



HÜMİK VE FÜLVİK ASİTLERİN DOĞAL ANTİOKSİDANLARI YARARLANAN OKSİDATİF STRESE KARŞI HİDROJEN PEROKSİT: IN-VIVO ÇALIŞMALARI

Abd El-Moneim MR Afify*, Usame K Konswa

Biyokimya Bölümü, Ziraat Fakültesi, Kahire Üniversitesi, s.12613, Gamma St., Giza, Kahire, Mısır

ÖZ

Fülvik asit (FA) ve hümkik asit (HA), organik maddelerin kimyasal ve biyolojik süreçlerle parçalanmasıyla oluşur. Fülvik asitler ve hümkik asidin antioksidan temizleme olarak en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. 10,50,100 ve 150 mg/Kg'lık farklı konsantrasyonlardaki hümkik asit uygulamaları, böbrek ve karaciğer fonksiyonlarında önemli farklılıklar göstermiştir. Sonuçlar, önemli bir konsantrasyona bağlı serbest radikal süpürme aktivitesi tarzını yanı sıra MDA seviyesinde önemli bir azalma sergiledi. En düşük lipid peroksidasyonu 150 mg/kg BW ile rapor edilmiştir. Hümkik asit ve fülvik asit, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde önemli bir azalma göstererek indüklenmiş hidrojen peroksit karşı doğrudan koruyucu etkilerini gösterir. FA ve HA'nın antioksidan özellikleri, bitki büyümesinin belirli yönlerini iyileştirmek için yararlı olan veya gübreler/kimyasallarla karıştırılarak sağlığı koruyan desteklerdir.

çünkü hümkik asitlere gösterilen ilginin artması antiviral, antiinflamatuvar ve östrojenik aktiviteleri ile açılanabilir [7]. Hümkik maddelerin ağır metallerle (kadmium gibi) şelat kompleksleri oluşturma potansiyelleri, canlı organizmalardan ağır metallerin eliminasyonu için kullanılmaları sağlar [8].

Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarı önlemek için dokular, enzimatik olmayan antioksidanları (örneğin, glutatyon, ürik asit, bilirubin ve C ve E vitaminleri) ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik aktiviteleri içeren bir antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir. [9-10].

Bu nedenle, bu çalışmanın amacı prokaryotik büyümeyi etkileyen sıçanlara hidrojen peroksit uygulanarak oksidatif hasara karşı in vivo süperoksit iyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hümkik asit ve Fülvik asitin süpürme kapasitesinin değerlendirilmesidir. Organik maddenin belirli bileşenlerinin hidrolizi [12].

ANAHTAR

KELİMELER: Fülvik asit, Hümkik asitler, in vivo antioksidan temizleme kapasitesi, böbrek fonksiyonu, karaciğer fonksiyonu.

GİRİŞ

Hümkik maddeler, bitki ve hayvan kalıntıları'nın mikrobiyal aktivite ile parçalanması'nın bir sonucu olarak topraklarda ve doğal sularda oluşan, yapısal olarak karmaşık, büyük ila makromoleküllerdir [1]. Oksidatif stres, hidrojen peroksit oksijen radikalleri gibi pro-oksidan kuvvetlerin çeşitli dejeneratif hastalıklarda birincil bir faktör olduğu kabul edildiğinde ortaya çıkar [2]. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz (GR) gibi bazı önemli antioksidan enzimler reaksiyon mekanizmasında yer alır ve antioksidan olarak çalışırlar [3]. Hümkik asit çevrede her yerde bulunur ve toprakta olduğu kadar suda yaşayan organizmaları'nın [4] fizyolojik fonksiyonlarını da etkilediği bulunmuştur [5]. Fülvik asitlerin antioksidan madde olarak uygulanması tarif edilmiştir [6]. Asıl sebep

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

Hümkik ve fülvik asitlerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması. (1) Hümkik maddelerin ekstraksiyonu. Hümkik asitlerin ekstraksiyonu, [13] tarafından açılan yöntemlere göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi: kompost numunesi (25 gm) alındı ve 500 ml dispersiyon ajanı 0.5 N NaOH çözeltisi ile çalkalandı. Yeni hazırlanan çözelti süspansiyonları gece boyunca bırakıldı ve santrifüjlendi ve dolayısıyla süpernatant hümkik ve fülvik asitler içeriyor.

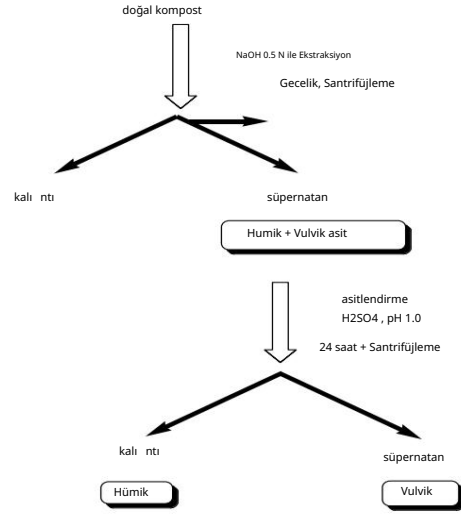
(2) Fülvik asidin ayrılması. Hümkik asidin izole edilmesi ve saflaştırılması için [14] tarafından açılan yöntem izlendi. Alkali solüsyonlu organik madde ekstraktı önce H₂SO₄ kons. ile pH 1.0'a ayarlandı. Daha sonra hümkik asitlerin çökmesi için 24 saat bekletildi. Süpernatant fülvik asitleri içerir. Daha sonra fülvik asit, 6000 rpm'de 20 dakika santrifüjleme ile hümkik asitten ayrıldı. Süpernatant fülvik asit içerir ve çökelti hümkik olarak tanımlanır.

humus fraksiyonu. Aktif kömürden geçen fulvik asit çözeltisi, ardi ndan kömürün elüsyonu. Solüsyon, fanlı bir fı rı nı içine yerleştirilerek küçük bir değere kadar konsantre edildi ve oda sı caklı ğı nda bı rakı ldı . Konsantre çözelti, membran filtreye aktarı ldı ve diyalizat kloridden arı nana kadar elektrodiyaliz edildi.

(3) Humik asidin saflaştır ı lması . Hümkik asit çökeltisi, süzüntü renksiz olana kadar soğuk 0.05 N H₂SO₄ ile birkaç kez yı kandı . Hümkik asit, az miktarda 0.05 N NaOH çözeltisi içinde yeniden çözüldü ve daha sonra bir membran filtreye aktarı ldı . pH 1.0'a asitlendirme ile tekrar çöktürüldü. Hümkik asit selofan torbalara aktarı ldı ve torbaları n dı şı ndaki damı tı lı mı ş suda klorür testi negatif çı kana kadar damı tı lı mı ş suya karşı diyalize edildi [15], ardi ndan hümkik asit havayla kurutuldu)

Arı tı lan hümkik asidin kül içeriğini azaltmak ve saflı ğı nı arttı rmak için 10 g havayla kurutulmuş hümkik asit 100 ml Khan's karı şı mı (0,5 ml Kons. HCl + 0,5 ml HF %48 ve 99 ml) ile çalkalanmı ştı r. H₂O) oda sı caklı ğı nda 42 saat çalkalandıktan sonra asit karı şı mı santrifüjlendi, süpernatantı çı karı ldı ve hümkik asit jeli, Cl içermeyen hale gelene kadar damı tı lı mı ş suya karşı diyaliz edildi. Çöken hümkik asit jeli petri kapları na aktarı ldı ve oda sı caklı ğı nda kurutuldu (scrme 2,

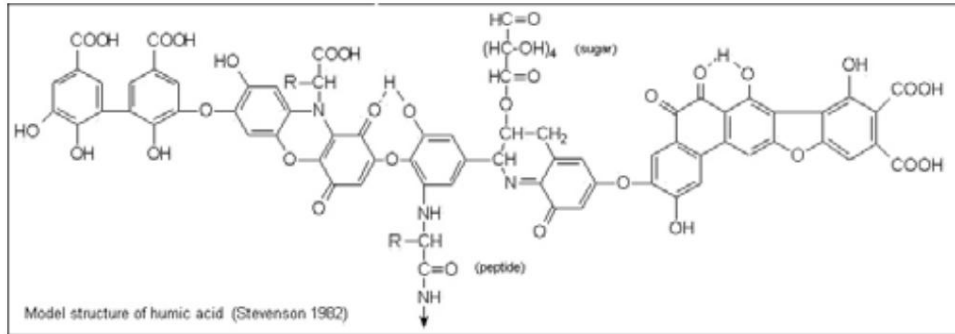
Aşağı daki şema hümkik ve fulvik ayrı mı nı n akı şlar halinde olduğunu göstermektedir (Şema 1, 2, nd3):



ŞEMA 1

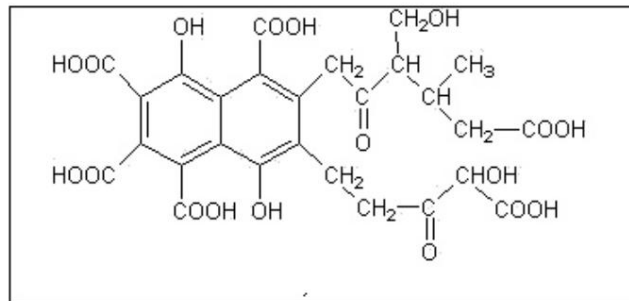
Hümkik ve fulvik ayrı mı

Humik ve vulvik asitlerin yapı sı aşağı daki gibidir:



ŞEMA 2

hümkik asit yapı sı



ŞEMA 3

Fulvik asit yapı sı



Hidrojen peroksit ve süperoksit radikal Süpürme Aktivitesi. (1) Süperoksit radikal süpürme aktivitesi deneyi. Süperoksit radikal süpürme aktivitesi, formazan oluşumunun inhibisyonuna dayalı olarak [16]'ya göre gerçekleştirildi. Her biri 3 ml reaksiyon karışımı, 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.6), 20 mg riboflavin ve 12 mM EDTA ve 0.1 mg Nirobluetetrazolium (NBT) ve 1 ml numune solüsyonu içermiştir. Reaksiyon karışımı, farklı konsantrasyonlarda numune ekstraktı (10,50,100 ve 150 µg/ml) ile 90 s aydınlatılarak reaksiyon başlatıldı. Aydınlatmadan hemen sonra absorbans 590 nm'de ölçüldü. Reaksiyon düzeneğinin tamamı, alüminyum folyo ile kaplanmış bir kutu içine alındı. Reaksiyonlu özdeş tüpler

karışım karanlıkta bekletildi ve kör olarak servis edildi. Süperoksit anyon oluşumunun yüzde inhibisyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100,$$

burada A0, kontrolün absorbansıdır ve A1, numunelerin/standartın absorbansıdır.

(2) H2O2 süpürme kapasitesinin belirlenmesi. Hümik ve fulvik asit ekstraktlarını hidrojen peroksidi temizleme yeteneği [17]'nin yöntemine göre belirlendi.

Hümik asit ve fulvik asidin in vivo biyolojik değerlendirilmesi. Bu çalışmada kullanılan sıçanlar Wistar, Mırsı'daki Ulusal Araştırma Merkezi'ndeki (NRC) hayvan evi olony'sinden temin edildi. Tüm hayvanlar, yiyecek ve suya serbest erişim ile standart 12 saatlik doğal ışık ve karanlık döngüsü koşullarında barındırıldı. Tüm hayvan prosedürleri, Mırsı Ulusal Araştırma Merkezi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra ve laboratuvar hayvanlarını uygun bakım ve kullanım önerileri doğrultusunda erkek sıçanlara (125-175 g) bölündü.

9 gruba ayrıldı (sekiz sıçan/grup). Negatif kontrolü temsil eden birinci grup, %5 dimetilsülfoksit (DMSO) uygulandı. İkinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplara farklı hümik asit konsantrasyonları (10, 50, 100 ve 150 mg/Kg vücut ağırlığı) uygulandı. Altıncı, yedi, sekiz ve dokuzuncu gruplar benzer konsantrasyonlarda fulvik asit ile muamele edildi. Dört hafta sonra sıçanlar dekapite edildi, çeşitli gruplardan örnekler alındı ve her yönetime göre hazırlandı.

(1) Kan üresi. [18] tarafı ndan tarif edildiği gibi enzimatik yöntemle tahmin edilmiştir.

(2) Serum kreatinin. Faulkner ve King (1976) [18] tarafı ndan açıklanan yöntemle tahmin edildi.

(3) Aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) tayini. Aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) [20] tarafı ndan açıklanan yöntemle tahmin edildi.

Antioksidan enzim aktivitesinin in-vivo tahmini. Sprague - Dawley erkek sıçanlar (125-175 g) 11 gruba ayrıldı (sekiz sıçan/grup). Negatif kontrolü temsil eden birinci gruba %5 dimetilsülfoksit (DMSO) uygulandı. İkinci grup olan pozitif kontrole, oksidatif hasarı indüklemek için oral H2O2 + %5 DMSO dozu uygulandı. Tek doz/hafta 2 mL/Kg vücut ağırlığı uygulandı. Üç, dört, beş ve altıncı gruplara farklı konsantrasyonlarda hümik asit (10, 50, 100 ve 150 mg/Kg vücut ağırlığı) uygulandı. Yedi, sekiz, dokuz ve onuncu gruplar benzer konsantrasyonlarda fulvik asit ile tedavi edildi. Grup 11, oral dozda Askorbik asit 10 mg/Kg vücut ağırlığı + %5 DMSO aldı. Dört hafta sonra sıçanlar dekapite edildi, çeşitli gruplardan örnekler alındı ve her yönetime göre hazırlandı.

TABLO 1

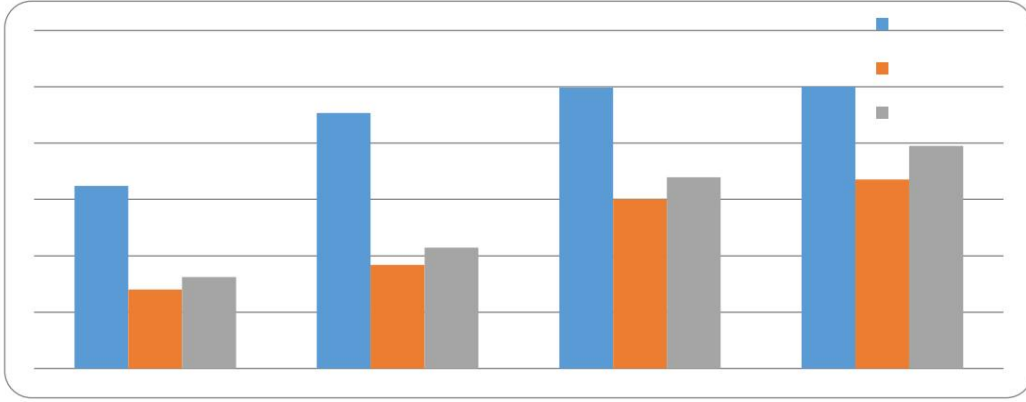
Süperoksit Radikal Süpürme Aktivitesi % inhibisyon olarak ifade edilir.

bileşik sayı	Süperoksit süpürme aktivitesi %100 50 (µg/		
	10 (µg/ml)	ml) 100 (µg/ml)	150 (µg/ml)
Askorbik asit	64,82	90,73 99,74 87,89 60,01 42,91	100
Hümik asit	28,05		67,12
fulvik asit	32,51		79,00

TABLO 2

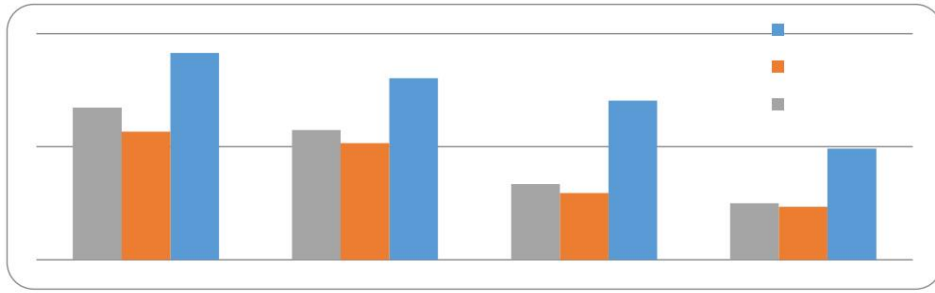
İnhibisyon yüzdesi olarak ifade edilen hidrojen peroksit süpürme aktivitesi.

bileşik sayı	Hidrojen peroksit süpürme aktivitesi % 100 50 (µg/			
	10 (µg/ml)	ml) 100 (µg/ml)		150 (µg/ml)
Askorbik asit	49,23	70,41	80,32	91,54
Hümik asit	23,41	29,47	51,66	56,70
fulvik asit	25,07	33,51	57,39	67,22



ŞEKİL 1

Humik ve vulvik asit, % inhibisyon olarak ifade edilen süperoksit radikal süpürme aktivitesini temsil eder.



ŞEKİL 2 Humik

ve fulvik asit, % inhibisyon olarak ifade edilen hidrojen peroksidi temizler.

(1) Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi testi. Glutasyon peroksidaz [20]'nin yöntemi ile tahmin edilmiştir.

(2) SOD aktivitesinin tahlili. SOD'nin aktivitesi, [21]'in yöntemi kullanılarak NBT'nin fotokimyasal indirgenmesini önleme yeteneği ölçülerek test edildi.

(3) Lipid peroksidasyon testi (MDA içerikleri). Taze karaciğer numuneleri (200 mg), 2 ml %0.1 (a/h) trikloroasetik asit (TCA) içinde homojenleştirildi, ardından 20 dakika 12,000 x g'de santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant (1 ml), %0.5 (ağırlık/hacim) TBA (veya kör olarak TBA içermeyen) içeren eşit hacimde TCA (%10) ile karıştırıldı ve 95°C'de 30 dakika ısıtıldı, sonra içinde soğutuldu. Reaksiyon ürünü, 12,000 x g'de 15 dakika santrifüjlendi ve süpernatant absorbansı 400, 532 ve 600 nm'de ölçüldü. MDA eşdeğeri [22]'ye göre absorbanstan türetilmiştir.

İstatistiksel analiz. Sonuçlar, bir varyans analizi (P < 0.05) ile analiz edildi ve ortalamalar, Duncan'ın çoklu aralık testi ile ayrıldı. Sonuçlar CoStat bilgisayar programı (1986) tarafı ndan işlendi.

(İncir. 2)

SONUÇLAR

Humik ve vulvik asitlerin in vivo antioksidan aktivitesi. Fülvik asit ve hümik asitlerin analizi, askorbik asit referans bileşiklerine kıyasla bir süpürme aktivitesi gösterir; daha az verimli olması na rağmen (P < 0.0001). Her iki bileşik için 150 µg/ml kullanılarak deneylerde kullanılan konsantrasyon artırı larak hümik ve vulvik asitlerin süpürücü aktivitesi artırı lmı ştı r. Askorbik asit (% 100) ile karşı laştı rı ldı ğı nda vulvik ve humik için 79 ve 76 ile temsil edilen süperoksit temizleme aktivitesi Tablo 2, Şekil 1.

Hidrojen peroksit (H₂O₂) süpürme etkinliği. Hidrojen peroksit ile çeşitli muamelelerin süpürme kabiliyeti Tablo 4'te gösterilmiş ve Şekil 2'de gösterilmiştir ve standart olarak askorbik asit kullanı lmı ştı r. Tüm işlemlerin, miktara bağlı bir şekilde hidrojen peroksidi temizleme yeteneğine sahip olduğu fark edilmiştir. Süpürücü hidrojen peroksit yüzdesi, 150 µg/ml hümik asit ile belirlenir ve fulvik asit, askorbik aside karşı % inhibisyon olarak ifade edilen en yüksek süpürücü aktiviteyi temsil eder: hümik asit (%56.70) ve vulvik asit (%67.22) standart aynı konsantrasyonda (%91,54) (Tablo 1).

Hidrojen peroksit oksidatif stres altı nda uygulanan hümkik asit ve fulvik asitten etkilenen antioksidan savunma enzimi aktivitelerinin in vivo aktivitesi. Karaciğer hücrelerinin hidrojen peroksit kaynaklı hasarı , serbest radikal oluşumu yoluyla oksidatif hasara neden olur. Bu çalışmada, fareler oksidatif stres ve karaciğer hasarı oluşturmak için tek bir oral doz hidrojen peroksit (2 ml/Kg vücut ağırlığı /hafta) ile tedavi edildi. Hümkik asit ve fulvik asidin sıçanlarda oksidatif strese ve indüklenen karaciğer hasarı na karşı koruyucu etkileri SOD, GPx aktivitesi ve MDA seviyeleri tahmin edilerek değerlendirildi.

Tablo 4'te gösterilen ve Şekil 3 ve Şekil 4'te gösterilen sonuçlar, uygulanan hümkik asit ve fulvik asidin, GPx ve SOD savunma enzimleri modülasyonu yoluyla , indüklenmiş oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerini gösteren her iki enzimde de önemli bir azalma gösterdiğini ortaya koydu. Fulvik asit sergiledi

150 mg/Kg'lık bir dozda daha güçlü koruyucu aktivite.

Veriler aynı zamanda, farklı hümkik asit ve fulvik asit konsantrasyonları ile muameleden sonra MDA seviyesinde önemli bir düşüş olduğunu ortaya koydu. en iyi sonuç Fulvik asit tarafı ndan 150 mg/Kg dozunda gösterilmiştir, bu hümkik asitle karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivitesine atfedilebilir. Veriler, hümkik asit ve fulvik asidin, konsantrasyona bağlı olarak önemli bir serbest radikal yakalama aktivitesi ve MDA seviyesinde önemli bir azalma sergilediğini gösterdi. Ayrıca hümkik asit ve fulvik asit olmak üzere her iki bileşik hepatik mikrozomlarda lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki göstermiştir. Bu etki, indüklenbilir nitrik oksit sentaz üzerindeki inhibitör etkilerinden ve peroksinitrit oluşumu üzerindeki süpürücü etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. En düşük MDA düzeyi, 150 mg/Kg vücut ağırlığı dozunda bileşik fulvik asit ile gözlemlendi, Tablo 4 ve Şekil 4.

TABLO 3

Çeşitli hümkik ve fulvik asit konsantrasyonları nın üre, kreatinin ve AST ve Sıçanlarda ALT

Bileşikler	Konsantrasyon mg/kg	Üre	Kreatinin mg/ dl Ortalama	AST	HER ŞEY
		mg/dl	U/ml	U/ml	U/ml
		Ortalama ±	± SE 1,08d ±	Ortalama ±	Ortalama ±
Fulvik asit	10	SE 35,2d ±	0,03 cd 1,16 ±	SE 31,2d ±	SE 21,2d ±1,1
	50	0,88 39,2cd	0,08 bcd	1,3 32,1cd	23,8cd ±1,6
	100	±1,25 41,2bc ±	1,4 ±0,08	±1,4 37,4abc	22,9cd ± 2,0
	150	1,63 41,1bc ±	1,59bc ±0,06	±2,3 40,6ab	29,4ab ±1
Hümkik asit	10	2,5 37,8cd ±	1,46 ^{bcd} ±0,18	±2,1 35,3bcd	22,4cd ±1
	50	1,7 42,5abc ±	1,57 bc±0,11	±1,5 37,1abc	25,6bcd ±1
	100	2,8 44,8ab ±	1,71ab ±0,14	±1,2 40,4ab	27,2abc ±1
	150	1,68 46,7a	2,1 a ±0,0,11	±1,8 41,4a	31a ±1,1
Kontrol negatif		±2,04 40,1bcd ±1,6	1,38 bcd ± 0,28	±1,63 36,2abcd ±1,9	26,4abc ± 1
LSD0.05		4.870	0,4092	5.132	4.332

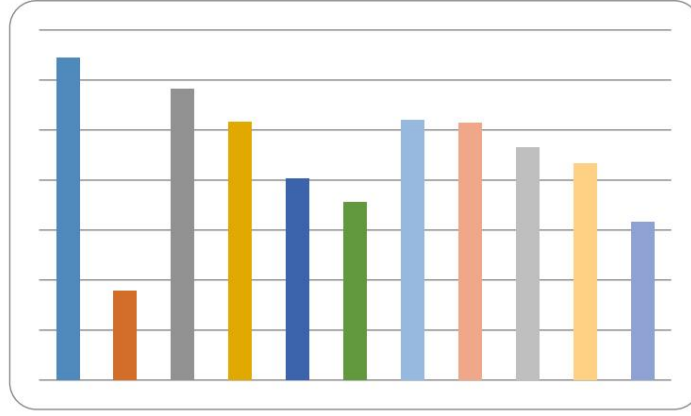
Her değer, ortalama ± SE'yi (Standart Hata) ve üç kopyanın ortalamasını temsil eder; Aynı sütundaki değerler

TABLO 4

H2O2 oksidatif stresli kontrol ve tedavi edilen sıçanlarda MDA oluşumu, SOD ve GPX'e karşı fulvik asit bileşikleri ve hümkik maddelerin antioksidan aktivitesi .

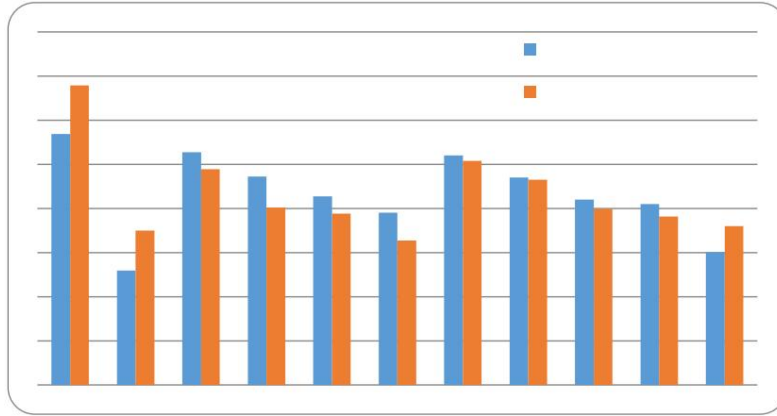
Birleştirmek	Konsantrasyon (mg/kg)	ölçülen parametreler		
		SOD	GPX	MDA
		u/ml	u/ml	nmol/ mg protein
		Ortalama ± SE	Ortalama ± SE	Ortalama ± SE
Kontrol (+)		128,9a ± 31	5,69a ± 0,32	6,79a ± 0,3
Kontrol (-)		35,77f ±2,8	2,59d ± 0,26	3,5de ± 0,13
Fulvik asit	10	116,4ab ±2	5,27ab ± 0,21	4,89b ± 0,24
	50	103,2abcd ±2	4,72bc ± 0,35	4,02cd ± 0,23
	100	80,69cde ±1	4,27c ± 0,2	3,88de ± 0,33
	150	70,97de ±2	3,9c ± 0,18	3,27e ±0,16
Hümkik asit	10	104,1abc ±2	5,2ab ± 0,15	5,08b ±0,07
	50	102,7abcd ±3	4,7bc ± 0,25	4,65bc ±0,23
	100	93,15bcd ±2	4,2c ± 0,29	3,99cd ±0,14
	150	86,71bcd ±2	4,1c ± 0,12	3,82de ±0,13
Voltaire®	10	63,31ef ±3	3,01d ± 0,08	3,60de ±0,28
LSD0.05		29.097	0,683	0,637

Her değer, ortalama ± SE'yi (Standart Hata) ve üç kopyanın ortalamasını temsil eder; Aynı sütundaki değerler



ŞEKİL 3

Uygulanan fulvik asitlerin ve hümk maddelerin oksidatif stres altında SOD aktivitesi üzerindeki modüle edici etkisi.



ŞEKİL 4

Uygulanan fulvik asitlerin ve hümk maddelerin oksidatif stres altında GPX aktivitesi ve MDA oluşumu üzerindeki modüle edici etkisi.

Hümk asit ve vulvik asidin böbrek ve karaciğer fonksiyonları na etkisi. Tablo 3'ten elde edilen veriler, hümk asit ve fulvik asidin, in vivo araştırmalarda güvenliklerini değerlendirmek için böbrek ve karaciğer fonksiyonları üzerindeki olası etkileri açısından test edildiğini ortaya koydu. Sonuçlar, böbrek fonksiyonu olarak üre ve kreatinin düzeylerinin, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 10,50, 100 ve 150 mg/Kg konsantrasyonlu fulvik asit kullanıldığında önemli bir toksisite göstermediğini göstermektedir. Öte yandan 10,50 ve 100 mg/Kg'lık farklı konsantrasyonlardaki hümk asit uygulamaları böbrek fonksiyonları nda Üre (mg/dl), Kreatinin (mg/dl) ve AST ve ALT (U/ml) enzim aktivitelerinde önemli farklılıklar göstermektedir. sırasıyla 150 mg/Kg canlı ağırlık (46.7, 2.1, 41.4 ve 31) kullanılarak karaciğer.

TARTIŞMA

Vulvik ve hümk, tanenler gibi diğer yüksek moleküler ağırlıklı bitki fenolikleri gibi bir antioksidan görevi görür [22-25]. Süperoksit yarı çapını dönüştürmü

cal ve H₂O₂'nin daha reaktif türlere, örneğin hidroksil radikale dönüştürülmesinin, süperoksit radikallerinin neden olduğu istenmeyen etkilerden biri olduğu düşünülmektedir [9]. Sonuç verileri, fenolik hidroksil grubunun OH-oksidan demiri temizleyen ana aktif grup olduğunun bilindiğini bulan [26] ile uyumludur.

Fenton reaksiyonu yoluyla OH üreten türler [26]. Bu, fenolik hidroksil grubunun ve fulvik asidin metal şelatlama yeteneğinin, gözlemlenen ROS temizleme aktivitesini açıklayabileceğini düşündürür.

25 ve 50 µg/ml gibi düşük hümk Asit konsantrasyonları, kontrol koşullarıyla karşılaştırıldığında lipid peroksidasyonun neden olduğu bir artış göstermez (28-29). Ayrıca veriler, hümk asidin yüksek dozlarda hümk asidin karaciğer fonksiyonunu ve böbrek fonksiyonunu önemli ölçüde etkilediğini yansıttı; bu, hümk asidin plazma zarı bütünlüğünü ve toksisiteyi etkileyen toksisite doza bağımlı olduğunu kanıtlayabilir. Yine de [30], bu bölgelerde yaşayan ortalama bir kişi tarafından günlük hümk asit alımını 400 mg kadar yüksek olduğu tahmin edildiğini bildirmiştir. olumsuz etkilemiş ve



yaşayanları n sağlıklı ğı . Sı çanlarda iyotlu hümkik asitle yapı lan radyoizotop izleme, hümkik asitin %60'a kadarı nı n, uygulandı ktan 24 saat sonra vücutta kaldı ğı nı göstermiştir. Hümkik asit, hücre içi kalsiyum homeostazı nı bozar ve hücre zarları nı n hücre dı şı Ca+2'ye geçirgenliğini artı rarak sitozolik Ca+2/ 'nin sürekli yükselmesine neden olur . Bu veriler, aşı rı O2 ONOO ve O2 üretiminin çeşitli patolojilerde yer alması nedeniyle, fulvik asidin bir tioksidan özelliğinin bu bileşiğın sağlıklı kaçı sı ndan yararlı etkilerinin bazı ları nı açı kladı ğı nı bulan [31] ile uyumlu H2O2, OH ,

Ek olarak hümkik asit ve fulvik bileşikler, H2O2 tarafı ndan indüklenen glutatyon oksidasyonunu önleyebilmiştir [28]. Bu sonuçlar, SOD ve GPx'in karaciğer ve böbrek dokuları nda oksijen serbest radikal oluşumunun baskı lanması nda rol oynayabileceğini ve serbest radikal oluşumdaki H2O2 kaynaklı artı ş veya lipitlere karşı koruyucu enzimlerin miktarları ndaki azalma ile bağlantı lı olabileceğini açı kça göstermiştir. peroksidasyon. H2O2 uygulanmı ş numunelerin karaciğerindeki SOD ve GPx aktivitesindeki azalma dolaylı olarak hücrelerde oksidatif DNA hasarı na veya mitokondriyal hasara neden olabilir [32]. Buna göre fulvik asitler, tanenler gibi diğer yüksek moleküler ağı rlı klı bitki fenolikleri gibi bir antioksidan görevi görür. Konsantrasyona bağı lı bir şekilde O2 ve H2O2'yi in vitro olarak temizleyen FA . Fülvik asitteki aromatik alanlar da dahil olmak üzere fonksiyonelleştirilmiş yapı sal birimlerin varlı ğı , moleküler agregatlar (hidrojen köprüleri, metal köprüler ve hidrofobik etkileşimler) oluşturma eğilimlerini açı klayabilir. [33]. Tuzlu topraklarda hümkik asitlerle yapı lan işlemler, uyarı cı ile çift püskürtme ile bildirildiği gibi, azaltı lmı ş toprak elektrik iletkenliği ve azaltı lmı ş sı zı ntı ve ayrı ca azaltma potansiyeli ile ilişkilendirilmiştir [34].

ÇÖZÜM

Serbest radikallerin aşı rı üretimi çeşitli patolojilerde yer aldı ğı ndan, hümkik ve vularik asitlerin antioksidan özellikleri, bağı şı klı k sistemi işlevini artı ran sağlıklı ğa yararlı bazı etkileri açı klar. Aynı ca, erişilebilir bir doğal antioksidan kaynağı olarak ve lipit oksidasyonunu geciktirerek gı da kalitesinin iyileştirilmesi için farmasötik veya gı da endüstrilerinde kullanı m için iyi bir aday olabilirler. Bu maddeler zaman zaman hem yüksek bitkilerde hem de toprak mikroorganizmaları nda büyümeyi teşvik edebilir. Bu bileşikler doğrudan toprağa veya yaprak spreyi olarak, kendi başı na veya gübreler/ kimyasallarla karı ştı rı larak uygulanabilir.

REFERANSLAR

[1] Jones, MN ve Bryan, ND (1998) Hümkik maddelerin koloidal özellikleri, Adv. Kolloid ve Arayüz Bilimi, 78: 1-48.

- [2] Li, ZH, Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P. ve Randak, T. (2011) Karbamazepinin juve nil gökkuşağı alabalı ğı na (Oncorhynchus mykiss) akut toksisitesi: Antioksidan tepkiler, hematolojik parametreler ve hepatik EROD üzerindeki etkileri. Ekotoksikoloji ve Çevre Güvenliği, 74, 319327.
- [3] Wang, C., Wang, Z., Peng, A., Hou, J. ve Xin, W. (1996) Farklı kökenlere sahip fulvik asitler ve aktif oksijen radikalleri arası ndaki etkileşim. bilim China C. Life Sci., 39, 267-275.
- [4] Andersson, C., Abrahamson, A., Brunstrom, B. ve Orberg, J. (2010) Hümkik maddelerin üç dikenli dikenlilerin (Gasterosteus acule atus) solungaç ve karaciğerindeki EROD aktivitesi üzerindeki etkisi. Chemosfer, 81, 156160.
- [5] Gajdo.ova, D., Novotna, K., Prosek, P. ve Ha vel, J. (2003) Antarktika'dan hümkik asitlerin kı lcal elektroforez ve matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon süresi ile ayrı lması ve karakterizasyonu hümkik asitlerin cy clodextrins ile kümelene komplekslerinde uçuş kütle spektrometrisi. J. Kromatr. Anal. Bilim, 7327.
- [6] Ueda, J., Ikota, N., Shinozuka, T. ve Yamagu chi, T. (2004) Yı pranmı ş kömürden türetilen yeni bir bileşiğın reaktif oksijen türleri süpürme yeteneği. Spektrokim. Aça A. Mol. Bi omol. Spectrosc., 60, 2487-2492.
- [7] Yamada, E., Ozaki, T. ve Kimura, M. (1998) Çevresel sularda trihalometan öncülleri olarak hümkik maddelerin belirlenmesi ve davranı şları . Anal. Sci., 14, 327-332.
- [8] Klocking, R. (1992) Küresel çevredeki hümkik maddeler ve insan sağlı ğı üzerindeki etkileri. Monopoli, s. 129.
- [9] Halliwell, B. (2001) Nörodejeneratif Hastalı klarda Serbest Radikallerin Rolü: Antioksidan Tedavi için Terapötik Etkiler. İlaç Yaşlanma, 18, 685.
- [10] Afify, AEMMR Farahat, AA, Al-Sayed, AA, Mahfoud, NAM (2014b) Antioksidan enzimler ve konakçı bitkilerinde kök ur, reniform ve narenciye nematodları na karşı savunma mekanizmaları nda yer alan oksidan aktiviteler. Uluslararası Biyoteknoloji ve Gı da Bilimi Dergisi, 2(6), 102-111.
- [11] Stevenson FJ (1982) Humus kimyası oluşumu, bileşimi, reaksiyonları . 2. Baskı . FJ Stevenson. ISBN: 978-0-471-59474-1.
- [12] Kononova, MM (1966) Toprak Organik Maddesi. Pergmon Press, Oxford, Londra, Edinburg, New York, 544 s.
- [13] Chen, Y., Senesi, N. ve Schnitzer, M. (1978) Akdeniz bölgesi toprakları ndan çı karı lan humik ve fulvik asitlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri. Geoderma, 20(2), 87-104 [14] Beauchamp, C. ve Fridovich, I. (1971) Süper oksit dismutaz: Geliştirilmiş tahliller ve akrilamid jellere uygulanabilir bir tahlil. Anal. biyokimya İnceleme, 44: 276-287.



- [15] Ruch, RJ, Cheng, SJ ve Klaunig, JE (1989) Çin yeşil çayı ndan izole edilen antioksidan kat çeneler tarafı ndan sitotoksitenin önlenmesi ve hücre içi iletişimin inhibisyonu. Kanser oluşumu, 10:10031008.
- [16] Patton, CJ ve Couch, SP (1977) Amonyacı n belirlenmesi için Berthelot Reaksiyonunun spektrofotometrik ve kinetik incelemesi. Anal. Chem., 49: 464.
- [17] Reitman, S.; Frankel, S. ve Amer, JA (1957) belirlenmesi için kolorimetrik yöntem serum glutamik oksalasetik ve glutamik pirüvik transaminazlar. Klinik Pathology, 28: 56 [18] Faulkner, NR ve King, JW (1976) Funda mental of Clinical chemistry 2. baskı , Saunders Philadelphia, 994.
- [19] Pagila, DE ve Valentine, WN (1967) Eritrosit glutatyon peroksidaz J'nin kantitatif ve kalitatif karakterizasyonu üzerine çalı şmalar. Laboratuvar klinik Med., 70, 158.
- [20] Hodges, DM, DeLong, JM; Forney, CF ve Prange, RK (1999) Bir tosiyanin ve diğer engelleyici bileşikler içeren bitki dokuları nda lipid peroksidasyonunu tahmin etmek için tiyobarbitürik asit-reaktif-maddeler testinin geliştirilmesi. Bitki, 207: 604.
- [21] Afify, AEMMR, Shalaby, EA, El-Beltagi, HS (2011) Farklı kafein ürünlerinin sulu ekstratlarının antioksidan aktivitesi. Bahçe Bitkileri Değil 39(2),117-123.
- [22] Afify, AEMMR, Hossam, SEB, Samiha, MAES, Azza, AO (2012) Üç beyaz sorgum çeşidinin ı slatı lması sı rası nda fenoller, flavonoidler, tanenler, E vitamini, karoten ve antioksidan aktivitede biyokimyasal değışiklikler. Asya Pasifik Tropikal Biyotıp Dergisi 2(3):203-209.
- [23] Afify, AEMMR, Esawy, SH, El-Hadidy, EM ve Abdel-Salam, MAL (2014a) Origanum syriacum L. Advances in Food Sciences 36(2), 58- 64'ün antioksidan içeriğ i ve sitotoksitesisi.
- [24] Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, JP, Ci manga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, AJ ve Vanden Berghe, D. (1998) Yapı aktivite ilişkisi ve flavonoidlerin ksantin oksidaz inhibitörleri ve süper peroksit temizleyiciler olarak sı nı flandı rılması . J. Nat. Prod., 61:71-76 [25] Butkovic, V., Klasinc, L. ve Bors, W. (2004) Kararlı radikallerle flavonoid reaksiyonları nı n kinetik çalı şması . J. Agric. Gıda Kimyası , 52:2816-2820.
- [26] Ho KJ, Liu TK, Huang TS ve Lu FJ (2003) Hüyük asit, ferritinden demir salı nı mı na aracı lı k eder ve in vitro lipid peroksidasyonunu destekler: hüyük asit kaynaklı sitotoksitesite için olası bir mekanizma. Arch Toxicol., 77: 100109.
- [27] Topal, A. Alak, G., Atamanalp, M., Oruc, E., Ceyhun, S.B., Ucar, A., Arslan, H., Çelebi, F., Sağlam Y.S. (2013) Effects of Humic Acid on Kahverengi Alabalık ta (Salmo trutta fario, L) Kadmiyumun Neden Olduğ u Karaciğ er ve Böbrek Toksikitesi. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 13: 621-627 [28] Huang, TS, Lu, FJ ve Tsai, CW (1995) Absorbe edilen hüyük asitlerin doku dağı lı mı . Çevre Geochem Health, 17:14 [29] Yang, HL, Lu, FJ, Wang, SL ve Chiu, HC (1994) Hüyük asit, kültürlenmiş endotel hücreleri tarafı ndan doku faktörünün ekspresyonunu indükler: sitozolik kalsiyum ve protein kinaz C ile düzenleme. tromb. Haemost., 71:325330.
- [30] Rodriguez NC, Urrutia, EC Gertrudis, BH, Chaverri, JP ve Mejia, GB (2011) Fulvik asidin antioksidan aktivitesi: Canlı maddeden türetilmiş bir biyoaktif bileşik. Gıda, Tarım ve Çevre Dergisi Cilt 9 (3&4): 123-127.
- [31] Karadeniz, A., Cemek, M. and Simsek, N. 2009. Sı çanlarda kadmiyumun neden olduğ u hepatotoksitesite üzerine Panax ginseng ve Spirulina platensis'in etkileri. Ekotoksikoloji ve Çevre Güvenliğ i, 72: 231-235.
- [32] Baigorri, R Sources, M.; Gonzalez-Gaitano, G.; -Ben, JM; Al Mendros, G.; ve Gonzalez-Vila, FJ. (2009) Çözeltideki ana hüyük fraksiyonları nı ayı rt edici yapı sal özelliklerini incelemek için tamamladı cı çoklu analitik yaklaşım: gri hüyük asit, kahverengi hüyük asit ve fulvik asit. J. Agric. Gıda Kimyası , 57, 3266-3272.
- [33] Aydın A, Kant C, Turan M (2012). Hüyük asit uygulaması , fasulye (Phaseolus vulgaris L.) bitkilerinin tuzluluk stresini azaltarak membran sı zı ntı sı nı azaltı r. Afr J Agric Res 7: 10731086.
- [34] Kocira, A., Kocira, S., Zlotek, U., Kornas, R. ve Swieca M. (2015) Nano-Gro preparasyon uygulamaları nı n adifasulyenin (Phaseolus vulgaris L) verim bileşenleri ve antioksidan özellikleri üzerindeki etkisi . Fresenius çevre. Boğ a. 24-11b: 4034-4041.

Kabul edilmiş: 06.02.2017

Kabul edilmiş: 20.04.2017

MUHABİR YAZAR

Abd El-Moneim MR Afify
Biyokimya Bölümü Ziraat
Fakültesi Kahire Üniversitesi,
s.12613 Gamma st., Giza, Kahire
MISIR

E-posta: abdelmoneimafify@yahoo.com