Antioksidanlar ve Tayin Yöntemleri

Editörler

Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Doç. Dr. Hüseyin ŞAHİN

ANKARA NOBEL TIP KİTABEVLERİ
2012

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 1 24.12.2018 08:58

© 2018 Ankara Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti

Antioksidanlar ve Tayin Yöntemleri

Editörler

Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI, Doç. Dr. Hüseyin ŞAHİN

ISBN: 978-605-7578-07-5

Kitaptaki bölüm içeriklerinin sorumluluğu, yazarına aittir.

5846 ve 2936 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri yayım hükümleri gereğince herhangi bir bölümü, resmi veya yazısı, yazarların ve yayınlayıcısının izni alınmadan tekrarlanamaz, basılamaz, kopyası çıkarılamaz, fotokopisi alınamaz veya kopya anlamı taşıyabilecek hiçbir işlem yapılamaz.

Yayına Hazırlayan	:	Ankara Nobel Tıp Kitabevleri
Yayın Koordinatörü	:	Mehmet Ali KARACA (mehmetalikaraca@ankaranobel.com)
Baskı ve Cilt	:	Neyir Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri
Sertifika No	:	16902
Sayfa Tasarımı	:	Ankara Nobel Tıp Kitabevleri Dizgi Birimi
Baskı Tarihi	:	2018, Ankara

MERKEZ ANKARA NOBEL TIP KİTABEVLERİ	ŞUBE İZMIR NOBEL TIP KİTABEVLERİ	ŞUBE KRC BAŞKENT TIP KİTABEVİ
Adres : Sağlık 1 Sok. No: 17/D Sıhhiye/ANKARA	**Adres** : Kazım Dirik Mh. 186/1 Sok. No: 3D Bornova-İZMİR	**Adres** : Adnan Saygun Cad. Rauf Önay İşhanı No: 4/1-2 Sıhhiye/ANKARA
Tel : 0 312 434 10 87 0 312 434 05 17	**Tel** : 0 232 343 10 50 0 232 343 60 20	**Tel** : 0 312 432 05 18
Faks : 0 312 434 02 99	**Faks** : 0 232 343 30 60	**E-mail** : info@krcbaskent.com
E-mail : info@ankaranobel.com	**E-mail** : info@izmirnobel.com	

Online Satış: www.ankaranobel.com /www.nobeltipkitaplari.com

ÖNSÖZ

Oksidasyon canlı ve cansız her varlık için kaçınılmaz bir olgu olup oksijenin var olduğu günden kıyamete kadar devam edecek olan bir reaksiyondur. Karbohidrat, yağ ve proteinlerin mitokondrilerde oksijen ile yanması sonucu CO_2 ve H_2O'dan başka çok sayıda serbest oksijen radikalleri de oluşmaktadır. Oksijenden daha oksitleyici özelliğe sahip bulunan bu radikalik ajanların temizlenmesinde çok sayıda antioksidan enzim, protein, molekül ve hormon rol oynamaktadır. Oksidasyonu durduran, azaltan ve oluşumunu engelleyen her çeşit molekül antioksidan olarak tanımlanır. Antioksidanlar başta doğal ve sentetik antioksidanlar olarak iki sınıfa ayrılırlar. Troloks, BHT, BHA gibi sentetik antioksidan daha çok standart antioksidanlar olarak kullanılıp, doğal antioksidanlar organizmayı oksidasyona karşı korurlar. Doğal antioksidanlar ise endojen ve eksojen olarak iki alt sınıfla toplanırlar. Endojen antioksidanlar organizma tarafından üretilen (enzimler, peptitler, proteinler, vb) biyomoleküller olup, genetik yapı ile alakalıdırlar. Eksojen antioksidanlar ise diyete birlikte alınan (vitaminler, polifenoller) büyük çoğunluğunu bitkisel kaynaklı biyomoleküllerdir. Akdeniz tipi beslenme olarak bilinen karbohidratça fakir, meyve, sebze ve omega yağ asitlerince zengin diyet endojen antioksidan kapasiteyi artırdığı için daha sağlıklı ve uzun ömürlü bir yaşam ortaya çıkarmaktadır. Kısaca antioksidanlar bizim yaşama sebebimizdir.

"Antioksidanlar ve Tayin Yöntemleri" adlı hazırlanan bu kitap akademik amaçlı olarak hazırlanmıştır. Kitapta son yıllarda sık kullanılan endojen ve eksojen antioksidanlar ve onların analiz yöntemlerini içeren bir el kitabı niteliği taşımaktadır. Türkçe bir kaynak olarak hazırlanan bu kitapta ekstraksiyon tekniklerinden antioksidan metotlardaki pipetlemelere kadar her çeşit ayrıntıyı bulmak mümkündür.

Kitabın hazırlanmasında emeği geçen tüm yazarlara en kalbi duygularımla teşekkür ediyorum.

Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 4 24.12.2018 08:58

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1

GIDALARIN YAPISINDAKİ ANTİOKSİDAN BİLEŞENLER

1.1. GİRİŞ 2
1.2. VİTAMİNLER 3
1.2.1. Vitamin E 3
1.2.2. Vitamin C 6
1.2.3. Vitamin A 8
1.2.4. Vitamin K 11
1.3. FENOLİK MADDELER 14
1.3.1. Fenolik Asitler 16
1.3.2. Flavonoidler 18
1.3.2.1. Flavonoller 19
1.3.2.2. Flavonlar 20
1.3.2.3. Flavanonlar ve Kalkonlar 20
1.3.2.4. Flavanollar 21
1.3.2.5. Antosiyanidinler/Antosiyaninler 21
1.3.3. Taninler (Tanenler) 23
1.3.4. Stilbenler ve Lignanlar 26

BÖLÜM 2

EKSTRAKSİYON (ÖZÜTLEME) YÖNTEMLERİ

2.1. GİRİŞ 40
2.2. GELENEKSEL EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ 40
2.2.1. Maserasyon 40
2.2.2. İnfüzyon (Demleme) 41
2.2.3. Dekoksiyon 42
2.2.4. Perkolasyon 42
2.2.5. Destillasyon İşlemi 43
2.2.6. Sokshlet Ekstraksiyonu 44
2.2.7. Sıvı-Sıvı Seçimli Ekstraksiyon 46
2.2.8. Mekanik Ekstraksiyon Yöntemi 47
2.3. GELİŞMİŞ EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ 48
2.3.1. Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu 48
2.3.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemi (MAE) 52

2.3.3. Ses Dalgaları Destekli Ekstraksiyon Yöntemi (UAE) 54
2.3.4. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu (PLE) 56
2.3.5. Katı Faz Ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction-SPE) 57
2.3.5.1. SPE Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri 60
2.3.5.2. SPE Metodunda Ayırma İşleminde Sıklıkla Kullanılan Çözücü ve Adsorbanlar 61

BÖLÜM 3

ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE TAYİN YÖNTEMLERİ

3.1. GİRİŞ 70
3.2. ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ TAYINI İÇİN ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI 70
3.2.1. Karaciğer veya Doku Homolizatının Hazırlanması 70
3.2.2. Eritrosit Hemolizatları Eldesi 71
3.2.3. Kan Plazması ve Serum Eldesi 71
3.3. ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE TAYİN YÖNTEMLERİ 72
3.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) (E.C. 1.15.1.1) 72
3.3.1.1. Süperoksit Dismütaz Aktivitesinin Ölçülmesi 72
3.3.1.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 73
3.3.2. Katalaz (CAT) (E.C. 1.11.1.6) 74
3.3.2.1. Katalaz Aktivitesinin Ölçülmesi 74
3.3.2.2. Kullanılan Reaktifler ve yöntem 74
3.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) (E.C. 1.11.1.9) 75
3.3.3.1. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçülmesi 76
3.3.3.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 76
3.3.4. Glutatyon Redüktaz (GR) (E.C. 1.6.4.2) 77
3.3.4.1. Glutatyon Redüktaz Aktivitesinin Ölçülmesi 77
3.3.4.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 78
3.3.5. Glutatyon-*S*-Transferaz (GST) (EC.2.5.1.18) 79
3.3.5.1. Glutatyon-S-Transferaz Aktivitesinin Ölçülmesi 79
3.3.5.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 79
3.3.6. Paraoksonaz (PON) (E.C.3.1.8.1) 80
3.3.6.1. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçülmesi 80
3.3.6.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 81
3.3.7. Tirozinaz (PPO) (EC 1.14.18.1) 82
3.3.7.1. Tirozinaz Aktivitesinin Ölçülmesi 82
3.3.7.2. Kullanılan Reaktifler ve Yöntem 83

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 6 24.12.2018 08:58

BÖLÜM 4

TOTAL FENOLİK İÇERİK TAYİNLERİ

4.1. GİRİŞ 88
4.2. POLİFENOL ANALİZLERİ 88
4.2.1. Toplam Polifenol Tayini 88
4.2.1.1. Kullanılan Çözeltiler ve Yöntem 89
4.2.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini 90
4.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler ve Yöntem 91
4.2.3. Toplam Tannen Miktarının Belirlenmesi 92
4.2.3.1. Kullanılan Çözeltiler ve Yöntem 92
4.2.4. Toplam Antosiyanin Tayini 93
4.2.4.1. Kullanılan Çözeltiler ve Yöntem 93

BÖLÜM 5

TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TESTLERİ

5.1. GİRİŞ 98
5.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN METOTLARI 98
5.2.1. Bakır (II) İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) 98
5.2.1.1. Kullanılan Kimyasallar 99
5.2.1.2. Analiz Yöntemi 99
5.2.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) 100
5.2.2.1. Kullanılan Kimyasallar 101
5.2.2.2. Analiz Yöntemi 101
5.2.3. Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Tayin Yöntemi (TRAP) .102
5.2.3.1. Kullanılan Kimyasallar 103
5.2.4. Hidroksil Radikali İle Antioksidan Tayin Yöntemi (HORAC) 104
5.2.4.1. Kullanılan Kimyasallar 104
5.2.5. Fosfomolibdenyum ile Total Antioksidan Tayin Yöntemi: 105
5.2.5.1. Kullanılan Kimyasallar: 105
5.2.6. Toplam Oksiradikal Temizleme Tayin Yöntemi (TOSC): 105
5.2.6.1. Kullanılan Kimyasallar: 106

BÖLÜM 6

SERBEST RADİKAL TEMİZLEME AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

6.1. TROLOKS EŞİTİ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE (TEAC VEYA ABTS) YÖNTEMİ 110

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 7 24.12.2018 08:58

6.2. DPPH· RADİKAL TEMİZLEME AKTİVİTESİ TAYİNİ: 113
6.3. DMPD·+ RADİKAL TEMİZLEME AKTİVİTESİ TAYİNİ 114
6.4. OH· RADİKAL TEMİZLEME AKTİVİTESİ TAYİNİ: 116
6.5. SÜPEROKSİT ($O_2^{\cdot-}$) RADİKAL TEMİZLEME AKTİVİTESİ TAYİNİ.... 117
6.6. H_2O_2 TEMİZLEME AKTİVİTESİ TAYİNİ: 119
6.7. DEMİR (II) İYONLARINI ŞELATLAMA AKTİVİTESİNİN TAYİNİ. 120
6.8. LİNOLEİK ASİT SİSTEMİNDE FERRİK TİYOSİYANAT (FTC) METODU İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ YÖNTEMİN PRENSİBİ 121

BÖLÜM 7

ON-LINE HPLC İLE ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ

7.1. GİRİŞ 128
7.2. KROMATOGRAFİ VE HPLC 128
7.3. ONLINE- HPLC ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ 130
7.3.1. On-line HPLC-FRAP 131
7.3.1.1. On-line HPLC-FRAP İçin Önerilebilecek Analiz Şartları 132
7.3.2. On-line HPLC-CUPRAC 134
7.3.2.1. On-line HPLC-CUPRAC İçin Önerilebilecek Analiz Şartları 135
7.3.3. On-line HPLC-DPPH• 137
7.3.3.1. On-line HPLC-DPPH• İçin Önerilebilecek Analiz Şartları 138
7.3.4. On-line HPLC-ABTS·+ 141
7.3.4.1. On-line HPLC-ABTS·+ İçin Önerilebilecek Analiz Şartları 142
7.4. SONUÇ 145

BÖLÜM 8

ELEKTROKİMYASAL ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ

8.1. GİRİŞ 150
8.1.1. Elektrokimyanın Temel Kavramları 150
8.2. ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLER 153
8.3. BİYOSENSÖRLER 156
8.3.1. İmmobilizasyon Teknikleri 159
8.3.2. Biyosensör Tasarımında Dikkat Edilmesi Gerekilen Hususlar ve Çözülmesi Gerekilen Sorunlar 160
8.4. YAPILAN ÇALIŞMALAR 161

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 8 24.12.2018 08:58

8.4.1. Modifiye Karbon Nanotüp Elektrot ve Kronolometri Yöntemleri ile Şarapta Antioksidan Kapatisesinin Tayini (Ziyatdinova vd., 2016) 161
8.4.2. Karışımlardaki Antioksidan Askorbil Palmitatın Elektrokimyasal Olarak Ölçülmesi (Teneva vd., 2016) 162
8.4.3. Elektrokimyasal DNA Temelli Biyosensör ve Spektrofotometrik Metotlar ile Bitki Ekstraktlarında Total Antioksidan Kapasitesi Tayini (Barroso vd., 2016) 163
8.4.4. Antioksidant Kapasitesi Tayini için Elektrokimyasal Biyosensör Kullanılması (Cortina vd., 2009) 166
8.4.5. Kuru Kırmızı Meyvelerin Antioksidan Özelliklerinin Elektroanalitik Yöntemlerle Tayin Edilmesi (Macêdo vd., 2017) 167

BÖLÜM 9

NANOPARTİKÜLLER İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE/KAPASİTE TAYİNİ

9.1. GİRİŞ 170
9.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE / KAPASİTE TAYİNİNDE NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIMI 171
9.2.1. Metal Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivite/ Kapasite Tayininde Kullanımı 172
9.2.2. Kuantum Noktaların Antioksidan Aktivite / Kapasite Tayininde Kullanımı 179

BÖLÜM 10

ANTİOKSİDAN PEPTİTLER: Oluşum Mekanizmaları İzolasyon Teknikleri Kaynakları

10.1. GİRİŞ 186
10.2. ANTİOKSİDAN PEPTİTLER 187
10.3. BİYOAKTİF PEPTİTLERİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU 190
10.4. ANTİOKSİDAN PEPTİT KAYNAKLARI 192
10.5. SONUÇ 192

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 9 24.12.2018 08:58

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 10 24.12.2018 08:58

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Bazı Gıdaların E vitamini İçerikleri (Eitenmiller ve Lee, 2004; USDA NDB, 2008) 6
Tablo 1.2. Bazı Gıdaların C vitamini içerikleri (Cemeroğlu, 2011; Demirci, 2014) 9
Tablo 1.3. Bazı Gıdalardaki A Vitamini İçerikleri (CND, 2016; Canada; Combs ve McClung, 2016; Anonim, 2018d) 11
Tablo 1.4. Bazı Gıdalardaki K1 Vitamini İçerikleri (Bolton Smith vd. 2010; Presse vd. 2015) 12
Tablo 1.5. Bazı Gıdalardaki K2 Vitamini İçerikleri (Schurgers ve Vermeer, 2000; Koivu-Tikkanen, 2001; Elder vd. 2006) 13

Tablo 2.1. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı çözücülerin özellikleri (McHugh ve Krukonis, 1994; Savage vd., 1995) 50
Tablo 2.2. Süperkritik CO2'de çözünebilen madde grupları (Moyler, 1993; Kılıç 2008). 51
Tablo 2.3. MAE'de kullanılan bazı çözücülerin dielektirik sabiti, dağılma faktörü ve dipol momentleri (Veggi vd., 2013) 54
Tablo 2.4. SPE metodunda kullanılan tutucu maddeler 62
Tablo 2.5. SPE'de yaygın olarak kullanılan çözücüler ve özellikleri 62

Tablo 3.1. SOD tayini için gerekli pipetlemeler 73
Tablo 3.2. Katalaz aktivitesi için gerekli pipetlemeler 75
Tablo 3.3. Glutatyon peroksidaz için gerekli pipetlemeler 76
Tablo 3.4. Glutatyon redüktaz tayini için pipetlemeler 78
Tablo 3.5. Glutatyon S Transferaz tayini için pipetlemeler 79
Tablo 3.6. Paraoksonaz aktivitesi için pipetlemeler 81

Tablo 4.1. Toplam polifenol tayininde yapılan pipetleme işlemi 90
Tablo 4.2. Toplam flavonoid tayininde yapılan pipetleme işlemi 91
Tablo 4.3. Toplam tannen tayininde yapılan pipetleme işlemi. 93

Tablo 5.1. CUPRAC tayininde yapılan pipetleme işlemi 100
Tablo 5.2. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi 102

Tablo 6.1. $ABTS^{\bullet+}$ katyonik radikal temizleme aktivitesi tayininde yapılan pipetleme işlemi 112
Tablo 6.2. DPPH• radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi 114

Tablo 6.3. DMPD$^{\bullet+}$ radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi.... 115
Tablo 6.4. •OH radikal temizleme aktivitesi tayininde yapılan pipetleme işlemi..... 117
Tablo 6.5. $O_2^{\bullet-}$ radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi..... 118
Tablo 6.6. H_2O_2 radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi..... 119
Tablo 6.7. Demir (II) iyonlarını şelatlama inhibisyonunun tayininde yapılan pipetleme işlemi..... 120
Tablo 6.8. Linoleik asit peroksidasyonunun inhibisyonu tayininde yapılan pipetleme işlemi..... 122

Tablo 8.1. Biyosensör algılayıcıları..... 159
Tablo 8.2. Biyosensör grupları ve kapsadıkları analiz alanları (Telefoncu, 1999). 159
Tablo 8.3. Şarap polifenolerinin oksidasyon potansiyelleri..... 162
Tablo 8.4. Sensör ve iyodimetrik analiz sonuçlarının karşılaştırılması..... 163
Tablo 8.5. Spektrofotometrik ve DNA biyosensörü ile tayin sonucu elde edilen değerler..... 165
Tablo 8.6. Elektrokimyasal yöntem ve spektrofotometrik yöntem sonuçlarının kıyaslanması..... 166
Tablo 8.7. Elde edilen verilerin karşılaştırıldığı tablo N: Analizi yapılan numune sayısı..... 167

Tablo 10.1. Biyoaktif peptitleri ayırma ve tanımlama teknikleri (Ovando vd., 2018)..... 191
Tablo 10.2. Bazı antioksidan peptit kaynakları ve antioksidan aktiviteleri..... 193

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 12 24.12.2018 08:58

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Antioksidan içeriği zengin bazı meyveler (Anonim, 2018a) 3
Şekil 1.2. α - tokoferol 4
Şekil 1.3. E Vitamini bakımından zengin bazı gıdalar (Anonim, 2018b) 5
Şekil 1.4. C Vitamini 7
Şekil 1.5. C vitamini bakımından zengin bir meyve: kuşburnu (O. Yıldız) 8
Şekil 1.6. β-karoten 9
Şekil 1.7. Retinol 10
Şekil 1.8. Vitamin A kaynağı bazı gıdalar (Anonim, 2018c) 10
Şekil 1.9. K1 ve K2 vitaminleri 12
Şekil 1.10. Akdeniz tipi beslenme örneği (Anonim, 2018e) 13
Şekil 1.11. K3 vitamini 13
Şekil 1.12. Benzen ve fenol 14
Şekil 1.13. Fenilpropanoid metabolizması (Naczk ve Shahidi, 2004) 15
Şekil 1.14. Bitkilerin değişik kısımlarında bulunan bazı fenolik yapılı bileşenler (Rasouli vd., 2016) 16
Şekil 1.15. Fenolik asitler a) Benzoik asit türevleri ve b) Sinnamik asit türevleri (Shahidi, ve Naczk, 1995; Nizamlıoğlu ve Nas, 2010) 17
Şekil 1.16. Kafeik asit ve CAPE 17
Şekil 1.17. Bilinen bazı flavonoidlerin kimyasal yapısı 19
Şekil 1.18. Antosiyaninlerin renkleri (Ananga vd., 2013) 22
Şekil 1.19. Bitki kökenli gıdalarda yaygın bulunan antosiyanidinlerin yapısı 23
Şekil 1.20. Antosiyaninlerin farklı pH'lardaki renk değişimi 23
Şekil 1.21. Hidrolize olabilen tanin yapısı ve bu taninlerin hidroliz ürünleri 24
Şekil 1.22. Proantosiyanidin yapıları ve monomerik birimleri (Smeriglio vd., 2017). 25
Şekil 1.23. Stilben yapısındaki bazı bileşikler 26
Şekil 1.24. Susamda bulunan temel lignan bileşikleri 27

Şekil 2.1. Anfloraj yöntemi ile ekstraksiyon işlemi 41
Şekil 2.2. İnfüzyon yöntemi ile bitki drogların ekstraksiyonu 42
Şekil 2.3. Perkolatör aleti 43
Şekil 2.4. Clevenger apareyi ve endüstriyel ölçekte su buharı destilasyonu yöntemi ile çalışan uçucu yağ cihazı 44

Şekil 2.5. Sokshlet ekstraktör cihazı 45
Şekil 2.6. Tamamlanmış ve tamamlanmamış sıvı-sıvı ekstraksiyon (Chromacedemy, 2015) 46
Şekil 2.7. Geleneksel (A) ve endüstriyel (B) soğuk sıkım makineleri 48
Şekil 2.8. Çizme yöntemi ile afyon (A), reçine (B) ve sakız (C) elde edilmesi .. 48
Şekil 2.9. Faz Diyagramı (Beysens vd., 1987)..... 49
Şekil 2.10. Süperkritik akışkan ekstraksiyonun şematik gösterimi..... 51
Şekil 2.11. Elektromanyetik Spekturum 52
Şekil 2.12. Isıtma Modelleri (Letellier and Budzinski, 1999) 53
Şekil 2.13. Ses dalgası tipleri..... 54
Şekil 2.14. Banyo (a) ve Problu (b) sonikatörler..... 55
Şekil 2.15. Basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi..... 57
Şekil 2.16. Çeşitli ticari SPE kolon ve diskleri..... 58
Şekil 2.17. SPE yönteminde analitin tutunması (Macherey-Nagel 2004) 59
Şekil 2.18. SPE yönteminde istenmeyen bileşenlerin tutunması 59

Şekil 3.1. Kan Plazması ve Serum Gösterimi..... 71

Şekil 4.1. Folin-Ciocalteu'nun standart ve numune ile verdiği renk aralıkları 89
Şekil 4.2. Toplam polifenol gallik asit kalibrasyon grafiği..... 90
Şekil 4.3. Toplam flavonoid analizinde standart ve numunenin ana reaktiflerle verdiği renk aralıkları 91
Şekil 4.4. Toplam flavanoid kuersetin kalibrasyon grafiği..... 92
Şekil 4.5. Toplam tannen analizinde standart ve numunenin ana reaktiflerle verdiği renk aralıkları 92
Şekil 4.6. Toplam tannen kateşin kalibrasyon grafiği..... 93
Şekil 4.7. Toplam antosiyanin farklı dalga boyundaki görüntüsü..... 94
Şekil 4.8. Antosiyaninlerin pH 1 ve 4.5'de (UV-Vis) spektrumları 94

Şekil 5.1. Ferrik-tripiridiltriazin kompleksi ile antioksidan arasındaki reaksiyon 101
Şekil 5.2. FRAP tayini için $FeSO_4.7H_2O$ kalibrasyon grafiği örneği..... 102
Şekil 5.3. ABAP radikalinin molekül yapısı..... 103

Şekil 6.1. ABTS radikal katyonunun absorbsiyon spektrumu..... 111
Şekil 6.2. $ABTS^{\bullet+}$ radikali oluşumu 111

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 14 24.12.2018 08:58

Şekil 7.1. HPLC cihazı genel gösterimi (Güler, 2014) 129
Şekil 7.2. On-line HPLC cihazı genel gösterimi (Niederlander vd. 2008) 130
Şekil 7.3. 290 nm HPLC-UV ile total ve 593 nm on-line HPLC-FRAP ile kolon sonrası biyoaktif bileşenlerin ayrımı. (1) *Fragaria viridis*, (2) *Fragaria vesca*, (3) *Fragaria moschata* (Raudonis vd. 2012) 133
Şekil 7.4. *Rhododenron luteum* ekstraktına ait bileşenlerin 280 nm ve ayrılmış bileşenlerin FRAP testi için 595 nm'de verdiği kromatogramların karşılaştırılması 133
Şekil 7.5. Antioksidan bileşen karışımının HPLC-UV-280 nm ve On-line HPLC-CUPRAC-450 nm davranışları (Çelik vd. 2010) 136
Şekil 7.6. (a) Flavonoid standart HPLC-UV pikleri [1: Kuersetin, 2: Kaemferol, 3: İsorhamnetin], (b) Analiz numunesi kolon sonrası HPLC-CUPRAC pikleri (Rimkiene vd. 2015) 137
Şekil 7.7. 8 antioksidan bileşenin UV ve DPPH radikal temizle kromatogramları (Bandoniene ve Murkovic 2002 b) 140
Şekil 7.8. 7 fenolik bileşenin UV ve DPPH radikal temizle kromatogramları (Bandoniene ve Murkovic 2002 c). 140
Şekil 7.9. Sulu bitki ekstraktların UV ve DPPH radikal temizle kromatogramları (Kosar vd., 2003) 141
Şekil 7.10. Standart bazı fenolik bileşen karışımının On-line HPLC-antioksidan kromatogramları. A) Gallik asit, b) 3,4-dihidroksibenzoik asit, (c) p-OH benzoik asit, (d) kateşin, (e) vanilik asit, (f) kaffeik asit, (g) şiringik asit, (h) epikateşin, (i) vanilin, (k) 4-OH sinnamik asit, (m) rutin, (n) t-resveratrol, (o) kuersetin, (p) kaemferol (Karaçelik vd., 2015) 144
Şekil 7.11. Farklı konsantrasyon aralıklarında çalışılan BHT'nin On-line HPLC-ABTS$^{\bullet+}$ ile dedeksiyon gösterimi (1: 0,5 μM; 2: 1 μM; 3: 2,5 μM; 4: 5 μM; 5: 10 μM; 6: 25 μM; 7: 50 μM) (Koleva vd., 2001) 145

Şekil 8.1. Elektrokimyasal hücre (pil) şematik gösterimi 150
Şekil 8.2. Ara yüzey ve elektron aktarımı, elektriksel çift tabaka oluşumu (Erdoğdu, 2013) 151
Şekil 8.3. Elektroanalitik yöntemler (Şener, 2015) 152
Şekil 8.4. Potansiyostat hücresinin gösterimi 153
Şekil 8.5. Çalışma Elektrotları 154
Şekil 8.6. Voltametrik/ Polarometrik yöntemler (Karabudak, 2013) 155
Şekil 8.7. Kadmiyum iyonu doğru akım polarogramı (Beşergil, 2015) 155
Şekil 8.8. 3 Elektrotlu Sistem Elektriksel Diyagramı (Karabudak, 2013) 157

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 15 24.12.2018 08:58

Şekil 8.9. Biyosensör çalışma mekanizması/ farklı biyomolekül ve çevirici kullanımı (Aykut vd., 2006) 157
Şekil 8.10. Biyosensör tercih edilme nedenleri 158
Şekil 8.11. Çeşitli immobilizasyon teknikleri (Telefoncu ve Kılınç, 2013) 160
Şekil 8.12. Kırmızı (2) ve beyaz (4) şarap kronokulometrik eğrileri 162
Şekil 8.13. Askorbil palmitatın yükseltgenmesi 163
Şekil 8.14. DNA temelli biyosensör elektrot tasarımı 164
Şekil 8.15. cyt c modifiye elektrot kullanılarak ksantin oksidaz- katalaz enzim sistemi ile süperoksit tayini 166

Şekil 9.1. ORAC yönteminin şematik gösterimi 171
Şekil 9.2. Nanopartiküllerin üretim şekilleri (Sanchez ve Sobolov, 2010) 172
Şekil 9.3. Siyah çay, yeşil çay ve portakal suyunda altın nanopartikül oluşumundan yola çıkarak antioksidan tayini (Scampicchio vd., 2006) 173
Şekil 9.4. Farklı izoflavin standart konsantrasyonları kullanılarak altın nanopartikül oluşumu (Vilela vd., 2014) 174
Şekil 9.5. Glutatyon ve sistein miktarlarının ölçümünde altın nanoçubukların seçiciliği (Sudeepvd., 2005) 176
Şekil 9.6. Kuersetinin farklı konsantrasyonları kullanılarak gümüş nanopartiküllerin UV−Vis spekturumu (μM): (a) 0, (b) 3.57, (c) 7.14, (d) 10.71, (e) 14.28, ve (f)17.85 (Özyürek vd.,2012) 177
Şekil 9.7. Rodyum nanopartikülleri ile farklı fenolik asitlerin etkileşimi (Gatselou vd.,2016) 178
Şekil 9.8. Kuantum noktaların boyutuna bağlı olarak renk değişimleri (Durmuşoğlu, 2016) 179
Şekil 9.9. CdTe nanopartikülleri ile antioksidan aktivite tayini (Hemmateenejad vd., 2012) 180

Şekil 10.1. Biyoaktif peptitlerin fonksiyonel özellikleri 186
Şekil 10.2. Biyoaktif peptitlerin oluşum mekanizmaları 187
Şekil 10.3. Antioksidan peptitin hücre içi serbest radikal süpürme ve antioksidan enzimleri düzenleme aktivitesi (Liu vd., 2018). 188

ANTİOKSİDAN TAYİN YÖNTEMLERİ.indd 16 24.12.2018 08:58