
ANALİTİK YÖNTEMLER VE UYGULAMALARI

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Dilek BÜYÜKBEŞEYAYLA

yaz
yayınları

Analitik Yöntemler ve Uygulamaları

Editör

Dr. Öğr. Üyesi Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA

yaz
yayınları

2025

Analitik Yöntemler ve Uygulamaları

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5547-59-0

Mart 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

The Application of High Pressure Liquid Chromatography in Food Analysis	1
--	----------

Gülten ŞEKEROĞLU, Ahmet KAYA

Bitkisel Opioid Analjezik Bileşenler ve Analiz Yöntemleri.....	27
---	-----------

Kübra İŞGÜZAR, Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA

Enerji İçeceklerinde İçerik Analiz Yöntemleri	49
--	-----------

Naime KAPLAN, Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA

Kimya Alanında Kullanılan Kromatografik Yöntemler: Gaz Kromatografisi.....	64
---	-----------

Songül KESEN

Antioksidan Analiz Yöntemleri.....	78
---	-----------

Eda Elgin KILIÇ

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

THE APPLICATION OF HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY IN FOOD ANALYSIS

Gülten ŞEKEROĞLU¹

Ahmet KAYA²

1. INTRODUCTION

High-performance liquid chromatography (HPLC) is an analytical technique employed to separate, identify, or quantify the individual components within a mixture. The mixture is isolated through the fundamental principle of column chromatography and subsequently identified and quantified via spectroscopy (Fanali et al., 2013).

HPLC is the most important and widely used technique in the field of food analysis for determining physicochemical properties such as hydrophobicity, molecular size, hydrophilic or ionic nature, and function of the compounds. HPLC is dependable, versatile, and precise for the quantification, separation, purification, and identification of chemical compounds. It is frequently employed in the analysis of chemical compounds in food, pharmaceuticals, and beverages, as well as in

¹ Assist.Prof.Dr., Gaziantep University, Naci Topcuoğlu Vocational High School, Food Processing Department, Gaziantep/Türkiye, sekeroglu@gantep.edu.tr, ORCID: 0000-0002-5499-1028.

² Prof.Dr., Gaziantep University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Gaziantep/Türkiye, kaya@gantep.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6960-3780.

the the quantification and examination of organisms and animal tissues.

Liquid chromatography was developed in the early 1900s by Russian botanist Mikhail S. Tswett, who was born in 1872 in Italy, while conducting research on plant pigments. His research primarily concentrated on the separation of leaf pigments utilizing a solvent in a particle-packed column. The researcher utilized a glass column containing calcium carbonate and aluminum oxide, through which the solvent extract of plant leaves was passed. Thereafter, the unadulterated solvent was conveyed through the column. Consequently, colored bands are observed to be separating. The occurrence is attributed to certain components of plant extracts migrating at a faster rate than others. By employing this technique, he had isolated various compounds (Moldoveanu & David, 2013; Nie & Nie, 2019).

The applications of high-performance liquid chromatography (HPLC) in food technology include both analytical and quantitative assessment of product composition, as well as improved productivity and assurance of product quality. HPLC is used in the food industry for the analysis of components at all stages from raw materials to the final product. Changes during processing and storage are also monitored. HPLC is also used to ensure conformity of foods to standards and for quality control analyses.

2. BASIC PRINCIPLES OF HPLC

High-performance liquid chromatography (HPLC) is an independent separation technique and a crucial instrumental method for the quantitative and/or qualitative analysis of compounds in complex mixtures through separation, identification, and quantification. Chromatography is a separation method that relies on the differential distribution of components

in a complex mixture between two distinct phases: the mobile phase and the stationary phase. Separation occurs when one phase exhibits affinity or adhesion for the material to be extracted from the other phase, enabling the mobile phase to traverse freely while the solute is retained. The predominant behavior of retention is attributed to the stationary phase, thus the classification of chromatographic methods is based on the characteristics of the stationary phases. In HPLC, the stationary phase is securely and uniformly retained within a column by a metal frit or plate, designed to endure the operational pressure. HPLC primarily employs a liquid mobile phase that is eluted through the column under relatively high pressure. Due to the substantial impact of small particle size on solvent pressure, HPLC is conducted at relatively high pressures (David, 2013).

Classical HPLC is a column-based technique wherein the constituents of a sample mixture are solubilized in the mobile phase and subsequently eluted through a column containing the stationary phase. This versatile method employs either direct or indirect detection of the separated compounds via ultraviolet/visible absorption photometers or optical sensors. The output is a chromatogram, a temporal record of absorbance signals that reflect solute concentration, defined as the total amounts of solutes eluting from the column (Nie & Nie, 2019).

HPLC can separate and identify each compound by utilizing the variations in their physical interactions within the column. HPLC consists of two phases: the mobile phase and the stationary phase. The mobile phase is the solvent that solubilizes the target compound. The stationary phase is the immobile filler within the column that engages with the target compound. In the column, a greater affinity (e.g., van der Waals force) between the component and the mobile phase results in a more rapid movement of the component along the column with the

mobile phase. Conversely, a greater affinity for the stationary phase results in a slower progression along the column.

2.1. Components of HPLC

The fundamental components of an HPLC system comprise solvent reservoirs, solvent degassers, high-pressure pumps for the mobile phase, a solvent mixer, a sampling system (utilizing either an autosampler or manual syringes) valve, an analytical column (separation system), a detector, a data acquisition system, and a waste reservoir (Figure 1) (Moldoveanu & David, 2013).

2.2. Pump

A glass solvent reservoir contains the mobile phase component. In HPLC, the mobile phase is typically a combination of polar and non-polar liquid components, with specific compositions varying according to the sample matrix.

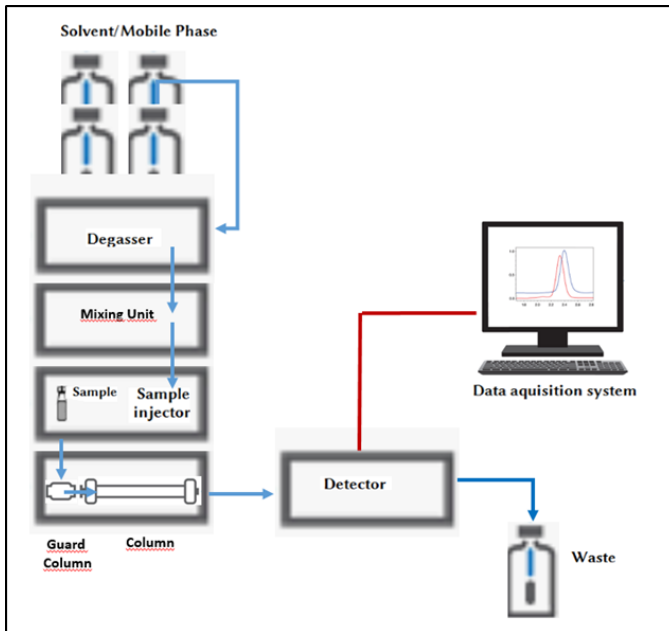


Figure 1. Components of HPLC

The pump is the core component of the HPLC system, responsible with supplying the mobile phase at a consistent flow rate and pressure (Gupta et al., 2022).

HPLC pumps are classified into two categories: isocratic and gradient. Isocratic pumps maintain a uniform mobile phase composition during the analysis, whereas gradient pumps enable time-dependent variations in the mobile phase composition, facilitating enhanced separation of components. While gradient elution can reduce analysis time, enhance resolution, improve peak shape, and increase detection sensitivity, it may also lead to baseline drift and diminished reproducibility. Both pump types necessitate meticulous regulation of the flow rate and pressure of the mobile phase to guarantee precise and consistent results.

2.3. Injector

The injector is an essential element of the HPLC system, acting as the interface between the sample and the chromatographic column. The design and operation substantially affect the accuracy, precision, and reproducibility of HPLC analyses. HPLC systems employ various injector types, such as manual injectors, autosamplers, and microinjectors. The manual injector facilitates accurate sample loading; however, it may be time-intensive and prone to human error. Conversely, autosamplers mechanize the injection procedure, enhancing reproducibility and efficiency, especially in high-throughput contexts. Autosamplers frequently utilize sample trays to accommodate numerous vials, facilitating automated rotation for sample selection during analysis (Tsujimoto et al., 2016).

Furthermore, sophisticated attributes like programmable injection volumes and automated mixing capabilities augment the injector's versatility. These functionalities enable the operator to customize the injection method based on particular analytical

requirements, such as gradient elution or multi-step injections without manual intervention (Kan et al., 2018).

2.4. Column

The column is arguably the most essential component of an HPLC system. The separation of analytes occurs within this component, based on their interactions with the stationary phase contained within it. The selection of column type, along with its dimensions and packing material, significantly influences the efficiency, resolution, and overall success of chromatographic analysis (Dey et al., 2020). HPLC columns are typically classified by their stationary phases into normal-phase and reversed-phase categories. Reversed-phase HPLC is the predominant technique, distinguished by a nonpolar stationary phase, commonly comprising C18, C8, or C4 treated particles. This column type separates compounds according to their hydrophobicity, with more hydrophilic compounds eluting first. Recent studies indicate that C18 and C8 columns are frequently utilized for their robustness and versatility in analyzing a broad spectrum of analytes, underscoring the necessity of specific column types for effective analysis (Dey et al., 2020).

The primary function of the HPLC column is to facilitate the separation of analytes through various interaction mechanisms such as adsorption, partitioning, and ion exchange. The stationary phase's interactions with analytes determine the order and time each component spends in the column, effectively separating them based on their chemical properties (Ali, 2022). High efficiency and good resolution in an HPLC column depend on factors such as particle size, column length, and packing density. For instance, using smaller particle sizes (like 1.7 μm in UPLC) can significantly enhance the performance compared to larger particles, as they promote faster mass transfer and higher peak sharpness (Si et al., 2022; Ahmed et al., 2015).

2.5. Detector

The detector is the component of the HPLC system responsible for translating the physical separation of compounds into measurable signals. Various types of detectors are available, each suited for specific applications, detection sensitivities, and the nature of the analytes being analyzed. The analyzed compounds are separated within the chromatographic column and typically detected in real-time using various types of detectors. These must be selected judiciously, taking into account the physicochemical properties of the species, as well as their sensitivity and response. Various detectors have been employed in HPLC, with optical, luminescent, electrochemical, and mass spectrometric detectors being the most commonly utilized (Zhang et al., 2008).

The UV detector is likely the most prevalent spectrophotometric detector for compounds that exhibit absorptive properties at specific working wavelengths. The Diode-Array Detector (DAD) functions similarly to the UV detector but is capable of simultaneously detecting multiple wavelengths. DADs are especially advantageous in intricate mixtures where multiple analytes may absorb at comparable wavelengths. Nonetheless, the intricacy of the resultant data may occasionally necessitate advanced software and analytical competencies (Tsakali et al., 2019).

Fluorescence detectors possess high sensitivity, enabling the detection of trace amounts of compounds that fluoresce under specific light wavelengths. This detector is frequently employed in the examination of biomolecules, pharmaceuticals, and specific environmental samples (Kos et al., 2016).

Evaporative Light Scattering Detectors (ELSD) are effective for identifying non-volatile and semi-volatile compounds, rendering them appropriate for diverse applications,

such as the analysis of lipids and sugars. This detector functions by nebulizing the effluent from the HPLC column into a fine mist, subsequently evaporating the solvent and measuring the light scattered by the non-evaporating analytes (Ianni et al., 2019).

HPLC combined with mass spectrometry (HPLC-MS) constitutes a robust analytical method that facilitates the separation, identification, and quantification of compounds according to their mass-to-charge ratio. Mass spectrometry is especially beneficial for analyzing complex samples, providing improved detection limits and structural insights into the analytes. Silva et al. (2020) observed that the integration of HPLC with mass spectrometry enables comprehensive analyses of food products (Silva et al., 2020).

3. FOOD ANALYSIS by HPLC

The utilization of HPLC in food analysis primarily encompasses the examination of standard food constituents (carbohydrates, lipids, proteins, amino acids, and organic acids), food additives (colors, preservatives, flavors, and etc.), toxins, chemical residues (fertilizers, pesticides, antibiotics), and food adulteration. This method disaggregates complex mixtures into discrete compounds, which are subsequently identified and quantified using appropriate detectors and data processing systems.

3.1. Cereal Analysis by HPLC

HPLC is a critical analytical technique employed for the quantification and characterization of various compounds in cereal products. Given the complexity of cereal matrices, the use of HPLC allows for precise separation and detection of important components such as mycotoxins, phenolic acids, and antioxidants.

Mycotoxins pose a considerable threat to cereal safety owing to their possible health hazards. Recent studies have emphasized the utilization of HPLC combined with mass spectrometry for the identification of multiple mycotoxins in diverse cereal matrices. For example, Liao et al. (2013) documented the application of HPLC in conjunction with triple-quadrupole mass spectrometry to examine finished grain products, effectively identifying contaminants including aflatoxins and zearalenone. In a similar vein, Tamura et al. (2015) devised a technique for the concurrent quantification of 20 distinct Fusarium toxins in cereals utilizing high-resolution liquid chromatography. These advancements illustrate the sensitivity and efficacy of HPLC techniques in ensuring cereal safety through the quantification of harmful substances.

Cereals are a significant source of phenolic acids, which enhance their antioxidant properties. The identification of these compounds is essential for both nutritional evaluations and the assessment of health benefits. Ahmad et al. (2018) effectively quantified multiple phenolic acids in cereal brans utilizing HPLC with UV detection. The study demonstrated the effective profiling of compounds, including caffeic and ferulic acids, through the use of a C-18 reverse-phase column. This measurement is essential for comprehending the processing and consumption advantages of cereals. Furthermore, Hefni et al. (2019) concentrated on formulating an HPLC method to quantify total phenolic acids in cereals, highlighting the hydrolysis of bound forms to enhance analytical precision.

A crucial element of HPLC analysis in cereals is the evaluation of carbohydrate content, especially sugars. Garro-Mellado et al. (2022) utilized HPLC to assess sugar content in commercial infant cereals, revealing substantial discrepancies contingent upon the particular formulations. This method is crucial for ensuring that cereals fulfill dietary requirements,

especially in infant nutrition, where sugar consumption must be meticulously regulated.

HPLC techniques are essential for the analysis of carotenoids and tocopherols found in cereal grains. A research conducted by Irakli et al. (2011) established a rapid HPLC technique for the concurrent quantification of vitamins and carotenoids in cereals following solid-phase extraction, elucidating the nutritional quality of cereals. The study improved the detection of beneficial compounds by optimizing extraction conditions, confirming the efficacy of HPLC in assessing cereal nutrient profiles.

3.2. Oil and Fat Analysis by HPLC

HPLC offers several advantages compared to other chromatographic methods for lipid analysis; Lipids that cannot be isolated via gas chromatography due to decomposition from elevated temperatures or the catalytic properties of the column may be analyzed using HPLC. The isolated components may be gathered and analyzed further, for instance, using spectroscopic methods. It can be evaluated more readily than thin-layer chromatography (Marini & Marini, 2013).

A significant application of HPLC in the analysis of fats and oils is the detection of adulteration. Hamed et al. (2019) examined the adulteration of buffalo butter with vegetable oils through various analytical techniques, including HPLC, which effectively distinguished the distinct chromatographic profiles of different oils, thereby reinforcing food safety (Hamed et al., 2019).

Carranco et al. (2018) substantiated this by employing HPLC-UV fingerprinting to authenticate extra virgin olive oils in comparison to other vegetable oils. A multivariate calibration method facilitated accurate classification based on chromatographic profiles, illustrating the efficacy of HPLC as a

robust instrument for quality assurance in edible oils (Carranco et al., 2018). Nagai et al. (2019) used chiral HPLC techniques to separate TAG enantiomers and positional isomers, facilitating a deeper understanding of the structural diversity of fats and oils, which influences both functionality and health implications (Nagai et al., 2019).

Certain edible oils, such as olive oil, possess significant bioactive compounds, including phenolic compounds that contribute to health benefits. Hilali et al. (2020) identified key phenolic constituents in Moroccan-cultivated olive oils using HPLC, indicating their potential health effects, including anti-cancer properties (Hilali et al., 2020). The quantification of these compounds provides valuable information regarding the quality and health benefits associated with different oil varieties. Furthermore, researchers are progressively employing HPLC to concurrently quantify carotenoids and fat-soluble vitamins in diverse fats, underscoring its ability to deliver an extensive overview of their nutritional profiles (Hrvolová et al., 2016).

3.3. Dairy Products Analysis by HPLC

Milk is an important part of the human diet, abundant in proteins, carbohydrates, minerals, and vitamins, all of which are crucial for human health (Nie & Nie, 2019). The global production and consumption of milk have risen in recent decades due to its significant nutritional value. Nonetheless, it is important to note that the diminished quality of milk and its derivatives has emerged as a significant social issue that affects public health. The HPLC method is employed for dairy products, including: ascertaining the genuineness and origin of milk, milk adulteration and the identification and quantification of milk nutrients. (Nie & Nie, 2019).

A significant application of HPLC in dairy analysis is the identification of aflatoxin M1 (AFM1), a toxic mycotoxin

frequently present in contaminated milk. Kos et al. (2016) assert that HPLC coupled with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) has been validated as a more effective method for quantifying AFM1 in milk samples, providing enhanced sensitivity relative to conventional enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). This technique enables the concurrent quantification of various analytes in a single analysis, rendering it a preferred option for the routine monitoring of milk safety (Bellio et al., 2016). A study by Maggira et al. (2021) corroborates that HPLC with fluorescence detection (HPLC-FL) has been successfully utilized in diverse regions to monitor AFM1, affirming the method's reliability and efficacy in safeguarding public health (Maggira et al., 2021).

HPLC is extensively employed for the analysis of antibiotic residues in milk, a critical issue in veterinary practices. The presence of antibiotics may result in detrimental effects on human health, including antibiotic resistance. Jaber et al. (2021) conducted a study highlighting the efficacy of an HPLC-DAD method for the concurrent detection of various antibiotics, including florfenicol, penicillin, and tetracycline, in raw milk (Jaber et al., 2021).

This validation demonstrates HPLC's ability to uphold rigorous standards for dairy product safety. Moreover, studies underscore the imperative of consistent surveillance of antibiotic residues in milk, attributed to the prevalent use of quinolone medications in dairy farming, thereby emphasizing the requirement for precise analytical methods such as HPLC for dependable detection (Mohammed et al., 2016).

The nutritional analysis of milk is another critical application of HPLC. In recent years, researchers have effectively utilized HPLC techniques to quantify essential nutrients. Research conducted by Fracassetti et al. (2018) established an

HPLC method for the concurrent analysis of riboflavin and other vitamin compounds in liquid milk products, enhancing the comprehension of nutritional values and sensory attributes of dairy products during storage (Fracassetti et al., 2018). These analytical capabilities are essential for manufacturers aiming to improve product quality and consumer safety.

Furthermore, HPLC is essential for identifying adulteration in dairy products, which is crucial for verifying product authenticity. Vera-Bravo et al. (2022) introduced an innovative assay utilizing casein glycomacropeptide (cGMP) as a marker for detecting cheese whey milk adulteration, emphasizing that this technique is both rapid and provides superior reproducibility and accuracy relative to conventional methods (Vera-Bravo et al., 2022). Detection of adulteration aids consumers and producers in preserving trust in the quality of dairy products, ensuring adherence to regulations.

HPLC is instrumental in analyzing carbohydrate profiles in milk. A comparative study of quantitative measures demonstrated that HPLC offers markedly precise quantification of carbohydrates, including lactose, in dairy products relative to traditional methods (Silva et al., 2020). This capability allows manufacturers to oversee product composition and enhance formulations in accordance with nutritional standards.

3.4. Meat and Meat Products Analysis by HPLC

In recent years, advancements in HPLC methodologies have provided enhanced capabilities for detecting a wide range of substances, from antibiotic residues to natural hormones in meat. For example, Ramatla et al. (2017) assessed antibiotic residues, specifically tetracyclines, in raw meat samples employing HPLC with fluorescence detection. Their findings indicated substantial tetracycline concentrations in beef, chicken,

and pork, highlighting the necessity of monitoring these residues to protect consumer health (Ramatla et al., 2017).

HPLC has been employed to examine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled meat, given the potential health hazards linked to these substances. Hamidi et al. (2022) refined HPLC protocols to quantify PAH concentrations, employing both UV and fluorescence detection techniques to improve sensitivity (Hamidi et al., 2022). Their research elucidated the influence of cooking techniques on the bioaccessibility of PAHs, demonstrating the efficacy of HPLC in delivering thorough evaluations of food safety.

In the realm of naturally occurring hormones in meat, HPLC has been utilized to evaluate estrogenic compounds that may derive from environmental or feed sources. Shahbazi et al. (2016) conducted an analysis utilizing an HPLC-fluorescence detection method, revealing the existence of naturally occurring hormones in meat, thereby emphasizing the necessity for ongoing monitoring of hormone residues to guarantee consumer safety (Shahbazi et al., 2016).

Advancements in HPLC technologies, particularly the incorporation of mass spectrometry (MS), have enabled more accurate and sensitive analyses of meat products. Furi et al. (2018) conducted a concurrent analysis of amoxicillin and tetracycline residues in chicken meat utilizing HPLC coupled with mass spectrometry, highlighting the robust integration of separation and identification capabilities (Furi et al., 2018). The application of HPLC for the detection of biogenic amines in meat products has garnered significant attention. This category of compounds may arise during spoilage or fermentation and act as indicators of quality and freshness. Research has employed HPLC techniques with fluorescence detection to measure biogenic

amines in meat, facilitating efficient quality control (Zhu et al., 2016a).

3.5. Fruit and Vegetable Analysis by HPLC

HPLC is an extremely important analytical technique extensively utilized in the examination of fruits and vegetables. Its ability to separate, quantify, and characterize diverse compounds allows researchers and food safety regulators to effectively monitor nutritional content, pesticide residues, and antioxidant properties. A significant application of HPLC in the analysis of fruits and vegetables is the evaluation of nutritional constituents, especially antioxidants. Kumar et al. (2022) investigated the influence of drying methods on the antioxidant levels in *Citrus sinensis* (orange) fruits. They employed HPLC to quantify phenolic compounds and flavonoids, demonstrating that various drying techniques markedly impact the concentrations of these advantageous compounds (Kumar et al., 2022). The research highlights the critical role of processing methods in maintaining the health-enhancing properties of fruits.

Wang et al. (2024) conducted a systematic evaluation of the chemical composition and antioxidant activities of various *Rosa taxa* fruits utilizing UV-Vis spectroscopy and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-TQ-MS) (Wang et al., 2024). This research underscored the disparities in antioxidant properties among different fruits, highlighting the significance of HPLC in assessing their functional attributes and potential health advantages.

HPLC is essential for ensuring the safety of fruits and vegetables by detecting pesticide residues. Jouybari et al. devised a technique employing hydrophobic deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction, succeeded by HPLC, to detect triazine herbicides in fruits and vegetables. This study

established the method's reliability and sensitivity, enabling the evaluation of pesticide contamination (Jouybari et al., 2022).

HPLC has demonstrated its significance in quantifying organic acids and sugars in fruits and vegetables, which are essential for assessing flavor and nutritional quality. Tulli et al. (2020) illustrated the efficacy of HPLC in quantifying polyphenols and ascorbic acid in diverse fruit and vegetable extracts, highlighting its potential to assess the health benefits of these foods (Tulli et al., 2020).

Fang et al. (2019) utilized HPLC in studies examining sorbitol content to assess differences between wild and cultivated apples, offering insights into the nutritional properties and sweetness profiles of various apple varieties (Fang et al., 2019). This analysis is essential for breeding programs aimed at enhancing flavor profiles and nutritional content.

The analysis of mycotoxins in fruits has gained prominence due to its relevance to food safety. Xie et al. (2023) devised a methodology utilizing high-performance liquid chromatography in conjunction with ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for the detection of mycotoxins in peaches and peach derivatives. The research underscored the necessity of rigorous analytical techniques to safeguard consumers against mycotoxin exposure (Xie et al., 2023). Zhu et al. (2016b) developed a trace analysis method utilizing HPLC-MS/MS for the detection of pesticide residues in tomatoes, demonstrating the method's effectiveness in identifying minimal contaminant levels, thereby improving food safety protocols in agricultural products (Zhu et al., 2016b).

4. CONCLUSION

Since its inception, HPLC has proven to be an effective instrument for the separation of numerous compounds for food applications. These accomplishments have been attained due to the significant contributions of various research groups from both academic and industrial sectors. The advancement of theoretical, technological, and instrumental solutions pertaining to pumping systems, columns, stationary phases, and detectors significantly facilitated the attainment of valuable results. HPLC is widely utilized for the separation of various compounds in both analytical and preparative contexts, demonstrating its efficacy in the food industry. The HPLC method prioritizes food safety, quality control and analysis, traceability, and the clarification of compound bioactivity in diverse foods, providing direct, accurate, sensitive, and reproducible quantitative techniques for routine analysis in the food industry.

REFERENCES

- Ahmad, F., Pasha, I., Saeed, M., & Asgher, M. (2018). Antioxidant profiling of native and modified cereal brans. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1206-1214. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14046>
- Ahmed, A., Forster, M., Jin, J., Myers, P., & Zhang, H. (2015). Tuning morphology of nanostructured zif-8 on silica microspheres and applications in liquid chromatography and dye degradation. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(32), 18054-18063. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b04979>
- Ali, A. H. (2022). High-performance liquid chromatography (HPLC): a review. *Annals of Advances in Chemistry*, 6(1), 010-020. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- Bellio, A., Bianchi, D. M., Gramaglia, M., Loria, A., Nucera, D., Gallina, S., ... & Decastelli, L. (2016). Aflatoxin M1 in cow's milk: method validation for milk sampled in northern Italy. *Toxins*, 8(3), 57. <https://doi.org/10.3390/toxins8030057>
- Carranco, N., Farrés-Cebrián, M., Saurina, J., & Núñez, Ó. (2018). Authentication and quantitation of fraud in extra virgin olive oils based on HPLC-UV fingerprinting and multivariate calibration. *Foods*, 7(4), 44. <https://doi.org/10.3390/foods7040044>
- David, V. (2013). *Essentials in Modern HPLC Separations*, Elsevier,
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., ... & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids).

- Recent Advances in Natural Products Analysis, 505-567.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816455-6.00015-9>
- Fanali, C., Dugo, P., Mondello, L., D’Orazio, G. and Fanali, S. (2013). Recent developments in High Performance Liquid Chromatography. Food analysis by HPLC / edited by Leo M.L. Nollet, Fidel Toldrá. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press,
- Fang, T., Cai, Y., Yang, Q., Ogutu, C., Liao, L., & Han, Y. (2019). Analysis of sorbitol content variation in wild and cultivated apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 139-144.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.10005>
- Fracassetti, D., Limbo, S., D’Incecco, P., Tirelli, A., & Pellegrino, L. (2018). Development of a HPLC method for the simultaneous analysis of riboflavin and other flavin compounds in liquid milk and milk products. In *European Food Research and Technology*. Vol. 244, Issue 9, pp. 1545–1554. Springer Science and Business Media LLC.
<https://doi.org/10.1007/s00217-018-3068-6>
- Furi, M., Sinaga, S. M., & Putra, E. D. L. (2018). Analysis of amoxicillin and tetracycline residues in chicken meat using high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 1(2), 14-20.
<https://doi.org/10.32734/idjpcr.v1i2.434>
- Garro-Mellado, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2022). Sugar content and sources in commercial infant cereals in Spain. *Children*, 9(1), 115.
<https://doi.org/10.3390/children9010115>
- Gupta, M. K., Ghuge, A., Parab, M., Al-Refaei, Y., Khandare, A., Dand, N., ... & Waghmare, N. (2022). A comparative

- review on high-performance liquid chromatography (HPLC), ultra performance liquid chromatography (UPLC) & high-performance thin layer chromatography (HPTLC) with current updates. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 35(4), 224-228. <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0039>
- Hamed, A. M., Aborass, M., El-Kafrawy, I., & Safwat, G. (2019). Comparative study for the detection of egyptian buffalo butter adulteration with vegetable oils using conventional and advanced methods. *Journal of Food Safety*, 39(4). <https://doi.org/10.1111/jfs.12655>
- Hefni, M. E., Amann, L. S., & Witthöft, C. M. (2019). A HPLC-UV method for the quantification of phenolic acids in cereals. *Food Analytical Methods*, 12(12), 2802-2812. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01637-x>
- Hilali, H. E., Hilali, F. E., Porter, S., Ghali, S. A., Meyls, H., Ouazzani, N., ... & Barber, A. (2020). Olive oil varieties cultivated in morocco reduce reactive oxygen species and cell viability of human cervical cancer cells. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 13(1), 89-100. <https://doi.org/10.3233/mnm-190390>
- Hrvolová, B., Martínez-Huélamo, M., Colmán-Martínez, M., Hurtado-Barroso, S., Lamuela-Raventós, R. M., & Kalina, J. (2016). Development of an advanced HPLC–MS/MS method for the determination of carotenoids and fat-soluble vitamins in human plasma. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1719. <https://doi.org/10.3390/ijms17101719>
- Ianni, F., Sechi, P., Mantia, A. L., Pucciarini, L., Camaioni, E., Cenci-Goga, B. T., ... & Natalini, B. (2019). The relationships between somatic cells and isoleucine,

- leucine and tyrosine content in cow milk. *Applied Sciences*, 9(2), 349. <https://doi.org/10.3390/app9020349>
- Irakli, M., Samanidou, V., & Papadoyannis, I. N. (2011). Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and carotenoids in cereals after solid-phase extraction. *Journal of Separation Science*, 34(12), 1375-1382. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100077>
- Jaber, A., Zahreddine, Z., Haidar, S. A., Hosri, C., Ibrahim, G., & Cheble, E. (2021). HPLC-DAD multi-residue method for determination of florfenicol, penicillin and tetracycline residues in raw cow milk. In *Journal of Clinical and Laboratory Research*. Vol. 2, Issue 3, pp. 01–08. Auctores Publishing LLC. <https://doi.org/10.31579/2768-0487/017>
- Jouybari, T. A., Jouybari, H. A., Shamsipur, M., Babajani, N., Kiani, A., Nematifar, Z., ... & Fattahi, N. (2022). Trace determination of triazine herbicides in fruit and vegetables using novel hydrophobic deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography-ultraviolet. *Journal of Separation Science*, 45(24), 4448-4459. <https://doi.org/10.1002/jssc.202200665>
- Kan, H., Yamada, K., Sanada, N., Nakata, K., & Tsukagoshi, K. (2018). Implementation of tube radial distribution chromatography by using a commercially available hplc system. *Analytical Sciences*, 34(2), 239-241. <https://doi.org/10.2116/analsci.34.239>
- Kanu, A. B. (2021). Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. *Journal of Chromatography A*.

- Kos, J., Hajnal, E. J., Jajić, I., Krstović, S., Mastilović, J., Šarić, B., ... & Jovanov, P. (2016). Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of Aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples. *Acta Chimica Slovenica*, 747-756. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2451>
- Kumar, D., Ladaniya, M. S., Gurjar, M., & Kumar, S. (2022). Impact of drying methods on natural antioxidants, phenols and flavanones of immature dropped *Citrus sinensis* L. osbeck fruits. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10661-7>
- Liao, C., Wong, J. W., Zhang, K., Hayward, D. G., Lee, N. S., & Trucksess, M. W. (2013). Multi-mycotoxin analysis of finished grain and nut products using high-performance liquid chromatography–triple-quadrupole mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 61(20), 4771-4782. <https://doi.org/10.1021/jf4000677>
- Maggira, M., Ioannidou, M., Sakaridis, I., & Samouris, G. (2021). Determination of aflatoxin m1 in raw milk using an HPLC-FL method in comparison with commercial elisa kits—application in raw milk samples from various regions of greece. *Veterinary Sciences*, 8(3), 46. <https://doi.org/10.3390/vetsci8030046>
- Marini, D., & Marini, F. (2013). *Neutral Lipids. Food analysis by HPLC* / edited by Leo M.L. Nollet, Fidel Toldrá. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press,
- Mohammed, H., Abdou, A. M., Eid, A. A. M., & Zakaria, A. M. (2016). Rapid tests for detection of enrofloxacin residues in liquid milk. *Benha Veterinary Medical Journal*, 30(1), 97-103. <https://doi.org/10.21608/bvmj.2016.31351>

- Moldoveanu, S.C. & David, V. (2013). Basic Information about HPLC, Elsevier.
- Nagai, T., Kinoshita, T., Kasamatsu, E., Yoshinaga, K., Mizobe, H., Yoshida, A., ... & Gotoh, N. (2019). Simultaneous separation of triacylglycerol enantiomers and positional isomers by chiral high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Oleo Science*, 68(10), 1019-1026. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19122>
- Nie, Q. & Nie, S. (2019). High-performance liquid chromatography for food quality evaluation, Editor(s): Jian Zhong, Xichang Wang, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Evaluation Technologies for Food Quality, Woodhead Publishing, Pages 267-299, ISBN 9780128142172, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00013-5>.
- Ramatla, T., Ngoma, L., Adetunji, M. C., & Mwanza, M. (2017). Evaluation of antibiotic residues in raw meat using different analytical methods. *Antibiotics*, 6(4), 34. <https://doi.org/10.3390/antibiotics6040034>
- Shahbazi, Y., Malekinejad, H., & Tajik, H. (2016). Determination of naturally occurring estrogenic hormones in cow's and river buffalo's meat by HPLC-FLD method. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 457-463. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.02.014>
- Si, H., Wang, Q., Guo, Y., Zhao, Y., Hong-ya, L., Li, S., ... & Zhu, B. (2022). Functionalized monolithic columns: recent advancements and their applications for high-efficiency separation and enrichment in food and medicine. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.951649>

- Siddique, I. (2023). High-performance liquid chromatography: comprehensive techniques and cutting-edge innovations. *European Journal of Advances in Engineering and Technology*, 10(9), 66-70.
- Silva, L. C. A. d., Lafetá, J. A. Q., Leite, M. d. O., Fontes, E. A. F., & Coimbra, J. S. d. R. (2020). Comparative appraisal of HPLC, chloramine-t and lane–eynon methods for quantification of carbohydrates in concentrated dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 73(4), 795-800. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12710>
- Tamura, M., Mochizuki, N., Nagatomi, Y., Harayama, K., Toriba, A., & Hayakawa, K. (2015). A method for simultaneous determination of 20 fusarium toxins in cereals by high-resolution liquid chromatography-orbitrap mass spectrometry with a pentafluorophenyl column. *Toxins*, 7(5), 1664-1682. <https://doi.org/10.3390/toxins7051664>
- Tsakali, E., Chatzilazarou, A., Houhoula, D., Koulouris, S., Tsaknis, J., & Impe, J. V. (2019). A rapid HPLC method for the determination of lactoferrin in milk of various species. *Journal of Dairy Research*, 86(2), 238-241. <https://doi.org/10.1017/s0022029919000189>
- Tsujimoto, M., Uchida, T., Kozakai, H., Yamamoto, S., Minegaki, T., & Nishiguchi, K. (2016). Inhibitory effects of vegetable juices on cyp3a4 activity in recombinant CYP3A4 and LS180 cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 39(9), 1482-1487. <https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00263>
- Tulli, F., Lemos, M. L., Gutiérrez, D., Rodríguez, S., Mishima, B. A. L. d., & Zanini, V. I. P. (2020). Electrochemical and spectrophotometric methods for polyphenol and ascorbic acid determination in fruit and vegetable extracts. *Food*

- Technology and Biotechnology, 58(2), 183-191.
<https://doi.org/10.17113/ftb.58.02.20.6593>
- Vera-Bravo, R., Hernández, A. V., Peña, S., Alarcón, C., Loaiza, A. E., & Celis, C. A. (2022). Cheese Whey Milk Adulteration Determination Using Casein Glycomacropeptide as an Indicator by HPLC. In *Foods* (Vol. 11, Issue 20, p. 3201). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/foods11203201>
- Wang, N., Xie, L., & Tian, L. (2024). Analysis of antioxidant properties and compounds in different rosa taxa fruits using uv-vis and UPLC-TQ-MS techniques. *Chemistry & Biodiversity*, 21(11).
<https://doi.org/10.1002/cbdv.202401029>
- Xie, H., Li, Y., Li, J., Chen, Y., Li, J., Kuang, L., ... & Chao, Y. (2023). Mycotoxin determination in peaches and peach products with a modified quechers extraction procedure coupled with UPLC-MS/MS analysis. *Foods*, 12(17), 3216. <https://doi.org/10.3390/foods12173216>
- Zhang, B., Li, X., Yan, B. (2008). Advances in HPLC detection towards universal detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 390, 299–301.
- Zhu, H., Yang, S. S., Zhang, Y., Fang, G., & Wang, S. (2016a). Simultaneous detection of fifteen biogenic amines in animal derived products by HPLC-FLD with solid-phase extraction after derivatization with dansyl chloride. *Analytical Methods*, 8(18), 3747-3755.
<https://doi.org/10.1039/c6ay00010j>
- Zhu, H., Fu-yan, J., Ding, Q., Huang, C., Yu, Y., Wang, Y., ... & Ji, M. (2016b). A trace analysis method based on hplc-ms/ms for the simultaneous determination of residues of the two isomers of pyrisoxazole in tomato fruit and soil.

Analytical Methods, 8(9), 2041-2047.
<https://doi.org/10.1039/c5ay03358f>

BİTKİSEL OPIOİD ANALJEZİK BİLEŞENLER VE ANALİZ YÖNTEMLERİ

Kübra İŞGÜZAR¹

Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA²

1. GİRİŞ

Ağrı, insanlık tarihiyle birlikte ortaya çıkmıştır. İlk çağ uygarlıklarında ağrı kavramı metanetin, gücün işareti iken kültürel evrim ve tıbbi süreçlerin gelişmesiyle ağrının giderilmesi zorunluluk haline gelmiştir (Sabatowski, Schafer, Kasper, Brunsch, ve Radbruch, 2004; Ayoub, 2013). Bununla birlikte ağrı kavramı yüzyıllardır tartışma konusu olup farklı taraflar oluşturmuş ve birçok tanımın oluşmasına neden olmuştur (Bonica, 1991). Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği'nin (IASP) yapmış olduğu son tanım şu şekildedir: "Ağrı, gerçek veya potansiyel bir doku hasarından kaynaklanan veya bu şekilde tanımlanan, hoş olmayan bir duyu ve duygusal bir deneyimdir" (Kopustinskiene, Bernatonyte, Maslii, Herbina ve Bernatoniene, 2022).

Kaydedilen ilk yazılı kaynaklarda ağrıyı hafifletmek için bitkisel materyallerin kullanıldığı bilinmektedir. Sümerler MÖ 3400 yılında "mutluluk bitkisi" olarak adlandırılan Afyon haşhaşını (*Papaver somniferum*) ağrı kesici olarak kullanan ilk uygarlık olarak rapor edilmiştir. (Abdoli, Motamedi ve Zargaran,

¹ Kübra İŞGÜZAR, Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, kubraisguzar6@gmail.com, ORCID: 0009-0002-7547-6110.

² Dr. Öğr. Üyesi. Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA, Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, buyukbese@gantep.edu.tr, ORCID: 0000-0002-2344-8663.

2019). Sümerlerden Mısırlılara, sonrasında Roma ve Yunan uygarlıklarına kadar olan süreçte, opioidler ağrı kesici olarak kullanılmıştır (Brownstein, 1993). Antik Hint uygarlıklarında kenevir bitkisini yoğunlukla kullanıldığı da görülmektedir. 19. yüzyılda morfinin izole edilmesi ve hipodermik (Yunancada hipo: altında, derma: deri kelimelerinden oluşan) iğnenin icadı, opioidlerin tıbbi kullanımı açısından bir dönüm noktası olmuştur (Klockgether-Radke, 2002; Trang vd., 2015). 1970'lerde ise opioid reseptörlerinin keşfi, bu bileşiklerin etkilerini daha iyi anlamaya yönelik çalışmalarda öncül niteliktedir (Stanley, 2014). Son dönemler ise, geleneksel ve modern tıbbın birleşimi, opioidlerin terapötik potansiyelini artırmış ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Ancak, opioidlerin aşırı kullanımı ve bununla birlikte bağımlılık sorunları da küresel bir sağlık krizi haline gelmiştir (Jones, Viswanath, Peck, Kaye ve Gill, 2018). Bu tarihsel süreçte bakıldığında, opioidlerin hem farmakolojik hem de sosyal açıdan derin etkilerinin olduğu anlaşılmaktadır.

1.1. Bitkisel Analjezikler ve Etki Mekanizması

Analjezikler, ağrı kesici ilaçlar olarak tanımlanır. Etkin maddelerine göre çeşitlilik gösterip merkezi sinir sistemine veya periferik ağrı mekanizmalarına etki ederek ağrının algılama biçimini değiştirir ve ağrıyı hafifletir (Patidar, Birla, Patel, Chaturvedi ve Manocha, 2014). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) analjezikleri ağrının şiddetine göre üç kademe de belirlemiş; hafif ağrılarda non-opioid (opioid olmayan), orta şiddetli ağrılarda zayıf opioid analjezikler ve şiddetli ağrılar için güçlü opioid analjezikler kullanılır (Yang, Bauer, Wahner-Roedler, Chon, ve Xiao, 2020).

Opioidler, en güçlü analjeziklerdir. Merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemindeki opioid reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler. Bu reseptörler mu (μ), kappa (κ) ve delta (δ)

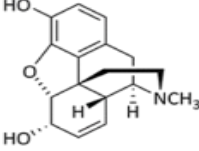
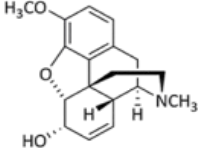
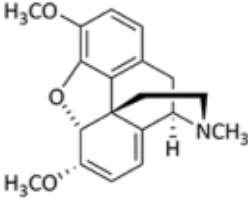
reseptörleridir. Opioid reseptörleri uyarıldığında omurilik ve beyinde ağrı sinyallerini baskılayarak analjezik etki oluşturur (Schug, Garrett ve Gillespie, 2003; Sharma, Mishra, Senapati, ve Danciu, 2021). Günümüzde kliniklerde doğal opioidlerden kodein ve morfin sentetik opioidlerden ise meperidin, metadon, fentanil ve pentazonun kullanıldığı bilinmektedir (Can, 2005).

Opioid analjezikler, ameliyat sonrası ağrılar ve bazı kanserlerin tedavisinde şiddetli ağrıların dindirilmesi ve kronik ağrıların giderilmesinde kullanılır. Ancak bu analjezikler tolerans ve bağımlılığa neden olmaktadır. Ayrıca yüksek dozlarda alınması toksik etkiye ve solunum depresyonuna yol açmaktadır (Buchanan, Rainsford, C. Kean ve W. Kean, 2024; Adams Jr ve Wang, 2015).

1.1.1 Afyon Haşhaşı (*Papaver somniferum*)

Yunanca “bitkilerin sütlü suyu” anlamına gelen Afyon, *Papaver somniferum* familyasındandır ve kullanımı çok eskilere dayanır. Bitkinin olgunlaşmamış tohum kabuklarının sütlü sıvısından elde edilir (Askitopoulou, Ramoutsaki ve Konsolaki, 2000).

Tablo 1. *Papaver somniferum* Bitkisinin Başlıca Alkaloidleri

Alkaloid	Yapısı	Reseptör-Etki
Morfin		Fenantren türevidir. μ güçlü bir tam agonistidir. Çoklu (μ , κ ve δ opioid reseptörleri için agonisttir.
Kodein		Fenantren türevidir. μ opioid reseptörü Afyonun ikinci büyük alkaloidi
Tebain		Fenantren türevidir. Opioid reseptörlerini çok yüksek konsantrasyonda uyarabilir.

Not. (Duarte, 2005; Kaboudin ve Sohrabi, 2021; Knutsen vd, 2018) Alkaloidlerin Kimyasal yapısı (Carlin, Dean ve Ames, 2020) çalışmasından alınmıştır.

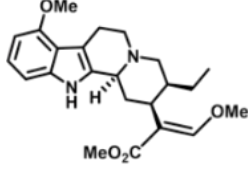
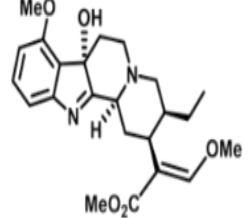
Afyon haşhaşından 40'tan fazla alkaloid izole edilmiş olsa da bunların sadece beş tanesi baskın alkaloidlerdir (morfin, kodein, tebain, papaverin ve noskapin) (Schiff, 2002). Bu alkaloidler, ağrı kesici (analjezik), öksürük bastırıcı (antitusif) ve bazı durumlarda yatıştırıcı (sedatif) etkilere sahiptir (Portakal ve Tan, 2024). Papaverin ve Noskapin opioid reseptörlerine bağlanmayan alkaloidlerdir. Papaverin kas gevşetici, noskapin ise daha çok öksürük baskılayıcı olarak kullanılır (Singh, Menéndez-Perdomo ve Facchini, 2019).

1.2. Opioid Olmayıp Opioid Özellik Gösteren Analjezikler

1.2.1. Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Yaygın olarak Kratom olarak bilinen *Mitragyna speciosa* bitkisi, Rubiaceae familyasındandır.

Tablo 2. *Mitragyna speciosa* Bitkisinin Başlıca Alkaloidleri

Alkaloid	Yapısı	Reseptör-Etki
Mitrajinin		Bitki özütünün %60'ını oluşturur. μ reseptörlerinin kısmi agonistidir. κ ve δ reseptörlerinin rekabetçi antagonistidir. Diğer opioid agonistlerine göre daha az solunum depresyonuna neden olur.
7OH		Özütün %2'sini oluşturur. Morfinden 10 kat MG'den 40 kat etkilidir. μ reseptörlerine MG'den 5 kat daha fazla afiniteye sahiptir. κ ve δ reseptörlerinin rekabetçi antagonistidir. C7 pozisyonuna -OH grubunun eklenmesiyle oluşabilir.

Not. (Hemby, McIntosh, Leon, Cutler ve McCurdy, 2019; Matsumoto, 2006)
Alkaloidlerin kimyasal yapısı (Kruegel ve Grundmann 2018) çalışmasından alınmıştır.

Güneydoğu Asya'da görülen Kratom yaprakları 100 yılı aşkın süredir bölgede analjezik etkilerinden faydalandığı bilinmektedir (Veltri ve Grundmann, 2019; Singh, Menéndez-Perdomo ve Facchini, 2019). Yanı sıra kas gevşetici, anti nosiseptif, antidepresan ve anti inflamatuvar etkileri olduğu bilinmektedir. Ancak bitkinin devamlı kullanılması toleransa ve bağımlılığa neden olmaktadır.

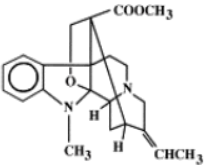
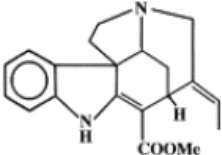
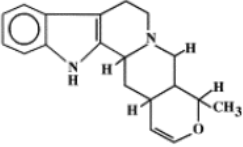
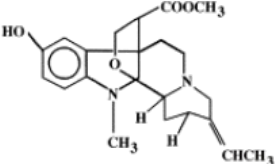
Kratom, etki bakımından koka ve afyon bitkisiyle benzerlik gösterir ve bu zamana kadar birçok alkaloid izole edilmiştir. Önemli alkaloidleri ise mitrajinin (MG) ve 7-hidroksimitrajinin'dir (7OH) (Singh, Narayanan ve Vicknasingam, 2016). Bu alkaloidler monoamin nörotransmitterlerini kullanan sinir hücreleri ve opioid reseptörleri aracılığıyla merkezi sinir sistemi uyarıcı olarak ağrı algısının azalmasını sağlar (Warner, Kaufman ve Grundmann, 2016).

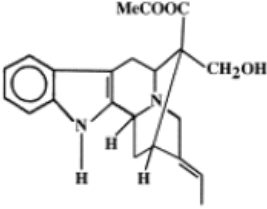
1.2.2. Akuamma (*Picralima nitida*)

Akuamma, Gana Bölgesinde ağacın yerel ismini ifade eder ve Apocynaceae familyasına aittir. Batı Afrika Bölgesinde yaygın görülen bitki, Gana tıbbında ağrı kesici etkisi dolayısıyla önemli bir yere sahiptir (Menzies, Paterson, Duwiewua ve Corbett, 1998).

Ağrıların giderilmesindeki etkinin alkaloid kaynaklı olduğu bilinmekle birlikte, Akuamma bitkisinin tohumlarında yoğun olarak bulunmaktadır (Saxton, 1965). Bugüne kadar Akuamma bitkisinden birçok farklı indol alkaloidi izole edilmiştir. Opioid özellik gösterdiği bilinen alkaloidleri (psödo (ψ)-akuammigin, akuammisin, akuammigin, akuammin, akuammidin) daha çok tohum kaynaklıdır (Erharuyi, Falodun ve Langer, 2014).

Tablo 3. *Picralima nitida* Bitkisinin Başlıca Alkaloidleri

Alkaloid	Yapısı	Reseptör-Etki
Psödo (ψ)- Akuammigin		μ reseptörü zayıf agonistleridir. Anti nosisepsiyon zayıf etki. Morfinden 3,5 kat daha etkili.
Akuammisin		κ reseptör agonistidir.
Akuammigin		κ reseptörlerinin tam agonistidir.
Akuammin		μ resöptörü zayıf agonistidir. Anti nosisepsiyon zayıf etki gösterir.

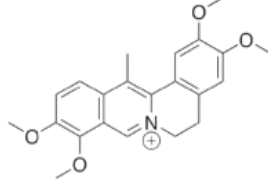
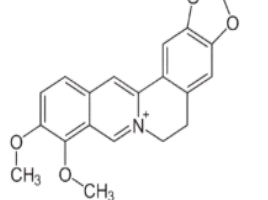
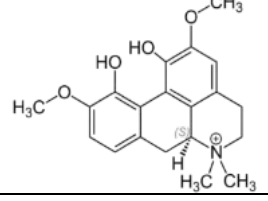
Akuammidin		μ , δ ve κ bölge agonistidir.
------------	---	---

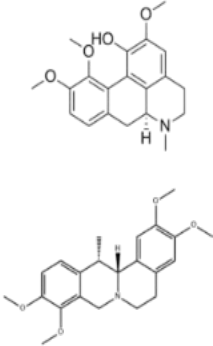
Not. (Hennessy, vd., 2023; Duwiejua, Woode ve Obiri, 2002) *Alkaloidlerin Kimyasal Yapısı* (Menzies, Paterson, Duwiejua ve Corbett 1998) çalışmasından alınmıştır.

1.2.3. Kazgagası (*Corydalis yanhusuo*)

Corydalis yanhusuo, Papaveracea familyasına ait bir bitkidir. Geleneksel Çin Tıbbının morfini olarak bilinen bitki, analjezik olarak etkin kullanılır (Xu vd., 2021).

Tablo 4. *Corydalis yanhusuo* Bitkisinin Başlıca Alkaloidleri

Alkaloid	Yapısı	Reseptör-Etki
Dehidro-koridalin (DHC)		μ reseptör antagonistidir. Nalokson, antinösetif etkisini azaltır.
Berberin		μ ve δ reseptörlerinin antagonistidir. Anti kolinesteraz aktivitesi gösterir. Güçlü anti nösetpsiyon üretir. μ ve δ reseptörleri mRNA ekspresyonunu artırır.
Magnoflorin		Enflamasyonu kontrol ederek analjezi etkisi sağlar. β_2 adrenerjik reseptörü agonistidir. Serotoninerjik ve muskarinik reseptörlere aktivite gösterir.

Alkaloid	Yapısı	Reseptör-Etki
Koridin ve Koridalin		μ reseptörü agonistleri, koridalin 2 kat daha fazla afiniteye sahiptir. Koridalin, D2 dopaminerjik reseptörlerinin blokajı yoluyla güçlü bir antinosiseptif etkiyi

Not. (L. Wu, vd., 2018; Zhang, Yang, Sun ve Kuang, 2024; Kaserer, vd., 2020; Chen, vd., 2015; Wu, vd., 2014; Xu, vd., 2020) *Alkaloidlerin kimyasal yapısı* Alhassen, Dabbous, Ha, Dang ve Civelli (2021) çalışmasından alınmıştır.

Epigastrik ağrı, baş ağrısı ve karın ağrısı gibi ağrıların giderilmesinde analjezik özelliğinden faydalandığı bilinmektedir (Luo vd., 2025). Analjezik aktivitelerinde rol oynayan 80 alkaloid izole edilmiş, bu alkaloidlerin %50'sini Dehidrokoridalin (DHC) oluşturmaktadır. Opioid özellik gösterdiği bilinen diğer önemli alkaloidleri ise Berberin, Magnoflorin, Koridin ve Koridalin'dir (Alhassen, Dabbous, Ha, Dang ve Civelli, 2021).

1.3. Analjezik Etken Maddelerin Tespiti

Analjezik etken maddelerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS), Ultra Performans Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi (UPLC-MS/MS) gibi ileri düzey analitik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler sayesinde, bitkilerden izole edilen morfin, kodein, tebain gibi opioid alkaloidler ve *Mitragyna Speciosa* (Kratom) ile *Picralima Nitida* (Akuamma) gibi bitkilerde bulunan mitrajinin, akuammisin gibi bileşikler yüksek doğruluk ve hassasiyetle tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, bu

bitkisel kaynakların farmakolojik etkilerini anlamada ve klinik kullanımlarını desteklemede önemli bir rol oynamaktadır.

Tablo 5. Bitkilerdeki Analjezik Etken Maddelerin Tespiti

Bitki Adı	Belirlenen Bileşikler	Kullanılan Analitik Yöntemler	Referanslar
Papaver somniferum	Morfin Kodein Tebain	- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) - İzokratik kromatografi - Çözücü ekstraksiyonu ve tek kolon ile ayırma	(Vincent ve Engelke, 1979)
	Morfin Kodein Tebain	- Ters Faz-Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) - Fotodiyot Dizi Dedektörü (PDA)	Singh vd., 2000
	Morfin Kodein Tebain	- Monolitik Kolon HPLC - Kemilüminesans Dedeksiyon	Costin vd., 2007
	Morfin Kodein Tebain	- Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS)	Tittarelli vd., 2022
	Morfin Kodein Tebain	- İnce Tabaka Kromatografisi-UV Densitometrisi (TLC-UV) - GC-MS - Çift katmanlı C18 kolonu	Popa, Oprean, Curea, ve Preda, 1998,
Mitragnyna speciosa	Mitrajinin 7OH	- Sıvı Kromatografi-Elektrospray İyonizasyon Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS) - Ters Faz Kromatografisi - Fotodiyot Dizi Dedektörü (PDA)	Kikura-Hanajiri vd., 2009
	Mitrajinin 7OH	- Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) - Su ve Etanol Ekstraksiyon Yöntemi	Karunakaran, Vicknasingam, ve Chawarski, 2024
	Mitrajinin 7OH	- (GC-MS) - Süperkritik Sıvı Kromatografisi (SFC) - HPLC ve Diod Dizi Dedektörü (DAD)	Wang vd., 2014

Bitki Adı	Belirlenen Bileşikler	Kullanılan Analitik Yöntemler	Referanslar
	Mitrajinin 7OH	- Gerçek Zamanlı Kütle Spektrometrisi (DART-MS) - HPLC ile Karşılaştırmalı Analiz	Lesiak, Cody, Dane ve Musah, 2014
<i>Picralima nitida</i>	Psödo (Ψ)-Akuammigin Akuammisin Akuammigin Akuammin Akuammidin	- pH-Zone-Refining Countercurrent Chromatography (CCC) - Termosprey Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi (LC-MS) - İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile doğrulama	Okunji, Iwu, Ito ve Smith, 2005
	Psödo (Ψ)-Akuammigin Akuammisin Akuammin Akuammidin	- HPLC ve LC-MS/MS ile doğrulama	Menzies, Paterson., Duwiewua ve Corbett, 1998
	Psödo (Ψ)-Akuammigin Akuammisin Akuammin Akuammidin	- HPLC - Ultra Performans Sıvı Kromatografisi (UPLC) - LC-MS/MS ve MRM Modu ile doğrulama	Creed vd.,2020
	Psödo (Ψ)-Akuammigin Akuammin	- Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (HRMS) - 1D ve 2D NMR (1H ve 13C) - SFC	Tane, Tene ve Sterner, 2002
	Psödo (Ψ)-Akuammigin Akuammin	- SFC - GC-MS - Çift Katmanlı C18 Kolonu ile Ayırıştırma	Onwuegbuchulam, Peter ve Moses, 2024
<i>Corydalis yanhusuo</i>	DHC Berberin Magnoflorin Koridin Koridalin	- LC-MS/MS - LC-DAD	Ding, Zhou, Fan, Hong, Wu, (2007)
	DHC	- LC-MS/MS	Liv d., 2014
	DHC Berberin Koridalin	- UHPLC-MS/MS -Elektrospray İyonizasyon (ESI)	Cui vd., 2018

2. SONUÇ

Mevcut literatürün kapsamlı incelemesi, bitkisel opioid analjezik bileşenlerin güçlü analjezik etkiler gösterdiğini ve bu bileşenlerin etkinliğinin gelişmiş analitik yöntemlerle doğru ve hassas bir şekilde belirlenebildiğini ortaya koymaktadır. Papaver somniferum, Mitragyna speciosa, Picralima nitida ve Corydalis yanhusuo gibi bitkilerden izole edilen morfin, mitrajinin, akuammisin ve dehidrokoridalin (DHC) gibi alkaloidlerin, merkezi sinir sistemindeki opioid reseptörlerine bağlanarak güçlü bir analjezik etki yarattığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu alkaloidlerin antidepresan, anti-enflamatuar ve anti-nosiseptif özellikler sergilediği de bulunmuştur.

Bu alkaloidlerin miktar tayini ve karakterizasyonu için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS), Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi (UPLC-MS/MS) ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) gibi ileri düzey analitik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler sayesinde, bitkilerdeki alkaloidlerin hem kalitatif hem de kantitatif analizleri yüksek doğruluk ve hassasiyetle gerçekleştirilmiş ve bu bileşiklerin farmakolojik etkileri ve güvenlik profilleri daha iyi anlaşılmıştır. Ancak, belirli alkaloidlerin eş zamanlı analizinde karşılaşılan zorluklar ve mevcut yöntemlerin sınırlamaları, daha hızlı ve güvenilir analiz tekniklerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Ayrıca, bu bitkilerdeki alkaloidlerin sadece opioid reseptörleri üzerinden değil, serotonin, dopamin ve adrenerjik reseptörler üzerinde de etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, bitkisel opioidlerin yalnızca ağrı kesici olarak değil, aynı zamanda nöroprotektif ve psikolojik etkiler sunduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, bitkisel opioidlerin analjezik bileşenleri ve bunların belirlenmesinde kullanılan yöntemler üzerine yapılan çalışmaların, bu bileşiklerin terapötik potansiyelini etkili ve

güvenli bir şekilde kullanabilmek adına daha da geliştirilmesi gerektiği değerlendirilmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdoli, J., Motamedi, S. A., & Zargaran, A. (2019). A Short Review on the History of Anesthesia in Ancient Civilizations. *Journal of Research on History of Medicine*, 8(3), 147-156.
- Adams Jr, J. D., & Wang, X. (2015). Control of pain with topical plant medicines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(4), 268-273. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30342-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30342-7).
- Alhassen, L., Dabbous, T., Ha, A., Dang, L. H., & Civelli, O. (2021). The analgesic properties of Corydalis yanhusuo. *Molecules*, 26(24), 7498. <https://doi.org/10.3390/molecules26247498>.
- Askitopoulou, H., Ramoutsaki, I. A., & Konsolaki, E. (2000). Analgesia and anesthesia: etymology and literary history of related Greek words. *Anesthesia & Analgesia*, 91(2), 486-491. <https://doi.org/10.1097/00000539-200008000-00048>.
- Ayoub, E., Naccache, N., Yamout, R., Abou Zeid, H., & Antakly, M. C. (2013). History of pain: from Greek antiquity to the 21st century. *Le Journal Medical libanais. . The Lebanese Medical Journal*, 61(4), 216-221.
- Bonica, J. J. (1991). History of pain concepts and pain therapy. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 58(3), 191-202.
- Brownstein, M. J. (1993). A brief history of opiates, opioid peptides, and opioid receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(12), 5391-5393. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.12.5391>.
- Buchanan, W. W., Rainsford, K. D., Kean, C. A., & Kean, W. F. (2024). Narcotic analgesics. *Inflammopharmacology*,

- 32(1), 23-28. <https://doi.org/10.1007/s10787-023-01304-y>.
- CAN, C. (2005). Opioid Analjezikler. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1(9), 15-23.
- Carlin, M. G., Dean, J. R., & Ames, J. M. (2020). Opium alkaloids in harvested and thermally processed poppy seeds. *Frontiers in Chemistry*, 8, 737. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00737>.
- Chen, C., Lu, M., Pan, Q., Fichna, J., Zheng, L., Wang, K., & Kreis, M. (2015). Berberine improves intestinal motility and visceral pain in the mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) symptoms in an opioid-receptor dependent manner. *Plos One*, 10(12), e0145556. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145556>.
- Costin, J. W., Lewis, S. W., Purcell, S. D., Waddell, L. R., Francis, P. S., & Barnett, N. W. (2007). Rapid determination of Papaver somniferum alkaloids in process streams using monolithic column high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Analytica chimica acta*, 597(1), 19-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.06.044>.
- Creed, S., Gutridge, A., Argade, M., Hennessy, M., Friesen, J., Pauli, G., Riley, A. (2020). Isolation and Pharmacological Characterization of Six Opioidergic *Picralima nitida* Alkaloids. *Journal of natural products*. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c01036>.
- Cui, B., Yang, J., Wang, Z., Wu, C., Dong, H., Ren, Y., & Yang, C. (2018). An Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry Method for Determination of 10 Alkaloids in Beagle Dog

- Plasma after the Oral Administration of the Corydalis yanhusuo W.T Wang Extract and Yuanhuzhitong Tablets. *Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23. DOI:10.26434/chemrxiv.13007804
- Ding, B., Zhou, T., Fan, G., Hong, Z., & Wu, Y. (2007). Qualitative and quantitative determination of ten alkaloids in traditional Chinese medicine Corydalis yanhusuo W.T. Wang by LC–MS/MS and LC–DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(2), 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.009>.
- Duarte, D. F. (2005). Opium and opioids: a brief history. *Revista brasileira de anestesiologia*, 55, 135-146.
- Duwiejua, M., Woode, E., & Obiri, D. D. (2002). Pseudo-akuammigine, an alkaloid from *Picralima nitida* seeds, has anti-inflammatory and analgesic actions in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 73-79. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00058-2](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00058-2).
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., ... & Vleminckx, C. (2018). Update of the scientific opinion on opium alkaloids in poppy seeds. *EFSA Journal*, 16(5), e05243. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5243>.
- Erharuyi, O., Falodun, A., & Langer, P. (2014). Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Picralima nitida* (Apocynaceae) in tropical diseases: A review. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60182-0](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60182-0).
- Hemby, S. E., McIntosh, S., Leon, F., Cutler, S. J., & McCurdy, C. R. (2019). Abuse liability and therapeutic potential of

- the *Mitragyna speciosa* (kratom) alkaloids mitragynine and 7-hydroxymitragynine. *Addiction biology*, 24(5), 874-885. <https://doi.org/10.1111/adb.12639>.
- Hennessy, M. R., Gutridge, A. M., French, A. R., Rhoda, E. S., Meqbil, Y. J., Gill, M., & Riley, A. P. (2023). Modified Akuamma Alkaloids with Increased Potency at the Mu-opioid Receptor. *Journal of medicinal chemistry*, 66(5), 3312-3326. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01707>.
- Jones, M. R., Viswanath, O., Peck, J., Kaye, A. D., & Gill, J. S. (2018). A brief history of the opioid epidemic and strategies for pain medicine. *Pain and Therapy*, 7(1), 13-21. <https://doi.org/10.1007/s40122-018-0097-6>.
- Kaboudin, B., & Sohrabi, M. (2021). Chemistry and synthesis of major opium alkaloids: a comprehensive review. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 18(12), 3177-3218. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02268-y>.
- Karunakaran, T., Vicknasingam, B., & Chawarski, M. C. (2024). Phytochemical analysis of water and ethanol liquid extracts prepared using freshly harvested leaves of *Mitragyna speciosa* (Korth.). *Natural product research*, 1-8. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2362428>.
- Kaserer, T., Steinacher, T., Kainhofer, R., Erli, F., Sturm, S., Waltenberger, B., & Spetea, M. (2020). Identification and characterization of plant-derived alkaloids, corydine and corydaline, as novel mu opioid receptor agonists. *Scientific reports*, 10(1), 13804. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70493-1>.
- Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., & Maruyama, T. e. (2009). Simultaneous analysis of mitragynine, 7-

- hydroxymitragynine, and other alkaloids in the psychotropic plant “kratom” (*Mitragyna speciosa*) by LC-ESI-MS. *Forensic Toxicol*, 27, 67-74. <https://doi.org/10.1007/s11419-009-0070-5>.
- Klockgether-Radke, A. P. (2002). F. W. Sertürner and the discovery of morphine. 200 years of pain therapy with opioids. *Anesthesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie*, 37, 244. <https://doi.org/10.1055/s-2002-30132>.
- Kopustinskiene, D. M., Bernatonyte, U., Maslii, Y., Herbina, N., & Bernatoniene, J. (2022). Natural herbal non-opioid topical pain relievers—comparison with traditional therapy. *Pharmaceutics*, 14(12), 2648. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122648>.
- Kruegel, A. C., & Grundmann, O. (2018). The medicinal chemistry and neuropharmacology of kratom: A preliminary discussion of a promising medicinal plant and analysis of its potential for abuse. *Neuropharmacology*, 134, 108-120. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.08.026>.
- Lesiak, A. D., Cody, R. B., Dane, A. J., & Musah, R. A. (2014). Rapid detection by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) of psychoactive plant drugs of abuse: the case of *Mitragyna speciosa* aka "Kratom". *Forensic science international*, 242, 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.07.005>.
- Li, Q.-Y., Li, K.-T., Sun, H., Jin, W., Shi, J.-W., & Y., S. (2014). LC-MS/MS Determination and Pharmacokinetic Study of Dehydrocorydaline in Rat Plasma after Oral Administration of Dehydrocorydaline and *Corydalis yanhusuo* Extract. *Molecules*, 19(10),16312-16326. <https://doi.org/10.3390/molecules191016312>.

- Luo, Z., Zhang, Z., Li, P., Yi, M., Luo, A., Zeng, H., & Nie, H. (2025). The analgesic effect and mechanism of the active components screening from *Corydalis yanhusuo* by P2X3 receptors. *Journal of Ethnopharmacology*, 337, 118989 . <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118989>.
- Matsumoto, K., Hatori, Y., Murayama, T., Tashima, K., Wongseripipatana, S., Misawa, K., & Horie, S. (2006). Involvement of μ -opioid receptors in antinociception and inhibition of gastrointestinal transit induced by 7-hydroxymitragynine, isolated from Thai herbal medicine *Mitragyna speciosa*. *European journal of pharmacology*, 549(1-3), 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.013>.
- Menzies, J. R., Paterson, S. J., Duwiejua, M., & Corbett, A. D. (1998). Opioid activity of alkaloids extracted from *Picralima nitida* (fam. Apocynaceae). *European Journal of Pharmacology*, 350(1), 101-108. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00232-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00232-5).
- Okunji, C. O., Iwu, M. M., Ito, Y., & Smith, P. L. (2005). Preparative Separation of Indole Alkaloids from the Rind of *Picralima nitida* (Stapf) T. Durand & H. Durand by pH-Zone-Refining Countercurrent Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28(5), 775-783. <https://doi.org/10.1081/JLC-200048915>.
- Onwuegbuchulam, C. H., Peter, D. A., & Moses, O. I. (2024). Phytochemical Screening and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Bioactive Compounds Present in Stem Bark of *Picralima nitida* (stapf). *Journal of Diseases and Medicinal Plants*, 10(1), 6-16. <https://doi.org/10.11648/j.jdmp.20241001.12>.

- Patidar, A., Birla, D., Patel, V., Chaturvedi, M., & Manocha, N. (2014). *A Review on advantages of Natural Analgesics over Conventional Synthetic Analgesics*, 5(5).
- Popa, D. S., Oprean, R., Curea, E., & Preda, N. (1998). TLC-UV densitometric and GC-MSD methods for simultaneous quantification of morphine and codeine in poppy capsules. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 18(4-5), 645-650. [https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(98\)00286-6](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(98)00286-6).
- Portakal, P., & Tan, T. G. (2024). *Papaver somniferum* (haşhaş) bitkisinin alkaloidlerinin farmakolojik ve toksikolojik özellikleri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 15(1), 1-10. <https://doi.org/10.38137/vftd.1398945>.
- Sabatowski, R., Schafer, D., Kasper, S. M., Brunsch, H., & Radbruch, L. (2004). Pain treatment: a historical overview. *Current pharmaceutical design*, 10(7), 701-716. <https://doi.org/10.2174/1381612043452974>.
- Schiff, P. L. (2002). Opium and its alkaloids. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 66(2), 188-196.
- Schug, S. A., Garrett, W. R., & Gillespie, G. (2003). Opioid and non-opioid analgesics. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 17(1), 91-110. <https://doi.org/10.1053/bean.2003.0267>.
- Sharma, K., Mishra, K., Senapati, K. K., & Danciu, C. (2021). Bioactive compounds in nutraceutical and functional food for good human health. *BoD-Books on Demand*. ISBN: 978-1-83880-888-4.
- Singh, A., Menéndez-Perdomo, I. M., & Facchini, P. J. (2019). Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy:

- an update. *Phytochemistry Reviews*, 18(6), 1457-1482.
<https://doi.org/10.1007/s11101-019-09644-w>.
- Singh, D. V., Prajapati, S., Bajpai, S., Verma, R. K., Gupta, M. M., & Kumar, S. (2000). Simultaneous Determination of Important Alkaloids In Papaver Somniferum Using Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 23(11), 1757-1764.
<https://doi.org/10.1081/JLC-100100450>.
- Singh, D., Narayanan, S., & Vicknasingam, B. (2016). Traditional and non-traditional uses of Mitragynine (Kratom): A survey of the literature. *Brain Research Bulletin*, 126, 41-46. <https://doi.org/10.1081/JLC-100100450>.
- Stanley, T. H. (2014). The history of opioid use in anesthetic delivery. In *Pain Medicine: A Comprehensive Review*, 641-659.
- Tane, P., Tene, M., & Sterner, O. (2002). Picranitine, a new indole alkaloid from Picralima nitida (Apocynaceae). *Bulletin of The Chemical Society of Ethiopia*, 16, 165-168. DOI:10.4314/BCSE.V16I2.20939.
- Tittarelli, R., Gismondi, A., Di Marco, G., Mineo, F., Vernich, F., Russo, C., Canini, A. (2022). Forensic Application of Genetic and Toxicological Analyses for the Identification and Characterization of the Opium Poppy (Papaver somnifer. *Biology*, 11.
<https://doi.org/10.3390/biology11050672>.
- Trang, T., Al-Hasani, R., Salvemini, D., Salter, M., Gutstein, H., & Cahill, C. (2015). Pain and Poppies: The Good, the Bad, and the Ugly of Opioid Analgesics. *The Journal of Neuroscience*, 35, 13879-13888.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2711-15.2015>.

- Veltri, C., & Grundmann, O. (2019). Current perspectives on the impact of Kratom use. *Substance abuse and rehabilitation*, 23-31. <https://doi.org/10.2147/SAR.S164261>.
- Vincent, P. G., & Engelke, B. F. (1979). High pressure liquid chromatographic determination of the five major alkaloids in *Papaver somniferum* L. and thebaine in *Papaver bracteatum* Lindl. capsular tissue. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 62(2), 310-314. <https://doi.org/10.1093/JAOAC%2F62.2.310>.
- Wang, M., Carrell, E. J., Ali, Z., Avula, B., Avonto, C., Parcher, J. F., & Khan, I. A. (2014). Comparison of three chromatographic techniques for the detection of mitragynine and other indole and oxindole alkaloids in *Mitragyna speciosa* (kratom) plants. *Journal of separation science*, 37(12), 1411-1418. <https://doi.org/10.1002/jssc.201301389>.
- Warner, M. L., Kaufman, N. C., & Grundmann, O. (2016). The pharmacology and toxicology of kratom: from traditional herb to drug of abuse. *International journal of legal medicine*, 130(1), 127-138. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1279-y>.
- Wu, H., Waldbauer, K., Tang, L., Xie, L., McKinnon, R., Zehl, M., & Kopp, B. (2014). Influence of vinegar and wine processing on the alkaloid content and composition of the traditional Chinese medicine *Corydalis Rhizoma* (Yanhusuo). *Molecules*, 19(8), 11487-11504. <https://doi.org/10.3390/molecules190811487>.
- Wu, L., Zhang, W., Qiu, X., Wang, C., Liu, Y., Wang, Z., & Zhang, Y. (2018). Identification of alkaloids from *Corydalis yanhusuo* WT Wang as dopamine D1 receptor antagonists by using CRE-luciferase reporter gene assay. *Molecules*,

- 23(10), 2585.
<https://doi.org/10.3390/molecules23102585>.
- Xu, T., Kuang, T., Du, H., Li, Q., Feng, T., Zhang, Y., & Fan, G. (2020). Magnoflorine: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and toxicity. *Pharmacological Research*, 152, 104632.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104632>.
- Xu, Y., Sun, J., Li, W., Zhang, S., Yang, L., Teng, Y., & Zhao, M. (2021). Analgesic effect of the main components of *Corydalis yanhusuo* (*yanhusuo* in Chinese) is caused by inhibition of voltage gated sodium channels. *Journal of Ethnopharmacology*, 280, 114457.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114457>.
- Yang, J., Bauer, B. A., Wahner-Roedler, D. L., Chon, T. Y., & Xiao, L. (2020). The modified WHO analgesic ladder: is it appropriate for chronic non-cancer pain? *Journal of pain research*, 411-417.
<https://doi.org/10.2147/JPR.S244173>.
- Zhang, M., Yang, J., Sun, Y., & Kuang, H. (2024). Recent Advances in Alkaloids from Papaveraceae in China: Structural Characteristics and Pharmacological Effects. *Molecules*, 29(16), 3778.
<https://doi.org/10.3390/molecules29163778>.

ENERJİ İÇECEKLERİNDE İÇERİK ANALİZ YÖNTEMLERİ

Naime KAPLAN¹

Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA²

1. GİRİŞ

Enerji içecekleri; yüksek miktarda kafein ve şeker ve bunların yanına farklı miktarlarda taurin, inositol, çeşitli B vitaminleri, karnitin, guarana ve glukoronolakton içeren ürünlerdir (Heneman ve Zidenberg-Cherr, 2007).

Enerji içeceklerinin içerdikleri uyarıcı özelliği olan ve enerji verdiği kısmen kanıtlanmış farklı maddeler sayesinde içeceği tüketen kişilere enerji verdiği, tüketicilerin fiziksel ve zihinsel performansını arttırdığı iddia edilmektedir (Heneman ve Zidenberg-Cherr, 2007; Varım vd, 2015).

2. ENERJİ İÇECEKLERİNİN TARİHÇESİ

Enerji içeceklerinin kökeni uyarıcı etkisi için tüketilen kahve ile 1400'lü yıllara ve daha da geriye gidildiğinde uyarıcı, rahatlatıcı ve iyileştirici özellikleri ile bilinen çeşitli bitki çaylarının kullanımıyla antik dönemlere dayanmaktadır.

Günümüzde marketlerde bulabildiğimiz ticari formdaki enerji içecekleri ise ilk olarak 1962 yılında, temel içeriği taurin

¹ Arş. Gör. Naime KAPLAN, Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 99naimekaplan@gmail.com, ORCID: 0009-0005-4517-0577.

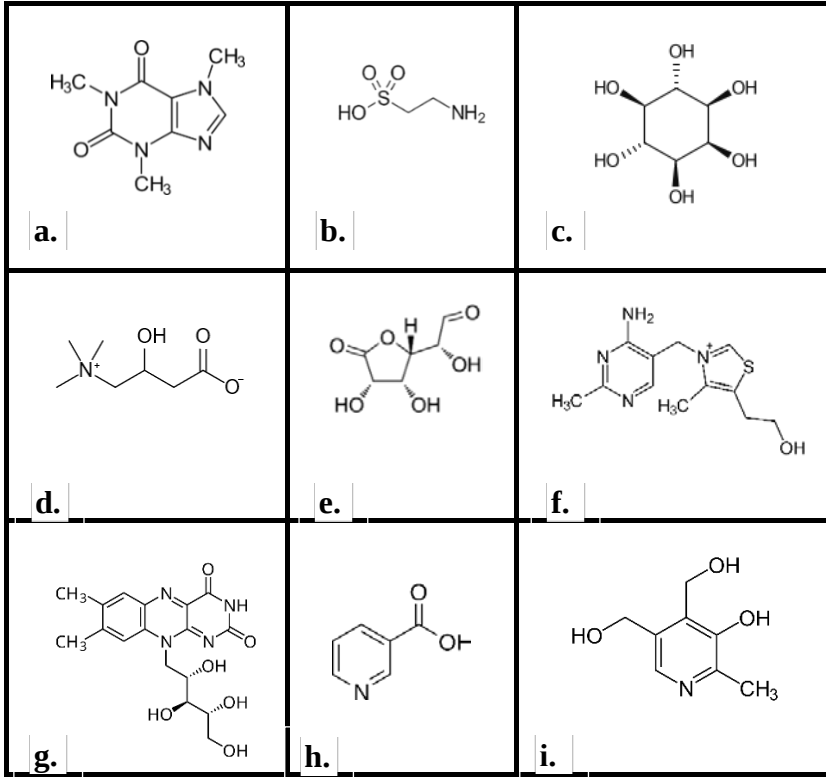
² Dr. Öğr. Üyesi. Dilek BÜYÜKBEŞE YAYLA, Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, buyukbese@gantep.edu.tr, ORCID: 0000-0002-2344-8663.

olan Lipovitan isimli enerji içeceğiyle Japonya’da piyasaya sürülmüştür. Bu enerji içeceği Asya marketinde hızlı bir şekilde yayılmış ve bu yayılım iş insanı Dietrich Mateschitz’in ilgisini çekmiştir. Mateschitz, 1982 yılında Lipovitan’dan esinlenerek oluşturduğu enerji içeceği Redbull’u Avusturalya’da piyasaya sürmüştür. Bu ürünün batıya pazarlanmaya başlanmasıyla enerji içeceklerinin tüketimi Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerine yayılmış, 1990’lı yıllarda birçok rakip ürünün markette yerini bulmasıyla popülerleşmiştir (Dikici, Aydın, Kutlucan ve Ercan, 2012; Görgülü, Taşdelen, Sönmez ve Çınar, 2014; Nakilcioğlu-Taş, Hacıhasanoğlu ve Ötleş, 2019; Semerci, 2014).

3. ENERJİ İÇECEKLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİ

Enerji içecekleri genellikle kafein, kafein içerdiği bilinen bitki ekstresi guarana, glukuronolakton, inositol, taurin ve çeşitli B vitaminleri içeren bileşenlerden oluşmaktadır (Wegert vd., 2012).

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının 2017 yılında yayınladığı “Türk Gıda Kodeksi Enerji İçecekleri Tebliği”nde enerji içecekleri “Kafein içeren, taurin, glukuronolakton, inositol, karbonhidrat, aminoasitler, vitaminler, mineraller ve diğer gıda ve bileşenlerini içerebilen, aromalandırılmış alkolsüz içecek” olarak tanımlanmaktadır. Yine bu Tebliğ kapsamında enerji içeceklerindeki toplam kafein miktarı’nın 150 mg/L’den fazla, inositol miktarının 100 mg/L’den fazla, glukuronolakton miktarının 20 mg/L’den fazla, taurin miktarının ise 800 mg/L’den fazla olamayacağı belirtilmiştir. Bu Tebliğde aynı zamanda enerji içecekleri ambalajları ile ilgili “Enerji içeceklerinin etiketinde kafein, taurin, glukuronolakton, inositol, aminoasitlerin miktarı litrede miligram olarak yer almalıdır” ibaresi yer almaktadır (Türk Gıda Kodeksi Enerji içecekleri Tebliği No:2017/4, 2017).



Şekil 1. Enerji içeceklerdeki kimyasal bileşenlerin açık molekül yapıları

a:Kafein b:Taurin c:İnositol d:Karnitin e:Glukuronolakton f: Tiyamin (B₁ Vitamini) g: Riboflavin (B₂ Vitamini) h: Niyasin (B₃ Vitamini) i: Piridoksin (B₆ Vitamini)

Enerji içeceklerinin her yaş grubunda yaygın kullanımı ve enerji içeceklerinin insan sağlığı üzerine etkileri üzerine çalışmaların henüz yeterli kapsamda olmaması bu bileşenlerin miktarlarına ilişkin yasal sınırlandırılmalar getirilmesine neden olmaktadır. Yerel ve küresel pazardaki çeşitli enerji içeceklerinde bulunan gerçek bileşen miktarlarının zaman zaman yasal sınırların ve ürün etiketlemelerinde belirtilen miktarların üstünde veya altında olması enerji içeceklerinde kimyasal içerik analizlerinin uygulamalarını gerekli kılmaktadır.

Şekil 1.'de belirtilen enerji içeceklerinin içerisindeki çeşitli kimyasal bileşenlerinin analizinde farklı spektroskopik, kromatografik, mikroskopik, kemometrik ve voltometrik analiz yöntemleri kullanılmakta ve yeni yöntemlerin validasyon çalışmaları yapılmaktadır.

3.1. Kafein

Enerji içeceklerinin temel bileşenlerinden kafein (Şekil 1.a), her enerji içeceğinde bulunan, tüketim miktarına göre uyarıcı özellik gösteren, dikkat ve konantrasyon artırıcı özellikleri ile bilinen bir alkoloiddir (L. Şen, Dere ve İ. K. Şen, 2015; Turan ve Ocaktan, 2024; Varım, vd., 2015).

Aranda ve Morlock (2006), enerji içeceklerindeki kafein, taurin, B2 (riboflavin), B3 (niyasin) ve B6 (piridoksin) vitaminlerinin analizinin aynı anda gerçekleştirilmesini sağlayan bir yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmacılar, Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (HPTLC) ile Ultraviyole-Görünür bölge (UV-Vis) ve Floresans (FL) spektroskopik yöntemleri birleştirmiş, elektrospray iyonizasyon kütle spektrometrisi (ESI-MS) yöntemini kullanarak geliştirdikleri yöntemi doğrulamışlardır.

Khasanov, Slizhov ve Khasanov (2013), 10 farklı enerji içeceği ile yaptıkları çalışmada içerik analizinde farklı elektroforez parametrelerinin Kapiler Elektroforez (CE) yöntemine etkisini ve enerji içeceklerinin bileşenlerinin analizinde CE yönteminin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisine (HPLC) göre avantajlarını ve dezavantajlarını incelemişlerdir.

Tablo 1. Enerji İçeceklerinde Kafein Analizi Yöntemleri

İsim	Yöntem
K. P. Rai, H. B. Rai, Dahal, Chaudhary ve Shrestha, (2016)	HPLC-UV ^a
Lage-Yusty, Villar-Blanco ve López-Hernandez (2019)	HPLC-PDA ^b HPLC-FL ^c
Rácz, Héberger ve Fodor (2016)	FT-NIR ^d
Uilăcan, Stroia ve Hancu (2024)	MEKC ^e
Khasanov vd. (2013)	CE UV-Vis
Kamble, Patil ve Varade (2024)	HPTLC Mikroskopi
Wegert vd. (2012)	¹ H NMR ^f
Khalid ve Ahmad (2016)	UV-Vis
Attipoe, Leggit ve Deuster (2016)	HPLC-UV HPTLC UV/Vis
Aranda ve Morlock (2006)	FL ESI-MS
Da Costa, El Haddad ve De Martinis (2022)	GC-NPD ^g

a:HPLC-UV, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Ultraviyole Dedektör
b:PDA, Fotodiyot Dizisi Detektör **c:**FL, Floresans Dedektör **d:**FT-NIR, Fourier Dönüşümlü Yakın Kızılötesi Spektroskopi **e:**MEKC, Misel Elektrokinetik Kromatografi **f:**¹HNMR, Proton Nükleer Manyetik Rezonans **g:**GC-NPD, Gaz Kromatografisi-Azot/Fosfor Dedektörü

3.2. Taurin

Taurin (Şekil 1.b), tiyol içeren yarı esansiyel bir aminoasittir. Vücutta doğal olarak bulunun taurin, nöronlarda, glial hücrelerde, iskelet ve kalp kası hücrelerinde farklı yoğunluklarda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarla taurinin anksiyeteyi azaltan ve dopamini arttıran metabolik süreçlerde aktif rol aldığı kanıtlanmıştır (Eppler, Patterson, Zhou, Millard ve Dawson, 1999; Kendler, 1989; Varım vd, 2015).

Frag, Klikarová, Česlová, Vytřas ve Sýs (2019), enerji içeceklerindeki taurinin kantitatif analizi için yeni bir voltometrik yöntem geliştirmiş ve bu yöntemin validasyonunu Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Ultraviyole/Görünür (HPLC-UV) yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Uygulanan Kare Dalga

Voltametrisi (SWV) yöntemiyle 50 mV darbe genliği ve 80 Hz frekans ile taurin için kantitatif belirleme limiti $6,8 \times 10^{-6}$ M ve saptama sınırları $2,1 \times 10^{-6}$ M olarak belirlenmiştir.

Lage-Yusty vd. (2019), yaptıkları çalışmada enerji içeceklerinde taurin tayini için HPLC-UV ile ön kolon türevlendirme yöntemi kullanmışlardır. Askorbik asit, piridoksin, tiyamin, riboflavin ve kafeini aynı anda belirlemek için Fotodiyot Dizisi ve Floresan Detektörlü HPLC (HPLC-PDA ve HPLC-FL) kullanılarak hızlı ve düşük maliyetli bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemle enerji içeceği bileşenlerinin kantitatif belirleme limitinin $0,002 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ile $2,04 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ arasında, miktar tayin limitinin ise $0,008 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ile $2,12 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda enerji içeceklerinin etiket bilgilerindeki vitamin, kafein ve taurin içeriklerinin analiz sonuçlarıyla uyuşmadığı belirtilmiştir.

Tablo 2. Enerji İçeceklerinde Taurin Analizi Yöntemleri

İsim	Yöntem
Lage-Yusty vd. (2019)	HPLC-UV
Wegert vd. (2012)	^1H NMR
Manarga Birlik, Karataş ve Tokat (2020)	LC-MS/MS ^a
	HPTLC
Aranda ve Morlock (2006)	UV/Vis
	FL
	ESI-MS
Farag vd. (2019)	SWV
	HPLC-UV
Rai vd. (2016)	HPLC-UV
Ricciutelli vd. (2014)	UHPLC-MS/MS ^b

a:LC-MS/MS, Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi

b: UHPLC-MS/MS, Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi

3.3. B Vitaminleri

B grubu vitaminleri, vücuttaki çeşitli metabolik olaylarda kofaktör, prekürsör ve substrat olarak görev alan ve suda çözünme özelliği olan vitaminlerdir. B1 (Tiyamin), B2

(Riboflavin), B3 (Niyasin), B5 (Pantotenik asit), B6 (Piridoksin), B7 (Biyotin), B9 (Folik asit) ve B12(Kobalamin) olmak üzere çeşitleri vardır (Hamamcıoğlu ve Karabaş, 2021).

Enerji içeceklerinde genellikle B grubu vitaminlerinden Tiyamin (Şekil 1.f), Riboflavin (Şekil 1.g), Niyasin (Şekil 1.h) ve Piridoksin (Şekil 1.i) bulunmaktadır.

Selcakumar ve Thakur (2012), enerji içeceklerinde B12 vitamini (Kobalamin) analizi için yeni bir dipstick tabanlı immünokimülümnesans (immuno-CL) biyosensör geliştirilmişlerdir. Geliştirdikleri yöntemin sonuçlarını ELISA ile doğrulamışlardır.

Hu vd. (2018), yaptıkları çalışmada bir enerji içeceği numunesinde bütün B grubu vitaminlerinin analizinin gerçekleştirilebileceği kemometri destekli Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışma sonunda geliştirilen yöntemin hızlı, çevre dostu (yeşil), doğruluğu yüksek ve düşük maliyetli olduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 3. Enerji İçeceklerinde B Vitamini Analizi Yöntemleri

İsim	Yöntem	Bileşen
Lage-Yusty vd. (2019)	HPLC-PDA HPLC-FL	Tiyamin, Riboflavin Piridoksin
Aranda ve Morlock (2006)	HPTLC UV/Vis, FL ESI-MS	Riboflavin Piridoksin, Niyasin
Khasanov vd. (2013)	CE	Niyasin, Piridoksin
Hu vd. (2018)	LC-MS	Bütün B grubu vitaminleri
Selvakumar ve Thakur (2012)	immuno-CL	Kobalamin

3.4. İnositol

İnositol (Şekil 1.c), vücutta bağırsak florasındaki mikroorganizmalar tarafından glikoz metabolizması ürünü olarak üretilen bir bileşendir. İnositolün beyindeki serotonin duyarlılığına etkisi olduğu bilinmektedir (Aydın ve Dede, 2016; Varım vd., 2015).

Enerji içeceklerinin temel bileşenlerinden olmasına karşın literatürde enerji içeceklerinde inositol analizine yönelik yeterli sayıda yöntem ve çalışma bulunmamaktadır.

Grembecka, Lebiezińska ve Szefer (2024), yaptıkları çalışmada enerji içecekleri, meyve suları ve diğer çeşitli gazlı içeceklerde fruktoz, glukoz, süktroz ve inositol seviyelerini belirlemek için HPLC ve Yüklü Aerosol Dedektörü (CAD) kullanarak yeni bir analiz yöntemi geliştirmişlerdir. Analiz sonuçları incelendiğinde bazı numunelerde etiketlerde belirtilene nazaran daha fazla şeker içeriği bulunduğu, enerji içeceklerinin toplam şeker içeriğinin diğer numunelere göre en yüksek olduğu ve numunelerde etiket bilgilerinde belirtildiği halde inositol tespit edilemediği görülmüştür. Metodun doğruluğu ve hassasiyeti test edilmiş ve 94,9%-103% doğruluk aralığı belirlenmiştir.

Manarga Birlik vd. (2020) yaptıkları bu çalışmada enerji içeceklerindeki inositol, taurin ve glukoronolakton miktarlarını belirlemek için LC-MS/MS yöntemi optimize edilmiş ve metod validasyonu gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemle belirlenen kantitatif belirleme limiti değerleri inositol için 6,27 mg/L, taurin için 23,91 mg/L ve glukoronolakton için 2,47 mg/L olarak bulunmuştur. Bu yöntemle bileşenlerin geri kazanım oranları inositol için %98,4, taurin için %99,1, ve glukoronolakton için %100 olarak hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda geliştirilen LC-MS/MS yönteminin enerji içeceklerinde bu bileşenlerin doğru ve hassas bir şekilde analiz edilmesi için güvenilir olduğu belirtilmiştir.

Tablo 4. Enerji İçeceklerinde İnositol Analizi Yöntemleri

İsim	Yöntem
Manarga Birlik vd. (2020)	LC-MS/MS
Grembecka vd. (2024)	HPLC-CAD
Wegert vd. (2012)	¹ H NMR

3.5. Glukuronolakton

Glukuronolakton (Şekil 1.e), karaciğerde glukoz metabolizması sonucu oluşan doğal bir metabolittir. Enerji içeceklerinde sentetik glukuronolakton kullanılmaktadır (Dikici vd., 2012).

Craig, Fields ve Simpson (2014), glukuronolaktonun ve glukuronik asidin kantitatif analizini aynı anda gerçekleştirebilmek amacıyla Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ile bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada içerik analizi için enerji içeceklerinin yanında glukarik asit içeren detoks ve iyileşme içecekleri de numune olarak kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemle glukuronolakton için kantitatif belirleme limiti 0,02 ppm – 0,47 ppm olarak belirlenmiştir.

Ricituelli vd. (2014), enerji içeceklerindeki taurin, glukuronolaktonun ve glukuronik asidin analizini aynı anda gerçekleştirmek amacıyla bir Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi (UHPLC-MS/MS) yöntemi geliştirmişlerdir.

Tablo 5. Enerji İçeceklerinde Glukuronolakton Analizi Yöntemleri

İsim	Yöntem
Manarga Birlik vd. (2020)	LC-MS/MS
Wegert vd. (2012)	¹ H NMR
Craig vd. (2014)	GC-MS
Ricciutelli vd. (2014)	UHPLC-MS/MS

4. SONUÇ

Literatürdeki çalışmalar ve analitik yöntemler incelendiğinde, piyasadaki enerji içeceklerinin içeriklerinde rapor edilen bileşen seviyelerinin bazen yasal sınırların ve etiketlerde bildirilen seviyelerin dışında olduğu görülmüştür. Bazı durumlarda, bazı bileşenlerin hiç bulunmadığı, bazılarının ise

belirtilenden daha yüksek seviyelerde mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, enerji içecekleri için kullanılan analitik yöntemlerin geliştirilmesi ve genişletilmesinin önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, mevcut analitik yöntemlerin ilgilenilen tüm bileşenlere eş zamanlı olarak uygulanamaması ve analitik prosedürlerin sınırlılıkları, daha hızlı, güvenilir ve eş zamanlı analitik yöntemlerin geliştirilmesi ve bu yöntemlerin validasyon çalışmalarının yapılması gerektiğine işaret etmektedir. Özellikle spektroskopik, kromatografik ve voltammetrik analitik yöntemlerin kombinasyonlarının kullanılması ve yeni yöntemlerin literatüre kazandırılması enerji içeceklerindeki bileşenlerin doğru ve hassas tayini için büyük önem taşımaktadır.

Bu kapsamda enerji içeceklerinde bulunan kafein, taurin, inositol, glukuronolakton ve B vitaminleri gibi bileşenlerin miktarlarının doğru bir şekilde belirlenmesi için geliştirilen yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kapiler elektroforez (CE) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi yöntemlerin uygulanabilirliği ve güvenilirliği literatürdeki çalışmalarla desteklenmektedir. Gelecekte enerji içeceklerinin analizinde kullanılacak yöntemlerin standardizasyonu ve bu yöntemlerin daha geniş bir yelpazede uygulanabilirliği üzerine yapılacak çalışmalar, tüketicilerin sağlığının korunması ve doğru bilgi sağlanması açısından önem taşımaktadır.

Bu nedenle, enerji içeceklerinde bulunan bileşenlerin doğru ve güvenilir bir şekilde analiz edilebilmesi için mevcut yöntemlerin geliştirilmesi ve yeni analitik tekniklerin uygulanması zorunludur. Bu doğrultuda yapılacak çalışmaların enerji içeceklerinin etiketlenmesinin doğruluğunun sağlanmasına ve tüketici güvenliğinin artırılmasına önemli katkı sağlaması beklenmektedir.

KAYNAKÇA

- Aranda, M., & Morlock, G. (2006). Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of chromatography. A*, 1131(1-2), 253-260. doi:10.1016/j.chroma.2006.07.018
- Attipoe, S., Leggit, J., & Deuster, P. (2016). Caffeine Content in Popular Energy Drinks and Energy Shots. *Military Medicine*, 181(9), 1016-1020. doi:10.7205/MILMED-D-15-00459
- Aydın, S., & Dede, B. (2016). Enerji İçeceklerinin Sağlık Üzerine Etkilerinin Toksikolojik Açıdan Değerlendirilmesi. *HUJPHARM*, 36(1), 89-127.
- Craig, A. P., Fields, C. C., & Simpson, J. V. (2014). Development of a gas chromatography-mass spectrometry method for the quantification of glucaric Acid derivatives in beverage substrates. *International Journal of Analytical Chemistry*, 8, 402938. doi:10.1155/2014/402938
- Da Costa, B., El Haddad, L., & De Martinis, B. (2022). Caffeine content of energy drinks marketed in Brazil. *Drug Test Anal*, 14(9), 1660-1664. doi:10.1002/dta.3323
- Dikici, S., Aydın, L., Kutlucan, A., & Ercan, N. (2012). Enerji içecekleri hakkında neler biliyoruz? *Dicle Medical Journal*, 39(4), 609-613. doi:10.5798/diclemedj.0921.2012.04.0212
- Eppler, B., Patterson, T., Zhou, W., Millard, W., & Dawson, R. (1999). Kainic acid (KA)-induced seizures in Sprague-Dawley rats and the effect of dietary taurine(TAU)

- supplementation or deficiency. *Amino Acids*, 16(2), 133-147. doi:10.1007/BF01321532
- Farag, A., Klikarová, J., Česlová, L., Vytřas, K., & Sýs, M. (2019). Voltammetric determination of taurine in energy drinks after o-phthalaldehyde-ethanethiol derivatization. *Talanta*, 202, 486-493. doi:10.1016/j.talanta.2019.04.083
- Görgülü, Y., Taşdelen, Ö., Sönmez, M., & Çınar, R. (2014). Enerji İçeceği Tüketimi Sonrası Gelişen Bir Akut Psikoz Olgusu. *Nöropsikiyatri Arşivi*, 51, 79-81. doi:10.4274/npa.y6772
- Grembecka, M., Lebiezińska, A., & Szefer, P. (2024). Application of HPLC Coupled with a Charged Aerosol Detector to the Evaluation of Fructose, Glucose, Sucrose, and Inositol Levels in Fruit Juices, Energy Drinks, Sports Drinks, and Soft Drinks. *Beverages*, 10(4), 94. doi:10.3390/beverages10040094
- Hamamcıoğlu, A., & Karabaş, E. (2021). Yaşlanmada beyin sağlığı ve B vitamini. *Med J West Black Sea*, 5(3), 331-336. doi:10.29058/mjwbs.871573
- Heneman, K., & Zidenberg-Cherr, S. (2007). *Nutrition and Health Info Sheet: Energy Drinks*. Şubat 3, 2025 tarihinde UC Davis Nutrition Department: <https://nutrition.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk426/files/content/infosheets/fact-pro-energydrinks.pdf> adresinden alındı
- Hu, Y., Wu, H., Yin, X., Gu, H., Xiao, R., Xie, L., . . . Fang, H. (2018). Rapid and interference-free analysis of nine B-group vitamins in energy drinks using trilinear component modeling of liquid chromatography-mass spectrometry data. *Talanta*, 180, 108-119. doi:10.1016/j.talanta.2017.12.036

- Kamble, V., & Patil, A. (2024). Analysis of Caffeine Content in Energy Drink and Its Impact on Students Health (by using UV-Visible Spectroscopy, HPTLC and Microscopy). *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 11(3), 544-555. doi:10.32628/IJSRST2411328
- Kendler, B. (1989). Taurine: An overview of its role in preventive medicine. *Prevent Medicine*, 18, 79. doi:10.1016/0091-7435(89)90056-X
- Khalid, A., & Ahmad, S. (2016). Determination of Caffeine in Soft and Energy Drinks Available in Market by using UV/Visible Spectrophotometer. *Family Medicine & Medical Science Research*, 05(04). doi:10.4172/2327-4972.1000206
- Khasanov, V. V., Slizhov, Y. G., & Khasanov, V. V. (2013). Energy drink analysis by capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry*, 68(4), 357-359. doi:10.1134/s1061934813040047
- Lage-Yusty, M. A., Villar-Blanco, L., & López-Hernandez, J. (2019). Evaluation of caffeine, vitamins and taurine in energy drinks. *Journal of Food & Nutrition Research*, 58(2).
- Manarga Birlik, P., Karataş, A., & Tokat, İ. (2020). LC-MS/MS ile Enerji İçeceklerinde Taurin, İnositol ve Glukoronolaktonun Belirlenmesinde Metot Validasyon Çalışmaları. *Gıda Ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*(23), 38-48.
- Nakilcioğlu-Taş, E., Hacıhasanoğlu, F., & Ötleş, S. (2019). 18 Yaş Altı ile 18 Yaş ve Üstü Bireylerin Enerji İçeceği Tüketimi Eğilimlerinin Belirlenmesi: İzmir İli Örneği. *ÖHÜ Müh.*

Bilim. Dergisi, 8(1), 111-120.
doi:10.28948/ngumuh.516838

- RÁCZ, A., Héberger, K., & Fodor, M. (2016). Quantitative determination and classification of energy drink using near-infrared spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408, 6403-6411. doi:10.1007/s00216-016-9757-8
- Rai, K. P., Rai, H. B., Dahal, S., Chaudhary, S., & Shrestha, S. (2016). Determination of caffeine and taurine contents in energy drinks by HPLC-UV. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 9, 66-73. doi:10.3126/jfstn.v9i0.16199
- Ricciutelli, M., Caprioli, G., Cortese, M., Lombardozzi, A., Strano, M., Vittori, S., & Sagratini, G. (2014). Simultaneous determination of taurine, glucuronolactone and glucuronic acid in energy drinks by ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (triple quadrupole). *Journal of Chromatography A*, 1364, 303-307. doi:10.1016/j.chroma.2014.08.083
- Selvakumar, L. S., & Thakur, M. S. (2012). Dipstick based immunochemiluminescence biosensor for the analysis of vitamin B12 in energy drinks: A novel approach. *Analytica Chimica Acta*, 722, 107-113. doi:10.1016/j.aca.2012.02.006
- Semerci, İ. (2014, Ağustos 22). *Enerji İçecekleri*. Şubat 6, 2025 tarihinde TÜBİTAK Bilim Genç: <https://bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/enerji-icecekleri> adresinden alındı
- Şen, L., Dere, H. E., & Şen, İ. K. (2015). Survey on Consumption Behaviour of Energy Drink Among University Students: Example of Afyon Kocatepe University. *Turkish Journal*

of Agriculture - Food Science and Technology, 3(6), 394-401. doi:10.24925/turjaf.v3i6.394-401.264

Turan, B., & Ocaktan, M. (2024). Enerji İçeceklerinin Adolesanlar Arasındaki Tüketimi ve Sağlık Üzerindeki Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 33(4), 238-248. doi:10.17827/aktd.1527067

Türk Gıda Kodeksi Enerji içecekleri Tebliği No:2017/4. (2017, Haziran 30). T.C. Resmi Gazete: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/06/20170930-23.htm> adresinden alındı

Uilăcan, A., Stroia, D. G., & Hancu, G. (2024). Determination of caffeine by micellar electrokinetic chromatography in different beverages. *Acta Marisiensis. Seria Medica*, 70(3), 194-199. doi:10.2478/amma-2024-0026

Varım, C., Varım, P., Atılgan Acar, B., Vatan, M., T, K., Acar, T., & Tamer, A. (2015). Enerji İçecekleri Ruhunu Kanatlandırıyor ya Bedeni. *J Hum Rhytim*, 1(3), 79-82.

Wegert, K., Monakhova, Y., Kuballa, T., Reusch, H., Winkler, G., & Lachenmeier, D. (2012). Regulatory Control of Energy Drinks Using ¹H NMR Spectroscopy. *Lebensmittelchemie*, 66, 143-145. doi:10.1002/lemi.201290113

KİMYA ALANINDA KULLANILAN KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER: GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Songül KESEN¹

1. GİRİŞ

Kromatografik teknikler, kimyada karmaşık karışımlardaki bileşenlerin ayrılması, tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için kullanılan temel analitik yöntemlerdir. Bu teknikler genel olarak gaz kromatografisi (GC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC), süperkritik sıvı kromatografisi (SFC) ve afinite kromatografisi gibi her biri kendine özgü prensiplere ve uygulamalara sahip çeşitli tiplerde kategorize edilebilir.

Gaz kromatografisi (GC) özellikle uçucu ve yarı uçucu bileşikler için etkilidir. Numunenin buharlaştırılması ve sabit bir faz içeren bir kolondan geçirilmesiyle çalışır. Ayrıca GC, özellikle çevre ve gıda güvenliği uygulamalarında gelişmiş hassasiyet ve özgüllük için genellikle kütle spektrometresi (GC-MS) ile birleştirilir (Hengel ve ark., 2019).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), özellikle uçucu olmayan ve termal olarak kararsız bileşikler için uygun olan, yaygın olarak kullanılan bir başka tekniktir. Numuneyi sabit bir faz ile dolu bir kolondan geçirmek için sıvı bir mobil faz kullanır. HPLC çok yönlüdür ve ters faz, normal faz ve iyon değişim kromatografisi dahil olmak üzere çeşitli ayırma

¹ Doç. Dr., Gaziantep Üniversitesi, Naci Topçuoğlu Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, songulkesen27@hotmail.com, ORCID: 0000-0003-0587-1721.

modlarına uyarlanabilir. Bu teknik, karmaşık karışımların hızlı ve verimli bir şekilde ayrılmasına olanak tanıdığı için farmasötik analizlerde çok önemlidir (Ahmed vd., 2013; Kumar vd., 2018). Ayrıca HPLC, tespit limitlerini iyileştirmek ve analitler hakkında yapısal bilgi sağlamak için kütle spektrometrisi gibi diğer tekniklerle birleştirilebilir (Reis ve ark., 2009).

İnce tabaka kromatografisi (TLC), bileşiklerin sabit bir faz ile kaplanmış düz bir yüzey üzerinde ayrılmasını içeren daha basit ve daha uygun maliyetli bir tekniktir. GC veya HPLC'den daha az hassas olmasına rağmen, TLC kalitatif analiz için değerlidir ve genellikle reaksiyonları izlemek veya bileşiklerin saflığını değerlendirmek için kullanılır (Ahmed ve ark., 2013). Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC), daha iyi çözünürlük ve miktar belirleme özellikleri sağlayarak geleneksel TLC yöntemini geliştirir (Afthoni ve ark., 2018).

Süperkritik akışkan kromatografisi (SFC), gazların ve sıvıların özelliklerini birleştirerek mobil faz olarak süperkritik akışkanları kullanır. Bu teknik özellikle uçucu olmayan bileşiklerin ayrıştırılması için avantajlıdır ve genellikle doğal ürünlerin ve farmasötiklerin analizinde kullanılır (Qian vd., 2004). SFC, geleneksel sıvı kromatografi yöntemlerine kıyasla daha hızlı ayırma süreleri ve daha az çözücü kullanımı sunabilir.

Afinite kromatografisi, bir analit ile hedef molekülü seçici olarak bağlamak üzere modifiye edilmiş bir sabit faz arasındaki spesifik etkileşimlerden yararlanan özel bir tekniktir. Bu yöntem özellikle proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin biyolojik etkileşimlerine dayalı olarak saflaştırılması için kullanışlıdır (Pfaunmiller vd., 2012; Chakravarti vd., 2016). Afinite kromatografisinin seçiciliği, onu biyokimyasal araştırmalarda ve farmasötik geliştirmede paha biçilmez bir araç haline getirmektedir.

1.1. Kimya Alanında Gaz Kromatografi Kullanımı

Gaz kromatografisi, uçucu bileşiklerin ayrıştırılması ve analizi için yaygın olarak kullanılan, kimyada çok önemli bir analitik tekniktir. Uygulamaları çevresel analiz, gıda güvenliği ve farmasötikler dahil olmak üzere çeşitli alanları kapsar. GC'nin çok yönlülüğü, karmaşık karışımların hem kalitatif hem de kantitatif analizine olanak tanıyan GC-MS'yi oluşturan kütle spektrometresi (MS) ile birleştirildiğinde artar.

GC'deki önemli gelişmelerden biri, petrol ve çevre kimyası gibi endüstrilerde giderek daha önemli hale gelen yüksek sıcaklıklı ortamlarda uygulanmasıdır. Huangfu ve arkadaşları, kuvars kapiler kolonlar için 320 °C'yi aşan sıcaklıklara dayanabilen ve yüksek sıcaklık gaz kromatografisini (HTGC) kolaylaştıran yeni poliimid kaplamaların geliştirildiğini vurgulamaktadır (Huangfu et al., 2019). Bu özellik, termal olarak kararsız bileşiklerin analiz edilmesi ve karmaşık karışımların çözünürlüğünün iyileştirilmesi için çok önemlidir.

GC ayrıca çevresel izlemede, özellikle de biyokütle yanmasından kaynaklanan emisyonların değerlendirilmesinde etkilidir. Christian ve arkadaşları, GC-MS de dahil olmak üzere çeşitli gaz ölçüm tekniklerinin kapsamlı bir karşılaştırmasını yapmış ve eser seviyedeki kirleticilerin tespit edilmesindeki etkinliğini göstermiştir (Christian vd., 2004). Bu, uçucu organik bileşiklerin (VOC'ler) hassas ölçümünün mevzuata uygunluk ve halk sağlığı için gerekli olduğu çevre kimyasında GC'nin rolünün altını çizmektedir.

Gıda güvenliği alanında GC, tarımsal ürünlerdeki pestisit kalıntılarını analiz etmek için kullanılmıştır. Ayrıca, katı faz mikro ekstraksiyonunun (SPME) GC ile entegrasyonu, yiyecek ve içeceklerdeki uçucu bileşiklerin analizinde devrim yaratmıştır. Rocha ve arkadaşları, kütle spektrometresi ile birleştirilmiş kapsamlı iki boyutlu gaz kromatografisinin (GC × GC) gıda

aromalarının ayrıntılı analizini nasıl mümkün kıldığını ve aroma profillerinin karmaşıklığını nasıl ortaya çıkardığını tartışmaktadır (Rocha ve ark., 2022). Bu yöntem, hassasiyeti ve çözünürlüğü artırarak eser miktarda bulunan bileşiklerin tespit edilmesini sağlamaktadır.

Kimya müfredatında temel bir teknik olarak hizmet ettiği için GC'nin eğitim yönü de dikkate değerdir. Pfennig ve Schaefer, genel kimya derslerinde kütle ve atomik hesaplamaların temel kavramlarının öğretilmesinde GC-MS'nin önemini vurgulamaktadır (Pfennig & Schaefer, 2011). Pratik laboratuvar deneyiminin teorik bilgi ile bütünleştirilmesi, geleceğin kimyagerlerinin analitik becerilerinin geliştirilmesi için elzemdir.

1.2. Gaz Kromatografisinin Çalışma Prensibi

GC'nin çalışma prensibi, bir numunenin buharlaştırılmasını, analitlerin hareketli bir gaz fazı ile sabit fazlı bir kolondan taşınmasını ve ayrılan bileşiklerin alıkonma sürelerine göre tespit edilmesini içerir. Bu teknik, yüksek çözünürlüğü ve hassasiyeti nedeniyle karmaşık karışımların analizinde özellikle etkilidir.

İşlem, numunenin bir enjeksiyon portunda buharlaştırılmasıyla başlar ve burada tipik olarak helyum veya nitrojen olmak üzere inert bir taşıyıcı gazla karıştırılır. Buharlaştırılan numune daha sonra sıvı veya katı olabilen sabit bir faz ile kaplanmış bir kolondan geçirilir. Sabit faz seçimi, analiz edilen bileşiklerin ayırma verimliliğini ve seçiciliğini etkilediği için çok önemlidir (Poole & Poole, 2011). Numune kolon boyunca ilerlerken, farklı bileşenler sabit faz ile farklı derecelerde etkileşime girerek farklı alıkonma sürelerine yol açar. Sabit faz için daha güçlü bir afiniteye sahip olan bileşikler, daha zayıf etkileşimlere sahip olanlara kıyasla daha yavaş hareket eder ve kolondan farklı zamanlarda elüe olarak ayrılmasına neden olur (Ren ve ark., 2022).

Ayrılan bileşiklerin tespiti tipik olarak kolonun sonunda, alev iyonizasyon dedektörü (FID) en yaygın olanlardan biri olmak üzere çeşitli dedektörler kullanılarak gerçekleştirilir. FID, elüe edilen bileşikleri bir hidrojen alevinde yakarak, mevcut analit miktarıyla orantılı ölçülebilir bir akım oluşturan iyonlar üreterek çalışır (Ma & Marston, 2009). Kütle spektrometresi (GC-MS) gibi diğer tespit yöntemleri, bileşikler hakkında hem nitel hem de nicel veriler sağlayarak daha ayrıntılı analizler için kullanılabilir (Sánchez-Guijo vd., 2013).

Gaz kromatografisinin verimliliği, kolon sıcaklığı, taşıyıcı gazın akış hızı ve sabit fazın yapısı gibi faktörlerle artırılır. Analiz sırasında kolon sıcaklığının kademeli olarak artırıldığı sıcaklık programlaması, çok çeşitli kaynama noktalarına sahip bileşiklerin ayrılmasını iyileştirebilir (Ren ve ark., 2022). Ek olarak, katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME) gibi gelişmiş tekniklerin kullanılması, analizden önce uçucu bileşikleri konsantre ederek hassasiyeti daha da artırabilir (Qian ve ark., 2021).

1.3. Kimya Alanında GC Kullanılarak Yapılmış Çalışmalar

GC, kimya alanındaki çeşitli çalışmalarda kapsamlı bir şekilde uygulanmış ve çok çeşitli bileşiklerin analizinde çok yönlülüğünü ve etkinliğini göstermiştir. GC'nin kesin ve doğru sonuçlar sağlama yeteneği, onu hem araştırma hem de pratik uygulamalarda vazgeçilmez bir araç haline getirmektedir. Tablo 1'de gaz kromatografisinin çeşitli uygulamalarını gösteren birkaç önemli çalışma yer almaktadır.

Tablo 1. Kimya Alanında Gaz Kromatografi Çalışmaları

Çalışma Alanı	Çalışma Konusu	Kaynak
Farmasötik Analiz	GC, ilaç endüstrisinde aktif farmasötik bileşenlerin (API'ler) ve yardımcı maddelerin analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir çalışmada gecikmeli salımlı tablet formülasyonlarında yaygın plastikleştiricileri belirlemek için bir gaz kromatografik yöntem geliştirerek GC'nin yüksek performanslı sıvı kromatografisine (HPLC) kıyasla daha düşük miktar belirleme sınırlarına ulaşma kabiliyetini göstermiştir Çalışma, GC'nin farmasötik ürünlerin kalite ve güvenliğini sağlamadaki rolünü vurgulamaktadır.	Panzade vd., 2019
Biyopestisit Analizi	Çalışmada, GC-MS yöntemi kullanılarak “Barringtonia asiatica'daki” biyopestisit aktif bileşiklerinin analizi üzerine bir çalışma yürütülmüştür. Bu araştırma, GC'nin çevre kimyasındaki, özellikle de biyopestisitlerin etkinliğinin ve güvenliğinin değerlendirilmesindeki önemini altını çizmektedir Çalışma, GC-MS'nin aktif bileşenleri tanımlamak ve miktarını belirlemek için nasıl kullanılabileceğini göstermekte ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır.	Paat vd., 2024
Hidrokarbon Ölçümü	Zhu ve arkadaşları, imidazolyum bazlı iyonik sıvılardaki hidrokarbonlar için sonsuz seyreltmede aktivite katsayılarını ölçmek için gaz-sıvı kromatografisini kullanmıştır. Bu araştırma, çeşitli hidrokarbonlar için iyonik sıvıların ayırıcı etkilerine ilişkin bilgiler sağlamış, çözünen-çözücü etkileşimlerinin incelenmesinde GC'nin faydasını göstermiş ve iyonik sıvı davranışının anlaşılmasını geliştirmiştir.	Zhu vd., 2007
Pestisit Kalıntı Analizi	Çalışmada, bitkisel gıdalardaki pestisit kalıntılarının analizi için gaz kromatografisi-kütle spektrometresi	Hengel vd., 2019

	(GC-MS) ile birlikte QuEChERS yönteminin kullanımını araştırılmıştır. Bu çalışma, GC'nin gıda güvenliği ve mevzuata uygunluk alanındaki uygulamalarını vurgulamakta ve birden fazla pestisit sınıfını aynı anda tespit etmedeki etkinliğini ortaya koymaktadır.	
Süper Ağır Elementlerin Kimyasal Özellikleri	Shirai ve arkadaşları, radyotracer kullanarak zirkonyum ve hafniyum tetraklorürlerin kimyasal özelliklerini incelemek için izotermal gaz kromatografisi kullanmıştır. Bu araştırma, süper ağır elementlerden üretilen uçucu türlerin termodinamik özelliklerini araştırmak için kullanıldığı nükleer kimyada GC uygulamasını göstermektedir	Shirai vd., 2021
Doğal Ürünlerin Analizi (Uçucu yağlar, biyoaktif bileşikler)	Filho ve arkadaşları, GC-MS kullanarak “Bauhinia monandra” çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın kromatografik analizini ve fizikokimyasal değerlendirmesini gerçekleştirmiştir. Bu çalışma, GC'nin uçucu yağlardaki biyoaktif bileşikleri tanımlamak ve ölçmek için kullanıldığı ve farmakognozi alanına katkıda bulunduğu doğal ürün kimyasındaki rolünü göstermektedir,	Filho ve ark., 2020
	Abadie ve arkadaşları, çeşitli metabolitlerin tanımlanmasına ve miktarının belirlenmesine olanak tanıyan bitki metabolik profili için tam kütle GC-MS'nin kullanımını vurgulamıştır. Benzer şekilde Santhiya ve Ramasamy, tatlı su midyelerindeki biyoaktif bileşikler analizi etmek için GC-MS kullanmış ve farmakognozi ve doğal ürün kimyasındaki uygulamasını göstermiştir.	Abadie vd., 2022

		Santhiya & Ramasamy, 2019
Kimyasal Savaş Ajanları	Lei ve arkadaşları, gaz kromatografisi/tandem kütle spektrometresi (GC-MS/MS) kullanarak karmaşık organik çözeltilerdeki kimyasal ajanların tanımlanmasına odaklanmıştır. Bu araştırma, kimyasal savaş ajanlarının ve bunların bozunma ürünlerinin tespit ve analizine yardımcı olduğu için kimyasal emniyet ve güvenlik açısından önemlidir.	Lei vd., 2006
Çevresel Analiz	Alygizakis ve arkadaşları, yeni ortaya çıkan kirletici maddelerin analizi için yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi ile birleştirilmiş GC kullanımını tartışmıştır. Bu çalışma, GC'nin çevresel analitik kimyadaki, özellikle de su örneklerindeki organik mikro kirleticilerin izlenmesindeki rolünü vurgulamaktadır. D,ğer bir çalışmada, GC kullanılarak yüzey suyundaki aktif bileşiklerin varlığı izlenmiş ve çevresel kirlenmenin değerlendirilmesindeki önemi vurgulanmıştır. Bu uygulama, çevrenin korunması ve halk sağlığı için çok önemlidir.	Alygizakis vd., 2022 Iglesias vd., 2014
Adli Uygulamalar	Sharif ve arkadaşları, farklı dolma kalem mürekkepleri arasında ayırım yapmak için GC-MS kullanarak tekniğin adli bilimlerdeki uygulamasını göstermiştir. Bu çalışma, adli soruşturmalarda çok önemli olabilecek mürekkeplerin kimyasal bileşimini tanımlamak için GC-MS'nin uyarlanabilirliğini vurgulamaktadır	Sharif ve ark., 2022
Toksikolojik Çalışmalar	Rentsch, klinik toksikolojide kütle spektrometresi (GC-MS) ile birleştirilmiş gaz kromatografisinin kullanımını gözden geçirmiş ve	Rentsch, 2010

	biyolojik örneklerdeki toksik maddelerin analizinde altın standart olarak statüsünü vurgulamıştır. Bu derleme, GC'nin adli ve klinik ortamlardaki kritik rolünü göstermektedir	
Öğretim ve Eğitim	Hinterberger ve arkadaşları analitik kimya öğretimi için düşük maliyetli bir gaz kromatografi sistemi geliştirerek GC'nin eğitim ortamlarındaki önemini ortaya koymuştur. Bu çalışma, öğrencilerin pratik becerilerini geliştirmek için GC'nin kimya müfredatına nasıl etkili bir şekilde entegre edilebileceğini vurgulamaktadır	Hinterberger ve ark., 2021

2. SONUÇ

Kromatografik teknikler modern analitik kimya için temeldir ve çeşitli bileşiklerin ayrılması ve analizi için bir dizi yöntemler içerir. Her tekniğin kendine özgü güçlü yönleri ve uygulamaları vardır ve bu da onları farmasötikler, çevre bilimi ve biyokimya gibi çeşitli alanlarda vazgeçilmez araçlar haline getirir. Bu teknikler içerisinde gaz kromatografisi, karmaşık karışımlar için hassas ve doğru sonuçlar sağlama kabiliyeti nedeniyle çevresel analiz, gıda güvenliği ve farmasötikler dahil olmak üzere çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Gaz kromatografisi çevre bilimi, gıda güvenliği, nükleer kimya, adli analiz ve eğitim de dahil olmak üzere kimyanın çeşitli dallarında çok çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır. Kesin ve doğru sonuçlar verme kabiliyeti, onu hem araştırma hem de pratik uygulamalarda vazgeçilmez bir araç haline getirmektedir.

KAYNAKÇA

- Abadie, C., Lalande, J., & Tcherkez, G. (2022). Exact mass gc-ms analysis: protocol, database, advantages and application to plant metabolic profiling. *Plant Cell & Environment*, 45(10), 3171-3183. <https://doi.org/10.1111/pce.14407>
- Afthoni, M., Wahjudi, M., & Kuswandi, B. (2018). 27 afthoni et al. novel scanometric assay for charantin in bitter melon (*Momordica charantia*) extract based on immobilized silver nitrate and methylene blue as colorimetric paper. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 04(02). <https://doi.org/10.17756/jfcn.2018-054>
- Ahmed, A., Rao, A., Rao, M., & Taha, R. (2013). Hptlc/hplc and gravimetric methodology for the identification and quantification of gymnemic acid from *Gymnema sylvestre* methanolic extracts. *Acta Chromatographica*, 25(2), 339-361. <https://doi.org/10.1556/achrom.25.2013.2.10>
- Alygizakis, N., Konstantakos, V., Bouziotopoulos, G., Kormentzas, E., Slobodník, J., & Thomaidis, N. (2022). A multi-label classifier for predicting the most appropriate instrumental method for the analysis of contaminants of emerging concern. *Metabolites*, 12(3), 199. <https://doi.org/10.3390/metabo12030199>
- Chakravarti, B., Mallik, B., & Chakravarti, D. (2016). Column chromatography. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 13(1). <https://doi.org/10.1002/cpet.6>
- Christian, T., Kleiss, B., Yokelson, R., Holzinger, R., Crutzen, P., Hao, W., ... & Blake, D. (2004). Comprehensive laboratory measurements of biomass-burning emissions: 2. first intercomparison of open-path ftir, ptr-ms, and gc-

- ms/fid/ecd. Journal of Geophysical Research Atmospheres, 109(D2).
<https://doi.org/10.1029/2003jd003874>
- Filho, A., Romão, L., Reis, E., Malaquias, K., Castro, C., Marcionilio, S., ... & Oliveira, M. (2020). Chromatographic analysis and physicochemical evaluation of the essential oil of bauhinia monandra kurz flowers. Research Society and Development, 9(8), e454985979. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5979>
- Hengel, M., Wong, J., Redman, Z., Rering, C., & Williams, K. (2019). Analysis of pesticides in plant foods by quechers and gas chromatography–mass spectrometry: an undergraduate laboratory experiment. Journal of Chemical Education, 97(1), 226-233.
<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00476>
- Hinterberger, E., Ackerly, E., Chen, Y., & Li, Y. (2021). Development of a low-cost and versatile gas chromatography system for teaching analytical chemistry. Journal of Chemical Education, 98(12), 4074-4077.
<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.1c00868>
- Huangfu, M., Zhang, Y., Zhang, X., Liu, J., Liu, Y., Guo, Y., ... & Zhang, X. (2019). Preparation and thermal evaluation of novel polyimide protective coatings for quartz capillary chromatographic columns operated over 320 °c for high-temperature gas chromatography analysis. Polymers, 11(6), 946. <https://doi.org/10.3390/polym11060946>
- Iglesias, A., Nebot, C., Vázquez, B., Coronel-Olivares, C., Franco, C., & Cepeda, A. (2014). Monitoring the presence of 13 active compounds in surface water collected from rural areas in northwestern spain. International Journal of Environmental Research and Public Health, 11(5), 5251-5272. <https://doi.org/10.3390/ijerph110505251>

- Kumar, Y., Mumtaz, S., & Ahmad, M. (2018). Hplc: principle and maintenance with application. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, Volume-2(Issue-5), 1618-1626. <https://doi.org/10.31142/ijtsrd17134>
- Lei, M., Xi, H., Da-nian, X., & Zhi-sheng, C. (2006). Identification of certain chemical agents in complex organic solutions by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Biological Mass Spectrometry*, 41(11), 1453-1458. <https://doi.org/10.1002/jms.1116>
- Ma, Y. and Marston, G. (2009). Formation of organic acids from the gas-phase ozonolysis of terpinolene. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11(21), 4198. <https://doi.org/10.1039/b818789d>
- Paat, F., Wahyuni, H., Sapii, N., Tumbelaka, S., Watung, J., & Wantasen, S. (2024). Analysis of biopesticide active compounds in *barringtonia asiatica* l. kurz using the gc-ms method. *Iop Conference Series Earth and Environmental Science*, 1302(1), 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1302/1/012009>
- Panzade, P., Wang, J., & Wang, Y. (2019). A gas chromatographic analysis method development and validation for determination of common plasticizers in delayed release tablet dosage forms. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 8(6), 209-212. <https://doi.org/10.15406/japlr.2019.08.00340>
- Pfaunmiller, E., Paulemond, M., Dupper, C., & Hage, D. (2012). Affinity monolith chromatography: a review of principles and recent analytical applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(7), 2133-2145. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6568-4>

- Pfennig, B. and Schaefer, A. (2011). The use of gas chromatography and mass spectrometry to introduce general chemistry students to percent mass and atomic mass calculations. *Journal of Chemical Education*, 88(7), 970-974. <https://doi.org/10.1021/ed900010q>
- Poole, C. and Poole, S. (2011). Ionic liquid stationary phases for gas chromatography. *Journal of Separation Science*, 34(8), 888-900. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000724>
- Qian, M., Zheng, M., Zhao, W., Liu, Q., Zeng, X., & Bai, W. (2021). Effect of marinating and frying on the flavor of braised pigeon. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15219>
- Qian, K., Diehl, J., Dechert, G., & DiSanzo, F. (2004). The coupling of supercritical fluid chromatography and field ionization time-of-flight high-resolution mass spectrometry for rapid and quantitative analysis of petroleum middle distillates. *European Journal of Mass Spectrometry*, 10(2), 187-196. <https://doi.org/10.1255/ejms.596>
- Reis, P., Ramos, R., Souza, L., & Cançado, S. (2009). Validation of spectrophotometric method to detect and quantify nitrite in ham pate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(1), 49-55. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502009000100006>
- Ren, M., Natsagdorj, N., & Shun, N. (2022). Influence and mechanism of polar solvents on the retention time of short-chain fatty acids in gas chromatography. *Separations*, 9(5), 124. <https://doi.org/10.3390/separations9050124>
- Rentsch, K. (2010). Laboratory diagnostics in acute poisoning: critical overview. *Clinical Chemistry and Laboratory*

- Medicine (Cclm), 48(10), 1381-1387.
<https://doi.org/10.1515/cclm.2010.295>
- Rocha, S., Costa, C., & Martins, C. (2022). Aroma clouds of foods: a step forward to unveil food aroma complexity using gc × gc. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.820749>
- Sánchez-Guijo, A., Hartmann, M., & Wudy, S. (2013). Introduction to gas chromatography-mass spectrometry., 27-44. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-616-0_3
- Santhiya, N. and Ramasamy, M. (2019). Gc-ms analysis of bioactive compounds from freshwater mussels of *parreysia corrugata* (muller 1774) and their pharmacological activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-A), 155-158. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i4-a.3447>
- Sharif, M., Jalees, M., Tirmazi, S., Athar, M., Durrani, A., & Batool, M. (2022). Discrimination of pakistani fountain pen inks by gas chromatography-mass spectrometry (gc-ms). *International Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2022/7186625>
- Shirai, K., Goto, S., Ooe, K., & Kudo, H. (2021). Isothermal gas chromatography study of zr and hf tetrachlorides using radiotracers of ^{88}Zr and ^{175}Hf . *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences*, 21(0), 7-14. <https://doi.org/10.14494/jnrs.21.7>
- Zhu, J., Yu, Y., Chen, J., & Fei, W. (2007). Measurement of activity coefficients at infinite dilution for hydrocarbons in imidazolium-based ionic liquids and qspr model. *Frontiers of Chemical Engineering in China*, 1(2), 190-194. <https://doi.org/10.1007/s11705-007-0035-3>

ANTIOKSİDAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Eda Elgin KILIÇ¹

1. GİRİŞ

Antioksidan analiz yöntemleri, oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarının araştırılması açısından kritik öneme sahiptir. Bu analizler, hem doğada bulunan bitkisel kaynakların sağlık yararlarını belirlemek hem de sentetik bileşiklerin etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Çeşitli yöntemlerin kullanılması, doğru ve karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmesine olanak tanır. Kimya endüstrisinde antioksidan analiz kullanımı, özellikle gıda, ilaç ve plastik sektörlerinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu yöntemlerin uygulama alanları, ürünlerin raf ömrünü uzatmak, kalitesini korumak ve insan sağlığını desteklemek için hayati öneme sahiptir. Kimya endüstrisinde, antioksidanlar ayrıca yakıt ve yağların stabilizasyonu ve plastiklerin yanı sıra kauçukların oksidatif dejenerasyonunu önlemek için de kullanılmaktadır. Fenolik bileşiklerin, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu geciktirebildiği ve bu nedenle plastik ile gıda endüstrisinde önemli bir yere sahip olduğu belirtilmektedir (Pernin vd., 2018). Analitik yöntemlerin geliştirilmesi, örneğin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve fotodiode array (PDA) spektrometrisi gibi tekniklerle, antioksidanların kimyasal analizi açısından önemli ilerlemelerin kaydedilmesini sağlamıştır. Bu yöntemler, polifenol ve flavonoid içeren bitkisel özlerin analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır; bu da araştırmaların doğasına göre

¹ Öğr. Gör, Dr., Gaziantep Üniversitesi, Naci Topçuoğlu Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, edakilic@gantep.edu.tr, ORCID: 0000-0002-9887-8377.

uygun analiz yöntemlerinin seçilmesinin önemini ortaya koymaktadır (Shahidi & Zhong, 2015; Fanali vd., 2016).

Gıda endüstrisinde, antioksidanların kullanımı, gıdaların oksidatif bozulmasını önlemek ve besin değerlerini korumak adına kritik bir rol oynamaktadır. Uçak (2020) çalışmasında, nar çekirdeği ekstraktının gıda ürünlerinin kalitesini artırdığı ve oksidatif bozulmayı önlediği belirtilmektedir. Gıda endüstrisinde doğal antioksidanların, sentetik alternatiflere kıyasla daha az yan etki göstermesi ve sağlık faydaları sunması açısından tercih edildiğini vurgulamaktadır. Gıda ürünlerine uygulanan antioksidan işlemlerinin hem besin güvenliği hem de lezzet kalitesine önemli katkılarda bulunduğunu da göstermektedir (Uçak, 2020; Coşkun vd., 2019).

İlaç endüstrisinde ise, antioksidan bileşiklerin çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli işlevleri bulunmaktadır. Bazı bitki özleri, antioksidan özellikleri sayesinde sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle farmasötik ürünlerde kullanılmaktadır (Coşkun vd., 2019).

2. ANALİZ YÖNTEMLERİ

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu yoluyla hücrel hasara yol açabilen oksidasyon reaksiyonlarını engelleyen bileşiklerdir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlikten kaynaklanan oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Sadeer vd., 2020). Antioksidanların birincil rolü, serbest radikalleri nötralize etmek ve böylece hücreleri oksidatif hasardan korumaktır (Hudz, 2021). Enzimatik antioksidanlar (süperoksit dismutaz ve katalaz gibi) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (C ve E vitaminleri, flavonoidler ve karotenoidleri içerir) olarak sınıflandırılabilirler (Edeas, 2011). Antioksidan kapasitenin

analiz edilmesi, özellikle gıda bilimi ve farmakolojide çeşitli maddelerin koruyucu etkilerinin anlaşılması için kritik öneme sahiptir. Antioksidan aktiviteyi ölçmek için rutin olarak çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

2.1. DPPH Analizi

DPPH analizi, antioksidan aktivitelerin değerlendirilmesi için geniş bir uygulama alanına sahiptir. Basit, hızlı ve etkili bir yöntem olarak, çeşitli bitkisel ve sentetik bileşiklerin antioksidan potansiyelini belirlemekte önemli bir araçtır. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) analizi, antioksidan potansiyeli değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, bir bileşiğin serbest radikalleri ne ölçüde temizleyebildiğini belirlemek amacıyla uygulanır. DPPH, stabil, koyu mor bir serbest radikaldır ve antioksidanlar tarafından azaltıldığında, rengini açık renge dönüştürür. Bu da absorbans ölçümleriyle kolayca izlenebilir (Gülçın & Alwasel 2023). DPPH analizi, basit ve hızlı bir yöntem olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Kararlı serbest radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) kullanan DPPH analizi, başta organik bileşikler ve bitki özleri olmak üzere çeşitli maddelerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için yaygın ve etkili bir yöntemdir. DPPH testinin prensibi, antioksidanların DPPH radikalini azaltma kabiliyetinde kaynaklanır, bu da koyu mordan sarıya bir renk değişimine neden olur ve bu da spektrofotometri ile tipik olarak 515 nm civarında bir absorbans maksimumunda kantitatif olarak ölçülebilir (Alam vd., 2008; Angeli vd., 2021). Bu indirgeme, antioksidanların DPPH radikaline hidrojen atomları veya elektronlar bağışlamasıyla gerçekleşir ve önemli ölçüde daha düşük absorbans özelliklerine sahip olan karşılık gelen DPPH-H molekülünün oluşumuna yol açar (Durairaj vd., 2006). DPPH serbest radikal süpürme kapasitesi genellikle başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunu %50 oranında azaltmak için gereken antioksidan konsantrasyonunu temsil eden IC50 değerleri

cinsinden ifade edilir (Ovais vd 2018). Özellikle, birçok çalışma radikal süpürme etkinliğinin farklı bileşik sınıfları arasında değiştiğini göstermiştir.

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) analizi, gerçekleştirme protokolü birkaç temel adım içerir:

1. DPPH Çözeltilisinin Hazırlanması: DPPH radikalinin stok çözeltisi, genellikle 0,1 mM civarında belirli bir konsantrasyona ulaşmak için DPPH tozunun uygun bir çözücünde, genellikle etanol veya metanolde çözülmesiyle hazırlanır. Bu stok çözelti, fotodegradasyonu önlemek için karanlıkta saklanmalıdır (Zhang vd., 2015; Odunola vd., 2015).

2. Örnek Hazırlama: Test edilecek numuneler (gıda ekstraktları, bitki materyalleri veya sentezlenmiş antioksidanları içerebilir) uygun konsantrasyonlarda hazırlanır. Genel olarak, doza bağlı temizleme aktivitesini değerlendirmek için test çözeltisinin farklı konsantrasyonları yapılır. Kullanılan konsantrasyon aralığı numune türüne bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir, ancak birden fazla seyreltme ile bir ön tarama yapılması genellikle tavsiye edilir (Ye vd., 2012).

3. Reaksiyon Kurulumu: Temiz bir küvet veya test tüpünde, DPPH çözeltisinin belirli bir hacmi (tipik olarak 1,0 mL) numune çözeltisinin belirli bir hacmi (seyreltme serisine bağlı olarak genellikle 0,5 ila 3,0 mL) ile karıştırılır. Karışım daha sonra oda sıcaklığında veya karanlıkta 30 dakika ila 2 saat arasında değişen bir süre boyunca inkübasyona bırakılır ve reaksiyonun ışıktan etkilenmeden yeterli şekilde ilerlemesi sağlanır (Odunola vd., 2015; Chandrashekara vd., 2019).

4. Absorbans Ölçümü : İnkübasyon süresinden sonra, çözeltinin absorbansı DPPH için absorbans zirvesi olan 517 nm dalga boyunda ölçülür. Bu amaçla yaygın olarak bir spektrofotometre kullanılır (Ticar vd., 2015; Ishaq & William, 2015). Antioksidan içermeyen DPPH çözeltisinin başlangıç absorbansı

(A₀) ve numune eklendikten sonraki son absorbans (A₁) kaydedilir.

5. Süpürme Aktivitesinin Hesaplanması: Aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır

$$\text{Süpürme Etkinliği (\%)} = (A_0 - A_1) / (A_0) * 100$$

Burada, A₀ kontrolün (numunesiz DPPH çözeltisi) absorbansı ve A₁ antioksidan numunenin varlığındaki absorbans değeridir (Zhang vd., 2014; , Galanki vd., 2023). Bu yüzde, DPPH radikallerini temizlemek için numunede bulunan antioksidanların etkinliğini gösterir.

6. IC₅₀ Hesaplaması: DPPH radikallerinin %50'sini temizlemek için gereken antioksidan konsantrasyonunu belirlemek için, test edilen ekstraktların veya maddelerin konsantrasyonlarına karşı temizleme yüzdeleri çizilerek IC₅₀ değerleri oluşturulabilir. IC₅₀ genellikle yazılım araçları veya grafik teknikleri aracılığıyla doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılarak hesaplanır (Zhang vd., 2017).

DPPH testi, gıda ürünleri, bitkisel ekstraktlar ve sentetik antioksidanlar dahil olmak üzere çeşitli örneklerde antioksidan aktivitenin yüksek verimli taranmasına olanak tanıyan basitliği ve hızlı uygulaması ile öne çıkmaktadır. DPPH-radikalinin hazır çözelti olarak kullanılabilmesi, diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında pratik bir avantaj sağlamaktadır. Bununla birlikte, Nascimento vd. (2021) DPPH yöntemini kullanarak elde ettikleri sonuçları, bitkisel yağlardaki kimyasal bileşim ile ilişkilendirmiştir ve bu yöntemle yüksek antioksidan aktivite elde ettiklerini bildirmişlerdir. DPPH analizi, aynı zamanda çeşitli maddelerin veya ekstraktların antioksidan kapasitesini karşılaştırmalı olarak değerlendirmek için de kullanılmaktadır. Deyuan vd. (2017) çalışmasında, DPPH radikal temizleme aktivitesinin, örnekteki antioksidanların etkinliğini yansıttığı bulunmuştur. Ürünlerin DPPH ile etkileşimi, bileşenlerin

konsantrasyonu ile doğru orantılı olabilir; bu, konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivitesinin de arttığını gösterir (Robinson vd., 2017).

DPPH analizi dışında, diğer metodolojiler arasında Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) ve Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) testleri bulunmaktadır. ORAC testi, bir oksidanın varlığında bir floroforun floresan bozunma eğrisinin altındaki alanı ölçer ve zaman içinde antioksidan aktivitenin ölçülmesini sağlar (Ou vd., 2001; Prior ve Cao, 1999). TEAC ise bir numunenin antioksidan kapasitesini bir E vitamini analogu olan Trolox'unki ile karşılaştırır (Hudz, 2021). Her iki analiz de güvenilirliği ve hızlı uygulanabilirliği ile dikkat çekmekte ve çeşitli gıda maddeleri ve doğal özütlerdeki antioksidan kapasitenin yüksek verimli değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır (Edeas, 2011; , Ou vd., 2001).

Bununla birlikte, antioksidan kapasitenin daha kapsamlı bir değerlendirmesi için DPPH testinin ABTS veya FRAP testleri gibi diğer yöntemlerle tamamlanması önemlidir (Zhang vd., 2021; Singha ve Dasgupta, 2017).

2.2. ABTS Analizi

ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) testi, çeşitli bileşiklerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için iyi bilinen bir yöntemdir. Özellikle hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları değerlendirme yeteneği ile ünlüdür. Bu test ABTS radikal katyonunun (ABTS⁺) oluşumuna dayanır ve antioksidanların bu radikali temizleme yeteneğini ölçer. ABTS analizi, gerçekleştirme protokolü birkaç temel adım içerir:

1. ABTS Radikal Katyonunun Hazırlanması:

ABTS radikal katyonu (ABTS-+), 7 mM ABTS çözeltisi ile eşit hacimde 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisi karıştırılarak ve 12-16 saat karanlıkta bekletilerek hazırlanır. Bu adım ABTS radikalinin yeterli oluşumunu sağlar (Autore vd 2010).

2. ABTS Çözeltisinin Seyreltilmesi:

Oluşumdan sonra, ABTS-+ çözeltisi etanol veya damıtılmış su gibi uygun bir çözücü ile seyreltilerek 734 nm'de 0,70 absorbans elde edilir ki bu test için ideal konsantrasyondur (Koleva vd., 2001).

3. Örnek Hazırlama:

Antioksidan numunelerin (bitki özleri, meyve suları veya sentezlenmiş bileşikler gibi) uygun konsantrasyonlarda hazırlanması gerekir. Tipik olarak, numunenin konsantrasyona bağlı aktivitesinin belirlenmesine yardımcı olmak için bir dizi seyreltme oluşturulur (Adamu vd., 2014).

4. Numunenin ABTS Çözeltisi ile Karıştırılması:

Antioksidan numunenin belirli bir hacmi, bir küvette seyreltilmiş ABTS-+ çözeltisinin belirli bir hacmi ile karıştırılır. Yaygın olarak kullanılan hacim, 0,5 mL antioksidan numune ile karıştırılmış 1,0 mL ABTS çözeltisidir. Karışımın oda sıcaklığında yaklaşık 6-10 dakika reaksiyona girmesine izin verilmelidir (Tahir vd., 2021).

5. Absorbans Ölçümü:

İnkübasyon süresinden sonra, karışımın absorbansı bir UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak 734 nm'de ölçülür. Herhangi bir numune (kontrol) içermeyen ABTS-+ çözeltisinin bazal okuması da kaydedilmelidir (Kong vd., 2010).

6. Süpürme Aktivitesinin Hesaplanması:

Radikal süpürme aktivitesi formül kullanılarak hesaplanır:

Süpürme Etkinliği (%) = $(A_0 - A_1)/(A_0) * 100$ Burada A_0 kontrolün (numunesiz ABTS+ çözeltisi) absorbansı ve A_1 numune çözeltisinin absorbansıdır (Adamu vd., 2014).

7. IC50 Değerlerinin Belirlenmesi:

İstenirse, ABTS-+'nin %50'sini temizlemek için gereken konsantrasyonu temsil eden IC50 değeri, regresyon analizi kullanılarak antioksidan numunenin konsantrasyonuna karşı radikal temizleme yüzdesi çizilerek hesaplanabilir (Lee vd., 2015).

ABTS testi çeşitli alanlarda geniş kapsamlı uygulamalara sahiptir. Meyve, sebze, içecek ve bitkisel özütlerin antioksidan özelliklerini değerlendirmek için kullanılmış ve genellikle bu ürünlerdeki antioksidan kapasite ile polifenolik içerik arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Sochor vd., 2011). Ek olarak, çalışmalar ABTS sonuçlarının DPPH gibi diğer antioksidan analizlerden elde edilen sonuçları tamamlayabildiğini ve test edilen bileşiklerin antioksidan potansiyelinin daha eksiksiz bir resmini sunduğunu göstermiştir (Gouveia-Figueira vd., 2014). ABTS deneyi, doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel kahve artıklarından elde edilen doğal fenolik antioksidanların antioksidan özelliklerini değerlendirilmiştir. Testin, mavi/yeşil ABTS radikal katyonunun bu antioksidanlar tarafından indirgenmesini ölçmedeki etkinliğini vurgulanmış ve renk giderimini antioksidan konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Bianchi vd. 2023). Tayade vd (2022) çalışmasında, hem ABTS hem de DPPH deneylerini kullanarak bir hidrazon türevinin antioksidan aktivitesini araştırmıştır. Bu karşılaştırmalı çalışma, ABTS testinin farklı metodolojilerdeki bileşiklerin radikal temizleme

yeteneğini doğrulamak için çok önemli olduğunu göstermiş ve böylece antioksidan değerlendirmede kullanımını güçlendirmiştir.

Darachai vd (2019), antioksidan aktivitesini ölçmek için hem DPPH hem de ABTS yöntemlerini kullanarak karides atıklarının astaksantin ekstraksiyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. ABTS'nin kararlılığı ve etkinliği, antioksidanlarla hızlı tepki vermesi ve antioksidan etkinliğini değerlendirmek için tercih edilen bir yöntem olmasıyla dikkat çekmiştir. Tahir vd (2021) çalışmasında, *Chromolaena odorata* yaprak fraksiyonunun antioksidan aktivitesi hem DPPH hem de ABTS testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu, ABTS yönteminin bitkisel ilaçlardaki antioksidanların tanımlanması ve miktarının belirlenmesindeki önemini vurgulamakta ve farmakognozideki geniş uygulamasının altını çizmektedir. Geeta vd. (2019), genistein ve epikateşinin antioksidan aktivitelerini karşılaştırmış ve epikateşinin ABTS testinde üstün aktivite sergilediğini bulmuştur. Bu, ABTS yönteminin flavonoidler arasındaki antioksidan etkinliği ayırt etmedeki rolünü desteklemektedir. Park ve Lee (2021), Rheum emodi Wall üzerinde ABTS tahlili yoluyla antioksidan aktiviteyi ölçen bir çalışma yürütmüştür. Bu, yöntemin bitki özütlerinin antioksidan kapasitelerinin taranmasındaki etkinliğini vurgulamıştır.

2.3. FRAP Analizi

Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) deneyi çeşitli bileşiklerin ve gıdaların antioksidan kapasitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. FRAP deneyi, antioksidanların ferrik (Fe^{3+}) iyonlarını bir şelatlama maddesi, özellikle de 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) varlığında demir (Fe^{2+}) iyonlarına indirgeme yeteneğini ölçer. Bu indirgeme, 593 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilen renkli bir kompleks

üretir. Aşağıda FRAP testinin yürütülmesine ilişkin ayrıntılı adımlar ve uygulamaları yer almaktadır.

FRAP Deneyi aşamaları

1. FRAP Reaktifinin Hazırlanması:

- FRAP reaktifi tipik olarak üç bileşenin karıştırılmasıyla hazırlanır: 25 mL 300 mM asetat tamponu (pH 3.6).- 40 mM hidroklorik asit içinde 2,5 mL 10 mM TPTZ çözeltisi.- 2,5 mL 20 mM ferrik klorür çözeltisi.- Bu karışım ısıtıldığında kararlı bir renk oluşturur (Song vd., 2010).

2. Örnek Hazırlama: Bitki özleri veya gıda malzemeleri de dahil olmak üzere antioksidan numunelerin uygun konsantrasyonlarda hazırlanması gerekir. Antioksidan kapasitesini nicel olarak değerlendirmek için tek tip seyreltme şarttır.

3. Testin Gerçekleştirilmesi: Tipik olarak, 0,1 ila 2 mL antioksidan numune, hazırlanan FRAP reaktifinin sabit bir hacmi (genellikle 3 mL) ile karıştırılır. - Karışım 37 °C'de yaklaşık 30 dakika boyunca inkübe edilir (Martínez-Tomé vd., 2004).

4. Absorbans Ölçümü: İnkübasyondan sonra, reaksiyon karışımının absorbansı bir UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak 593 nm'de ölçülür. Antioksidan hariç tüm reaktifleri içeren boş bir numune kontrol olarak alınır.

5. Antioksidan Kapasitesinin Hesaplanması: Gram numune başına mikromol Trolox eşdeğeri olarak ifade edilen antioksidan kapasite, standart antioksidan olan Trolox'un bilinen konsantrasyonları ile hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanabilir (Paula vd., 2023).

6. Kalibrasyonun Önemi: Analizi gerçekleştirmeden önce bir kalibrasyon eğrisi oluşturmak önemlidir. Bu, bir dizi bilinen Trolox konsantrasyonunun hazırlanmasını ve aynı koşullar altında absorbanslarının ölçülmesini içerir. Trolox

konsantrasyonu ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki, bilinmeyen numunelerdeki antioksidan kapasitenin ölçülmesine olanak tanır (Tavarini vd., 2008).

FRAP Testinin Uygulamaları

FRAP testi, meyveler, sebzeler ve içecekler de dahil olmak üzere çeşitli gıda maddelerinin antioksidan kapasitelerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, farklı meyve özlerinin antioksidan aktivitesi üzerine yapılan çalışmalar, fenolik içerikleriyle ilişkili sağlık yararlarını göstermek için sıklıkla FRAP testini kullanmaktadır (Pincemaïl vd., 2012). Çeşitli bitkisel ve tıbbi bitki özütlerinin antioksidan özelliklerini değerlendirmek için kullanılmıştır. FRAP testi, çeşitli bileşiklerin antioksidan kapasitelerini değerlendirmek için karşılaştırmalı çalışmalarda sıklıkla kullanılır. FRAP testi, yeni antioksidanların geliştirilmesi ve doğrulanmasında düzenli olarak kullanılmakta ve etkinliklerinin anlaşılmasını artırmaktadır. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek ve FRAP değerlerini analiz ederek potansiyel terapötik faydalarını doğrulamak için araştırmalar yapılmıştır (Martínez-Tomé vd., 2004). Çeşitli çalışmalar toplam fenolik içerik ile FRAP değerleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, bu test, fenolik profillerine dayalı olarak çeşitli gıda matrislerinin genel antioksidan yeteneklerini değerlendirmek için kullanılır (Pincemaïl vd., 2012).

3. SONUÇ

FRAP, DPPH, ve ABTS analizleri gibi antioksidan kapasiteyi değerlendirmeye yönelik çeşitli metodolojiler, araştırmacıların antioksidan aktivite profillerine ilişkin kapsamlı bir bakış açısı kazanmalarına olanak sağlamaktadır (Jacob vd., 2007). Farklı yöntemlerin kendine özgü reaksiyon

mekanizmaları ve altında yatan prensipleri vardır, bu testlerin birleştirilmesi bir bileşiğin antioksidan davranışı hakkında daha bilgilendirici veriler sağlayabilir. Antioksidan kapasitenin ölçülmesine yönelik analitik yöntemler sağlık araştırmaları, gıda bilimi ve nutrasötikler ile terapötiklerin geliştirilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır.

KAYNAKÇA

- Adamu, M., Naidoo, V., & Eloff, J. (2014). The antibacterial activity, antioxidant activity and selectivity index of leaf extracts of thirteen south african tree species used in ethnoveterinary medicine to treat helminth infections. *BMC Veterinary Research*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-52>
- Alam, A., Ghani, A., Subhan, N., Rahman, M. M., Haque, M., Majumder, M. M., ... & Sarker, S. D. (2008). Antioxidant and membrane stabilizing properties of the flowering tops of *anthocephalus cadamba*. *Natural Product Communications*, 3(1). <https://doi.org/10.1177/1934578x0800300114>
- Angeli, L., Imperiale, S., Ding, Y., Scampicchio, M., & Morozova, K. (2021). A novel stoichio-kinetic model for the dpph• assay: the importance of the side reaction and application to complex mixtures. *Antioxidants*, 10(7), 1019. <https://doi.org/10.3390/antiox10071019>
- Autore, G., Caruso, A., Marzocco, S., Nicolaus, B., Palladino, C., Pinto, A., ... & Saturnino, C. (2010). Acetamide derivatives with antioxidant activity and potential anti-inflammatory activity. *Molecules*, 15(3), 2028-2038. <https://doi.org/10.3390/molecules15032028>
- Bianchi, S., Marchese, P., Vannini, M., Sisti, L., Tassoni, A., Ferri, M., ... & Celli, A. (2023). Evaluation of the activity of natural phenolic antioxidants, extracted from industrial coffee residues, on the stability of poly(1,4-butylene succinate) formulations. *Journal of Applied Polymer Science*, 140(21). <https://doi.org/10.1002/app.53878>

- Coşkun, A. G., Temelli, S., & Eyigör, A. (2019). Mekanik ayrılmış kanatlı eti: özellikleri, güncel kullanım alanları ve ilgili mevzuat. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 90(2), 164-177. <https://doi.org/10.33188/vetheder.545356>
- Darachai, P., Limpawattana, M., Hawangjoo, M., & Klaypradit, W. (2019). Effects of shrimp waste types and their cooking on properties of extracted astaxanthin and its characteristics in liposomes. *Journal of Food and Nutrition Research*, 7(7), 530-536. <https://doi.org/10.12691/jfnr-7-7-7>
- Durairaj, C., Madhusudhana, K., Sistla, R., & Diwan, P. V. (2006). Determination of dpph free radical scavenging activity by reversed-phase hplc: a sensitive screening method for polyherbal formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40(2), 460-464. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.07.042>
- Edeas, M. (2011). Strategies to target mitochondria and oxidative stress by antioxidants: key points and perspectives. *Pharmaceutical Research*, 28(11), 2771-2779. <https://doi.org/10.1007/s11095-011-0587-2>
- Fanali, C., Belluomo, M. G., Cirilli, M., Cristofori, V., Zecchini, M., Cacciola, F., ... & Dugo, L. (2016). Antioxidant activity evaluation and hplc-photodiode array/ms polyphenols analysis of pomegranate juice from selected italian cultivars: a comparative study. *Electrophoresis*, 37(13), 1947-1955. <https://doi.org/10.1002/elps.201500501>
- Galanki, V., Surji, S., Janaki, K., Madhu, H., & Ruhee, S. (2023). In vitro evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of *Crossandra infundibuliformis* root extracts. *International Journal of Zoological*

- Investigations, 9(2), 1075-1084.
<https://doi.org/10.33745/ijzi.2023.v09i02.119>
- Geeta, G., Widodo, W. S., Widowati, W., Ginting, C. N., Lister, I. N. E., Armansyah, A., ... & Girsang, E. (2019). Comparison of antioxidant and anti-collagenase activity of genistein and epicatechin. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2). <https://doi.org/10.7454/psr.v6i2.4510>
- Gouveia-Figueira, S., Gouveia, C., Carvalho, M., Rodrigues, A., Nording, M., & Castilho, P. (2014). Antioxidant capacity, cytotoxicity and antimycobacterial activity of madeira archipelago endemic helichrysum dietary and medicinal plants. *Antioxidants*, 3(4), 713-729. <https://doi.org/10.3390/antiox3040713>
- Hudz, N. (2021). Methodological approach to the elaboration of the analytical procedure of the antioxidant activity determination of the schisandra chinensis (turcz) baill. extracts. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition Health and Life Quality*, 5(2). <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2021.0024>
- Ishaq, A. and William, K. (2015). Untitled. *Journal of Bioresource Management*, 2(4). <https://doi.org/10.35691/jbm.5102.0007884>
- Koleva, I., Niederländer, H., & Beek, T. (2001). Application of abts radical cation for selective on-line detection of radical scavengers in hplc eluates. *Analytical Chemistry*, 73(14), 3373-3381. <https://doi.org/10.1021/ac0013610>
- Kong, D., Xu, J., & Shen, H. (2010). Positive effects of atp on g-quadruplex-hemin dnzyme-mediated reactions. *Analytical Chemistry*, 82(14), 6148-6153. <https://doi.org/10.1021/ac100940v>

- Lee, K., Oh, Y., Cho, W., & Yeul, J. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening hplc assay. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2015/165457>
- Martínez-Tomé, M., Murcia, M., Frega, N., Ruggieri, S., Jiménez, A., Roses, F., ... & Parras, P. (2004). Evaluation of antioxidant capacity of cereal brans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4690-4699. <https://doi.org/10.1021/jf049621s>
- Nascimento, Â., Souza, J. F. d., Lima, M. d. S., & Pereira, G. E. (2018). Volatile profiles of sparkling wines produced by the traditional method from a semi-arid region. *Beverages*, 4(4), 103. <https://doi.org/10.3390/beverages4040103>
- Odunola, O. A., Olugbami, J. O., & Gbadegesin, M. (2015). In vitro free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of terminalia glaucescens. *Pharmacognosy Research*, 7(1), 49. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.147200>
- Odunola, O., Olugbami, J., & Gbadegesin, M. (2015). In vitro free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of terminalia glaucescens. *Pharmacognosy Research*, 7(1), 49. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.147200>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>

- Ovais, M., Ayaz, M., Khalil, A. T., Shah, S. A., Jan, M. S., Raza, A., ... & Shinwari, Z. K. (2018). Hplc-dad finger printing, antioxidant, cholinesterase, and α -glucosidase inhibitory potentials of a novel plant olax nana. BMC Complementary and Alternative Medicine, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2057-9>
- Park, S. K. and Lee, Y. K. (2021). Antioxidant activity in rheum emodi wall (himalayan rhubarb). Molecules, 26(9), 2555. <https://doi.org/10.3390/molecules26092555>
- Paula, V., Estevinho, L., Cardoso, S., & Dias, L. (2023). Comparative methods to evaluate the antioxidant capacity of propolis: an attempt to explain the differences. Molecules, 28(12), 4847. <https://doi.org/10.3390/molecules28124847>
- Pernin, A., Dubois-Brissonnet, F., Roux, S., Masson, M., Bosc, V., & Maillard, M. (2018). Phenolic compounds can delay the oxidation of polyunsaturated fatty acids and the growth of listeria monocytogenes: structure-activity relationships. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(14), 5401-5408. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9082>
- Pincemail, J., Kevers, C., Tabart, J., Defraigne, J., & Dommès, J. (2012). Cultivars, culture conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (fragaria x ananassa). Journal of Food Science, 77(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02539.x>
- Prior, R. L. and Cao, G. (1999). Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status¹. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 220(4),

255-261. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.1999.d01-44.x>

- Robinson, J., Kumaresan, S., Subbaiya, R., & Ponmurugan, P. (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of tecoma stans against lung cancer cell line (a549). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(3). <https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000300204>
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Shahidi, F. and Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Singha, H. and Dasgupta, R. (2017). Antioxidant activities of crude extracts of pulsatilla nigricans stock. *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*, 4(3), 1139-1143. <https://doi.org/10.21276/irjps.2017.4.3.7>
- Sochor, J., Škutková, H., Babula, P., Zítka, O., Cernei, N., Rop, O., ... & Kizek, R. (2011). Mathematical evaluation of the amino acid and polyphenol content and antioxidant activities of fruits from different apricot cultivars. *Molecules*, 16(9), 7428-7457. <https://doi.org/10.3390/molecules16097428>
- Song, F., Gan, R., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L., & Li, H. (2010). Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected chinese medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(6), 2362-2372. <https://doi.org/10.3390/ijms11062362>

- Tahir, K., Miskad, U., Djawad, K., Sartini, S., Khaerani, K., & Indrisari, M. (2021). Evaluation of antioxidant activity of botto-botto leaf fraction (*chromolaena odorata* l.) using dpph and abts methods. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(A), 183-188. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.5982>
- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., & Guidi, L. (2008). Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacity. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(5), 810-815. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01520.x>
- Tayade, K., Yeom, G., Sahoo, S. K., Puschmann, H., Nimse, S. B., & Kuwar, A. (2022). Exploration of molecular structure, dft calculations, and antioxidant activity of a hydrazone derivative. *Antioxidants*, 11(11), 2138. <https://doi.org/10.3390/antiox11112138>
- Ticar, B., Ticar, B., Rohmah, Z., Park, S., JoonChoi, Y., & Choi, B. (2015). Antioxidant and immunostimulating activity of polysaccharides extracted from cubed-snailfish (*Liparis tessellatus*) gilbert & burke, 1912) eggs. *Kne Life Sciences*, 2(1), 78. <https://doi.org/10.18502/cls.v2i1.120>
- Uçak, İ. (2020). Investigation of oxidative, microbial and sensory quality changes of fish burgers enriched with pomegranate seed extract. *Food and Health*, 6(4), 238-247. <https://doi.org/10.3153/fh20024>
- Ye, Y., Guo, Y., & Wang, Y. F. (2012). Free radical scavenging activity and anti-inflammatory property of the saponin from seeds of *Camellia oleifera* Abel. *Advanced Materials Research*, 550-553, 1262-1265. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.550-553.1262>

- Ye, Y., Guo, Y., & Wang, Y. F. (2012). Free radical scavenging activity and anti-inflammatory property of the saponin from seeds of *Camellia oleifera* Abel. *Advanced Materials Research*, 550-553, 1262-1265. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.550-553.1262>
- Zhang, Q., Porto, N., Guilhon, C., Giorno, T., Alviano, D., Agra, M., ... & Boylan, F. (2021). Pharmacognostic study on *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl: anatomy, phytochemistry and pharmacological activities. *Pharmaceuticals*, 14(11), 1152. <https://doi.org/10.3390/ph14111152>
- Zhang, Y., Hu, P., & Fan, Q. (2017). Study on effect elements of exopolysaccharide production of *Lactobacillus kimchi* SR8 and DPPH radical scavenging activity. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5(12), 928-934. <https://doi.org/10.12691/jfnr-5-12-8>
- Zhang, Y., Sun, W., Zhao, M., Su, G., Zheng-xiang, N., & Sun-Waterhouse, D. (2015). Improvement of the ACE-inhibitory and DPPH radical scavenging activities of soya protein hydrolysates through pepsin pretreatment. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(10), 2175-2182. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12856>
- Zhang, Y., Sun, W., Zhao, M., Su, G., Zheng-xiang, N., & Sun-Waterhouse, D. (2015). Improvement of the ACE-inhibitory and DPPH radical scavenging activities of soya protein hydrolysates through pepsin pretreatment. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(10), 2175-2182. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12856>
- Zhang, Y., Wen, Q., Liao, Y., & Yi, X. (2014). Synthesis, characterization, crystal structure and free radical

scavenging activities of 2-(2-benzylamine)-6-[(2-benzylamine)amino]-5-nitro-1h-benzo[de]-isoquinoline-1,3(2h)-dione. Asian Journal of Chemistry, 26(21), 7460-7462. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.17444>

ANALİTİK YÖNTEMLER VE UYGULAMALARI

yaz
yayınları

YAZ Yayınları

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3

İscehisar / AFYONKARAHİSAR

Tel : (0 531) 880 92 99

yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com