamini sentezleyemedikleri için, diyetle almak zorundadırlar. C vitamininin en iyi kaynakları; biber (kırmızı ve yeşil), brokoli, domates, patates, turunçgiller, Brüksel lahanası, karnabahar, lahana, çiğ veya pişmiş yeşil yapraklı yapraklıları da içeren sebzelerdir. Karpuz, papaya, üzüm, kavun, çilek, kivi, mango gibi diğer meyveler yüksek miktarda C vitamini içermektedir. Organ etleri (karaciğer, böbrek, kalp vb.) de C vitaminin iyi kaynaklarındandır.

Şiddetli C vitamini eksikliği; bağ dokusu defektleri ile karakterize olan skorbüte neden olur. Foliküler hiperkeratozis, peteşi, ekimoz, kıvrılmış saçlar, iltihaplı ve kanayan diş etleri, eklem efüzyonları, artralji ve yara iyileşmesinde bozukluklar, C vitamini eksikliğinin bazı klinik göstergeleridir (Gossweiler ve Martinez-Mier, 2020).

Tablo 2.4. Meyve ve Sebzelerin 100 Gramında Bulunan C Vitamini Düzeyleri (TÜBER, 2015)

Besin	**C vitamini (mg)**
Portakal	50
Mandalina	30
Kavun	33,3
Karpuz	6
Çilek	65,3
Üzüm	4
Kivi	71,3
Maydanoz	166,7
Çarliston biber	139,3
Yeşil sivri biber	235,3
Kırmızı biber	140
Brokoli (pişmiş)	61,3
Domates	24,7
Patates (pişmiş)	12,2
Ispanak (pişmiş)	29,3

Tablo 2.5.C Vitamini İçin Önerilen Yeterli Alım Miktarları (TÜBER, 2015)

Yaş (yıl) ve cinsiyet	**C vitamini (mg)**

Çocuk	
2-3	20
4	30
Erkek	
5-6	30
7-10	45
11-14	70
15-17	100
≥18	110
Kadın	
5-6	30
7-10	45
11-14	70
15-17	90
≥18	95
Gebe	+10[1]
Emzikli	+60[1]

[1]Yaş grubuna göre gebe ve emziren kadınlara belirtilen miktarda ek yapılır.

B-Kompleks Vitaminler

B grubu vitaminleri, sekiz bileşikten oluşmaktadır ve bu bileşikler birbirinden farklı özelliklere sahiptir. Bu vitaminler hücresel metabolik aktiviteler için gereklidir (Agte ve Tarwadi, 2010).

B1 Vitamini

B1 vitamini, tiamin veya aneurin olarak da bilinmektedir. Proteinler, karbonhidratlar ve yağların metabolizması için gerekli olan, suda çözünebilen bir vitamindir. B1 vitamini esas olarak organ etleri, tam tahıllar, zenginleştirilmiş veya takviye edilmiş tahıllar, baklagiller, kuruyemişler, nişasta kökleri ve yumruları, kümes hayvanları, balık, yumurta, patates, koyu yeşil sebzeler ve buğday tohumunda bulunmaktadır (Wildman ve Medeiros, 2000). Tahıllardaki tiamin içeriği, öğütme derecesiyle orantılı olarak azalmaktadır. Tiamin ısıya duyarlı bir vitamindir, bu nedenle enzim pişirmeyle tamamen inaktif hale gelebilmektedir (Ball, 2004).

Tiamin eksikliğinde beriberi, Wernicke ensefalopatisi ve birçok farklı nörodejeneratif hastalık ve tiamin difosfat bağımlı enzimlerdeki anormallikle ilişkilendirilen kalıtımsal metabolik hastalıklar görülebilmektedir (Ball, 2004).

B2 Vitamini

B2 vitamini veya riboflavin; riboz benzeri (ribitol) yan zincir içeren ısıya karşı stabil, suda çözünebilen bir vitamindir. Riboflavin doğada; riboflavin5′-fosfat (Flavin mononükleotit) ve riboflavin-5′adenozil difosfat (Flavin adenin dinükleotit) olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Bunlar başlıca; mayalarda ve karaciğer, böbrek gibi organ etlerinde bulunmaktadır. Diğer kaynaklarına, buğday kepeği, süt ürünleri, yumurta ve et örnek olarak verilebilir (Garrow ve Ralph, 2000). Riboflavin, ışığa karşı oldukça hassastır ve pişirme sırasında sodyum bikarbonat eklenmesi, riboflavinin fotodegredasyonunu artırmaktadır (Combs Jr ve McClung, 2016).

Riboflavin, yağlar, keton cisimcikleri, karbonhidratlar ve proteinlerin metabolizması için elzem bir vitamindir. Eksikliği nadir olarak görülmektedir. Yaşlı bireylerde, kronik alkoliklerde riboflavin eksikliği görülebilmektedir. Eksiklik; alında ve burunda seboreik folilüler hiperkeratozis, anogenital bölgenin dermatiti ve kornea vaskülarizasyonuna bağlı yoğun fotofobi ile ilişkilendirilmektedir (Ball, 2004). Ayrıca dudaklarda (keylozis), ağzın kenarlarında (angular somatit), dilde (çatlak ve magenta renklenme) ve mukozada (tekrarlayan aftöz ülserler) da riboflavin eksikliğinin semptomları görülebilmektedir (Kennedy, 2016).

B3 Vitamini

B3 vitamini veya niasin, nikotinik asit veya nikotinamid (doğal türevi) olarak bulunmaktadır. Niasin diyette, L-triptofandan sentezi ve kırmızı et , balık, organ eti (karaciğer), tam tahıl, baklagil, mantar ve kuruyemişlerin tüketimi yoluyla olmak üzere iki yoldan sağlanmaktadır (Ball, 2004).

Hem nikotinik asit hem de nikotinamid, vücutta oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında görev alan nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) koenzimlerinin öncüsü olarak fonksiyon göstermektedirler (Kennedy, 2016). Niasin eksikliği; demans varlığı (sanrılar, sinirlilik ve depresyonla ilişkili), dermatit (pigmentasyon ve derinin incelmesi ile oluşan eritemle ilişkili), diyare (gastrointestinal mukozal inflamasyon, anoreksiya ve kilo kaybıyla ilişkili) ile karakterize olan pellegranın

birincil nedenidir ve tedavi edilmezse ölüme yol açabilmektedir. Niasin eksikliğinde, glossit, stomatit, burun çevresinde kızarıklık, keylozis gibi ağız içi belirtiler de görülebilmektedir (Thomas ve Mirowski, 2010).

B5 Vitamini

B5 vitamini, pantotenik asit olarak da bilinmektedir. B5 vitamini, koenzim A ve açil taşıyıcı protein olmak üzere metabolik olarak aktif iki forma sahiptir. Mantar, baklagiller, yumurta, avokado, süt, lahana, organ etleri (karaciğer, böbrek, kalp), fıstık, tam tahıllar ve maya, B5 vitaminin en iyi kaynaklarındandır (Combs Jr ve McClung, 2016).

Pantotenik asit eksikliği nadirdir ve semptomlarını, diğer B grubu vitaminlerinin semptomlarından ayırmak zordur. Ayaklarda hassasiyet ve karıncalanma görülen yanan ayak sendromu, baş ağrısı, yorgunluk, motor fonksiyonlarının bozulması, kas krampları, sindirim sisteminde bozukluk ve kusma, B5 vitamini eksikliğinde görülen semptomlardandır (Wildman ve Medeiros, 2000).

B6 Vitamini

B6 vitamini vücutta, piridoksin veya piridoksol (alkol formu), pridoksal (aldehit formu), piridoksamin (amin formu) olmak üzere üç ana formda bulunmaktadır. Pridoksal ve piridoksamin formları fosforize formlarında, yağsız et, balık, yumurta ve süt ürünlerinde bulunuken; piridoksin formu ve glikolize formları, işlenmemiş tam tahıllar, maya, patates, kepek, tohum ve diğer sebzelerde bulunmaktadır. B6 vitamini ısıya karşı hassas bir vitamindir ve metabolizması, kronik alkol kullanımından etkilenebilmektedir (Wildman ve Medeiros, 2000).

B6 vitamini eksikliği, merkezi sinir sistemini etkiler ve özellikle bebek ve çocuklarda diğer davranışsal anormalliklerin yanında; yetersiz γ-aminobütirik asit sentezi sonucu konvülsiyonlara neden olabilmektedir. Depresif semptomlar ve periferal nörit sık gözlemlenmektedir. Eksiklik sonucunda büyümede gerilik, normositik anemi, plazma homosistein seviyesinin yükselmesi, yetersiz antikor oluşumunun yanında; zayıflık, sinirlilik, uykusuzluk gibi belirtiler de rapor edilmiştir. Ağız, burun ve göz çevresinde lezyonlu dermatit de yaygın bulgulardandır. Vitamin eksiliğinin ağız sağlığındaki

yansıması ise; ağız ülserleri, halitozis, şiddetli diş eti iltihabı ve ağrıdır (Brown ve ark., 2020).

B7 Vitamini

B7 vitamini veya biotin; valerik asit zincirleriyle birlikte bir sülfür grubu ve üreido grubu içeren, bisiklik bir imidazol halkasıdır. Biotinin en iyi kaynakları; organ etleri, yumurta sarısı, bira mayası, baklagiller, kuruyemişler, soya unu, soya fasulyesi, tam tahıllar ve bazı okyanus balıklarıdır. Yumurta sarısı, biotinin iyi bir kaynağı olmasına rağmen; yumurta beyazında bulunan avidin proteini, biotine yüksek afinite göstermekte ve emilimini azaltmaktadır (Wildman ve Medeiros, 2000). Biotin, yağ asidi biyosentezi, glukoneogenez, bazı aminoasitlerin ve yağ asitlerinin katabolizması gibi birçok metabolik reaksiyona katılan beş karboksilaz enziminin kofaktörü olarak görev almaktadır (Said, 2011).

Biotin eksikliğinde görülen yaygın bulgular; yorgunluk, mide bulantısı, kuru pullu cilt, anemi, yüksek serum kolesterolü, dermatit, konjunktivit, alopesi, ataksi ve gelişimsel geriliktir.

B9 Vitamini

B9 vitamini veya folat, deoksitimidilat sentezi, pürin sentezi ve çeşitli metilasyon reaksiyonları için gerekli olan tek karbonlu birimleri transfer etmek için bir koenzim olarak işlev görmektedir. Organ etlerinde (karaciğer), zenginleştirilmiş kahvaltılık gevrekler, pişirilmiş kuru fasulye, kuşkonmaz, ıspanak, brokoli ve avokado, folat kaynaklarına örnek olarak verilebilir (Wildman ve Medeiros, 2000).

Folat yetersizliği, megaloblastik makrositik anemiye neden olmaktadır. Bu anemi türünde, kırmızı kan hücreleri büyük, olgunlaşmamış ve sayıları da azdır. Bu durum, kanın oksijen taşıma kapasitesini düşürmektedir. Maternal folat eksikliği, yavrularda nöral tüp defekti (NTD) ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca beslenme folat durumu ile, kardiyovasküler hastalık, kanser, bilişsel işlev bozukluğu gibi kronik hasalıklar arasında ilişki olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (Ebara, 2017).

B12 Vitamini

B12 vitamini veya kobalamin, tamamen diyetten elde edilebilen esansiyel bir vitamindir. Ayrıca insanlarda kolonda yerleşik bakteriler tarafından doğal olarak sentezlenebilmektedir. Vitaminin aktif formlarının merkezinde bir kobalt atomu bulunur ve porfirin halkasından oluşur. Diyette B12 vitamini; et ve balık (adenozil- ve metilkobalamin içerir), süt ürünleri (daha çok hidroksikobalamin olarak sütte bulunur), konserve et ve balık (sülfitokobalamin), yumurta beyazı, peynir, haşlanmış mezgit balığı (siyanokobalamin) gibi kaynaklardan sağlanmaktadır (Gossweiler ve Martinez-Mier, 2020).

Uzun dönemli proton pompa inhibitörü kullanımı veya non-steroidal anti-inflamatuar ilaç kullanımı, gastrotoksik etkilerinden dolayı, B12 vitamininin emilimini etkileyebilmektedir. Emilimde bozulma sonucunda anemi ve demir eksikliğinin yanısıra, diğer mikrobesin ögelerinin eksikliğine de neden olabilmektedir (Yu ve ark., 2017). B12 eksikliği, anormal büyüklükte, gelişmemiş kırmızı kan hücreleri (makrositik megaloblastik anemi) ile karakterizedir. Vitamin eksikliği ayrıca, nörolojik problemlere, açıklanamayan vücut ağırlığı kaybına, ciltte koyulaşmaya, kırmızımsı saça, tırnaklarda pigment değişikliklerine yol açabilmektedir. B12 vitamin eksikliği ayrıca, glossit, aftöz somatit, dilde yanma ve kızarıklık, angular somatit ve disfaji ile ilişkilendirilmiştir (Green ve ark., 2017).

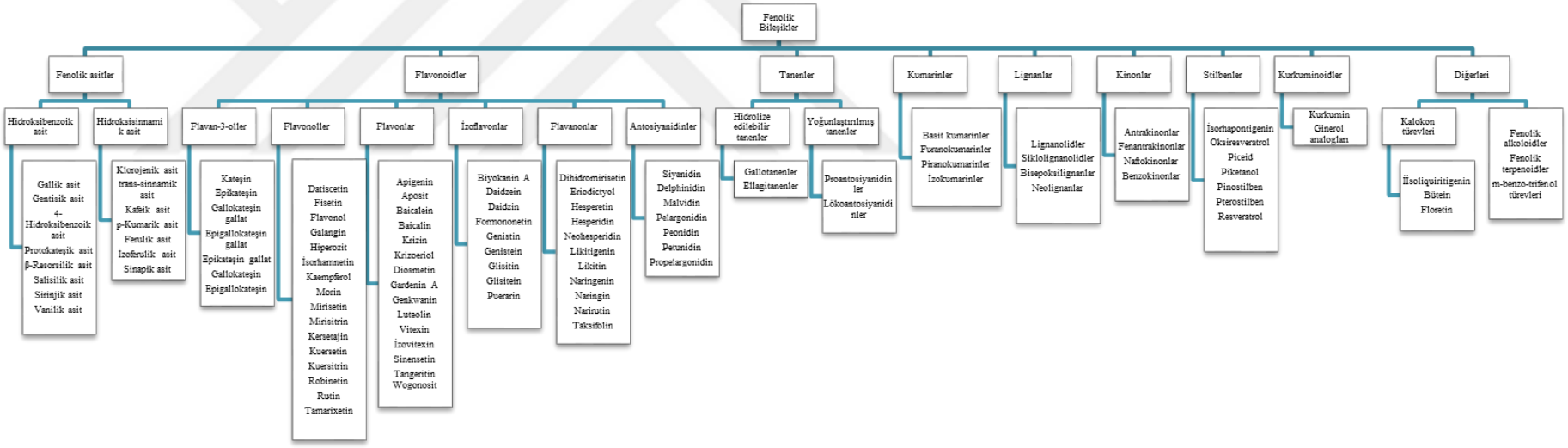
2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, en az bir fenol birimi içeren yapılarıyla karakterize edilen bir grup küçük moleküldür. Kimyasal yapılarına göre fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kumarinler, lignanlar, kinonlar, stilbenler ve kurkuminoidler gibi farklı alt gruplara ayrılmaktadır. Fenolik bileşiklerin kategorileri ve bunların temsili bileşikleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Gan ve ark., 2019).

Vitaminler, minearller ve diğer besin ögelerinin aksine, bitki polifenollerinin yetersiz alımı, yetersiz alıma bağlı spesifik bir hastalık gelişimiyle ilişkilendirilemediği için; bu besin ögelerinin uygun referans alım değerlerinin belirlenmesi zorlaştırmaktadır (Lupton ve ark., 2014).

Doğal olarak oluşan flavonoidler, bitkilerde glikoze veya non glikolize edilmiş konjugatlar olarak depolanır. Bu durum insanlarda daha sonraki biyoyararlanımı etkileyebilmektedir. Flavonoidler ince bağırsaktan emilebilmekte ve sistemik dolaşıma girmeden önce faz II enzimleri tarafından metabolize edilmektedir. Bazı diyet flavonoidleri ince bağırsaktan emilirken; önemli bir miktarı da kalın bağırsağa girmektedir. Burada intestinal mikrobiyota, dekonjuge metabolitleri ve aglikonları, fenolik asitler gibi daha kolay emilebilen moleküllere indirger (Selma ve ark., 2009).

Polifenollerin sağlık üzerine birçok olumlu etkisi bulunmaktadır. Polifenollerin birincil etki mekanizmasının başlangıçta doğrudan antioksidan özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmekteydi. Ancak in vivo ortamlarda bu bileşiklerin serbest radikalleri süpürme etkisi gösterebilmesi için birçok dokuda yeterli düzeyde bulunması gerekmektedir. Bu bileşiklerin, hücre içi ve hücre dışı sinyal yolakları üzerinde çok yönlü etkileri, birçok olası biyokimyasal ve moleküler mekanizma ile tanımlanmıştır. Bu etkileri; nükleer transkripsiyon faktörlerini ve yağ metabolizmasını regüle ederek, tümör nekrozis faktör α, interlökin (IL)-1β, ve IL-6 gibi inflamatuar sitokinlerin sentezini düzenleyerek göstermektedirler (Fraga ve ark., 2018; H.-S. Kim ve ark., 2014). Örneğin bazı flavonoidler; insülin sekresyonunu artırarak, apoptozu azaltarak, β-hücre proliferasyonunu destekleyerek, kaslarda ve diğer hücrelerde insülin direncini, inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak glikoregülatör özellik göstermektedir. Flavonoidlerin obezite ve diyabet üzerine olumlu etkilerinin olduğu düşünülmektedir (Bettaieb ve ark., 2016; Cremonini ve ark., 2016). Sağlık üzerine olumlu etkilerinin kanıtlanabilmesi için bu bileşiklerle ilgili göz önünde bulundurulması gereken bir diğer konu da tüketilmesi gereken miktarlardır. Sağlığı geliştirmek için yaygın olarak tüketilen besinlerle alınan polifenol miktarlarına bakıldığında, toksikolojik bir tehlikenin olmadığı düşünülmektedir. İhiyaç duyulan miktarların karşılanamadığı durumlarda, diyet takviyeleri veya farmakolojik yollarla alım sağlanabilmektedir (César G Fraga ve ark., 2019).



ŞEKİL 2.1. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması (Gan ve ark., 2019)

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller ve serbest radikallerin biyolojik sistem üzerine etkileriyle ilgili araştırmalar, Denham Harman'ın 1956 yılında serbest radikallerin yaşlanma üzerindeki rolleriyle ilgili yaptığı çalışmalarla başlamıştır.(Dröge, 2002). Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerle ilgili en büyük ikinci gelişme; 1969 yılında McCord ve Fridovich'in süperoksit dismutaz (SOD)'ı keşfiyle olmuştur; böylelikle biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerle ilgili önemli kanıtlar sağlanmıştır (Dröge, 2002). Serbest radikallerin keşfiyle ilgili üçüncü önemli gelişme ise; 1977'de Mittal ve Murad'ın guanilat siklazın stimülasyonunun aktivasyonu ve "ikincil mesajcı'' olan siklik guanozin monofosfat (cGMP) formasyonunu sağlayan hidroksil radikalini bulunması olmuştur (Dröge, 2002). Daha sonra biyolojik sistemin, serbest radikaller arasında var olmak için adaptasyon sağladığı ve serbest radikallerin fizyolojik fonksiyonlarıyla ilgili pek çok kanıt sağlanmıştır (Eze ve ark., 2016; Lushchak, 2014).

Canlı organizmalarda normal fizyolojik fonksiyonların sağlanması için, elektron taşıma zincirinde enerjinin (ATP) salındığı mekanizma yoluyla enerji üretimi için oksijen gereklidir (Barja, 2004). Bu oksijenin, indirgenmiş subtratlardan elektronları kolayca kabul eden mükemmel bir oksitleyici ajan olmasının nedeni, yüksek redoks potansiyeline sahip olmasıdır. Oksijenin canlı organizmalardaki bu çelişkili etkisi, antioksidan sistemin oksidasyona karşı koruma sağlaması ve reaktif oksijen türleriyle (ROS) savaşması için gereklidir (Ziech ve ark., 2010).

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronları sebebiyle yüksek reaktiflik gösteren, küçük, yayılabilir moleküllerdir (Ziech ve ark., 2010). Serbest radikaller, diğer reaktif moleküllere bir elektron vererek veya onlardan bir elektron alarak oksidan veya redüktan olarak işlev görürler (Gupta ve ark., 2020). İlk başlarda serbest radikallerin, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksijen merkezli radikaller olduğu düşünülmüştür. Ancak, serbest radikaller aynı zamanda reaktif nitrojen türlerinin (RNS) alt grubunu da içermektedir ve serbest radikallerin hepsi hücresel metabolizma ürünüdür (Dröge, 2002).

Oksidatif/Nitrozatif stres

Serbest radikallerin yararlı ve zararlı etkileri doza bağımlıdır. Düşük dozlarda; immün fonksiyonlar, hücrenin hayatta kalması, hücre büyümesi, çoğalması ve immün cevap için esansiyeldir. Yüksek dozlarda ise; lipitlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vermekte, hücre fonksiyonlarını bozmakta ve hücre ölümüne (nekroz/apoptoz) neden olmaktadırlar (Karakan ve Nazlikul., 2017). Yüksek dozlarda oluşan zararlı etki, ROS/RNS üretiminin antioksidan kapasiteyi aştığı durumlarda gerçekleşmektedir. İkincil haberci olarak bu serbest radikaller, fizyolojik süreçleri farklı aşamalarda kesintiye uğratmakta ve biyolojik dokularda ve sinyal mekanizmalarında moleküler hasara neden olan bir dizi zincir reaksiyonuna neden olmaktadırlar (Victor ve ark, 2004). ROS/RNS'nin neden olduğu bu zararlı etki, oksidatif stres ve nitrozatif stres olarak adlandırılan biyolojik hasarla sonuçlanır (Aruoma, 1998). Bugüne kadar elde edilen sonuçlar, serbest radikallerin oksidatif stresi artırarak vücutta ilerleyici zararlı etkilere neden olduğunu göstermiştir. Oksidatif stres; hücre membranının lipid peroksidasyonu, proteinlerin oksidatif modifikasyonu ve DNA hasarı olmak üzere üç temel yoldan hücre hasarına yol açar. Vücut, redoks sistemini dengelemek için antioksidan savunma sistemine sahip olmasına rağmen; ROS ve RNS'nin aşırı üretimi oksidatif ve nitrozatif stresle sonuçlanmaktadır. Canlı organizmalarda serbest radikallerin yararlı ve zararlı etkilerinin dengesi, "redoks regülasyonu'' olarak adlandırılan bir mekanizma ile sağlanır, böylelikle redoks homeostazı sürdürülür (Barja, 2004).

Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemelerde serbest radikaller, metabolik olayların olağan seyri sırasında, vücutta patolojik durumlarda ve farklı fizyokimyasal koşullar gibi organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalması sonucunda oluşur. Serbest radikaller, iyonize radyasyon, stres etkenleri, enzimatik veya enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda vücuttaki biyolojik fonksiyonların yan ürünü olarak oluşmaktadırlar.

Serbest radikaller endojen olarak, mitokondrial elektron transportu, ksantin oksidaz, peroksizomlar, inlamasyon, fagositoz, araşidonik asit yolakları, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı elektron transport sistemleri, egzersiz ve iskemi/perfüzyon hasarı, serbest metal iyonları, sigara dumanı, endüstriyel çözücüler ile oluşurken; ekzojen olarak, çevresel kirleticiler, pestisitler, ultraviyole radyasyon, alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık

yapan maddeler, toksinler, stres (stres durumunda vücutta katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu serbest radikal kaynağıdır), ksenobiyotikler ile oluşmaktadır (Neha ve ark., 2019; Uçkaya, 2011).

ROS ve RNS'ler genel olarak radikaller ve non radikaller olarak iki gruba ayrılabilirler. Süperoksit ($O_2^{-\bullet}$), oksijen radikali ($O_2^{\bullet\bullet}$), hidroksil ($OH^{\bullet}$), alkoksiradikali ($RO^{\bullet}$), peroksil radikali ($ROO^{\bullet\bullet}$), nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\bullet}$) radikallere örnek olarak verilebilir(Kurutas, 2015). Non radikal türlerine ise; hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl), hipobromöz asit (HOBr), ozon (O_3), tekli oksijen ($^1O_2$), nitröz asit (HNO_2), nitrosil katyon (NO^+), nitroksil anyon (NO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3), dinitrojen tetraoksit (N_2O_4), nitronyum katyon (NO_2^+), organik peroksitler (ROOH), aldehitler (HCOR) ve peroksinitrit (ONOOH) örnek olarak verilebilir (Gupta ve ark., 2020).

Mitokondri

ROS üretiminin en önemli kaynağı mitokondridir (Victor et al., 2004). Solunum zinciriyle ATP üretiminin fizyolojik sürecinde, moleküler oksijen, iki su molekülüne indirgenmektedir (Dröge, 2002). Ancak enerji transdüksiyonu boyunca moleküler oksijenin %1-2'sinin süperoksit anyon radikaline dönüşümünü tamamlamadan önce bazı eletronlar, zamanından önce "sızıntı" oluşturmaktadır. Süperoksit radikali membranını geçememekte ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından hidrojen peroksite dönüştürülerek nispeten zayıflatılmaktadır. Buna rağmen, üretilen H_2O_2, Fenton reaksiyonuyla demirle reaksiyona girerek daha kimyasal reaktif bir molekül olan hidroksil radikalinin üretimine neden olmaktadır (Victor ve ark., 2004).

Hücresel Oksidaz

Mitokondriyal solunum zinciri, süperoksitin ana kaynağı olmasına rağmen; bu serbest radikal türü, bazı koşullarda farklı oksidazlar tarafından, oksijenin tek elektron redüksiyonuyla oluşturulabilir (Ray ve Shah, 2005). NAD(P)H oksidaz (NOX ailesi) ve ksantin oksidaz (XO) bu enzimlerdendir (Dröge, 2002). NOX enzimleri, lenfositlerde, fibroblastlarda, endotelyal hücrelerde, monositlerde ve kondrositlerde bulunabilmekte,

enfeksiyonlar ve mikrobiyal istilaya maruziyette hücresel tepkinin bir düzenleyicisi olarak rol oynamaktadırlar. NOX enzimleri, orta düzeyde üretilmektedir (Ray ve Shah, 2005). NOX ailesi enzimlerinin aktivasyonunu, artmış oksijen tüketimine, glukoz kullanımına ve indirgenmiş nikotinamid fosfot dinükleotit (NADPH) üretiminin pentoz fosfat yoluyla artışına neden olan "solunum patlaması'' takip eder (Ray ve Shah, 2005).

Süperoksit anyonunun bilinen bir diğer kaynağı da ksantin oksidaz (XO)'dır. XO, özellikle hipoksik koşullarda, genellikle sitozolde bulunan bir non-hem enzimdir (Dröge, 2002). Bir ksantin oksidoredüktaz (XOR) olan XO, normal fizyolojik durumlarda -, dehidrogenaz formda bulunur. Ancak hipoksi durumunda, oksijeni bir elektron alıcısı olarak kullanarak, süperoksit (.O-2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretme yeteneğine sahip olan oksidaz forma dönüşür (Ray ve Shah, 2005).

Metal Katalizli Reaksiyonlar

Hipoksi boyunca XO tarafından üretilen hidrojen peroksit, peroksizomlardaki glutatyon peroksidaz (GPx) veya katalazlar tarafından H_2O ve O_2 ye detoksifiye edilir veya hidroksil radikali (HO•) gibi daha reaktif türler için öncü olabilir (Dröge, 2002). Bu reaksiyon sonucunda oluşan HO•, bilinen en güçlü oksitleyici ajandır ve organik moleküllerle, difüzyon yoluyla sınırlı oranlarda reaksiyona girmektedir.

Haber ve Weiss, süperoksit ve H_2O_2'nin, oldukça zararlı olan hidroksil radikalinin (HO•) üretimine sebep olduğunu ve Haber-Weiss reaksiyonuyla, organik substratların oksidasyonunu başlattığını göstermişlerdir (Dröge, 2002).

$O^{2-} + H_2O_2 = HO\bullet + OH^- + O_2$

(Haber-Weiss Reaksiyonu)

Bununla birlikte HO üretimi ile sonuçlanan bu reaksiyon, bir metale (CU^{2+} veya CU^{3+}) ihtiyaç duyar. Fenton reaksiyonu olarak adlandırılan bu reaksiyonlar geçiş metali aracılı kimyasal reaksiyonların kombinasyonudur.

$Fe^{3+} + .O2- = Fe^{2+} + O_2$

$Fe^{2+} + H_2O_2 = Fe^{3+} + OH^- + HO\bullet$

Miyeloperoksidaz

Miyeloperoksidazlar başlıca nötrofillerde, düşük seviyelerde monositlerde ve eozinofillerde bulunmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), miyeloperoksidaz enziminin (MPO) katalizlediği reaksiyon yoluyla kloridle (CI-) etkileşime girerek, diğer bir serbest radikal olan HOCI'ye dönüştürülmektedir (Dröge, 2002).

$H_2O_2 + Cl^- = HClO + HO\bullet$

Oksijenden üretilen radikaller, canlı organizmalarda üretilen serbest radikallerin en önemli sınıfını temsil etmektedir (Valko ve ark., 2007). Solunum süreci sırasında O_2, H_2O için dört elektronun kontrollü tedariği ile giderek azalır. Normal biyolojik sistemlerde bu indirgeme işlemi sırasında, elektronlar, elektron transfer zinciriyle (4 elektron indirgenmesiyle) veya organik/inorganik türlerin çevresinden rastgele olarak (1 elektron indirgenmesiyle) transfer edilmektedir. Bununla birlikte O_2'nin yeterli indirgenmemesi mümkündür ve çoğu zaman hala güçlü oksidanlar olan kimyasal maddelerin oluşumuna yol açar. Buna bağlı olarak eğer bir, iki veya üç elektron indirgenmesi olursa, O_2; süperoksit radikal anyon ($O^{\cdot}2$), hidrojen peroksit (H_2O_2) veya hidroksil radikali ($OH\bullet$)'ni başarılı olarak üretebilmektedir. Reaktif oksijen türleri teriminin modern kullanımı; kolayca serbest radikallere dönüşebilen oksijen radikallerini ve non-radikallerini içermektedir (O_3, H_2O_2, $^1O_2$) (Ifeanyi, 2018).

Tekli Oksijen ($^1O_2$)

Tekli Oksijen ($^1O_2$), başlıca iflamatuar süreç ve fotosensitizasyonda moleküler oksijenden üretilir (Dröge, 2002). Miyoloperoksidazı (MPO) içeren bir dizi reaksiyon yoluyla O_2 üretilir. $^1O_2$ 'nin üretildiği diğer yollar; NADPH oksidaz reaksiyonunda üretilen süperoksit dismutaz, H_2O_2'nin peroksinitrit veya hipohalitlerle kimyasal tepkimesi ve hidroperoksitlerin peroksinitritlerle reaksiyonu olarak sayılabilir (Ray ve Shah, 2005).

$2O_2 + NADPH = 2O_2^- + NADP+ + H^+$

$2O_2 + 2H = H_2O_2 + {}^1O_2$

$2O_2^- + 2H^+ = H_2O_2 + O_2$

$H_2O_2 + Cl^- = H_2O + OCl$

$H_2O_2 + OCl- = 1O_2 + H_2O + Cl^-$

Tekli oksijen radikallerinin, DNA üzerinde zararlı etkileri vardır. Özellikle replikasyon sırasında guanin kalıntılarının oksidasyonu yoluyla, G:C nin T:A ya dönüşümünü sağlar ve sonrasında mutasyona sebep olur (Ifeanyi, 2018).

Süperoksit

Moleküler oksijen (dioksijen), bir elektron aldığı zaman, süperoksit anyon radikalini ($O^{\cdot}2$) oluşturmaktadır. $O^{\cdot}2$ başlıca, mitokondriyal elektron taşıma zincirinde ATP üretimi sırasında oluşturulmaktadır (Valko ve ark., 2007). Bu süperoksit radikalleri, primer ROS olarak düşünülebilir ve enzimatik veya enzim katalizli reaksiyonlarda direkt veya indirekt olarak diğer moleküllerle etkileşime girerek sekonder ROS'u üretebilirler. Bu, çevreye ve pH'ya bağlıdır. Süperoksit radikali, düşük pH'da hidroperoksil olarak bulunabilmektdir. Normal fizyolojik pH'da $O^{\cdot}2$, hidroperoksitin aksine elektriksel olarak yüklü formda bulunmaktadır (Dröge, 2002). Ancak hidroperoksil, biyolojik membrana kolayca penetrasyon yeteneği sebebiyle fizyolojik olarak önemlidir. $O^{\cdot}2.-$ $O^{\cdot}2$. Etkileşimi nedeniyle güçlü bir nüklofil görevi görür ve ayrıca bileşiklerden (askorbat ve tokoferol) H^+ alabilir veya bileşiklere H^+ verebilme yeteneğine sahiptir. Daha da önemlisi süperoksit radikalleri, bir süperoksit radikalinin başka bir süperoksit radikali ile etkileşime girmesiyle bozulmaya uğrayarak, oksijen ve hidrojen oluşumuna yol açma yeteneğine sahiptir (Valko ve ark., 2007).

Hidrojen Peroksit

H_2O_2, süperoksit radikallerinin bozulma reaksiyonuyla ortaya çıkmaktadır (Dröge, 2002). Fizyolojik koşullar altında peroksizomlar, H_2O_2'nin başlıca üreticisi ve tüketicisidir. Gerçek bir serbest radikal değillerdir ancak, serbest elektron içermektedirler. Bu nedenle, biyomoleküllerle reaksiyona girme ve hücrelere zarar verme kabiliyetleri nedeniyle, reaktif oksijen türü olarak düşünülebilirler (Victor ve ark., 2004). Sulu solüsyonlarda yüksek çözünürlüğe sahip olmaları, biyolojik membranlara yüksek oranda nüfuz etmelerini ve yüksek oranda zararlı etki göstermelerine neden olmaktadır. Katalaz enzimi

peroksizomlarda bulunur ve H_2O_2'yi ayrıştırmaya neden olarak homeostatik dengeyi sağlar (Barja, 2004). Bu dengenin bozulması, H_2O_2'in hem proteinlerini direkt olarak yıkmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda, demir salınımı, enzimlerin inaktivasyonu, DNA, lipitler, proteinlerin -SH grupları ve ketoasitler okside olmaktadır (Halliwell, 2011). H_2O_2 ayrıca OH ve HClO gibi daha toksik türler için bir kaynak görevi görmektedir (Dröge, 2002).

Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, hidroperoksit iyonunun nötr bir formudur. Yüksek reaktiflik göstermesi, molekülü oldukça zararlı yapmaktadır. Hidroksil radikalleri kısa ömürlülerdir. Süperoksit radikalleri nispeten stabildir, dolayısıyla moleküllerle yakın bir şekilde yüksek afiniteyle reaksiyona girmektedir (Dröge, 2002). OH•, Haber-Weiss reaksiyonu ve Fenton reaksiyonu olarak adlandırılan iki majör biyokimyasal reaksiyonla üretilmektedir. Stres durumunda, süperoksit radikalleri, demir içeren moleküllerden, Fenton reaksiyonunda hidroksil radikallerini oluşturmak için H_2O_2'le reaksiyona girmesi için gerekli olan "serbest demir"in, salınımı sağlamaktadır (Lobo ve ark, 2010).

Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

ROS gibi, reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılan nitrojen içeren türler, canlı sistemler için yararlı veya zararlı olabildikleri için ikili rol oynamaktadır. RNS, önemli fizyolojik süreçlerin düzenleyicisi olarak bilinen nitrik oksiti ($NO^{\bullet}$) ve hücresel toksisiteye aracılık edebilen güçlü bir oksidan olan peroksinitriti ($ONOO^-$) içermektedir (Venditti ve Di Meo, 2020). Peroksinitritin sitotoksisitesi sadece doğrudan etkisine değil, aynı zamanda nitrojen dioksit ve karbonat radikalleri gibi sekonder serbest radikal ara ürünlerine evrimleşmesine de bağlıdır.

Nitrik Oksit

Nitrik oksit, bir eşleşmemiş elektron içeren küçük molekül yapısına sahip bir radikaldir. 1992'de olağanüstü özellikleri sebebiyle bilim dergisinde "yılın molekülü" seçilmiştir. Sulu ve lipit ortamında çözünebilme özelliği moleküle, sitoplazma ve plazma zarları boyunca kolay bir şekilde yayılma özelliği kazandırmaktadır (Habib ve Ali, 2011). NO

ekstraselüler ortamda nitrat ve nitrit anyonları oluşturmak için, oksijen ve suyla reaksiyona girmektedir. NO biyolojik dokularda, spesifik nitrik oksit sentetazlar (NOSs) tarafından sıkı bir şekilde regüle edilen reaksiyonlar sonucu üretilmektedir. Bu sentetazlar; nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelyal NOS (eNOS) olmak üzere üç izoformda bulunmaktadır (Blaise ve ark., 2005). Bu nitrik oksit sentetazlar, beş elektron oksidatif reaksiyonu yoluyla NO oluşumuna neden olarak, L-Arjinini L-Sitrüline metabolize etmektedir. Ancak birçok doku bu izoformlardan bir veya daha fazlasını ekprese etmektedir. nNOS ve eNOS ekprese edilir ve aktiviteleri intraselüler kalsiyum konsantrasyonları tarafından regüle edilirken; iNOS izoformu, lipopolisakkaritler, sitokinler ve diğer ajanlar tarafından stimülasyonu takiben, makrofajlarda indüklenebilir olarak ekprese edilmektedirler (Habib ve Ali, 2011). iNOS ekpresyonu; redoks bağımlı transkripsiyon faktörü NF-KB veya mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPKs)'ı içeren sinyal yolakları tarafından, transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyede regüle edilmektedir (Ray ve Shah, 2005).

NO; nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizması, düz kasın gevşemesi ve immün regülasyonu gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları kontrol eden sekonder mesajcı olarak bilinmektedir. Çözünür guanilat siklazın (sGC), hem hidrojen peroksit, hem de NO tarafından aktive edildiği bilinmektedir (Dröge, 2002; Victor ve ark., 2004). Çeşitli fizyolojik cevaplarda, intraselüler amplifikatör ve ikincil mesajcı olarak kullanılan guanilat siklaz, heterodimerik hem proteinleri ailesine aittir ve cGMP oluşumunu katalizlemektedir. NO, sGC'deki Fe^{2+}-hem grubuna bağlanır ve Fe^{2+} konformasyonel olarak değişime uğramaktadır. Konformasyonel değişim, enzim aktivasyonuna neden olmaktadır. cGMP ürünü, proten kinaz, iyon kanalları ve diğer önemli fizyolojik hedeflerin fonksiyonunu modüle eder. Düz kas tonusunun düzenlenmesi ve trombosit adezyonu inhibisyonu bu hedeflere örnek olarak verilebilir (Ifeanyi, 2018).

İmmün sistem hücreleri inflamasyon sürecinde oksidatif patlama yoluyla, nitrik oksit ve süperoksit üretmektedirler (Victor ve ark., 2004). Bu koşullar altında nitrik oksit ve süperoksit anyonu birbirleriyle reaksiyona girerek; DNA parçalanmasına ve lipit oksidasyonuna neden olan ve güçlü bir oksitleyici ajan olan peroksinitrit anyonunun ($ONOO^-$) önemli miktarda üretilmesini sağlamaktadırlar (Velayutham ve ark., 2011).

$NO + O_2 = ONOO$

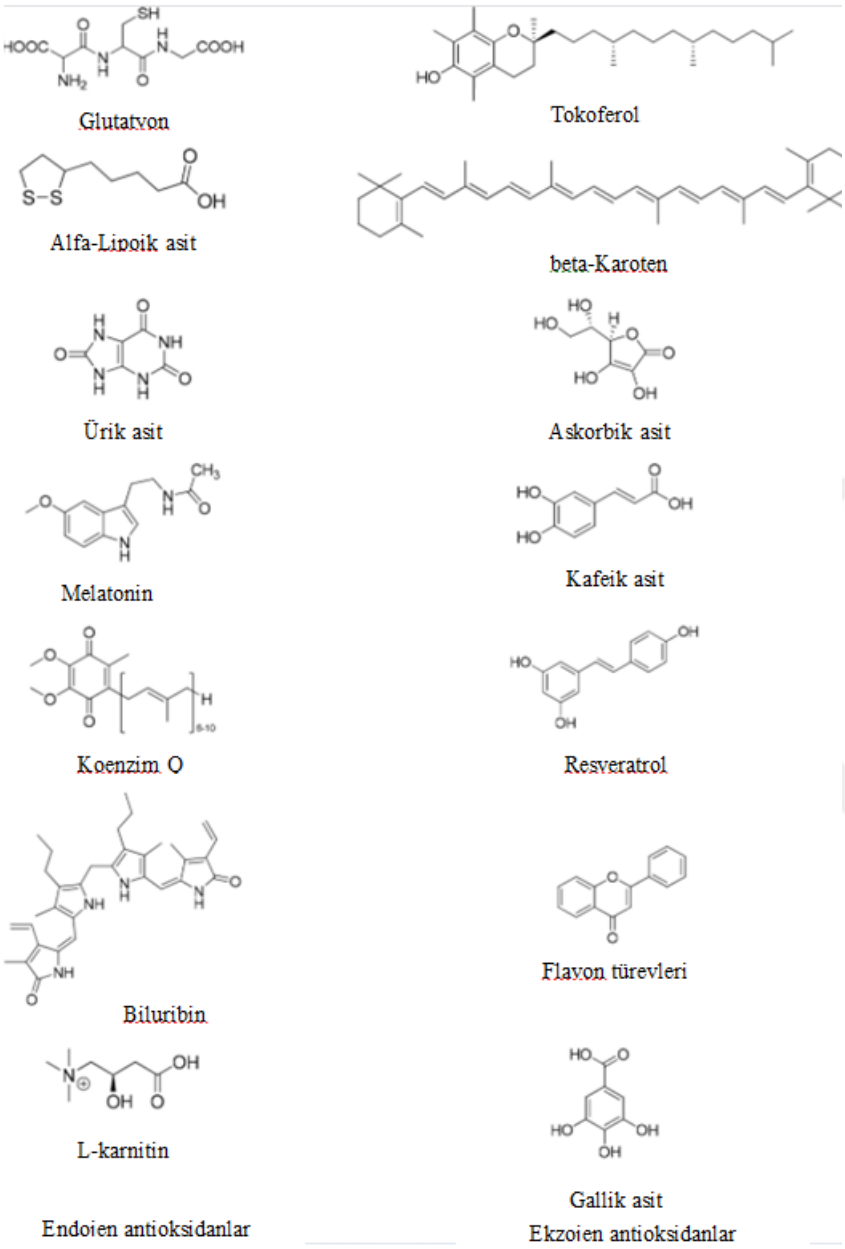
2.4. Antioksidanlar

Oksidasyon reaksiyonları, vücudumuzun kompozit sistemini korumayı destekledikleri için yaşam için hayati önem taşımaktadır ve aynı zamanda yıkıcı da olabilmektedir. Genel olarak oksidasyon, hücreleri tahrip edebilecek birçok zincir reaksiyonlarına yol açan serbest radikaller üreten bir kimyasal maddeyi değiştirme işlemidir. Bir dizi abiyotik stres, ROS'un bolluğuna neden olmakta ve dokuya zarar vererek kalp hastalığı, karaciğer hastalığı, kanser, nörodejeneratif hastalık ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (Kim ve ark., 2015).

Antioksidanlar, ROS'un bozucu etkisine karşı koyarak oksidatif stresle ilgili hastalıkları önlemekte veya ortadan kaldırmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisizleştirmekte ve hücresel işlevlerin en iyi şekilde korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Doğal ve sentetik olmak üzere, çok sayıda antioksidan bulunmaktadır. Endojen antioksidanlar enzimatik veya non enzimatik olabilir (Aguilar ve ark, 2016). Non enzimatik, endojen ve ekzojen antioksidanlar, Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.

Endojen enzimatik antioksidanlar; glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalazdır. Endojen non enzimatik antioksidanlar; ürik asit**,** lipoik asit**,** bilirubin, glutatyon**,** metatotindir.

Ekzojen antioksidanlar; karotenoidler, A, E ve C vitaminleri, doğal flavonoidler veya farklı diğer bileşiklerdir. C vitamini, lipitlerin peroksidasyondan korunması için E vitamini ile birlikte hareket eden suda çözünür bir antioksidandır. Sentetik antioksidanlara; butil hidroksi tolüen (BHT), oktil gallat (OG), bütilhidroksianisol (BHA), propil gallat (PG) ve ter-bütil hidrokinon (TBHQ) örnek olarak verilebilir. TBHQ, gıda ürünlerinin lezzetini ve rengini, besinsel önemini korumak için kullanılmaktadır (Bouayed ve Bohn, 2010).



Şekil 2.2. Non Enzimatik, Endojen Ve Ekzojen Antioksidanlar (Neha ve ark., 2019).

Biyolojik sistemin korunmasında rol alan antioksidanlar;

- Yeni radikallerin (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), Se, Cu, Zn) oluşumunun engellenmesi,
- Zincirleme reaksiyondan kaçınmak için serbest radikalleri yakalamak (E ve C vitaminleri, karotenoidler),

- Serbest radikallerden etkilenen bozukluğun geri kazanılması (lipazlar, proteazlar) gibi etkilere sahiptir (Mut-Salud ve ark., 2016).

Antioksidanların yaşlanma karşıtı (Petyaev, 2016), anti-kanser (K.-H. Kim ve ark., 2018), katarakt önleyici (Raman ve ark., 2016), antidiyabetik (Shintre ve ark., 2017), antiinflamatuar (Chin ve ark., 2017), antimikrobiyal (Govindappa ve ark., 2018), kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu (Tayebati ve ark., 2016), hepatoprotektif (Z.-Q. Huang ve ark., 2018), nefroprotektif (Dennis ve Witting, 2017), nöroprotektif (Lee ve ark., 2018) etkileri çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Hücrelerde ve organlarda oluşan fizyolojik stresin azaltılması, antioksidasyon olarak tanımlanmaktadır ve antioksidasyon beslenme yönünden çok önemlidir. İnsanlarda ve hayvanlarda bağışıklık sisteminin güçlenmesi ve böylelikle hastalıklara karşı direnç oluşumu antioksidasyon mekanizmasıyla ilişkilendirilmektedir. Oksidasyona uğrama riski en yüksek bileşikler lipitlerdir. Oksidasyon sonucunda meydana gelen zararlı bileşikler, gıdalarda bozulmaya ve acılaşmaya yol açmaktadır. Böylelikle ürünlerin besin değeri düşmekte ve raf ömürleri kısalmaktadır (Yılmaz, 2019).

Günümüzde teknolojinin hızlı gelişimi, endüstriyel alanda birçok değişime neden olmaktadır. Endüstriyel alandaki bu gelişmelerden en çok payı gıda endüstrisi almaktadır. Üretilen gıda ürünlerinde, bozulmayı önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılan sentetik antioksidanların, güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Ancak aynı zamanda insan enzim sistemleri ve DNA üzerinde tartışmaya açık etkileri olduğu da tanımlanmaktadır. NDGA (nordihidroguaretik asit), esas olarak kemirgenlerde böbrek kistik hastalığının temel nedeni olarak tanımlanan bir gıda antioksidanıdır (Liu ve ark., 2016).

Yapılan araştırmalar sonucunda bu bileşiklerin bazı zararlı etkilerinin bulunmasıyla birlikte, doğal antioksidan özellik gösteren maddelere olan ilgi artmaya başlamıştır. Eski zamanlardan beri insanlar doğal antiokisdanları, tükettikleri gıdalara karıştırarak daha uzun süre saklamış ve tüketmişlerdir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon gibi enzimlerin, çay, yağlı tohumlar, meyveler, sebzeler ve baharatlar gibi bitkilerin ve karotenoidler, peptitler ve aminoasitler gibi bazı besin bileşenlerinin antioksidan aktivite

göstermelerinin sebebi; başıca E vitamini, C vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşik içerikleridir (Bulca, 2014).

2.4.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Halliwell ve Gutteridge'ye göre antioksidan, oksitlenebilir bir maddeyle karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda bu maddenin oksidasyonunu geciktiren veya önleyen madde olarak tanımlanmıştır.

Antioksidan etkinin belirlenmesi ele alınırken, çeşitli argümanlar dikkate alınmalıdır:

- İlk örnekte "antioksidan kapasite" ve "antioksidan aktivite" arasındaki fark düşünülmek zorundadır.
- "Antioksidan aktivite" tek bir antioksidan türü ve serbest radikal arasındaki reaksiyonu tanımlarken; "antioksidan kapasite" antioksidan bileşiklerin ve radikallerin bir karışımını içeren çözeltisi arasındaki reaksiyonu tanımlamaktadır. "Antioksidan aktivite" özgün bir antioksidan ve belirli bir serbest radikal arasındaki reaksiyonun hız sabiti olarak tanımlanırken; "antioksidan kapasite" antioksidan test solüsyonu tarafından temizlenen ve aynı radikal için farklı sonuca yol açabilecek serbest radikal mollerinin sayısını tanımlamaktadır (Litescu ve ark., 2010).

Gıda ve Hammaddelerde Antioksidan Aktivite Tayin Modelleri

Bitkiler ve bitkisel malzemeler, antioksidan bileşiklerin en önemli kaynaklarıdır. Polifenoller, flavonoidler ve isoflavonlar, antosiyaninler vb. antioksidan fitokimyasaller, gıda katkı maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra, son zamanlarda birçok araştırmaya konu olmuştur.

Hidroksibenzenden (fenol) türetilien polifenoller, gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan antioksidan bitki türevi bileşiklerdir. Bu bileşiklerin antioksidan etkisi, kimyasal yapıları ve aromatik halka üzerindeki elektronları delokalize etme yetenekleri ile bağlantılıdır. Bu bileşikler bir serbest radikal ile reaksiyona girdiğinde yakalanan elektron, aromatik çekirdeğin rezonans etkisi ile delokalize ve stabilize edilir; böylece serbest radikal zincir

reaksiyonları önlenmiş olur. Buna genellikle radikal süpürücü etki denir, ancak polifenolik bileşikler, esas olarak kaynak malzemeye bağlı olarak ve olası sinerjistlerin veya antagonistlerin varlığında çeşitli mekanizmalarla oksidasyonu inhibe etmektedir (Litescu ve ark., 2010).

Moleküllerin antioksidan etkisinin değerlendirilmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Tek bir antioksidan veya antioksidan fitokimyasalların kompleks karışımının antioksidan gücü veya kapasitesi hakkında bilgi verebilecek evrensel bir sistem yoktur (Ou ve ark., 2002). Aktivite; substrata, reaksiyon ortamına, oksidasyon koşullarına, ara yüzey olaylarına bağlı olduğu için, antioksidan etkinliğin karşılaştırmalı değerlendirmesinin yapılması zordur.

Standart metotları kullanma ihtiyacı, gıda ve maddelerden fenolik bileşiklerin antioksidan etkinliğinin belirlenmesi için ortak temel özellikler içeren, bir tür biyo-analitik protokolle sonuçlanmıştır: (Becker ve ark., 2004)

- Fenolik bileşiklerin miktar tayini ve mümkünse tanımlanması;
- Radikal süpürücü aktivitenin nicelleştirilmesi ve resmi indirgeme potansiyeli;
- Biyolojik model sistemlerinde, lipid oksidasyonunun inhibisyonunun veya bitiş noktasının değerlendirilmesi;
- İlgili oksidatif belirteçlere karşı etkinliğin incelenmesi.

Yani, iyi bir radikal temizleme aktivitesi, iyi bir antioksidan aktivite ile ilişkili olmak zorunda değildir. Bundan dolayı, yüksek radikal süpürücü etki gösteren tüm bileşikler, iyi antioksidan özellik göstermezler.

Bir bileşiğe antioksidan özellikler yüklemek için, bu bileşiğin lipidler, lipoproteinler, DNA gibi ilgili substratları; peroksil-, süperoksit veya hidroksil radikali gibi ilgili serbest radikal türlerinin oksidasyonuna karşı korumadaki etkinliğinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu varsayımlara, ilgili mekanizmaya ve değerlendirmenin türüne bağlı olarak, antioksidan kapasite deneyleri iki ana kategoriye ayrılabilir. İlk kategori ‘’serbest radikal türlerine

göre antioksidan etkinliğin değerlendirmesi''dir. Bu kategori farklı reaksiyon mekanizmalarını içermektedir. Bunlar:

1. Hidrojen atomlarının transferine dayalı, hidrojen atomları transfer reaksiyonları modeli (HAT);
2. Tek elektronun transferine dayalı ''tek elektron transfer reaksiyonları modeli (SET)
3. HAT ve SET mekanizmalarını birleştiren hidrojen-elektron transfer reaksiyonları modelidir (Huang ve ark., 2005).

İkinci kategori ise "biyolojik önemli belirteçler ve önemli subtratlar kullanarak antioksidan etkinliğin belirlenmesi"dir. Bu kategori, lipitler, lipoproteinler, DNA vb. ile reaksiyona girerken; ROS veya ilgili nitrojen oksit türleri (RNOS) tarafından üretilen biyolojik subtrat üzerindeki zarar verici etkilerini içermektedir (Roginsky ve Lissi, 2005).

HAT Mekanizmalarına Dayalı Modeller

Yayınlanan verilere göre, HAT reaksiyonu, radikal zincir reaksiyonlarını kolaylaştıran anahtar basamaktır. Bununla birlikte, hidrojen atomu ve elektron transfer reaksiyonları arasında ayrım yapmanın zor olduğu belirtilmektedir. İki reaksiyon da aynı zamanda gerçekleşebilmekte ve reaksiyonun mekanizması, antioksidanın yapısı, çözünürlüğü, bölme katsayısı ve çözücü polaritesi tarafından belirlenmektedir.

Hidrojen atomu transfer reaksiyonları ayrıca ortamın pH'ına da bağlıdır. Bu reaksiyonlar çok hızlıdır ve genellikle peroksil radikallerinin aracılığı ile meydana gelmektedir.

- **Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi Tayini (ORAC)**

Bu tayin metodunda, β-fikoeritrin (β-PE), floresan probu olarak kullanılmaktadır.β-fikoeritrin , *Porphyridium cruentum*'dan izole edilen, görünür ışığı emen, yüksek floresan verimi ve ROS'a duyarlılık sunan suda çözünür bir proteindir. Tahlil, floresan yoğunluğun azalmasına neden olan florürle reaksiyona girebilen serbest radikal üretimine dayanmaktadır. Antioksidan bileşiğin varlığında, floresan bozunma engellenmektedir. Sonuç, floresan eğrisi altındaki alan hesaplanarak ifade edilmektedir. ORAC metodu, suda çözünen fitokimyasalların antioksidan kapasitesinin değerlendirmesinde sıklıkla

kullanılmaktadır. Antioksidan türlerinin varlığında, floresan bozulmanın engellenmesi, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asite (trolox) göre hesaplanmaktadır. Tanımlanmış oksijen türlerine karşı kanıtlanmış antioksidan etkilere sahip olduğu için trolox, genellikle referans bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Ou ve ark., 2001).

- **Toplam Radikal Yakalayıcı Antioksidan Parametre Tayini (TRAP)**

Bu tayin yöntemi kan plazması veya serumun toplam antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılan ilk metotlardan biridir. TRAP tayinindeki türler, 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorürden (AAPH) üretilen peroksil radikalleridir ve peroksitlenebilir materyaller plazma veya diğer biyolojik sıvılarda bulunmaktadır. AAPH, bir oksijen elektrotunun yüzeyindeki oksijen tüketimi yoluyla, oksitlenebilir bileşenlerin izlendiği bir plazmaya eklenir. Antioksidan türlerinin varlığıyla oksidasyonun inhibisyonu, yöntemin ölçüm prensibidir. Reaksiyon indüksiyonunun zaman aralığı (gecikme süresi), referans bileşik olan Trolox tarafından oluşturulan aralık süresiyle karşılaştırılır. Bu tahlilin en büyük dezavantajı, oksijen elektrotunun stabilitesinin olmamasıdır.

- **Krosin Beyazlatma Testi**

Krosin beyazlatma tayini, krosini floresan gösterge olarak kullanan örneğin antioksidan kapasitesinin belirlemektedir. Krosin, *Crocus* ve *Gardenia* gibi bazı çiçek türlerinde bulunan, doğal bir karetenoidtir. Suda çözündüğünde turuncu bir çözelti oluşturur. Krosin sıklıkla *Crocus sativus*'dan ekstrakte edilmektedir. Serbest radikal ve antioksidan eklendiğinde çözeltinin absorbansının izlenmesiyle, örneğin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Krosin solüsyonuna AAPH radikali eklenirse, ağartma işlemi gerçekleşir. Bir antioksidan türün varlığında, ağartma oranı azalmakta ve ağartma inhibisyonunun fonksiyonu olarak, antioksidan etkinlik hesaplanabilmektedir. Semikantitatif olarak antioksidan kapasite, antioksidanların varlığı ve yokluğu arasındaki krosin ağartma oranıdır (Bors ve ark., 1978).

SET Mekanizmalarına Dayalı Modeller

SET bazlı testler, bir antioksidanın belirli bir oksidanı azaltma kapasitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır. SET reaksiyonları genellikle yavaştır, uzun süre gerektirir ve çok adımlı süreçleri içermektedir.

- **Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)**

TEAC tayini, 2,2 -azino-bis (3-etilbenztiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin spesifik absorbansındaki değişiklikleri inceleyerek numunenin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanımaktadır. Antioksidan durumu değerlendirmek için standart bir sistem sağlama amacıyla $ABTS^{+}$ katyonunun kullanıldığı ilk metot, Randox Laboratuvarlarında (San Francisco, ABD) geliştirilmiş ve ticarileştirilmiştir.

Bu prosedürde radikal, ABTS asiti ve ferrimyoglobin radikali arasındaki reaksiyon vasıtasıyla oluşmaktadır. Ferrimyoglobin radikali, met-myoglobinin hidrojen peroksitle aktivasyonu tarafından üretilmektedir. Test edilen örnek, $ABTS^{+}$ oluşumu olmadan önce eklenir ve radikal destekleyiciler eklendiğinde; çözelti, bir gecikme fazını indükleyen radikalleri azaltır. Gecikme fazı süreci, test edilen çözeltinin antioksidan özellikleri ile ilişkilendirilebilir ve çözeltinin antioksidan kapasitesinin hesaplanması için kullanılabilir (Pinto ve ark., 2005).

- **2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil Radikal Tayini (DPPH)**

DPPH tayini, bileşiklerin 2,2-difenil-1-pikrihidrazil ($DPPH^{-}$) radikal anyonunu temizleme yeteneğine göre antioksidan özelliklerinin ölçmektedir. $DPPH^{-}$, oldukça stabil ve ticari olarak ulaşılabilir bir serbest radikaldir. Diamanyetik molekül DPPH'yi (radikal olmayan) oluşturan bir elektron veya hidrojen atomunu kabul edebilir. Radikal, 515 nm'de görünür ışığı absorbe eder ve kırmızı-mor renk görünür ancak, protik bir çözeltiyle karıştırıldığında, mor renk kaybıyla birlikte indirgenmiş form (radikal olmayan) üretilmekte ve soluk sarı renk oluşmaktadır.

Diğer elektron transferine dayalı tahlillerde olduğu gibi temizleme aktivitesi, pH ve diğer çözücü özelliklerine tarafından oldukça etkilenmektedir. Hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanları analiz etmek için %50 (v/v) su/etanol karışımı, iyi bir seçim olmaktadır. DPPH tayini, antioksidan bileşiklerin temizleme aktivitesini değerlendirmek için geçerli

ve kolay bir metottur. Sonuçlar yüksek oranda tekrarlanabilmekte ve ABTS gibi diğer antioksidan tespit metotlarıyla karşılaştırılabilmektedir (Foti ve ark., 2004).

- **Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç Tayini (FRAP)**

FRAP tayini, düşük Ph'da kompleks ferrik tripiridil triazin (Fe^{III}-TPTZ)'nin indirgenmesini inceleyerek, antioksidan kapasiteyi ölçmektedir. Ferrik iyonların ferröz iyonlara indirgenmesi, spektrofotometrik olarak takip edilebilen yoğun mavi renkli ferröz-tripiridiltriazine oluşumuna yol açmaktadır.

Çözeltide antioksidan türlerinin varlığı, Fe (III) için indirgeyici görevi görmektedir. Bilinen konsantrasyondaki ferröz iyonlarını içeren reaksiyon karışımına göre absorbanstaki farklılık, doğrudan antioksidan örneğin ferrik indirgeme gücüyle ilişkilendirilmektedir. FRAP tahlili, saf çözeltideki tek antioksidanlar, plazma ve sulu çözeltilerdeki antioksidan karışımlar için hızlı ve güvenilir sonuçlar sağlamaktadır. Dahası, FRAP tahlili basit ve ucuzdur. Bu yöntemin tek dezavantajı ise, -SH gibi okside edilebilir veya Fe (III)'le reaksiyona giren grupları içeren antioksidanların belirlenmesinde kullanılamamasıdır.

2.5. Antibakteriyel Aktivite

Antimikrobiyal terimi, bakteriler, küfler gibi mikroorganizmaların varlığını azaltma gücüne sahip maddeleri tanımlamak için kullanılmaktadır.

Antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel kullanımıyla birlikte antimikrobiyal direnç, günümüzde büyük bir küresel sorun haline gelmiştir. Antimikrobiyal ajanların zengin bir kaynağı olan bitkisel ilaçlar, tarih boyunca birçok bulaşıcı hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Bitki bazlı antimikrobiyaller, ilaçlar için geniş bir kaynak oluşturmakta ve bitkilerin daha fazla araştırılmasına neden olmaktadır. Bitki kökenli antimikrobiyaller geniş terapötik etkilere sahiptir. İnsanlarda enfeksiyona neden olan bakteri, mantar gibi mikroorganizmlar, tropikal ve subtropikal bölgelerde ciddi enfeksiyonlara yol açmaktadır (Pooja ve Vidyasagar, 2016; Rao ve ark., 2021).

Bitkiler, tıbbi amaçlarla birçok ülkede kullanılmaktadır ve birçok güçlü ilacın kaynağını oluşturmaktadır. Çok çeşitli tıbbi bitki bölümleri, farklı tıbbi özelliklere sahip ham ilaçlar

olarak ekstrakte edilmek için kullanılmaktadır. Tıbbi bitkiler, potansiyel terapötik etkilere sahip maddelerin ana kaynağıdır. Bitkilerin tohum, kök, gövde , kabuk, yaprak, çiçek gibi bölümlerinden farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılanarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Pooja ve Vidyasagar, 2016).

Bitkilerde fenolik bileşikler gibi antimikrobiyal özellik gösteren maddelerin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyen faktörlere; bitki türü, kompozisyon ve konsantrasyonu, hasat zamanı, gıda işleme koşulları, depolama koşulları örnek olarak verilebilmektedir (Yılmaz, 2019).

Opuntia türleri, yiyecek ve içecek olarak tüketilmelerinin yanısıra uzun yıllardır insanlar tarafından kullanılmaktadır. Bitkinin birçok kısmı ilaç olarak kullanılmıştır. Bu bitki romatizma, diyare ve diğer inflamatuar problemlerin yanı sıra; özellikle kulak ve diş ağrılarında diüretik ve analjezik olarak da kullanılmıştır. Bitkinin antiinflamatuar özelliği fenolik bileşikler ve b-sitosterol gibi biyoaktif besin bileşenleriyle ilişkilendirilmiştir (Pooja ve Vidyasagar, 2016).

Gıda endüstrisinde mikrobiyal bozulmayı yavaşlatmak ve raf ömrünü uzatmak için gıdalara sentetik koruyucular yaygın olarak eklenmektedir. Ancak taze etler gibi bazı gıda ürünlerine, antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösteren katkı maddelerinin eklenmesi yasaklanmıştır. Bu düzenlemeler sebebiyle, zararlı sentetik gıda katkı maddeleri eklenmeden gıda kalitesinin ve güvenliğinin sağlanmasının önemine yönelik tüketici hassasiyeti her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle son yıllarda bitki bazlı doğal bileşiklere yönelik yapılan çalışmalar artmaktadır (Hintz ve ark., 2015). Bu bitkiler biyolojik olarak aktif bileşiklerin önemli kaynaklarıdır ve gıdalarda kullanımlarını uygun kılan en önemli özellikleri memelilerdeki düşük toksisiteleridir. Birçok çalışma; kekik, tarçın, adaçayı, nane, zencefil, karanfil, biberiye, baharatlardan elde edilen gıda koruyucularına odaklanmıştır (Gottardi ve ark., 2016).

Sentetik bileşiklere iyi bir alternatif olmalarının yanısıra maliyetler açısından da üretiminin kolay olması, antimikrobiyal ve antioksidan bileşiklerden zengin olması ve ucuz hammadde olmaları, bitki ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanılmasında avantaj sağlamaktadır (Palmeri ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada, dikenli incirden (*O. ficus-indica* var. Saboten) elde ekstraktların, antibiyotiğe dirençli olan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecium'*a karşı antimikrobiyal aktivite; *Salmonella* türleri ve *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Kim ve ark., 2005). Başka bir çalışmada, dikenli incirin (*O. ficus-indica*), taze kesilmiş elmalarda *Listeria monocytogenes* büyümesini, saptanamayacak düzeyde engellediği bulunmuştur (Seo ve ark, 2012).

2.6. Klasik Antimikrobiyal Duyarlilik Test (Ast) Yöntemleri

Antibiyotik duyarlılık test yöntemleri, enfeksiyon hastalıklarının özgül tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanların bakteri türlerine karşı in vitro etkinliğini saptamak amacıyla kullanılan testlerdir.

2.6.1. Difüzyon Yöntemleri

- **Agar Disk Difüzyon Yöntemi**

1940 yılında geliştirilen agar disk difüzyon testi, rutin AST için en eski yöntemlerden biridir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında AST için en popüler manuel tekniklerden biri olmaya devam etmektedir (Matuschek, Brown, & Kahlmeter, 2014). Başlıca avantajları; basitlik, yeniden üretilebilirlik, antimikrobiyal diskleri değiştirmede kolaylık, çok sayıda izolata karşı tarama testi olarak kullanım imkanı ve en önemlisi düşük maliyettir (Le Page et al., 2015). Mueller – Hinton agar plakları (90 mm çap), test mikroorganizmasının (0.5 McFarland türbidite standardına karşılık gelen) standartlaştırılmış bir inokulumuyla inoküle edilmektedir. İstenilen konsantrasyonlarda test edilen ajan içeren ticari olarak hazırlanmış 12 adete kadar kağıt disk (yaklaşık 6 mm çapında) inoküle edilmiş agar yüzeyine yerleştirilmektedir. Agar plaklar uygun koşullar altında, tipik olarak 16–24 saat 35–37 ° C'de inkübe edilmektedir (Humphries ve ark., 2018; Saunte ve ark., 2019).

Her antibiyotik disk etrafındaki büyüme inhibisyon bölgelerinin çapı daha sonra milimetre cinsinden ölçülmekte ve diskin çapı da sonuca dahil edilmektedir. Bu, ters çevrilmiş agar plağının arkasında tutulan bir kayan kumpas veya bir cetvel kullanılarak manuel olarak

gerçekleştirilmektedir (Lalitha, 2004). Disk difüzyon testi, bakteriyel duyarlılığı; duyarlı, orta veya dirençli olarak kategorize ederek kalitatif sonuçlar sağlar ve MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) tayini için uygun değildir (Nijs ve ark., 2003).

Dilüsyon yöntemlerinin aksine bir MİK değeri elde edilememekte, ancak örneğin inhibisyon zonunun çapı aynı suşun MİK değerleri ile kıyaslanarak duyarlılık kategorisi tahmin edilmektedir. İnhibisyon bölgesi, MİK değerleri ile ters orantılıdır; büyüme inhibisyon bölgesi ne kadar büyükse, büyümeyi inhibe etmek için gereken antimikrobiyal ilaç konsantrasyonu o kadar düşük olmaktadır (Bruin ve ark, 2013).

- **Antimikrobiyal Gradyan Yöntemi**

Antimikrobiyal gradyan şerit yöntemi, dilüsyon ve difüzyon yöntemlerinin ilkelerini birleştirmektedir. Epsilometre testi (Etest) olarak da bilinmektedir. Etest, agar yüzeyine yerleştirilen, antimikrobiyal madde ile doyurulmuş şeritlerden oluşmakta ve disk difüzyon testi ile aynı prensipleri kullanılmaktadır. Ancak antibiyotiğin bir şerit boyunca düzenli olarak azalan (gradient) konsantrasyonları uygulanarak MİK değerleri elde edilmektedir. Şeridin inokülasyon besiyeri üzerine yerleştirilmesi antibiyotiğin, şeridi çevreleyen besiyerine, bir uçtaki yüksek miktardan diğer uçtaki düşük konsantrasyona doğru difüze olmasına yol açmaktadır. MİK değeri, şeridin üst yüzüne basılı olan doğrusal ölçekten ve üremenin inhibe olduğu zonun şeridi kestiği noktada okunmaktadır (Benkova ve ark., 2020)

2.6.2. Dilüsyon Yöntemleri

Dilüsyon metotları, AST için referans metotlardır. Dilüsyon metotları, agar plaklarda (agar dilüsyon) veya sıvı besiyerinde (broth mikrodülüsyon veya makrodilüsyon) test edilen antimikrobiyal ajanların MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır (Saunte ve ark., 2019) Hem agar hem de sıvı dilüsyon metotları, nicel olarak üreyen veya üremeyen bakteri, maya ve filametli mantarlara karşı antimikrobiyal aktivitenin kantitatif ölçümünde kullanılabilmektedir (Balouiri ve ark., 2016).

Yeni antimikrobiyal ajanların karşılaştırmalı testi için, disk testlerinin şüpheli sonuçlarından sonra, direnç gözetimi için, disk testlerinin güvenilmez olabileceği suşlarda duyarlılık testi için ve klinik yönetim kantitatif sonuçlar gerektirdiğinde dilüsyon yöntemleri kullanılmıştır (Saunte ve ark., 2019).

Bakteri ve mantarların dilüsyonlarını birçok kılavuz onaylamıştır. CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü) ve EUCAST (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi), en tanınmış standartları sağlamaktadır. Bununla birlikte EUCAST ve CLSI tarafından önerilen standartlaştırılmış sıvı mikrodilüsyon metodolojisi, uluslararası standartla tamamen uyumludur. Sonuçlar kullanılan yöntemden etkilenebileceği için laboratuar içi ve laboratuarlar arası tekrar üretilebilirlik için standardizasyon ve dikkatli kontrol talep edilmektedir (Humphries ve ark., 2018)

- **Sıvı (Broth) Makrodülisyon**

Sıvı makrodilüsyon (veya tüp dilüsyon) metodu, en eski AST metotlarından biridir. Başlıca dezavantajları, nispeten büyük miktarda alan ve gerekli reaktifler, yoğun emek gerektiren doğası ve her test için antibiyotik solüsyonlarının hazırlanmasında hata olasılığıdır. Ancak bu metodun avantajı kantitatif sonuçlar vermesidir (MİK) (Jorgensen ve Ferraro, 1998).

Prosedür, 0.5 McFarland türbidite ölçeğine ayarlanmış standart mikrobiyal süspansiyonların minimum hacmini (2 ml) içeren test tüplerinde dağıtılan sıvı büyüme ortamında antimikrobiyal ajanın (µg ml^{-1} olarak ifade edilir) iki kat seyreltilmesi hazırlanarak gerçekleştirilir (Balouiri et al., 2016). 37 ° C'de 24 saat (bakteri suşları) veya 25 ° C'de 4-10 gün (mantar suşları) gece boyunca inkübasyonun ardından, tüpler bulanıklığa göre görünür mikrobiyal üreme varlığı açısından incelenir. Büyümenin tamamen engellendiği (bulanıklığın olmadığı) en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonu MİK'i temsil eder (Salem ve Ali, 2016). Dilüsyonlar elle yapıldığı için; sıvı makrodülisyonun hassaslığı, ± iki kat seyreltme konsantrasyonu olarak düşünülebilmektedir (Humphries ve ark., 2018).

- **Sıvı (Broth) Mikrodilüsyon**

Testin minyatürleştirilmesi nedeniyle, sıvı mikrodilüsyon yöntemi daha pratik ve popüler hale gelmiştir. Bu teknik, genellikle 96 kuyucuk içeren küçük steril tek kullanımlık polistiren mikrotitrasyon plakları kullanılarak gerçekleştirilir. Her kuyucuk 0.1-0.2 arasında hacim içerir ve böylece mikroplaklarda yaklaşık on iki antibiyotiğin, sekiz çift kat aralığında dilüsyonla test edilmesine olanak sağlar (H Moreno ve ark., 2013). Kuyucuklar, antimikrobiyal ajanların iki kat seri seyreltilmesi ile doldurulur. Sonra plak, ml başına 1-5 × 10^5 CFU (ml başına koloni oluşturan ünite) nihai mikrobiyal konsantrasyon elde etmek için 0.5 McFarland ölçeğinde optik yoğunluğa standardize edilmiş seyreltilmiş bir mikrobiyal süspansiyon ile inoküle edilir (Brown-Elliott ve ark., 2012). Kuyucuklar karıştırılır ve mikroplak, test edilen mikroorganizmaya bağlı olarak uygun koşullar altında inkübe edilir. MİK, görsel olarak veya 620 nm'de bir fotometrik analiz cihazı olan otomatik görüntüleme cihazı ile belirlenir. Minimum bakterisidal (MBC) ve fungisidal (MFC) konsantrasyonları, Müeller – Hinton agar (bakteriler için geçerlidir ve 37°C'de 24 saat inkübe edilir) ve Sabora agar (mantarlar için geçerlidir ve 35°C de 48 saat inkübe edilir) üzerinde mikrotitrasyon plakalarından alt kültür yapılarak belirlenir. MBC ve MFC değerleri, ilk bakteriyel veya fungal inokulumun canlılığını% 99.9 oranında azaltan bir antimikrobiyal bileşiğin en düşük konsantrasyonunu gösterir. Test, üç tekrar halinde gerçekleştirilir (Oliveira ve ark., 2011).

Sıvı mikrodilüsyonunun avantajları arasında yeniden üretilebilirlik, gereken az miktarda numune ve çok sayıda kopyaya izin veren düşük maliyet yer alır. Yöntem, makrodilüsyon yöntemine göre daha etkili ve kolaydır (H Moreno ve ark., 2013). Yöntemin dezavantajları kontaminasyonun saptanmasındaki zorluk, aşı yaşayabilirliği ve kullanılan yardımcı çözücülerin (örneğin dimetil sülfoksit) inhibe edici etkisidir (Oliveira ve ark., 2011).

- **Agar Dilüsyon**

Agar dilüsyon yöntemi, manuel bir yöntemdir ve yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu teknik, Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (NCCLS) tarafından standardize edilmiştir (Humphries ve ark., 2018). Agar dilüsyon yöntemi, antimikrobiyal ajanın farklı konsantrasyonlarının, genellikle seri iki kat seyreltmeler kullanılarak erimiş bir agar ortamına dahil edilmesi ve ardından standart bir mikrobiyal inokülumun agar plağının

yüzeyine inokülasyonu ile gerçekleştirilir (Brook ve ark., 2013; Ge ve ark., 2013). Agar plakları, serideki çeşitli suşları görsel olarak karşılaştırarak değerlendirilir ve daha sonra MİK son noktası, bakteri büyümesini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak belirlenir (Brook ve ark., 2013).

Yöntem, antibakteriyel ve antifungal duyarlılık testi için uygundur ve anaeroblar ve *Helicobacter* sp gibi zor üreyen organizmalar için standart bir AST yöntemi olarak önerilir. Agar dilüsyon tekniği, tek bir antimikrobiyal ajan, bir dizi izolata karşı test edilirse veya bileşiğin rengi nedeniyle bir broth besiyerinde mikrobiyal büyümenin saptanmasını etkileyebilmesi durumunda sıvı sulandırmaya tercih edilebilmektedir (Pfaller ve ark., 2016)

Agar dilüsyon yönteminin avantajları arasında, aynı anda aynı agar plağı setinde birkaç bakteriyi test etme yeteneği ve 32 ila 60 farklı bakteri inokülünü bir ağa aktarabilen inokülum çoğaltıcıları kullanarak yöntemi yarı otomatikleştirme yeteneği yer alır. Bu yöntemin bir dezavantajı, yöntem otomatikleştirilmediği sürece yoğun çalışma gerektirmesi ve dolayısıyla ekonomik ve teknik kaynaklar ihtiyaç duyulmasıdır (Pfaller ve ark., 2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1.Çalışmada Kullanılan Meyvenin Toplanması

Çalışmada kullanılan olgunlaşmış ve turuncu renkli Hint inciri meyveleri, 16 Ağustos 2020 tarihinde, Antalya ilinin Gazipaşa ilçesinden toplandı. Gazipaşa, Antalya ilinin en doğusunda yer alan ilçesi olup, Antalya il merkezine olan uzaklığı 180 kilometredir. Meyveler doğal olarak yetişen 3 adet ağaçtan toplandı.

Şekil 3.1. Çalışmada Kullanılan O. Ficus-Indica Meyvesi

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Analizlerde kullanılan cihazlar: dondurucu, buzdolabı, Labconco marka liyofilizatör, Blulab marka etüv, otoklav, Beckman Coulter marka santrifüj cihazı, biyogüvenlik kabini, Biosan Den-1 marka densitometre cihazı, el blenderı, hassas terazi, vorteks cihazı, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuarı'ndan temin edildi. Heidolph marka evaporatör Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edildi.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan Hint inciri meyve ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi için seçilen gram negatif ve gram pozitif özellikte olan beş standart suş kullanıldı. Bu suşlar Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda stoklanan; *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 idi.

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Araçlar, Besiyerleri Ve Kimysallar

Isolab marka falkon tüp (50 mililitrelik), cam tüpler, eppendorf tüp, GVS marka steril şırınga ucu filtre (0.45 μm), enjektör, Corning marka steril pipet ucu, Thermo Scientific marka mikropipet, 96 kuyucuklu U tabanlı steril mikroplak, BD marka Muller Hinton II Broth, Biolife marka kan agar, Tekkim marka metanol, Tekkim marka etanol, Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi.

3.2.Yöntem

3.2.1.Meyve Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak olan turuncu, olgunlaşmış meyveler, 16 Ağustos 2020 tarihinde toplandı. Meyve, dış yüzeyinde yer alan dikenlerden kısmen temizlenmesi için basınçlı musluk suyuyla yıkandı. 17 Ağustos'ta hizmet alımı yoluyla yapılacak olan analizler için meyvelerin bir kısmı, Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'ne teslim edildi. Bir kısmı da, tezin ilerleyen aşamalarında gerekli olabileceği için, kabuklu ve kabuksuz olarak buzdolabı poşetlerine koyularak -86 ^{o}C derin dondurucuya kaldırıldı.

Taze meyveler bıçak yardımıyla kabuklarından ayrıldı. Delikli süzgeç yardımıyla el ile ezilerek çekirdeklerinden ayrıldı. Toplam yaklaşık 1500 ml pulp elde edildi. Elde edilen pulp, blenderdan geçirilerek homojenize hale getirildi. Daha sonra bu pulplar, falkonların

içerisinde -86 ºC'de dondurulduu ve ardından liyofilizatörde kurutuldu. Kurutulan çekirdeksiz meyve pulpu, -20 ºC'de analizler yapılana kadar saklandı.

Her biri 500 mg olan üç kuru meyve örneği 10'ar ml çözücüde (distile su, %80'lik metanol, %80'lik etanol) falkonların içinde çözüldü. Çözme işlemini kolaylaştırmak için falkonlar vortekslendi ve su banyosunda bekletildi. Çözünen örneklere, 10.000 g'de 4 derecede 5 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj işleminden sonra 40 ºC'nin altında yapılan evaporasyon işlemiyle örnekler, çözücülerinden uzaklaştırıldı. Evaporasyon işleminden sonra koyu kıvamlı bir ekstrakt elde edildi. Ekstraktlar +4 ºC'de analizlere kadar saklandı (Moussa-Ayoub ve ark., 2011).

Şekil 3.2. Çalışmada Kullanılan Evaporatör

3.2.2.Toplam Fenolik Bileşikler, Toplam Flavonoid Bileşikler, Flavonoidler, C Vitamini, E Vitamini, Antioksidan Aktivite Tayinleri

Toplam Fenolik Bileşikler, Toplam Flavonoid Bileşikler, Flavonoidler, C Vitamini, E Vitamini, Antioksidan Aktivite tayinleri, Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi tarafından hizmet alımı yoluyla yapıldı. Toplam fenolik bileşikler, spektrofotometrik yöntemle analiz edildi ve ''gallik asit eşdeğeri'' cinsinden ifade edildi. Toplam flavonoid bileşikler, spektrofotometrik yöntemle analiz edildi ve ''kateşin eşdeğeri''cinsinden ifade edildi. Flavonoidler, LC/MS-MS yöntemiyle analiz

edildi ve ‘’miligram (mg)’’ olarak ifade edildi. C vitamini, kromatografik yöntemle analiz edildi ve ‘’askorbik asit’’ cinsinden ifade edildi. E vitamini, kromatografik yöntemle analiz edildi ve ‘’α-tokoferol’’ cinsinden ifade edildi. Antioksidan aktivite, spektrofotometrik yöntemle ifade edildi ve ‘’trolox eşdeğeri’’ cinsinden ifade edildi.

3.2.3.Meyve Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* izolatlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını belirlemek için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Ekstraktlar, sıvı mikrodülisyon testinde kullanılmadan önce 0.45 µm membran filtreden geçirilerek sterilize edildi. Deneyler 96 kuyucuklu U tabanlı mikroplaklar kullanılarak üçlü tekrar halinde yapıldı. Bütün kuyucuklara 100 µl MHB besiyeri konuldu. 12. Kuyucuk sterilite kontrolü (sadece MHB eklendi) olarak değerlendirildi. Ayrıca 1. kuyucuk büyüme kontrolü (100 µl MHB+100 µl bakteri) olarak hazırlandı. 2. kuyucuğa ekstraktların ilk konsantrasyonundan 100 µl alınarak, 11. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. Kültürler 0.5 McFarland standardına göre ayarlandıktan sonra besiyerinde 1/100 dilüsyonu ayarlanıp, 12. kuyucuk hariç tüm kuyucuklara 100 µl inokülüm (5×10^5 CFU ml^{-1}) yapıldı. Mikroplaklar 37 °C’de inkübe edildi ve üremenin gözlenmediği son kuyucuktaki dilüsyon oranı belirlendi (Chuah ve ark., 2014).

4. BULGULAR

4.1.Toplam Fenolik Bileşik, Toplam Flavonoid, Flavonoidler Tayini Sonuçları

Fenolik bileşikler, en bilinen antioksidan bileşiklerdir. Fenoller yapıları gereği taşıdıkları fonksiyonel gruplar nedeniyle elektron ve hidrojen verebilirler. Bu fonksiyonel gruplar, radikalleri ve oksitleyici grupları elimine ederler. Fenolik gruplar hidroksil (OH) grubu bakımından zengindir. Bu OH grupları fenolik gruplara polarlık özelliği kazandırır ve antioksidan özelliği güçlendirir.

Bu çalışmada toplam fenolik bileşikler, spektrofotometrik yöntemle analiz edildi ve "gallik asit eşdeğeri" cinsinden ifade edildi. Toplam flavonoid bileşikler, spektrofotometrik yöntemle analiz edildi ve ''kateşin eşdeğeri''cinsinden ifade edildi. Flavonoidler, LC/MS-MS yöntemiyle analiz edildi ve "miligram (mg)" olarak ifade edildi. Çalışmamızda analiz ettiğimiz Hint inciri meyvesinin toplam fenolik bileşik içeriği 57.01 mg Gallik asit eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak, toplam flavonoid bileşikler içeriği 22.92 mg Kateşin eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak, Kaempferol -3-O-β-rutinoside flavonoid içeriği 1,671 mg/kg yaş örnek olarak bulundu. Kaempferol-3-glucoside flavonoidinin raporlama sınırının altında olduğu tespit edildi.

Tablo 4.1. Toplam Fenolik Bileşik, Toplam Flavonoid, Flavonoidler Tayini Sonuçları

ANALİZ	**ANALİZ SONUÇLARI**	
Toplam Fenolik Bileşikler	57.01 mg Gallik asit eşdeğeri/100 g yaş örnek	
Toplam Flavonoid Bileşikler	22.92 mg Kateşin eşdeğeri/100 g yaş örnek	
Flavonoidler	Kaempferol -3-O-β-rutinoside	1,671 mg/kg yaş örnek
	Kaempferol-3-glucoside	<R.L.

< R.L. Raporlama Limitinin Altında

Raporlama limiti LC/MS-MS cihazı analizleri için 0,2 mg/kg' dır.

4.2. C Vitamini ve E Vitamini Tayini Sonuçları

E vitamini ve C vitamini güçlü antioksidan özellik gösterir. Bu çalışmada C vitamini, kromatografik yöntemle analiz edildi ve ''askorbik asit'' cinsinden ifade edildi. E vitamini, kromatografik yöntemle analiz edildi ve ''α-tokoferol'' cinsinden ifade edildi. Çalışmamızda analiz ettiğimiz Hint inciri meyvesinin C vitamini içeriği, 23.84 mg L-Askorbik asit/100 g yaş örnek olarak bulunurken; E vitamini içeriği 1.01 mg α-Tokoferol/100 g yaş örnek olarak bulundu.

Tablo 4.2. C Vitamini ve E Vitamini Tayini Sonuçları

ANALİZ	ANALİZ SONUÇLARI
C Vitamini	23.84 mg L-Askorbik asit/100 g yaş örnek
E Vitamini	1.01 mg α-Tokoferol/100 g yaş örnek

4.3.Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları

Antioksidan aktivite, spektrofotometrik yöntemle ifade edildi ve ''trolox eşdeğeri'' cinsinden ifade edildi. Hint inciri meyvesinin antioksidan aktivite değeri 25.80 mg Trolox eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak bulundu.

Tablo 4.3. Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları

ANALİZ	ANALİZ SONUCU
Antioksidan Aktivite	25.80 mg Trolox eşdeğeri/100 g yaş örnek

4.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Sonuçları

3 farklı çözücüde çözülen Hint inciri bitki ekstraktının *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* izolatlarına karşı karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını belirlemek için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak elde edilen ve üremenin görülmediği son kuyucukların dilüsyon değerleri Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6. 'da verilmiştir.

O. Ficus Indica'nın metanol ekstraktının, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* ve *K.pneumoniae* bakteri izolatlarına karşı MİK değeri, ekstraktın 1/4 dilüsyonundaki konsantrasyonundan daha büyüktür. Ekstrakt, *E.faecalis*'e karşı en büyük MİK değerini 1/128 dilüsyonda göstermiştir. Ekstrakt, her iki *E.coli* suşuna (*E.coli* ATCC 25922 ve *E.coli* ATCC 35218) karşı en büyük MİK değerini de 1/8 dilüsyonda gösterirken; *S.aureus ATCC 29213*'e karşı en büyük MİK değerini 1/16, *S.aureus* ATCC 43300'a karşı en büyük MİK değerini 1/64 dilüsyonda göstermiştir (Tablo 4.4.).

O. Ficus Indica'nın etanol ekstraktının, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.coli*'nin her iki suşuna (*E.coli* ATCC 25922 ve *E.coli* ATCC 35218) ve *K.pneumoniae* bakteri izolatlarına karşı MİK değeri, ekstraktın 1/4 dilüsyonundaki konsantrasyonundan daha büyüktür. Ekstrakt, *E.faecalis* ve *S.aureus* ATCC 43300'a karşı en büyük MİK değerini 1/128 dilüsyonda gösterirken; *S.aureus* ATCC 29213'e karşı en büyük MİK değerini 1/32 dilüsyonda göstermiştir (Tablo 4.5.).

O. Ficus Indica'nın sulu ekstraktının, çalışmada kullanılan tüm bakteri izolatlarına karşı MİK değeri, ekstraktın 1/4 dilüsyonundaki konsantrasyonundan daha büyük olduğu bulunmuştur (Tablo4.6.).

Tablo 4.4. Bakteriyel Üreminin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Metanol Ekstraktı

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		Üreme Kontrol	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	Sterilite Kontrol
A	A.baumanni ATCC 19606		>										
B	E.faecalis ATCC 29212							×					
C	P.aeruginosa ATCC 27853		>										
D	E.coli ATCC 25922			×									
E	E.coli ATCC 35218			×									
F	K.pneumoniae ATCC700603		>										
G	S.aureus ATCC 29213				×								
H	S.aureus ATCC 43300						×						

Bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuk ‘’×’’ işaretiyle gösterilmiştir.
‘’>’’ işareti bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuğun, ¼ dilüsyon değerinden daha büyük olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.5. Bakteriyel Üreminin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Etanol Ekstraktı

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		Üreme Kontrol	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	Sterilite Kontrol
A	A.baumanni ATCC 19606		>										
B	E.faecalis ATCC 29212							×					
C	P.aeruginosa ATCC 27853		>										
D	E.coli ATCC 25922		>										
E	E.coli ATCC 35218		>										
F	K.pneumoniae ATCC700603		>										
G	S.aureus ATCC 29213					×							
H	S.aureus ATCC 43300							×					

Bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuk ‘’×’’ işaretiyle gösterilmiştir.
‘’>’’ işareti bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuğun, ¼ dilüsyon değerinden daha büyük olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.6. Bakteriyel Üreminin Görülmediği En Son Kuyucuğun Dilüsyon Değerleri-Sulu Ekstrakt

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		Üreme Kontrol	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	Sterilite Kontrol
A	A.baumanni ATCC 19606		>										
B	E.faecalis ATCC 29212		>										
C	P.aeruginosa ATCC 27853		>										
D	E.coli ATCC 25922		>										
E	E.coli ATCC 35218		>										
F	K.pneumoniae ATCC700603		>										
G	S.aureus 29213		>										
H	S.aureus ATCC 43300		>										

Bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuk ‘’×’’ işaretiyle gösterilmiştir.
‘’>’’ işareti bakteriyel üremenin görülmediği son kuyucuğun, ¼ dilüsyon değerinden daha büyük olduğunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Yaptığımız analizlerle, Hint inciri (*Opuntia ficus indica*) bitkisi meyvesinin, toplam fenolik bileşiklerinin tayini, toplam flavonoid bileşiklerinin tayini, flavonoidlerinin tayini, C vitamini tayini, E vitamini tayini, antioksidan aktivitesi ve antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir.

Çalışmamızda dikenli incir meyvesinde yapılan toplam fenolik bileşikler tayininde, toplam fenolik bileşik içeriği 57.01 mg Gallik asit eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak bulunmuştur. Flavonoid bileşikler tayininde, toplam flavonoid içeriği 22.92 mg Kateşin eşdeğeri/100 g yaş örnek olarak bulunmuştur. Flavonoidler tayininde, Kaempferol -3-O-β-rutinoside flavonoidinin 1,671 mg/kg yaş örnek olduğu bulunmuştur. Kaempferol-3-glucoside bileşiği ise raporlama limitinin altında bulunmuştur. C vitamini tayininde, meyvenin C vitamini içeriğinin, 23.84 mg L-Askorbik asit/100 g yaş örnek olduğu bulunmuştur. E vitamini tayininde, meyvenin E vitamini içeriğinin, 1.01 mg α-Tokoferol/100 g yaş örnek olduğu bulunmuştur. Antioksidan aktivite tayininde, meyvenin antioksidan aktivitesinin 25.80 mg Trolox eşdeğeri/100 g yaş örnek olduğu bulunmuştur.

Lopez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, İspanya'da yetişen üç tür (*Opuntia ficus-indica*, *Opuntia undulata* ve *Opuntia stricta*) kırmızı renki dikenli incir meyvesinin antioksidan bileşikleri ve in vitro antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. Çalışmada *Opuntia ficus-indica* meyvesinin C vitamini içeriği 18.5 mg/100 g taze meyve, toplam fenolik bileşik içeriğinin 218.8 mg/100 taze meyve, meyvenin serbest radikal temizleme kapasitesinin (ABTS) 6.70 µmol trolox eşdeğeri/g taze meyve, meyvenin serbest radikal temizleme kapasitesinin (DPPH) 5.22 µmol trolox eşdeğeri/g taze meyve olduğu bulunmuştur. *Opuntia ficus indica'*nın diğer türler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Fernández-López ve ark., 2010).

Bendason ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Meksika'da yetişen iki farklı tür *Opuntia ficus indica*'nın, meyve ve yapraklarının posa ve antioksidan bileşik içeriği

araştırılmıştır. Kırmızı dikenli incir türünün fenolik bileşik içeriği 1.54 gallik asit eşdeğeri/100 g kuru madde, yeşil dikenli incir türünün fenolik bileşik içeriği 2.76 gallik asit eşdeğeri/100 g kuru madde olarak bulunmuştur. FRAP metoduna göre total antioksidan aktivite kırmızı meyvede 47.35 µmol trolox eşdeğeri/g kuru madde olarak bulunurken; yeşil meyvede 40.39 µmol trolox eşdeğeri/g kuru madde olarak buunmuştur. ABTS metoduna göre total antioksidan aktivite kırmızı meyvede 65.76 µmol trolox eşdeğeri/g kuru madde olarak bulunurken; 66.33 µmol trolox eşdeğeri/g kuru madde olarak saptanmıştır (Bensadón ve ark., 2010).

Tesoriere ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Sicilya'da yetişen kırmızı, sarı ve beyaz dikenli incir meyvelerinin içerikleri araştırılmıştır. Sarı, kırmızı ve beyaz meyvelerde frutin, kuarsetin ve isorhamnetin-3-rutinosit flavonoidleri tespit edilememiştir. Kaempferol sarı meyvede 2.7 µg/100 g olarak bulunmuş, kırmızı ve beyaz meyvede tespit edilememiştir. Total E vitamini içerikleri sarı, kırmızı ve beyaz meyvelerde sırasıyla 115 µg/100 g, 111.5 µg/100 g, 114 µg/100 g olarak saptanmıştır (L Tesoriere ve ark., 2005). Khatabi ve arkadaşları, Morokko'da yetişen sarı ve kırmızı dikenli incir meyvelerinin polifenol ve betalain pigmenti içeriğini araştırmışlardır. Polifenollerin kırmızı meyvede 17.81 mg kateşin/kg, sarı meyvede 15.03 mg kateşin/kg olduğu bulunmuştur. Ayrıca polifenol miktarının tüm meyvede, meyve suyuna göre daha fazla bulunduğu bildirilmiştir (Khatabi ve ark., 2016).

Yapılan başka bir çalışmada, *O. ficus-indica* (yeşil renkli), *O. lindheimeri* (mor renkli), O. streptacantha (kırmızı renkli) ve *O. stricta var. stricta* (sarı renkli) olmak üzere, dört farklı tür dikenli incir meyvesinin antioksidan bileşik içeriği araştırılmıştır. Kaempferol flavonoidi en çok kırmızı renkli meyve türünde (3.8 µg/g taze ağırlık) bulunmuştur. Yeşil renkli *O. ficus indica* meyvesinin kaempferol içeriği 2.2 µg/g taze ağırlık olarak bulunmuştur. Kuarsetin flavonoidi en çok mor renkli meyve türünde (90.5 µg/g taze ağırlık) bulunmuştur. Yeşil renkli *O. ficus indica* meyvesinin kuarsetin içeriği 43.2 µg/g taze ağırlık olarak bulunmuştur. Isorhamnetin flavonoidi en çok yeşil renkli *O. ficus indica* meyvesinde (24.1 µg/g taze ağırlık bulunmuştur. Yeşil renkli *O. Ficus indica* meyvesinin askorbik asit içeriği 458 µg/g taze ağırlık olarak saptanmıştır. Çalışmada yeşil renkli *O.ficus indica* meyvesinin total flavonoid içeriği 69.5 µg/g taze ağırlık olduğu

bildirilmiştir. Oificus indica meyvesinin antioksidan kapasitesi 26.3 µmol trolox eşdeğeri/g olarak bulunmuştur (Kuti, 2004).

Campylobacter, insanlarda gıda kaynaklı bakteriyel gastroenterite neden olan en yaygın ajanlardan biridir. Epidemiyolojik çalışmalar, kanatlı kümes hayvanı ürünlerinin tüketiminin bu hastalık için önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. *O. Ficus indica* ekstraktlarının, *C. Jejuni* ve *C. Coli* büyümesi üzerinde belirgin olarak bakterisidal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Castillo ve ark., 2011). *O. ficus indica* kladodlarının sulu, metanol ve etanol ekstraktlarının *Vibrio cholerae* üzerindeki antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; en güçlü etkiyi metanol ekstraktı göstermiştir. Bu ekstrakt membran bozulmasına neden olarak, membran geçirgenliğinin artmasına ve bunun sonucunda pH ve ATP'de belirgin düşüşlere neden olduğu bildirilmiştir (Sánchez ve ark., 2010).

Khemiri ve arkadaşları, *Opuntia ficus indica L. inermis* tohumun yağının in vitro ortamda bakteri, maya ve mantara karışı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Ekstrakte edilen yağ; *Enterobacter cloacae* üzerinde antimikrobiyal etki, *Candida parapsilosis* ve *Candida sake* üzerinde antifungal etki, *Penicillium, Aspergillus,* ve *Fusarium* üzerinde antifungal etki göstermiştir. Antimikrobiyal aktivite, agar disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon testi ile belirlenmiştir. (Khémiri et al., 2019). Hindistan'da yetişen *Opuntia cochenillifera (L.) Mill* bitkisinin kladod ve meyvesinin metanol ve kloroform ekstraktının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada metanol ekstraktının; *E. coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albican, C.glabrata, C.haemulonii, C.Tropicalis* üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu bulunmuştur. En yüksek aktivite, *E. coli, B. Subtilis, C.albican* ve *C.glabrata* üzerinde, 40mg/ml konsantrasyonda gösterilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonun belirlenmesinde agar disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Pooja ve Vıdyasagar, 2016).

Palmeri ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Sicilya'da yetişen kırmızı-mor renkli *O. ficus indica* meyvesinin çekirdeksiz pulpunun antibakteriyel aktivitesi, agar disk difüzyon testi ile araştırılmıştır. Dikenli incir ekstraktının; *E. coli, L. İnnocua, St. aureus, S. enterica, B. subtilis, B. cereus ve P. fluorescens* bakterilerinin büyümelerini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Palmeri ve ark., 2018).

Bargougui ve arkadaşları, Ain Amara (Tunus), Lengissima (Cezayir), Ain Jemaa (Fas) ve Sanguinea (İtalya) olmak üzere dört farklı tür *O. Ficus indica*'nın agar disk difüzyon testi ile antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Meyve suyunun etil asetat ekstraktları ile karşılaştırıldında metanol ekstraktları, daha geniş bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. En iyi antibakteriyel aktivitesyi Fas'da yetişen tür göstermiştir (Bargougui ve ark., 2019). Gnanakalaı ve Gopal yaptıkları çalışmada, *O. Ficus indica* meyvesinin metanol ekstraktının diğer ekstraktlara göre; *Escherichia Coli, Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis'*a karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sulu ekstrakt, test edilen bakterilere karşı daha az antibakteriyel etki göstermiştir. Çalışmada antibakteriyel etki analizinde, disk difüzyon metodu kullanılmıştır (Gnanakalai ve Gopal, 2016).

Ülkemizde genellikle sarı renkli Hint inciri meyvesi yetişmektedir. Çalışmamızda kullanmayı düşündüğümüz mor ve/veya kırmızı renkli Hint inciri meyvelerini temin edemediğimiz için, planladığımız analizleri sadece sarı renkli meyvede gerçekleştirdik. Kırmızı ve/veya mor renkli meyveye ulaşamayıp, karşılaştırmalı bir çalışma yapılamaması çalışmanın sınırlılıkları arasında sayılabilir. Ayrıca, çalışmamızda yaptığımız antibakteriyel aktivite tayininde, meyve ekstraksiyonu sonucunda kıvamlı bir sıvı elde edildiği ve herhangi bir çözücüde çözülmeden antibakteriyel aktivite analizinde kullanılmak zorunda kalındığı için, meyvenin minimum inhibitör konsantrasyonu belirlenememiştir. Mikropleyt üzerinde yalnızca, bakteri üremesinin olmadığı en son kuyucuk tespit edilebilmiştir ve bulgulara, bakteri üremesinin gerçekleşmediği son kuyucuktaki dilüsyon değerleri eklenebilmiştir. Bu, çalışmanın bir diğer sınırlılığıdır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre; meyve, sebze ve posa tüketimini artırmak, kardiyovasküler hastalık, kanser, diyabet gibi bulaşıcı olmayan hastalık riskini azaltmak için kilit rol oynayan yaşam tarzı değişiklikleridir. Meyve ve sebzeler, sağlık üzerine olumlu etkileri olan birçok biyoaktif bileşiği içerisinde barındırmaktadır. E vitamini, C vitamini, fenolik bileşikler, biyoaktif bileşiklere örnek olarak verilebilir. Bu bileşikler besinlere antioksidan özellik kazandırmaktadır ve vüdun serbest radikal hasarına karşı korunmasında rol oynamaktadır.

Antimikrobiyal ajanların zengin bir kaynağı olan bitkisel ilaçlar, tarih boyunca birçok bulaşıcı hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Bitki kaynaklı antimikrobiyaller, ilaçlar için geniş bir kaynak oluşturmakta ve bitkilerin daha fazla araştırılmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda gıda sanayisinde antimikrobiyal ajanlar önem arz etmektedir. Sentetik bileşiklere iyi bir alternatif olmalarının yanı sıra, maliyetler açısından da üretiminin kolay olması, antimikrobiyal ve antioksidan bileşiklerce zengin olması ve ucuz hammadde olması, bitki ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanılmasında avantaj sağlamaktadır.

Hint inciri (*Opuntia Ficus Indica*), yüksek polifenol içeriği nedeniyle; antioksidan, antiinflamatuar ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Birçok ülkede *Opuntia Ficus Indica* bitkisinin meyve, çiçek, kladod, tohum gibi farklı bölümleri gıda sektöründe koruyucu ve doğal tatlandırıcı olarak ve ilaç sektöründe kullanılmaktadır. Kurak iklim özelliklerine dayanıklı, yetiştirmesi kolay ve sağlık üzerine birçok faydalı etkiye sahip olan Hint incirinin ülkemizde de, gıda ve ilaç sektöründe kullanımı teşvik edilmelidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün günde 5 porsiyon (400 g) meyve, sebze tüketimi önerisi doğrultusunda, Dikenli incir meyvesinin günlük diyette tüketimi artırılmalı ve yaygınlaştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

Agte, V., & Tarwadi, K. The importance of nutrition in the prevention of ocular disease with special reference to cataract. *Ophthalmic research,2010; 44*(3), 166-172.

Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H., & Pérez, J. A. M. Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress. *A Master Regulator of Oxidative Stress—The Transcription Factor Nrf2. IntechOpen*, 2016; 1-20.

Akhtar, S., Ahmed, A., Randhawa, M. A., Atukorala, S., Arlappa, N., Ismail, T., & Ali, Z. Prevalence of vitamin A deficiency in South Asia: causes, outcomes, and possible remedies. *Journal of health, population, and nutrition, 2013; 31*(4), 413.

Al-Juhaimi, F., & Özcan, M. M. Determination of some mineral contents of prickly pear (Opuntia ficus-indica L.) seed flours. *Environmental monitoring and assessment, 2013; 185*(5), 3659-3663.

Ammar, I., Ennouri, M., Bouaziz, M., Amira, A. B., & Attia, H. Phenolic profiles, phytchemicals and mineral content of decoction and infusion of Opuntia ficus-indica flowers. *Plant foods for human nutrition, 2015; 70*(4), 388-394.

Ammar, I., Ennouri, M., Khemakhem, B., Yangui, T., & Attia, H. Variation in chemical composition and biological activities of two species of Opuntia flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products, 2012; 37*(1), 34-40.

Aragona, M., Lauriano, E., Pergolizzi, S., & Faggio, C. Opuntia ficus-indica (L.) Miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. *Natural product research, 32*(17), 2018; 2037-2049.

Aruoma, O. I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society, 1998; 75*(2), 199-212.

Ayadi, M., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., & Attia, H. Cladodes from Opuntia ficus indica as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products, 2009; 30*(1), 40-47.

Ball, G. . Vitamins: Their Role in the Human Body.[sl] Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK. 2004

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis,2016; 6*(2), 71-79.

Bargougui, A., Tag, H. M., Bouaziz, M., & Triki, S. Antimicrobial, antioxidant, total phenols and flavonoids content of four cactus (Opuntia ficus-indica) cultivars. *Biomedical and Pharmacology Journal, 12*(2), 2019; 1353-1368.

Barja, G. Free radicals and aging. *TRENDS in Neurosciences, 27*(10), 2004; 595-600.

Beccaro, G. L., Bonvegna, L., Donno, D., Mellano, M. G., Cerutti, A. K., Nieddu, G., . . . Bounous, G. Opuntia spp. biodiversity conservation and utilization on the Cape Verde Islands. *Genetic resources and crop evolution, 2015; 62*(1), 21-33.

Becker, E. M., Nissen, L. R., & Skibsted, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology, 2004; 219*(6), 561-571.

Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of applied microbiology, 129*(4), 2020; 806-822.

Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. By-products of Opuntia ficus-indica as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant foods for human nutrition, 65*(3), 2010; 210-216.

Bettaieb, A., Cremonini, E., Kang, H., Kang, J., Haj, F. G., & Oteiza, P. I. Anti-inflammatory actions of (−)-epicatechin in the adipose tissue of obese mice. *The international journal of biochemistry & cell biology, 2016; 81*, 383-392.

Blaise, G. A., Gauvin, D., Gangal, M., & Authier, S. Nitric oxide, cell signaling and cell death. *Toxicology, 208*(2), 2005; 177-192.

Bors, W., Michel, C., Saran, M., & Lengfelder, E. The involvement of oxygen radicals during the autoxidation of adrenalin. *Biochimica et biophysica acta, 1978; 540*(1), 162-172.

Bouayed, J., & Bohn, T. Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2010; 3*(4), 228-237.

Brook, I., Wexler, H. M., & Goldstein, E. J. Antianaerobic antimicrobials: spectrum and susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews, 2013; 26*(3), 526-546.

Brown-Elliott, B. A., Nash, K. A., & Wallace, R. J. Antimicrobial susceptibility testing, drug resistance mechanisms, and therapy of infections with nontuberculous mycobacteria. *Clinical microbiology reviews, 2012; 25*(3), 545-582.

Brown, M. J., Ameer, M. A., & Beier, K. Vitamin B6 Deficiency. *StatPearls [Internet], Treasure Island, FL*. 2020.

Bruin, J. P., Diederen, B. M., IJzerman, E. P., Den Boer, J. W., & Mouton, J. W. Correlation of MIC value and disk inhibition zone diameters in clinical Legionella pneumophila serogroup 1 isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease,2013; 76*(3), 339-342.

Bulca, S. ÇÖREK OTUNUN BİLEŞENLERİ VE BU YAĞIN VE DİĞER BAZI UÇUCU YAĞLARIN ANTİOKSİDAN OLARAK GIDA TEKNOLOJİSİNDE KULLANIMI. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2014; 11*(2), 29-36.

Carbone, D., & Faggio, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of Sparus aurata and Dicentrarchus labrax. *Fish & Shellfish Immunology, 2016; 54*, 172-178.

Carr, A. C., & Maggini, S. Vitamin C and immune function. *Nutrients, 2017; 9*(11), 1211.

Castillo, S. L., Heredia, N., Contreras, J. F., & García, S. Extracts of edible and medicinal plants in inhibition of growth, adherence, and cytotoxin production of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. *Journal of food science, 2011; 76*(6), M421-M426.

Chin, Y. T., Cheng, G. Y., Shih, Y. J., Lin, C. Y., Lin, S. J., Lai, H. Y., . . . Fu, E. Therapeutic applications of resveratrol and its derivatives on periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences, 2017; 1403*(1), 101-108.

Chuah, E., Zakaria, Z., Suhaili, Z., Bakar, S. A., & Desa, M. Antimicrobial activities of plant extracts against methicillin-susceptible and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Journal of Microbiology Research, 2014; 4*(1), 6-13.

Combs Jr, G. F., & McClung, J. P. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*: Academic press.2016.

Cozzolino, M., Fusaro, M., Ciceri, P., Gasperoni, L., & Cianciolo, G. The role of vitamin K in vascular calcification. *Advances in chronic kidney disease, 2019; 26*(6), 437-444.

Cremonini, E., Bettaieb, A., Haj, F. G., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (-)-Epicatechin improves insulin sensitivity in high fat diet-fed mice. *Archives of biochemistry and biophysics, 2016; 599*, 13-21.

Dennis, J. M., & Witting, P. K. Protective role for antioxidants in acute kidney disease. *Nutrients, 2017; 9*(7), 718.

Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. 2002.

Ebara, S. Nutritional role of folate. *Congenital anomalies, 2017; 57*(5), 138-141.

El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., . . . Cherkaoui-Malki, M. Nopal cactus (Opuntia ficus-indica) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules, 2014; 19*(9), 14879-14901.

Eze, V., Obeagu, E., Ghali, L., Ezimah, A., Ochei, K., Uchegbu-Ibezim, U., & Iwegbulam, C. Comparing the Effect of Tocopherol and Inulin on free radicals Production in vitro. *World Journal of Pharmaceuticaland Medical Research, 2016; 2*(2), 08-19.

Fernández-López, J. A., & Almela, L. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A, 2001; 913*(1-2), 415-420.

Fernández-López, J. A., Almela, L., Obón, J. M., & Castellar, R. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant Foods for Human Nutrition, 2010; 65*(3), 253-259.

Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *The Journal of organic chemistry, 2004; 69*(7), 2309-2314.

Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & function, 2019; 10*(2), 514-528.

Fraga, C. G., Oteiza, P. I., & Galleano, M. Plant bioactives and redox signaling:(–)-Epicatechin as a paradigm. *Molecular aspects of medicine, 2018; 61*, 31-40.

Galati, E., Tripodo, M., Trovato, A., Miceli, N., & Monforte, M. Biological effect of Opuntia ficus indica (L.) Mill.(Cactaceae) waste matter: Note I: diuretic activity. *Journal of Ethnopharmacology, 2002; 79*(1), 17-21.

Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., & Taviano, M. F. Chemical characterization and biological effects of Sicilian Opuntia ficus indica (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003; 51*(17), 4903-4908.

Gan, R.-Y., Chan, C.-L., Yang, Q.-Q., Li, H.-B., Zhang, D., Ge, Y.-Y., . . . Corke, H. Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains *Sprouted grains* (pp. 191-246): Elsevier.2019.

Garrow, J., & Ralph, A. Human nutrition and dietetic. Edinburgh. *Churchill Livigston*, 2000; 528-530.

Ge, B., Wang, F., Sjölund-Karlsson, M., & McDermott, P. F. Antimicrobial resistance in Campylobacter: susceptibility testing methods and resistance trends. *Journal of microbiological methods, 2013; 95*(1), 57-67.

Gibson, R. S. The role of diet-and host-related factors in nutrient bioavailability and thus in nutrient-based dietary requirement estimates. *Food and Nutrition Bulletin, 2007; 28*(1_suppl1), S77-S100.

Gnanakalai, K., & Gopal, R. In vitro antibacterial activities of Opuntia ficus-indica stem and fruit extracts using disc diffusion method. *International Journal of Current Pharmaceutical Research, 2016; 8*(2), 68-69.

Gossweiler, A. G., & Martinez-Mier, E. A. Vitamins and Oral Health. *The Impact of Nutrition and Diet on Oral Health, 2020; 28*, 59-67.

Gottardi, D., Bukvicki, D., Prasad, S., & Tyagi, A. K. Beneficial effects of spices in food preservation and safety. *Frontiers in microbiology, 2016; 7*, 1394.

Govindappa, M., Hemashekhar, B., Arthikala, M.-K., Rai, V. R., & Ramachandra, Y. Characterization, antibacterial, antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory and antityrosinase activity of green synthesized silver nanoparticles using Calophyllum tomentosum leaves extract. *Results in Physics, 2018; 9*, 400-408.

Green, R., Allen, L. H., Bjørke-Monsen, A.-L., Brito, A., Guéant, J.-L., Miller, J. W., . . . Toh, B.-H. Vitamin B 12 deficiency. *Nature reviews Disease primers, 2017; 3*(1), 1-20.

Gupta, N., Verma, K., Nalla, S., Kulshreshtha, A., Lall, R., & Prasad, S. Free Radicals as a Double-Edged Sword: The Cancer Preventive and Therapeutic Roles of Curcumin. *Molecules, 2020; 25*(22), 5390.

H Moreno, P. R., da Costa-Issa, F., Rajca-Ferreira, A. K., Pereira, M. A., & Kaneko, T. M. Native Brazilian plants against nosocomial infections: A critical review on their potential and the antimicrobial methodology. *Current Topics in Medicinal Chemistry, 2013; 13*(24), 3040-3078.

Habib, S., & Ali, A. Biochemistry of nitric oxide. *Indian journal of clinical biochemistry,2011; 26*(1), 3-17.

Halliwell, B. Free radicals and antioxidants–quo vadis? *Trends in pharmacological sciences, 2011; 32*(3), 125-130.

Hernández-Urbiola, M. I., Pérez-Torrero, E., & Rodríguez-García, M. E. Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (Opuntia ficus indica) at varied ages in an organic harvest. *International journal of environmental research and public health, 2011; 8*(5), 1287-1295.

Herrmann, W., & Obeid, R. *Vitamins in the prevention of human diseases*: De Gruyter.

Hess, J. L. (2017). Vitamin E, α-tocopherol *Antioxidants in higher plants* (pp. 111-134): CRC Press.2010.

Hintz, T., Matthews, K. K., & Di, R. The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. *BioMed research international, 2015*.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry, 2005; 53*(6), 1841-1856.

Huang, Z.-Q., Chen, P., Su, W.-W., Wang, Y.-G., Wu, H., Peng, W., & Li, P.-B. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of quercetin 7-rhamnoside in vitro and in vivo. *Molecules, 2018; 23*(5), 1188.

Humphries, R. M., Ambler, J., Mitchell, S. L., Castanheira, M., Dingle, T., Hindler, J. A., . . . Sei, K. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of clinical microbiology,2018; 56*(4), e01934-01917.

Ifeanyi, O. E. A review on free radicals and antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci, 4*(2),2018; 123-133.

Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 1998; 973-980.

Karakan, M., & Nazlikul, H. s. OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLERİN VÜCUT ÜZERİNDEKİ ETKİSİ. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi, 2017; 11*(2), 7-11.

Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., & Gordon, J. I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature, 2011; 474*(7351), 327-336.

Kennedy, D. O. Polyphenols and the human brain: Plant "secondary metabolite" ecologic roles and endogenous signaling functions drive benefits. *Advances in Nutrition,2014; 5*(5), 515-533.

Kennedy, D. O. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy—a review. *Nutrients, 2016; 8*(2), 68.

Khatabi, O., Hanine, H., Elothmani, D., & Hasib, A. Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan Prickly pear fruits (Opuntia ficus indica). *Arabian Journal of Chemistry,2016; 9*, S278-S281.

Khémiri, I., Essghaier Hédi, B., Sadfi Zouaoui, N., Ben Gdara, N., & Bitri, L. The antimicrobial and wound healing potential of Opuntia ficus indica L. inermis extracted oil from Tunisia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019*.

Kim, G. H., Kim, J. E., Rhie, S. J., & Yoon, S. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Experimental neurobiology, 2015; 24*(4), 325.

Kim, H.-N., Kwon, D.-H., Kim, H.-Y., & Jun, H.-K. Antimicrobial activities of Opuntia ficus-indica var. saboten Makino methanol extract. *Journal of Life Science, 2005; 15*(2), 279-286.

Kim, H.-S., Quon, M. J., & Kim, J.-a. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox biology, 2014; 2*, 187-195.

Kim, K.-H., Lee, B., Kim, Y.-R., Kim, M.-A., Ryu, N., Kim, U.-K., . . . Lee, K.-Y. Evaluating protective and therapeutic effects of alpha-lipoic acid on cisplatin-induced ototoxicity. *Cell death & disease, 2018; 9*(8), 1-13.

Kurutas, E. B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition journal, 2015; 15*(1), 1-22.

Kuti, J. O. Antioxidant compounds from four Opuntia cactus pear fruit varieties. *Food chemistry, 2004; 85*(4), 527-533.

Lalitha, M. Manual on antimicrobial susceptibility testing. *Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement, 2004; 56238*, 454-456.

Le Page, S., van Belkum, A., Fulchiron, C., Huguet, R., Raoult, D., & Rolain, J.-M. Evaluation of the PREVI® Isola automated seeder system compared to reference manual inoculation for antibiotic susceptibility testing by the disk diffusion method. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2015; 4*(9), 1859-1869.

Lee, K., Park, C., Oh, Y., Lee, H., & Cho, J. Antioxidant and neuroprotective effects of N-((3, 4-dihydro-2H-benzo [h] chromen-2-yl) methyl)-4-methoxyaniline in primary cultured rat cortical cells: involvement of ERK-CREB signaling. *Molecules,2018; 23*(3), 669.

Lefsih, K., Giacomazza, D., Dahmoune, F., Mangione, M. R., Bulone, D., San Biagio, P. L., . . . Madani, K. Pectin from Opuntia ficus indica: Optimization of microwave-assisted extraction and preliminary characterization. *Food chemistry, 2017; 221*, 91-99.

Litescu, S. C., Eremia, S., & Radu, G. Methods for the determination of antioxidant capacity in food and raw materials *Bio-Farms for Nutraceuticals* (pp. 241-249): Springer.2010.

Liu, R., Xing, L., Fu, Q., Zhou, G.-h., & Zhang, W.-g. A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products. *Antioxidants, 2016; 5*(3), 32.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews, 2010; 4*(8), 118.

Lupton, J. R., Atkinson, S. A., Chang, N., Fraga, C. G., Levy, J., Messina, M., . . . Griffiths, J. C. Exploring the benefits and challenges of establishing a DRI-like process for bioactives. *European journal of nutrition, 2014; 53*(1), 1-9.

Lushchak, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions, 2014; 224*, 164-175.

Matthäus, B., & Özcan, M. M. Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (Opuntia ficus-indica L.) seed oils. *Scientia Horticulturae, 2011; 131*, 95-98.

Matuschek, E., Brown, D. F., & Kahlmeter, G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection, 2014; 20*(4), O255-O266.

Méndez, L. P., Flores, F. T., Martín, J. D., Rodríguez, E. M. R., & Romero, C. D. Physicochemical characterization of cactus pads from Opuntia dillenii and Opuntia ficus indica. *Food chemistry, 2015; 188*, 393-398.

Moussa-Ayoub, T. E., El-Samahy, S. K., Rohn, S., & Kroh, L. W. Flavonols, betacyanins content and antioxidant activity of cactus Opuntia macrorhiza fruits. *Food Research International, 2011; 44*(7), 2169-2174.

Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., & Rodríguez-Serrano, F. Antioxidant intake and antitumor therapy: toward nutritional recommendations for optimal results. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2016*.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry, 2019; 178*, 687-704.

Nijs, A., Cartuyvels, R., Mewis, A., Peeters, V., Rummens, J., & Magerman, K. Comparison and evaluation of Osiris and Sirscan 2000 antimicrobial susceptibility systems in the clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology, 2003; 41*(8), 3627-3630.

Oliveira, L. A. d., Souza-Moreira, T. M. d., Cefali, L. C., Chiari, B. G., Corrêa, M. A., Isaac, V. L. B., . . . Pietro, R. C. L. R. Design of antiseptic formulations containing extract of Plinia cauliflora. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011; 47*(3), 525-533.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry, 2001; 49*(10), 4619-4626.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry, 2002; 50*(11), 3122-3128.

Özcan, M. M., & Al Juhaimi, F. Y. Nutritive value and chemical composition of prickly pear seeds (Opuntia ficus indica L.) growing in Turkey. *International journal of food sciences and nutrition, 2011; 62*(5), 533-536.

Palmeri, R., Parafati, L., Restuccia, C., & Fallico, B. Application of prickly pear fruit extract to improve domestic shelf life, quality and microbial safety of sliced beef. *Food and Chemical Toxicology, 2018; 118*, 355-360.

Pappa, H. M., Mitchell, P. D., Jiang, H., Kassiff, S., Filip-Dhima, R., DiFabio, D., . . . Van Straaten, S. Treatment of vitamin D insufficiency in children and adolescents with inflammatory bowel disease: a randomized clinical trial comparing three regimens. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2012; 97*(6), 2134-2142.

Partovi, N., Ebadzadeh, M. R., Fatemi, S. J., & Khaksari, M. Effect of fruit extract on renal stone formation and kidney injury in rats. *Natural product research, 2018; 32*(10), 1180-1183.

Pérez-Torrero, E., Garcia-Tovar, S. E., Luna-Rodriguez, L. E., & RodríguezGarcia, M. E. Chemical Composition of Prickly Pads from (Opuntia ficus-indica (L.) Miller Related to Maturity Stage and Environment. *International Journal of Plant Biology & Research*.2017.

Petyaev, I. M. Lycopene deficiency in ageing and cardiovascular disease. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2016*.

Pfaller, M. A., Messer, S. A., Rhomberg, P. R., Jones, R. N., & Castanheira, M. Activity of a long-acting echinocandin, CD101, determined using CLSI and EUCAST reference methods, against Candida and Aspergillus spp., including echinocandin-and azole-resistant isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2016; 71*(10), 2868-2873.

Pinto, P. C., Saraiva, M. L. M., Reis, S., & Lima, J. L. Automatic sequential determination of the hydrogen peroxide scavenging activity and evaluation of the antioxidant potential by

the 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation assay in wines by sequential injection analysis. *Analytica chimica acta, 2005; 531*(1), 25-32.

Pooja, S., & Vidyasagar, G. Antimicrobial Activity of Opuntia cochenillifera (L.) Mill Fruit and Cladode Extracts. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine, 2016; 84*.

Raman, T., Ramar, M., Arumugam, M., Nabavi, S. M., & Varsha, M. K. N. S. Cytoprotective mechanism of action of curcumin against cataract. *Pharmacological Reports, 2016; 68*(3), 561-569.

Rao, A. S., Shobha, K., & Concessao, P. L. In vitro Evaluation of the Antimicrobial activity of Methanolic and Aqueous extract of Mucuna pruriens seed. *Research Journal of Pharmacy and Technology, 2021; 14*(8), 4212-4214.

Ray, R., & Shah, A. M. NADPH oxidase and endothelial cell function. *Clinical Science, 2005; 109*(3), 217-226.

Roginsky, V., & Lissi, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry, 2005; 92*(2), 235-254.

Sáenz, C., Estévez, A., Sepúlveda, E., & Mecklenburg, P. Cactus pear fruit: A new source for a natural sweetener. *Plant Foods for Human Nutrition, 1998; 52*(2), 141-149.

Said, H. M. Intestinal absorption of water-soluble vitamins in health and disease. *Biochemical Journal,2011; 437*(3), 357-372.

Salem, M. S., & Ali, M. A. M. Novel pyrazolo [3, 4-b] pyridine derivatives: synthesis, characterization, antimicrobial and antiproliferative profile. *Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2016; 39*(4), 473-483.

Sánchez, E., García, S., & Heredia, N. Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of Vibrio cholerae. *Applied and Environmental Microbiology, 2010; 76*(20), 6888-6894.

Saunte, D. M., Hare, R. K., Jørgensen, K. M., Jørgensen, R., Deleuran, M., Zachariae, C. O., . . . Arendrup, M. C. Emerging terbinafine resistance in Trichophyton: clinical characteristics, squalene epoxidase gene mutations, and a reliable EUCAST method for detection. *Antimicrobial agents and chemotherapy, 2019; 63*(10), e01126-01119.

Selma, M. V., Espin, J. C., & Tomas-Barberan, F. A. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of agricultural and food chemistry, 2009; 57*(15), 6485-6501.

Seo, Y.-H., Han, C.-H., Lee, J.-M., Choi, S.-M., & Moon, K.-D. Effects of Opuntia ficus indica extracts on inactivation of Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes on fresh-cut apples. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 2012; 41*(7), 1009-1013.

Shintre, S. A., Ramjugernath, D., Islam, M. S., Mopuri, R., Mocktar, C., & Koorbanally, N. A. Synthesis, in vitro antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of thiazolidine–quinoxaline derivatives with amino acid side chains. *Medicinal Chemistry Research, 2017; 26*(9), 2141-2151.

Tayebati, S. K., Tomassoni, D., Di Cesare Mannelli, L., & Amenta, F. Effect of treatment with the antioxidant alpha-lipoic (thioctic) acid on heart and kidney microvasculature in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension, 2016; 38*(1), 30-38.

Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., & Livrea, M. A. Supplementation with cactus pear (Opuntia ficus-indica) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American journal of clinical nutrition, 2004; 80*(2), 391-395.

Tesoriere, L., Fazzari, M., Allegra, M., & Livrea, M. Biothiols, taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of Sicilian cactus pear (Opuntia ficus-indica) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *Journal of agricultural and food chemistry, 2005; 53*(20), 7851-7855.

Thomas, D. M., & Mirowski, G. W. Nutrition and oral mucosal diseases. *Clinics in dermatology, 2010; 28*(4), 426-431.

Uçkaya, F. *Antalya'da yetişen Ziziphus zizyphus' un antioksidan aktivitesi ve biyokimaysal bileşiminin incelenmesi.* Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2011.

Üniversitesi, H. Türkiye'ye özgü beslenme rehberi. *Hacettepe Üniversitesi, Ankara*, 2015; 172-202.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology, 2007; 39*(1), 44-84.

Velayutham, M., Hemann, C., & Zweier, J. L. Removal of H2O2 and generation of superoxide radical: role of cytochrome c and NADH. *Free Radical Biology and Medicine,2011; 51*(1), 160-170.

Venditti, P., & Di Meo, S. The role of reactive oxygen species in the life cycle of the mitochondrion. *International journal of molecular sciences, 2020; 21*(6), 2173.

Victor, V. M., Rocha, M., & De la Fuente, M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *International immunopharmacology,2004; 4*(3), 327-347.

Wildman, R. E., & Medeiros, D. M. *Advanced human nutrition*: CRC press Boca Raton, FL.2000.

Wilson, M *Food constituents and oral health: current status and future prospects*: Elsevier.2009.

Wright, C. R., & Setzer, W. N. Chemical composition of volatiles from Opuntia littoralis Opuntia ficus-indica, and Opuntia prolifera growing on Catalina Island, California. *Natural product research, 2014; 28*(3), 208-211.

Yılmaz, G. . *Hünnap (zizyphus zizyphus) ağacı yaprak ve meyve ekstratlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırlması.* Namık Kemal Üniversitesi.2019.

Yu, L.-Y., Sun, L.-N., Zhang, X.-H., Li, Y.-Q., Yu, L., Meng, L., . . . Wang, Y.-Q. A review of the novel application and potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Advances in Therapy, 2017; 34*(5), 1070-1086.

Ziech, D., Franco, R., Georgakilas, A. G., Georgakila, S., Malamou-Mitsi, V., Schoneveld, O., . . . Panayiotidis, M. I. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-biological interactions, 2010; 188*(2), 334-339.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Zeynep	**Uyruğu**	T.C.
Soyadı	KALAYCI	**Tel no**	
Doğum tarihi		**e-posta**	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	**Mezuniyet yılı**
Lise	Alanya 15 Temmuz Şehitler Anadolu Lisesi	2015
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2019
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2021
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (yıl-yıl)**
Araştırma Görevlisi	Antalya Bilim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2021-

Yabancı Dilleri	**Sınav türü**	**Puanı**
İngilizce	Yökdil Sağlık Bilimleri	93,750

Proje Deneyimi

Proje Adı	**Destekleyen kurum**	**Süre (Yıl-Yıl)**

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler:

KALAYCI, Z., KAMARLI ALTUN H.,‘’MODİFİYE ATKIN’S DİYETİ, DUKAN VE PALEO DİYETLERİNİN SAĞLIKLA İLİŞKİSİ’’, Beslenme ve Diyetetik Güncel Konular-10, M. TAYFUR, ANKARA, Hatiboğlu Yayıncılık, 2021, 193-210.

STEVİA REBAUDİANA (BERTONİ) YAPRAKLARININ ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİDİYABETİK ÖZELLİKLERİ, Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi 2021 doi: 10.5336/pharmsci.2020-79419

KALAYCI, Z., & ALTUN, H. K. A. K. ARALIKLI AÇLIK DİYETLERİNİN GLUKOZ HOMEOSTAZI VE LİPİT METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİ. *Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, *3*(1), 52-63.