

Reşat Apak

Kubilay Güçlü

Mustafa Özyürek

S. Esin Çelik

Burcu Bekdeşer

Mustafa Bener

*Istanbul Üniversitesi,  
Mühendislik Fakültesi,  
Kimya Bölümü*

# Antioksidanları Belirlemede Yeni Bir Yöntem:

# CUPRAC



### Antioksidan nedir ve ne işe yarar?

Oksijen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, hücre solunumu ve normal metabolizma olayları esnasında “serbest radikaller”in oluştuğu tepkimelere de katılırlar. Serbest radikaller belirli tipteki kimyasal tepkimeler sırasında karşıdaki molekülden elektron alan, son derece reaktif olan oksidan ara ürünlerdir. Antioksidanlar ise serbest radikallerin olumsuz etkilerini gideren, hücresel yıpranma ve yaşlanma, kanser, kalp ve damar hastalıkları, Alzheimer ve bağışıklık sistemi hastalıklarına neden olabilecek zincir tepkimelerini engelleyen moleküllerdir.

Oksijenli solunum, dış kaynaklı UV radyasyonu, hava kirliliği ve beslenme sonucu meydana gelen serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere vücutta antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda mevcut savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve “oksidatif stres” olarak adlandırılan ve “vücudun paslanması” diye de tanımlanabilecek durum ortaya çıkar. Çeşitli hastalıklara yol açabilen bu durumla mücadele etmenin en önemli araçlarından biri, hastalıktan korunma ve tedavi bağlamında antioksidanca zengin gıdalarla beslenme düzenidir. Birçok çalışmada meyve ve sebze ağırlıklı beslenmenin kardiyovasküler hastalıklar ve kanser oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Bu olumlu etkiler özellikle meyve ve sebzelerde bolca bulunan polifenoller, flavonoidler, karotenoidler, antosiyaninler, askorbik asit (C vitamini) ve alfa-tokoferol (E vitamini) gibi antioksidan aktivite gösteren çeşitli bileşiklerin varlığında oluşur.

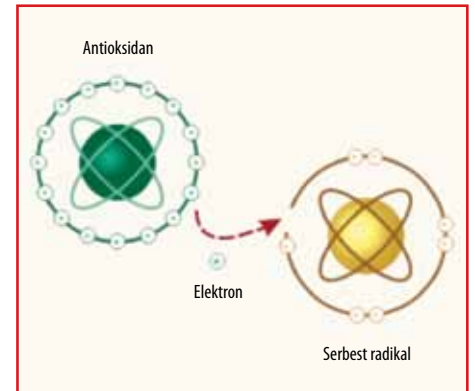


### Antioksidanların varlığının saptanması niçin önemli?

Hücelere zarar veren serbest radikalleri etkin bir şekilde süpürerek zehir etkisi düşük olan veya zehir etkisi göstermeyen ürünlere dönüştüren antioksidan bileşikler ve enzimler sağlıklı bir yaşam için vazgeçilmezdir. Bu nedenle antioksidanların saptanması, özellikle gıda, biyokimya ve tıp alanlarında oldukça önemlidir. Önemli hastalıkların önlenmesinde besinlerdeki antioksidanların büyük rolü olduğunun kanıtlanması, gıdaların antioksidan içeriklerinin belirlenmesi ve hastalıkların teşhis ve tedavisi gibi amaçlarla kullanılmak üzere birçok antioksidan kapasite saptama yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Bu önemli konuyla ilgili araştırmalar yapan İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Reşat Apak ve çalışma grubu da 2004 yılında dünya literatürüne, genel adı “bakır(II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite” (CUPRAC) ölçüm yöntemi olan yeni bir antioksidan kapasite saptama yöntemi kazandırdı.

### CUPRAC yöntemi nasıl kullanılıyor?

Bu yöntemde, Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc) adlı reaktif maddenin, plazma/serum antioksidanları, flavonoidler, gıda polifenoller, vitaminler gibi antioksidan bileşiklerin varlığında dönüştüğü sarı renkli ürünün (Cu(I)-Nc kompleksi) renginin koyuluğu spektrofotometre adı verilen cihazla ölçülür. Bu ölçümde daha koyu bir renk daha fazla antioksidan miktarına işaret eder. Optik yoğunlukları bilinen bazı çözeltilerin renk koyuluk değerleriyle yapılan karşılaştırmalı hesaplamalar sonucu Cu(I)-Nc kompleksinin yoğunluk değeri belirlenir.





CUPRAC yöntemi bitkisel çaylara, şifalı bitki özütlerine, birçok sebze ve meyve özütüne başarıyla uygulandı. Ayrıca CUPRAC yönteminin esasına bağlı kalınarak birçok CUPRAC yöntemi çeşitlenmesi geliştirildi. Antioksidan kapasite saptama yöntemleri genelde besinin toplam antioksidan içeriğini, antioksidan aktivite saptama yöntemleri ise antioksidan maddenin serbest radikaller gibi reaktif oksijen türlerini süpürme etkinliğini (hızını) ölçüyor. Son olarak CUPRAC yöntemi esas alınarak bir antioksidan algılayıcı geliştirildi. Bilimsel literatürdeki ilk optik antioksidan algılayıcısı olan bu algılayıcı, CUPRAC reaktifinin sentetik bir polimer olan Nafion yüzeyine sabitlenmesiyle elde edilmiş, böylelikle bir pH kâğıdı daldırarak bir çözeltinin asitlik derecesinin ölçülmesi kadar basit bir işlemle antioksidan kapasite tayini mümkün oldu. CUPRAC yöntemi, güncel çalışmalarla gerek aktivite gerekse kapasite ölçümlerinde kullanılan teknikleri bünyesinde toplayıp çoklu analizlerin gerçekleştirildiği bir paket yöntem olarak bilim dünyasına sunuldu. Bu çalışmaların büyük bir çoğunluğu TÜBİTAK Araştırma Projelerini Destekleme Programı, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Devlet Planlama Teşkilatı tarafından desteklendi.

### Yöntemin Akademik Başarısı

Prof. Apak ve çalışma grubu tarafından 2004 yılında CUPRAC yönteminin geliştirilmesiyle başlayan çalışmalar sonucunda bilim dünyasına antioksidanlar konusunda (SCI indeksince taranan yüksek etki faktörlü dergilerde) yaklaşık 30 adet yayın kazandırıldı. Bu bilimsel yayınlara bugüne kadar yaklaşık 500 adet atıf yapıldı. Günümüzde CUPRAC yöntemi ABD, İsrail, Kanada, İngiltere başta olmak üzere birçok ülkede rutin olarak uygulanıyor. Prof. Apak (çalışma grubu ile birlikte) CUPRAC yöntemi buluşuyla 2008 yılında İTÜ Vakfı Bilim Ödülleri Kapsamında Övgüye Değer Eser Ödülü'ne ve İÜ Rektörlüğü'nce 2009 Yılı Onursal Bilim Ödülü'ne layık görüldü.



bi başka maddeler arasında sadece antioksidanları ölçebilen seçici bir yöntem. Bununla birlikte, literatürdeki bazı yöntemlerin ölçemediği antioksidanları (örneğin önemli bir plazma antioksidanı olan glutatyon) başarıyla ölçebilmesi önemli avantajlarından biri.

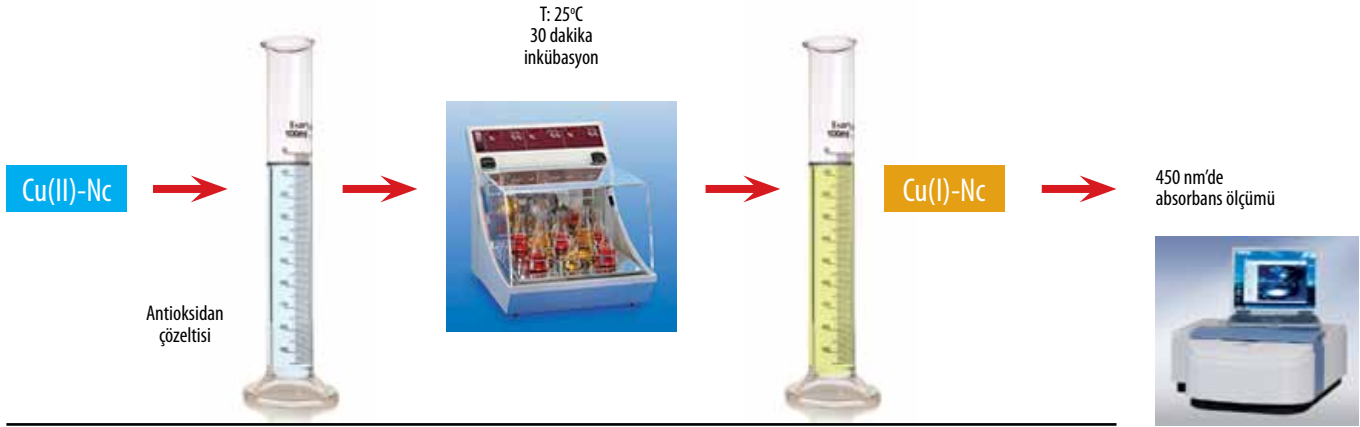
### CUPRAC yönteminin diğer yöntemlere göre üstünlükleri

CUPRAC yöntemi, diğer ölçüm yöntemlerine göre kolay, hassas, maliyeti düşük, fizyolojik pH'da (kan pH'sı) çalışabilen bir yöntem olup kısa sürede güvenilir sonuç veriyor. Örneğin, meyve suyunda bulunan sitrik asit ve meyve şekerleri gi-

### CUPRAC yöntemi ile gelen kazanımlar ve ileriye dönük hedefler

Bu yöntemin gıda örneklerine uygulanmasıyla sağlıklı bir yaşam için gereksinim duyulan antioksidanlarca zengin gıdaların antioksidan içerikleri daha güvenilir ve hassas olarak belirlenebiliyor. Bu uygulamaların öne çıkan bazı sonuçlarına





bakıldığında, Malatya kayısının emsallerinden daha fazla antioksidan içerdiği (özellikle gün kurusu) ve güneşte kurutulan kayısların yaş kayıslar ile karşılaştırıldığında antioksidan kapasitesini koruduğu görüldü. CUPRAC yöntemi ile portakal, üzüm, elma, nar suları ve asidik kolalı içecekler toplam antioksidan kapasite bakımından sıralandığında nar suyu birinci, portakal suyu ikinci sırada geliyor. Asidik kolalı içeceklerde ise oldukça düşük değerler elde edildi. Keyif için ya da şifalı olarak bilindiği için tüketilen bazı bitkilerin özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri incelendiğinde yeşil ve siyah çay, aslan pençesi, fesleğen ve oğul otunun antioksidanca zengin olduğu görüldü. Denizli yöresinden toplanan 22 üzüm çeşidi üzerinde yapılan araştırmada yaş üzüm, kuru üzüm ve üzüm çekirdeklerinin toplam antioksidan kapasiteleri tayin edildi. Yapılan analizler sonucunda koyu renkli üzüm çeşitlerinin antioksidan bakımından zengin olduğu görüldü. Ayrıca çekirdekteki antioksidan kapasitenin etli kısma göre daha yüksek olduğu belirlendi. Ordu Fındık Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan 15 fındık çeşidi üzerinde yapılan araştırmada ise fındık özütlerinde en yüksek antioksidan kapasite Mincane çeşidinde, fındık yağlarında ise Kalınkara çeşidinde bulundu.

Yapılan tüm bu deneysel çalışmalardan çıkan sonuçlar, toplumun gıda tüketimi ve beslenme konusunda bilgilendirilmesine, böylelikle koruyucu hekimlik bağlamında özellikle sebze ve meyvelerde mevcut olan antioksidanlarca zengin gıdalarla beslenme alışkanlıklarının yaygınlaşmasına katkı sağlayabilir. Bu tür beslenme biçimlerinin yaygınlaşması ise hücre yıpranması ve yaşlanmayı azaltıcı etkiler sayesinde toplumda yaşam kalitesinin ve ortalama yaşam süresinin artmasına katkıda bulunabilir. Yakın geleceğin tıp dünyasında oksidatif stres kökenli hastalıkların tanı, takip ve tedavisinde plazma/serum antioksidan kapasite ölçümlerinin standart protokollere dâhil edilebileceği öngörülmüyor. Ülke-

mizde üretilen besin kaynaklarının Toplam Antioksidan Kapasite (TAC) değerlerinin CUPRAC yöntemiyle etiketlenmesi ve tüketicinin bilgisine sunulup bu konuda aydınlatılması hedefleniyor. Besinlerdeki antioksidan kapasitenin etiketlenmesi, hem ülke hem de dünya piyasasında rekabeti artıracak gibi, etiketli ürünlerin tüketici tarafından tercih edilmesini de sağlayacaktır. Bu etkinlik, ürünlerimizin uluslararası pazarlarda da tercih edilmesini kolaylaştıracağından ihracat potansiyelimizi artıracak ve doğrudan ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır. Bu tip çalışmaların sektörel alanlarda duyurulması, gıda sektörünün önde gelen firmalarını AR-GE çalışmalarına daha fazla önem vermeye teşvik edebilir. DPT tarafından desteklenen ve İstanbul Üniversitesi bünyesinde kurulan Türkiye'nin ilk Gıda Antioksidanları AR-GE Merkezi'nde, antioksidanlar konusunda öncü çalışmalara devam edilmesi hedefleniyor.



#### Kaynaklar

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., "Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, s. 7970-7981, 2004.  
 Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., "The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement", *Trends in Analytical Chemistry*, 30, s. 652-664, 2011.  
 Bener, M., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., "Development of a Low-Cost Optical Sensor for

- Cupric Reducing Antioxidant Capacity Measurement of Food Extracts", *Analytical Chemistry*, 82, s. 4252-4258, 2010.  
 Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M. E., Karademir, S. E., Apak, R., "Antioxidant Capacity of Fresh, Sun- and Sulfited-Dried Malatya Apricot (*Prunus Armeniaca*) Assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin Methods", *International Journal of Food Science and Technology*, 41, s. 76-85, 2006.  
 Altun, M., Çelik, S.E., Güçlü, K., Özyürek, M., Erçağ, E., Apak, R., "Total Antioxidant Capacity and Phenolic Contents of Turkish Hazelnut (*Corylus Avellana* L.) Kernels and Oils", *Journal of Food Biochemistry*,