

Boya Çiçeği (*Neotchihatchewia isatidea*) Bitkisindeki Vitaminler ile Glutasyon Miktarlarının Araştırılması

Fikret KARATAŞ^a, Ayşe BİRİŞİK^a, Fethi Ahmet ÖZDEMİR^b, Sündüs YILMAZ^a

^aFırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ –TÜRKİYE

^bBartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın–TÜRKİYE

fkaratas@firat.edu.tr

(Geliş/Received: 20.03.2012; Kabul/Accepted: 19.06.2012)

Özet

Bu çalışmada, paleoendemik olan boya çiçeği (*Neotchihatchewia İsatidea*) bitkisinin yaprak ve çiçeklerinde; indirgenmiş glutasyon (GSH), yükseltgenmiş glutasyon (GSSG) ile A vitamini, E vitamini, β-karoten, C vitamini, tiamin klorür (B1 vitamini), riboflavin (B2 vitamini), nikotinik asit (B3 vitamini), pridoksin klorür (B6 vitamini) ve folik asit (B9 vitamini) vitaminlerinin miktarları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile belirlendi. Boya çiçeği bitkisinin yapraklarındaki GSH, GSSG, A, E, β-karoten, C vitamini, B1, B2, B3, B6 ve B9 vitaminlerinin miktarları sırası ile 1867,82±50,95 µg/g; 306,77±19,81 µg/g; 0,59±0,09 µg/g; 0,46±0,08 µg/g; 2,13±0,55 µg/g; 282,86±9,24 µg/g; 98,91±11,68 µg/g; 20,19±3,44 µg/g; 24,28±3,15 µg/g; 97,21±11,68 µg/g; 7,28±1,80 µg/g olduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin çiçeklerindeki GSH, GSSG, A, E, β-karoten, likopen, C vitamini, B1, B2, B3, B6 ve B9 vitaminlerinin miktarlarının sırası ile 2010,93±25,01 µg/g; 474,64±30,64 µg/g; 1,75±0,39 µg/g; 3,96±0,41 µg/g; 14,67±2,09 µg/g; 0,42±0,08 µg/g; 194,72±8,09 µg/g; 52,30±6,38 µg/g; 10,54±2,05 µg/g; 27,64±4,48 µg/g; 98,91±10,18 µg/g; 10,37±3,17 µg/g olduğu tespit edildi. Elde edilen bu verilerden, bu bitkinin yaprak ve çiçeklerinin GSH, C vitamini, B1 ve B6 vitaminleri açısından iyi bir kaynak olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler : Boya çiçeği (*Neotchihatchewia isatidea*), glutasyon, vitaminler

Investigation of the Amounts of Glutathione and Vitamins in *Neotchihatchewia isatidea* Plant

Abstract

In this study, the amounts of reduced form glutathione (GSH), oxidized form glutathione (GSSG) and vitamin A, vitamin E, Beta-carotene, vitamin C, thiamine hydrochloride (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), nicotinic acid (vitamin B3), pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) and folic acid (vitamin B9) in leaf and flowers of which have been endemic *Neotchihatchewia İsatidea* sample were determined by using High Performance Liquid Chromatography. The amount of GSH, GSSG and vitamin A, vitamin E, β-carotene, vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6 and vitamin B9 in leafs of *Neotchihatchewia İsatidea* were obtained to be 1867,82±50,95 µg/g; 306,77±19,81 µg/g; 0,59±0,09 µg/g; 0,46±0,08 µg/g; 2,13±0,55 µg/g; 282,86±9,24 µg/g; 98,91±11,68 µg/g; 20,19±3,44 µg/g; 24,28±3,15 µg/g; 97,21±11,68 µg/g; 7,28±1,80 µg/g respectively.

The amount of GSH, GSSG and vitamin A, vitamin E, β-carotene, lycopene, vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6 and vitamin B9 in flowers of same plants 2010,93±25,01 µg/g; 474,64±30,64 µg/g; 1,75±0,39 µg/g; 3,96±0,41 µg/g; 14,67±2,09 µg/g; 0,42±0,08 µg/g; 194,72±8,09 µg/g; 52,30±6,38 µg/g; 10,54±2,05 µg/g; 27,64±4,48 µg/g; 98,91±10,18 µg/g; 10,37±3,17 µg/g respectively. It may be concluded from the results that, the flowers and leavies of this plant (*Neotchihatchewia İsatidea*) reaches in terms of amount of GSH, vitamin C, vitamin B1 and vitamin B6.

Key words : *Neotchihatchewia isatidea*, glutathione, vitamins

1. Giriş

Neotchihatchewia cinsi *Brassicaceae* familyasına ait Türkiye'ye özgü monotipik bir cinstir. *Neotchihatchewia isatidea* ilk örnek Tchichatscheff tarafından Erzincan'dan toplanmış ve Boissier tarafından *Tchihatchewia isatidea* adıyla yayımlanmıştır [1]. Bununla birlikte *Tchihatchewia* cins adı daha önce fosil bir bitki için kullanılmıştır [2].

Neotchihatchewia isatidea (Boya çiçeği) türünün Giresun, Gümüşhane, Sivas, Tunceli, Elazığ, Erzurum ve Kars bölgelerinde yayılış gösterdiği tespit edilmiştir [3].

Bu bitkinin çiçekleri Divriği (Sivas)'de boyar madde olarak kullanılmaktadır [4]. Değişik yerlerde bitkinin başka bir kullanım şekline rastlanmamıştır. Endemik olan bu *Neotchihatchewia isatidea* (Boya çiçeği) bitkisi [5] ile ilgili literatür taramasında vitaminler ve glutasyon ile ilgili çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada paleoendemik olan boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçeklerinde indirgenmiş glutasyon (GSH), yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), A vitamini, E vitamini, β -karoten, C vitamini ile tiamin klorür (B1 vitamini), riboflavin (B2 vitamini), nikotinik asit (B3 vitamini), pridoksin klorür (B6 vitamini) ve folik asit (B9 vitamini) miktarlarını belirlemek ve bitki hakkında literatür bilgisine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada Elazığ yöresinde yetişen *Neotchihatchewia isatidea* (Boya çiçeği) bitkisinin yaprak ve çiçekleri kullanıldı. Bitkinin Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim dalında tür teşhisi yapıldı.

A, E vitamini, β -karoten ve likopen miktarlarının belirlenebilmesi için; boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçekleri ayrı ayrı homojenizatörde iyice parçalandı. Parçalanmış örneklerden yaklaşık 0,5'şer gram tartılarak polietilen tüplere alındı. Her bir tüp üzerine 4 mL etil alkol ilave edilerek vortekslendi. Daha sonra bu karışım 3500 devirde 3 dakika santrifüj edildi. Ardından örnekler üzerine 0.3 mL n-hekzan ilave edilerek çalkalandı. Böylece A, E vitamini, β -karoten ve likopen n-hekzan fazına ekstrakte edilmiş oldu. Bu ekstraksiyon işleminin

iki kez tekrarı ile elde edilen n-hekzan ekstraktları birleştirilip azot gazı altında kuruyuncaya kadar buharlaştırılarak uzaklaştırıldı. Tüpteki kalıntı 100 μ L metanolle çözümlenerek HPLC'de analize hazır hale getirildi. A ve E vitamini ile β -karotenin tayinlerinde Supelcosil LC-18 kolonu (25 cm x 4.6 mm x 5.0 μ m) ve metanol: su (98:2 v/v) karışımından oluşmuş mobil faz kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 0.7 mL/dk olarak ayarlandı. E vitamini 296 nm, A vitamini 326 nm, β -karoten 465 nm ve likopen ise 472 nm'de tayin edildi [6-7].

Materyallerdeki GSH, GSSG, C ve B vitaminlerinin miktarlarının belirlenmesi için; homojenizatörde iyice parçalanmış boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçek örneklerinden yaklaşık 0,5 gram tartılarak polietilen tüplere alındı. Her bir tüp üzerine 1 mL 0,5 M HClO₄ ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra bu örneklere 4 mL saf su ilave edilerek tekrar karıştırıldı ve 4500 rpm de 15 dakika santrifüjlenip asıltı partiküller çöktürüldü. GSH ve GSSG miktarlarını belirlemek için santrifüjlenen süzütünün üst kısmından 20 μ L alınarak HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de SGE SGE Walkosil II 5C18 RS (15 cm uzunluk x 4.6 mm iç çap x 5 μ m partikül büyüklüğü ve 120 Å por büyüklüğü) kolonu ve hareketli faz olarak da çözücüsü % 0,1 H₃PO₄ olan 50 mM'lık NaClO₄ çözeltisi kullanıldı. Hareketli fazın akış hızı: 0,7 mL/dk ayarlanarak 215 nm'de 7. dk'da GSH ve 14.dk'da ise GSSG tayin edildi [8]. C vitamininin tayini için ise yine santrifüjlenmiş süzütünün üst kısmından 20 μ L alınarak HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de hareketli faz: 3,7 mM KH₂PO₄ (pH: 4, H₃PO₄ ile) Akış hızı:1 mL/dk. Dalgaboyu: 245 nm'de C18 kolonu kullanılarak C vitamini tayin edildi [9].

B vitaminlerini tayin etmek için Glutasyon ve C vitamini analizleri için hazırlanmış süzütünün üst kısmından 20 μ L alınarak HPLC'ye enjeksiyon yapıldı. Burada hareketli faz olarak 5 mM heptanosülfonik asidin sodyum tuzu metanolde çözünerek 250 mL'lik A çözeltisi ile % 0,1 trietilamin'in 750 mL'lik B sulu çözeltileri hazırlandı. Daha sonra A ve B çözeltileri 25:75 hacim oranında karıştırıldı, karışımın pH'ı fosforik asitle 2,8'e ayarlanarak kullanıldı. Hareketli fazın akış hızı 0,7 mL/dk'ya ayarlanarak C18-DB kolon (15 cm uzunluk x 4,6

mm iç çapı x 5 µm partikül büyüklüğü) 'un da B1, B2 ve B3 vitamini 260 nm'de, B6 vitamini ile folik asit 290 nm dalga boyunda tayin edildi [10, 11]. Yukarıda belirtilen şartlarda her bir vitamine ait alıkonma süreleri ise; B1 vitamini için 5,4 dk, B2 vitamini için 10 dk, B3 vitamini için 2,3 dk, B6 vitamini için 3,3 dk ve B9 vitamini için ise 7 dk olarak belirlendi. Bu alıkonma süreleri HPLC kolonu ile hareketli fazın akış hızına göre değişiklik gösterebilir.

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck firmasından temin edilmiş ve tüm analizlerde bidistile su kullanılmıştır.

Analizler üç farklı örnek üzerinden paralel yürütülmüş ve verilerin aritmetik ortalaması ile standart sapması hesaplanmıştır.

3. Bulgular

Tablo 1. Aspir örneklerinin gövde, yaprak ve çiçeklerindeki GSH, GSSG ile A, C, E vitamini ve β-karoten miktarları

Parametreler	Yaprak	Çiçek
GSH(µg/g)	1867,82 ± 50,95	2010,93 ± 25,01
GSSG (µg/g)	306,77 ± 19,81	474,64 ± 30,64
A vitamini (µg/g)	0,59 ± 0,09	1,75 ± 0,39
E vitamini (µg/g)	0,46 ± 0,08	3,96 ± 0,41
Beta-karoten (µg/g)	2,13 ± 0,55	14,67 ± 2,09
Likopen(µg/g)	-	0,42 ± 0,08
C vitamini (µg/g)	282,86 ± 9,24	194,72 ± 8,09
B1 vitamini (µg/g)	98,91 ± 11,6	52,30 ± 6,38
B2 vitamini (µg/g)	20,19 ± 3,44	10,54 ± 2,05
B3 vitamini (µg/g)	24,28 ± 3,15	27,64 ± 4,48
B6 vitamini (µg/g)	97,21 ± 11,68	98,91 ± 10,18
Folik asit (µg/g)	7,28 ± 1,80	10,37 ± 3,17

4. Tartışma

Glutasyon hücreler için gerekli olup; beyin kalp bağışıklık sistemi hücreleri, böbrekler, göz, karaciğer, akciğer ve deri dokularını oksidatif hasara karşı korur ve yaşlanmayı geciktirici etkisi vardır [12]. Hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olan indirgenmiş glutasyonun (GSH) antioksidan savunma sisteminde görev almaktan başka ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, amino-asitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının indirgenmiş halde tutulması gibi birçok fonksiyonu vardır [13, 14]. Tablo 1'de görüleceği üzere bulgularımızda boya çiçeği

bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki GSH miktarının sırasıyla (1867,82±50,95 µg/g; 2010,93±25,01 µg/g) ve GSSG miktarların ise (306,77±19,81 µg/g; 474,64±30,64 µg/g) olduğu belirlendi. Boya çiçeğinin hem yaprak hemde çiçeklerdeki GSH ve GSSG miktarlarının istatistiksel olarak farklı olduğu (p<0.05) tespit edildi. Aspir bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki GSH miktarının sırası ile 1203,37±81,02 µg/g; 1192,17±64,67 µg/g, GSSG miktarlarının ise sırası ile 358,23±53,67 µg/g ile 148,60±46,65 µg/g olduğu belirtilmektedir [15]. Bulgularımıza göre boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki GSH miktarlarının aspir bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki GSH miktarından daha yüksek olduğu, GSSG miktarlarının yapraklarda düşük, çiçeklerde ise daha fazla olduğu bulundu. Bilindiği gibi glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır [16, 17].

E vitamininin önemli bir özelliği ise antioksidan etkinliğinin olması nedeni ile peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir [18]. Boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki E vitamini miktarının sırası ile (0,46±0,08 µg/g ve 3,96±0,41 µg/g) olduğu belirlendi (Tablo 1).

A vitamini ise büyüme, cilt gelişimi, görme fonksiyonları, üreme, kemik büyümesi, hücre bölünmesi ve farklılaşması ile enfeksiyonlara karşı vücut direncinin artırılmasında görev alır, ayrıca bağışıklık sistemini de güçlendirir [19]. β-karoten ise A vitamini öncülü olma özelliği yanında, biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri temizleme özelliğine de sahip olmasıdır [20, 21]. Bulgularımızda boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçeklerinde oldukça az miktarda A vitamini (0,59±0,09 µg/g ve 1,75±0,39 µg/g) içerdiği tespit edildi. Yapılan bir araştırmada kuşburnunun 12,80-37,90 µg/g arasında β-karoten ihtiva ettiği belirtilmektedir [22]. Bulgularımızda ise boya çiçeğinin β-karoten miktarının (2,13±0,55 µg/g), çiçeklerdeki β-karoten miktarının (14,67±2,09 µg/g) kuşburnundaki değere yakın olduğu görülmektedir (Tablo 1).

Bulgularımızda ise likopen sadece boya çiçeği bitkisinin çiçeklerinde (0,42±0,08 µg/g) bulunmuştur. Karotenoidlerin önemli bir türevi

de kırmızı rengi veren likopendir [23]. Likopen provitamin A aktivitesi göstermez. *In vitro* koşullarda likopen karotenoidler arasında en güçlü antioksidan olup daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir [24]. Domatesteki likopen miktarının yaklaşık ortalama 63,60 µg/g, karpuzda 48,80 µg/g kayısıda ise 0,10 µg/g yaş ağırlıkta olduğu belirtilmektedir [25-27]. Boya çiçeği bitkisinin çiçeğindeki likopen literatürlerde verilen ortalama değerlerden sadece kayısıdan yüksek diğer meyvelerden ise oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.

Likopen ile ilgili yapılan araştırmalarda; likopenin kardiyovasküler hastalıklar, kemik, deri ve göz sağlığı üzerine etkili olduğunu ve kanseri önleyici etkisi bulunduğunu ayrıca antioksidan özelliği nedeniyle yaşlanma sürecini yavaşlattığı rapor edilmiştir [23, 28-30].

Aynı şekilde C vitamini güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların inaktive edilmesinde rol oynar [31, 32]. C vitamini açısından zengin kaynaklar olarak kabul edilen sivri biber 1000 µg/g, karalâhana 940 µg/g, karnabaharda 800 µg/g, kadar C vitamini olduğu belirtilmektedir [33]. Tablo 1'de görüleceği gibi bulgularımızda bitkinin yaprak ve çiçeklerindeki C vitamininin (282,86±9,24 µg/g ve 194,72±8,09 µg/g) orta zenginlikte kaynaklar arasında sayılabilir.

Bilindiği gibi B1, B2, B3 ve B5 vitaminleri enerji metabolizmasında görev alırken, B9 vitamini kan yapımında görev almaktadır. Kısacası B1 vitamini karbonhidratların glukoza dönüşmesinde etkili olup, sağlıklı bir sinir sistemi için gereklidir. Kalp ve sindirim sistemi kasları'nın korunmasında rol alır. B2 vitamini ise karbonhidrat, protein ve yağların enerjiye dönüştürülmesinde görev alır ve kataraktı önler. B3 vitamini, besinlerden enerji elde edilmesinde rol oynar ve pellegrayı önler, ayrıca kan dolaşımını düzenler. B6 vitamini de protein ve karbonhidrat metabolizmasında görev alır. Sağlıklı sinir sistemi için gerekli olup, kırmızı kan hücrelerinin oluşumunda rol oynar. B9 vitamini, B6 vitamininde olduğu gibi kırmızı kan hücrelerinin oluşumu için gereklidir. Sağlıklı cenin gelişimi B9 vitaminine bağlı olduğundan hamilelik öncesi ve sırasında vücudun bu vitaminden yeteri kadarına sahip olmasını

sağlamak gerekir [33, 34]. Bulgularımızda Boya çiçeği bitkisinin yaprak ve çiçeklerindeki B1 vitamini (98,91±11,68 µg/g; 52,30±6,38 µg/g), B2 vitamini (20,19±3,44 µg/g; 10,54±2,05 µg/g) açısından zengin olduğu, B3 vitamini (24,28±3,15 µg/g; 27,64±4,48 µg/g) ile B6 vitamini (97,21±11,68 µg/g; 98,91±10,18 µg/g) açısından normal, B9 vitamini (7,28±1,80 µg/g; 10,37±3,17 µg/g) açısından ise fakir olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, Boya çiçeği bitkisi yapraklarının B3, B6 ve B9 vitaminleri ile GSH ve GSSG açısından oldukça zengin olduğu söylenebilir. Boya çiçeği bitkisinin bu özelliklerinin tespit edilmesiyle, paleoendemik olan bu bitkinin suda çözünen ve çözünmeyen biyoaktif bileşiklerinin daha iyi tanınacağı, araştırmacıların bu konuya olan ilgisinin artacağı ve literatür bilgisine katkı sağlayacağı kanısındayız.

5. Kaynaklar

1. Boissier, E. (1867-1888). *Flora Orientalis*. 1-5, Geneva.
2. Rauschert, S. (1982). *Nomina nova generica et combinationes novae Spermatophytorum et Pteridophytorum*. *Taxon*, **31**, 554-563.
3. Güngör, A. (2007). *Neotchiatchewia Isatidea* (Boiss.) Rauschert (*Brassicaceae*)'nin Taksonomik Özellikleri Bakımından İncelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.
4. Baytop, T. (1994). Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, İ.Ü. Yayınları, 3255, Ecz. Fak. No: 40.
5. Mutlu, B., Dönmez, A.A. (2003). *Neotchiatchewia isatidea* (Boiss.) Rauschert (*Brassicaceae/Cruciferae*), The Karaca Arboretum Magazine, **7**(2), 75-80.
6. Miller, K.W., Lorr, N.A., Yang, C.S. (1984). Simultaneous determination of plazma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*. **138**, 340-345.
7. Supelco Chromatography Products for Analysis & Purification. (2005-2006). Sigma- Aldrich Chemie GmbH, Export Department Eschenstraße Taufkirchen, Germany, 169s.
8. Dawes, P., Dawes E. (2000). SGE Chromatography Products Catalog. pg: 182.
9. Tavazzi, B., Lazzarino, G., Di-Pierro, D., Giardina, B. (1992). Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated

- to the eperfusion of the isolated postischemic rat heart, *Free Radical Biology & Medicine*, **13**, 75-78.
10. Amidzic, R., Brboric, J., Cudina, O., Vladimirov, S. (2005). RP-HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, folic acid and B12 in multivitamin tablets, *Journal of the Serbian Chemical Society*, **70**(10), 1229-1235.
 11. Markopoulou, C.K., Kagkadis, K.A., Koundourellis, J.E. (2002). An optimized method for the simultaneous determination of vitamins B1, B6, B12, in multivitamin tablets by high performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **30**, 1403-1410.
 12. Konukoğlu, D., Akçay, T. (1995). Glutasyon metabolizması ve klinik önemi, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **15**(4), 214-218.
 13. Sözmen, E.Y. (2002). Yaşlanma biyokimyası. In: Onat T. Emerk K. Sözmen E.Y. İnsan Biyokimyası, *Palme Yayıncılık*, Ankara, 665-674.
 14. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology & Medicine*, **13**, 341-390.
 15. Özdemir, F.A., Aymelek, F., Karataş, F. (2011). Aspir (*Carthamus Persicus Wild*) Bitkisinde Redükte, Okside Glutasyon ile A, C, E Vitamini ve β -karoten Miktarlarının Araştırılması *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **23**(2), 71-76.
 16. Frei, B. (1994). Natural antioxidants in human health and disease, *Academic Press*. San Diego, p.157-197.
 17. Yalçın, A.S. (1998). Antioksidanlar, *Klinik Gelişim*, **11**, 342-346.
 18. El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Kedwany, F.S. (2004). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats, protective role of vitamin E and carotene, *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1562-1571.
 19. Aksoy, M. (2000). Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 321-342.
 20. Handelman, G.J. (2001). The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*. **17**(10), 818-822.
 21. Edge, R., Mc Garvey, D.J., Truscott, T.G. (1997). The carotenoids as anti-oxidants-a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **41**, 189-200.
 22. Aksoy, M. (2000). Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 564-565.
 23. Yaping, Z., Suping, Q., Wenli, Y., Zheng, X., Hong, S., Side, Y., Dapu, W. (2002). Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl_3O_2 . *Food Chemistry*, **77**, 209-212.
 24. Stahl, W., Sies, H. (1992). Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans. *Journal of Nutrition*, **122**(11), 2161-2166.
 25. Clinton, S.K. (1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease, *Nutrition Review*, **56**, 35-51.
 26. Canene-Adams, K., Campbell, J.K., Zaripeh, S., Jeffery, E.H., Erdman, J.W.Jr. (2005). The tomato as a functional food. *Journal of Nutrition*, **135**(5), 1226-1230.
 27. Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P.S., Muir, G.J., Zhao, D.Y., Katz, N.B. (2002). Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N. J.)* **227**(10), 845-851.
 28. Ozcan, M.M., Haciseferogullari, H. (2007). The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, **78**, 1022-1028.
 29. Mashima, R., Witting, P.K., Stocker, R. (2001). Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, **12**(4), 411-418.
 30. Rousseau, E.J., Davison, A.J., Dunn, B. (1992). Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, **13**(4), 407-433.
 31. Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza Yayınları*
 32. Granado, F., Olmedilla, B., Gil-Martinez, E., Blanco, I., Millan, I., Rojas-Hidalgo, E. (1998). Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives, *Clinical Science (Colch)*, **94**, 189-195.
 33. Baysal, A. (1999). Beslenme, *Katipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti.*, Ankara, s. 237.
 34. <http://www.ext.colostate.edu/PUBS/FOODNUT/09312.html> (29 Şubat 2012).