

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BİTKİLERİN HPLC İLE FENOLİK PROFİLLERİNİN,
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Rana ARIDURU

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gülnur ARABACI

Haziran 2022

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BİTKİLERİN HPLC İLE FENOLİK PROFİLLERİNİN,
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Rana ARIDURU

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Bu tez 14/ 06 /2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

Üye

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Rana ARIDURU

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve bu noktaya gelirken desteğini benden esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. Gülnur ARABACI'ya doktora tezimin her aşamasında önerilerinden ve desteklerinden yararlandığım sayın Prof. Dr. Şule BARAN ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e deneysel çalışmalarım boyunca yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm, başta Esmâ Hande ALICI olmak üzere, sevgili çalışma arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Bütün doktora eğitimim sürecinde her an desteğini hissettiğim eşim F. Emrah ARIDURU'ya bu süreçte doğup büyüyen herşeyim canım oğlum A. Selim ARIDURU'ya ve hayatımın her aşamasında yanımda olan güzel aileme şükranlarımı sunarım.

Satureja spicigera (K.Koch) Boiss, Prangos ferulacea (L.) Lindl., Achillea millefolium

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLOLAR LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY	xi

BÖLÜM 1.

GİRİŞ	1
1.1. Bitkilerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi Hakkında Daha Önce Yapılan Çalışmalar	4
1.2. Çalışmanın Amacı.....	8

BÖLÜM 2.

KAYNAK ARAŞTIRMASI	9
2.1. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri.....	9
2.1.1. <i>Satureja spicigera</i> (K.Koch) Boiss	9
2.1.2. <i>Prangos ferulacea</i> (L.) Lindl.....	11
2.1.3. <i>Achillea millefolium</i>	12
2.2. Serbest Radikaller	13
2.3. Antioksidanlar.....	15
2.4. Antimikrobiyal Maddeler.....	21
2.4.1. Antimikrobiyal maddelerin özellikleri	21
2.4.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar	22
2.4.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	22

2.4.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.4.2.3. <i>Escherichia coli</i>	23
2.4.2.4. <i>Candida albicans</i>	23

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Bitki Materyalleri.....	24
3.2. Mikroorganizmalar	24
3.3. Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar	24
3.3.1. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler.....	25
3.3.2. Antioksidan aktivite tayininde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler.....	26
3.4. Analizler.....	27
3.4.1. Bitkilerin ekstraksiyon aşaması.....	27
3.4.2. Folin metodu toplam fenolik madde analizi.....	28
3.4.3. Alüminyum nitrat metodu ile toplam flavonoid madde analizi	29
3.4.4. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi analizi.....	30
3.4.5. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite analizi (CUPRAC)	31
3.4.6. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi analizi	32
3.4.7. İndirgeme kapasitesi analizi	33
3.4.8. HPLC (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi)	33
3.4.9. Antimikrobiyal aktivite için besiyerlerinin hazırlanması,.....	35
3.4.10. Disk difüzyon yöntemi (Kirby Bauer Yöntemi)	35

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	37
4.1. Folin Metodu ile Toplam Fenolik Madde Analizi Sonuçları.....	37
4.2. Alüminyum Nitrat Metodu ile Toplam Flavonoid Madde Analizi Sonuçları.....	38

4.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Analiz Sonuçları.....	40
4.4. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Analizi (CUPRAC) Sonuçları.....	41
4.5. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Analizi Sonuçları	43
4.6. İndirgeme Kapasitesi Analizi Sonuçları	45
4.7. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi	48
4.8. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	59
BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	89

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BHA	: Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme gücü
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
OG	: Oktil gallat
PG	: Propil gallat
ROT	: Reaktif oksijen türleri
TBHQ	: Tersiyer butilhidroksikinon

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Satureja spicigera</i> (K.Koch) Boiss.....	9
Şekil 2.2. <i>Prangos ferulacea</i> (L.) Lindl.....	11
Şekil 2.3. <i>Achillea millefolium</i>	12
Şekil 2.4. Serbest radikallerin. hücresel etkileri [90].....	14
Şekil 2.5. Fenol.....	19
Şekil 2.6. Flavonoidlerin genel yapısı.....	20
Şekil 3.1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	29
Şekil 3.2. Kuersetin kalibrasyon eğrisi.....	30
Şekil 3.3. Troloks kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 3.4. Hplc cihazının şematik gösterimi.....	34
Şekil 4.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon değerleri).....	40
Şekil 4.2. <i>A. millefolium</i> ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği.....	43
Şekil 4.3. <i>S. spicigera</i> ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği.....	44
Şekil 4.4. <i>P. ferulacea</i> ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği.....	44
Şekil 4.5. Bitki ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi (% inhibisyon değerleri)..	45
Şekil 4.6. <i>A. millefolium</i> ekstraktlarının indirgeme kapasitesi.....	46
Şekil 4.7. <i>S. spicigera</i> ekstraktlarının indirgeme kapasitesi.....	46
Şekil 4.8. <i>P. ferulacea</i> ekstraktlarının indirgeme kapasitesi.....	47
Şekil 4.9. Standart fenolik bileşiklerin HPLC profillerinin belirlenmesi. 1: Gallik asit, 2: Eskulin, 3: Klorojenik asit, 4: kafeik asit, 5: Vanilik asit, 6: Rutin, 7: Naringin.....	49
Şekil 4.10. Hareketli (Mobil) faz A: Asetonitril : 0.1% Fosforik Asid(15:85 v/v) kromatogramı.....	49
Şekil 4.11. <i>P. ferulacea</i> metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	50
Şekil 4.12. <i>P. ferulacea</i> etil asetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	50
Şekil 4.13. <i>P. ferulacea</i> aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	51

Şekil 4.14. <i>P. ferulacea</i> ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	51
Şekil 4.15. <i>S. spicigera</i> metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	53
Şekil 4.16. <i>S. spicigera</i> aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı	53
Şekil 4.17. <i>S. spicigera</i> etil asetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı	54
Şekil 4.18. <i>S. spicigera</i> su ekstraksiyonu HPLC kromatogramı	54
Şekil 4.19. <i>A. millefolium</i> metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	56
Şekil 4.20. <i>A. millefolium</i> aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	56
Şekil 4.21. <i>A. millefolium</i> su ekstraksiyonu ait HPLC kromatogramı	57
Şekil 4.22. <i>A. millefolium</i> etilasetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı.....	57
Şekil 4.23 . <i>S. spicigera</i> bitkisinin <i>Bacillus cereus</i> (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : metanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, KÖS : köndar su ekstraktı, KÖA : köndar.....	62
Şekil 4.24. <i>S. spicigera</i> bitkisinin <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü,KEA : etil asetat körü, KS: su körü, KÖS : köndar su ekstraktı, KÖA	63
Şekil 4.25. <i>S. spicigera</i> bitkisinin <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü,KEA : etil asetat körü, KS: su körü, KÖS : köndar su ekstraktı	63
Şekil 4.26. <i>S. spicigera</i> bitkisinin <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (s: aseton körü, Meoh : metanol körü,EA : etil asetat körü, Su: su körü,, KS : köndar su ekstraktı, KA : k.....	64
Şekil 4.27. <i>P. ferulacea</i> bitkisinin <i>Bacillus cereus</i> (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : metanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, CS : çadır su ekstraktı, CA : çadır aseton eks.....	64
Şekil 4.28. <i>P. ferulacea</i> bitkisinin <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM :	

- methanol körü, KEA : etil asetat körü, KS: su körü, CE: çadır etil asetat ekstraktı, M: 65
- Şekil 4.29. *P. ferulacea* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : methanol körü,KEA : etil asetat körü, KS: su körü, CE: çadır etil asetat ekstraktı 66
- Şekil 4.30. *P. ferulacea* bitkisinin *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (As: aseton körü, Meoh : methanol körü,EA : etil asetat körü, Su: su körü, CS : köndar su ekstraktı, CA : köndar 66
- Şekil 4.31. *A. millefolium* bitkisinin *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : methanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, KuS : kunitsa su ekstraktı, KuA : kunitsa aseton ekstraktı 67
- Şekil 4.32. *A. millefolium* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : methanol körü, KEA : etil asetat körü, KuS: su körü, KuE: çadır etil asetat ekstraktı, KuM: c 67
- Şekil 4.33. *A. millefolium* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : methanol körü, KEA : etil asetat körü, KuS: su körü, KuE: çadır etil asetat ekstraktı, 68
- Şekil 4.34. *A. millefolium* bitkisinin *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (As: aseton körü, Meoh : methanol körü,EA : etil asetat körü, Su: su körü, KuS : köndar su ekstraktı, KuA : köndar ase 68

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Çalışma bitkileri.....	9
Tablo 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması	16
Tablo 3.1. Kullanılan ekipmanlar	24
Tablo 4.1. Bitkilerin toplam fenolik madde miktarı	37
Tablo 4.2. Bitkilerin toplam flavonoid madde miktarı	39
Tablo 4.3. Standart ve bitki numunelerinin doğru denklemleri (TEAC _{CUPRAC} denklemleri).....	41
Tablo 4.4. Standartların TEAC _{CUPRAC} değerleri	42
Tablo 4.5. Bitki özütlerinin TEAC _{CUPRAC} değerleri.....	42
Tablo 4.6. Standart reaktiflerin HPLC ile profil sonuçları.....	48
Tablo 4.7. <i>P. ferulacea</i> bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler	52
Tablo 4.8. <i>S. spicigera</i> bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler.....	55
Tablo 4.9. <i>A. millefolium</i> bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler	58
Tablo 4.10. Antimikrobiyal aktivite sonuçları	59

ÖZET

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite, HPLC, *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss, *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Achillea millefolium*.

Antioksidan ve antimikrobiyal olarak tedavi amaçlı kullanılabilen doğal bitkisel ürünlere karşı son yıllardaki yoğun ilgiden ötürü, yapıları ve yararları tam olarak aydınlatılmamış bitkiler hakkında bir çalışma alanı doğmuştur. Bu çalışmada Artvin dağ yamaçlarında yetişen Trabzon kekiği olarak bilinen latince adı *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss olan Köndar otu, Artvin Yusufeli’de yetişen latince adı *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. olan Çaşır otu ve Sakarya’da yetişen civanperçemi *Achillea millefolium*’nin Balkanlar kökenli türü Kunitsa otu bitkileri kullanılmıştır. Bitkilerin su, metanol, aseton ve etil asetat çözücüleri ile ekstraksiyonları hazırlanarak antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla bitki ekstraktlarının Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik bileşenleri, Alüminyum nitrat metodu ile toplam flavonoid bileşenleri, DPPH serbest radikal giderici etkisi, Bakır (II) iyonu indirgeme gücü (CUPRAC), Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi son olarak da indirgeme kapasitesi spektrofotometrik UV yöntemi kullanılmıştır. Antioksidan madde profilleri ise HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi) ile yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metodu kullanılarak *Bacillus cereus* (SBT8), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) ve *Candida albicans* suşlarına karşı in vitro ortamda araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, bitkilerin yapısındaki fenolik maddelerin tayininde ve yüksek antioksidan aktivitesi göstermesinde ekstraksiyon çözücüsü farklılığı, çalışılan bitki kısmı, kimyasal yapı gibi etkiler gözlenmiştir. Çalışılan üç bitkide de tüm antioksidan metodlarda antioksidan aktivite belirlenmiştir. HPLC ile fenolik madde profili çalışmasında 7 farklı antioksidan bileşik gözlenmiş olup bu sonuçlar spektrofotometrik metodlar desteklenmiştir. Antimikrobiyal etki sonuçlarına göre ise test edilen mikroorganizmalara bitkilerin su ve etil asetat ekstraktlarının etkili olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite yönünden bitkiler genel olarak karşılaştırıldığında antioksidan aktiviteye paralel olarak *S. spicigera* > *A. millefolium* > *P. ferulacea* sıralaması elde edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada tedavi amaçlı kullanılabilen yöresel bitkiler; *S. spicigera*, *P. ferulacea* ve *A. millefolium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların bileşenlerini ayırma için özel işlemler uygulanmaksızın hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

INVESTIGATION OF PHENOLIC PROFILES WITH HPLC AND ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SOME PLANTS

SUMMARY

Keywords: Antioxidant activity, Antimicrobial activity, HPLC, *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss., *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Achillea millefolium*.

Due to the intense interest in natural herbal products that can be used for therapeutic purposes as antioxidants and antimicrobials in recent years, a field of study has emerged about plants whose structures and benefits have not been fully elucidated. In this study, the antioxidant and antimicrobial activities of the plants were investigated. The plants used are Kondar herb, whose Latin name is *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss, which grows on the slopes of Artvin mountain, Casir herb, whose Latin name is *Prangos ferulacea* (L.) Lindl which grows in Artvin Yusufeli and Kunitsa herb, a Balkan origin species of Yarrow *Achillea millefolium* grown in Sakarya. The extracts of the plants were prepared with acetone, methanol, ethyl acetate and water and their antioxidant and antimicrobial activities were determined by different methods. In order to determine the types of plants that cause antioxidant capacity, all of the extracts were analyzed with various methods which DPPH free radical scavenging through the determination, total flavonoid content with aluminum nitrate method, total phenolic content with Folin Cioceltau reagent, copper (II) ion reducing antioxidant capacity determination (CUPRAC), determination of capacity reduction, Iron (II) ions chelating activity assay, and in support of with UV-vis spectroscopy. Antioxidant profile was determined by HPLC (High Performance Liquid Chromatography). The antimicrobial activities of the plant extracts were investigated in vitro against *Bacillus cereus* (SBT8), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Candida albicans* strains using disc diffusion method. According to the results obtained, the difference in the solvent used in the extraction, part of the plant and chemical structures were effective in determining the phenolic substances and high antioxidant activities in the structure of the plants. All plants tested showed antioxidant activity with all methods. 7 different antioxidant compounds were observed in the phenolic compound profile studies performed by HPLC and these results were also supported by spectrophotometric methods. According to the antimicrobial effect results, it was determined that the water and ethyl acetate extracts of the plants were effective on the tested microorganisms. When we compared the plants in general in terms of antimicrobial activity, we obtained the order of *S. spicigera* > *A. millefolium* > *P. ferulacea* herb in parallel with antioxidant activity. As a result, in this study, it was determined that the extracts obtained from *S. spicigera*, *P. ferulacea* and *A. millefolium* plants, which are accepted and used as medicinal plants among the public, showed both antioxidant and antimicrobial activity without any separation process.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Oksijen, canlı organizmaların yaşamsal faaliyetleri için gerekli olan en önemli moleküldür ve eksik indirgenmesi durumunda hücelere zarar veren reaktif oksijen türleri meydana gelmektedir. Organizma; Fiziksel etkenler, solunum, metabolizma, ksenobiyotiklerin otooksidasyonu gibi hücresel koşullardaki kimyasal olaylar nedeniyle çevrede oluşan yan ürünler ve birçok hastalığa eşlik eden stresle birlikte reaktif oksijen türlerine (ROT) sürekli maruz kalmaktadır [1, 2].

Genel olarak potansiyeli en etkili reaktif oksijen türleri, hücrelerde ve dokularda bir hasar zinciri oluşturabilen serbest radikaller olup dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron bulunduran singlet oksijen 1O_2 , süperoksit radikali O_2^- , hidroksilradikali $\cdot OH$, ve radikalik olmayan peroksinitrit $ONOO^-$, hidrojen peroksit H_2O_2 gibi kısa ömürlü reaktif moleküllerdir [3,4]. Antioksidanlar dengeyi bozacak şekilde radikal üretilmesini önleyerek, meydana gelen serbest radikallerin etkilerini en aza indirerek, oksidatif hasarı hafifleterek veya onararak etki gösterir [5]. Bir organizma serbest radikalleri temizleyen endojen veya eksojen antioksidan bileşikler üretilip radikal zincirlerini inhibe ederek kendini koruyabilir. Normal koşullar altında C ve E vitaminleri, glutasyon gibi endojen antioksidanlar bu görevi üstlenirler ancak oksidatif stres koşulları altında genellikle yeterli değildirler [6].

İnsanlar oral uygulama yoluyla; antioksidan konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırabilir ve vücudun savunmasını tam kapasitede tutmak için ihtiyaç duyduğu ek radikal toplayıcıları sağlayabilir [7]. Oral yolla vücuda alınan birçok kimyasal bileşiğin, farklı reaksiyon mekanizmaları ile elde edilen antioksidan aktivitelerine sahip olduğu bilinmektedir. Sentetik antioksidan olarak kabul gören, birçok ulusal otorite tarafından da gıda katkı maddeleri olarak kullanılan; bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütile hidroksitoluen (BHT), oktil gallat (OG), propil gallat (PG) ve tersiyer

butilhidroksikinon (TBHQ) başlıca örneklerdir [8, 9]. Fakat son yıllarda bu bileşiklerin sentetik olmaları sebebiyle tüketicilerce kabul edilebilirlikleri azalmakta metabolizmaları ile ilgili güvenlikleri ve vücut dokularında olası emilim sonucu birikimleri ile ilgili endişeler artmaktadır [10]. Bu nedenle bu endişelerin birçoğunun sentetik antioksidanların gıda ve tıbbi alanlarda genel kullanım için etkili doğal antioksidanlar ile değiştirilmesiyle aşılabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir [11].

Doğal antioksidanlar tohum, yaprak ve gövde başta olmak üzere bitkilerin bütün dokularında bulunmaktadır. Bitkilerdeki doğal antioksidan bileşikleri glutatyonin, karetenoidler, fenoller, flavonoidler, vitaminler ve endojen metabolitleridir [12]. Bitki özütlerinin toplam fenolik madde bileşimi ile antioksidan ve antimikrobiyal özellik göstermeleri arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Fenolik yapılar önemli ve etkili serbest radikal yakalayıcıları olduğundan son 20 yıldır her sektördeki işleme endüstrisi doğal koruyucu olarak fenolik bileşikler içeren bitki özütlerinin kullanımını alternatif olarak önermektedir. [13, 14]. Bu amaçlar doğrultusunda yöresel şifalı bitkiler, meyve ve sebzeler birçok antioksidan bileşik içerdiklerinden ötürü aktivite çalışmalarında çok önem kazanmıştır [15].

Enfeksiyonların tedavisinde ise kullanılan ilaçların sayısı her geçen gün artmaktadır. Araştırmalar; insana en az yan etkili, geniş bir mikroorganizma cinsine az dozlarla etki edecek yeni maddeler üzerinde yoğunlaşmıştır. Fiziksel ve kimyasal çalışmalar doğrultusunda farmakolojik ve teknolojik çalışmalar başta olmak üzere belirli bir yapıya bağlı kalarak elde edilen veya bitkilerden ayrıştırılan yeni maddelerin özel kullanım amaçlarını belirlemek için biyolojik aktiviteler sürdürülmektedir. Bakteriler ve küfler gibi mikropların varlığını azaltma gücüne sahip bileşenlerin antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için biyolojik aktivite araştırmaları yapılmaktadır [16].

Bitkiler canlı organizmalar için geçmişten bugüne kadar antimikrobiyal aktivite çalışmalarında hem besin hem de ilaç kaynakları olmuştur. Bazı tıp uzmanlarınca bitkilerin tedavi edici yararları reddedilse de eski zamanlardan beri insanların herhangi bir rahatsızlıktan ötürü başvurduğu ilk yer bitkiler gibi doğal kaynaklardır. “Alternatif (Tamamlayıcı) Tıp” olarak bilinen bu tedavi çeşidinin olumlu etkileri dikkate değer

olup bu nedenle son yıllarda bitkiler üzerinde yapılan çalışmalara hız verilmiştir [17]. Eski tarih kaynaklarında, hastalıkların tedavisinde bitkilerden yiyecek veya çeşitli ilaçlar hazırlayarak yararlandıkları belirtilmiştir [18]. Son yıllarda mikroorganizmalarda karşılaşılan yüksek antibiyotik direnci ve farklı patojen mikroorganizmaların ortaya çıkmasından dolayı günümüzde araştırmacılar tıbbi bitkilerin antimikrobiyal kapasitelerini araştırmaya yönelmişlerdir [19]. Özellikle batı ülkelerinde mikrobiyal anlamda bitkiler ilaç sanayiinde etkili rol oynamaktadır. Bu önemli rol bitkisel ilaç sanayisinin genişlemesini sağlamış ve çoğu ülkede bitki kaynaklı ilaçların kullanımı artmıştır. Az gelişmiş ülkelerde nüfusun % 80'i tedavi için bitkisel ürünlerden faydalanmaktadır. Orta doğu, Asya ve Afrika gibi bölgelerde bu oranın % 95'e kadar çıktığı ülkeler bulunmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise bu oran az olup Fransa'da % 49, Almanya'da % 40-50, Amerika'da % 42 ve Avustralya'da % 48 olarak belirlenmiştir. Tıbbi bitkilerin en önemli ticaret merkezleri ise kullanım oranının aksine Almanya, ABD, Japonya ve İngiltere'de bulunmaktadır [20].

Bitkilerin insan ve hayvan sağlığı için etkili olabilecek özellikleri ve patojenleri öldürücü etkileri 1920li yıllardan beri uzmanlarca laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır. Dünya sağlık örgütü'nün (WHO) sonuçlarına göre tedavide etkin olarak kullanılan bitkilerin sayısı 60 000'i aşmış durumdadır [21]. Doğada yetişen ve yenebilen tıbbi etkili bitkiler yiyeceklerdeki mikroorganizmalara karşı sahip oldukları antimikrobiyal etki sayesinde antimikrobiyal ajan kaynağı olarak görülmektedirler [22, 23].

Yapılan araştırmalarda antioksidan ve antimikrobiyal içeriği ispatlanmış besinlerin tüketimi sonucu, hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, iyileşme süreçlerindeki yardımlarıyla ölüm oranlarında kayda değer azalmalar olduğu bildirilmiştir [24]. Tüm bu bilgiler doğrultusunda bu çalışmada Türkiye'de yetişebilen ve hastalıklara karşı çeşitli formlarında alternatif şifa amacıyla kullanılan halk bitkilerinden Artvin dağ yamaçlarında yetişen Trabzon kekiği olarak bilinen latince adı *Satureja spicigera* (K. Koch) Boiss olan köndar otu, Artvin Yusufeli de yetişen latince adı *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. olan çadır otu ve Sakarya da yetişen civanperçemi *Achillea millefolium*'nin

Balkanlar kökenli türü kunitsa otu bitkilerinin farklı çözeltilerdeki özütlerinde antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek adına araştırma yapılmıştır.

1.1. Bitkilerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi Hakkında Daha Önce Yapılan Çalışmalar

Doğal antioksidanlar bitkilerin tüm dokularında bulunurken yaprak, gövde ve tohumlarındaki miktarları fazladır. Doğal antioksidanların radikallere karşı etkinliklerinin yanında enzim inhibitörü ve diğer maddeler ile birliktelik göstererek sinerjistik olarak savunmada etkindirler [25]. Bitkilerin tohum, yaprak, çiçek, kök ve kabuk gibi kısımlarının fenolik maddeler yönünden zenginliği ve antioksidan aktivite gösterdiği birçok farklı yayında yer almıştır [26-33]. Fenolik bileşikler özellikle kanser ve koroner kalp hastalıklarındaki ölümcüllüğe karşı koruyucu olma potansiyeli nedeniyle de kapsamlı olarak incelenmiştir [34].

Yapay içerikli maddelerin yan etkilerinin son yıllarda çok fazla artması ve antibiyotik gibi yapay ilaçlara karşı mikroorganizmaların yüksek direnç oluşturmaları doğal bitkisel bileşenlerin önemini daha da arttırmış olup birçok araştırma yapılmıştır. [35]. Bu sayede bitki ekstraktlarının antioksidan olarak kullanımı yanında antimikrobiyal olarak da kullanımı geliştirilmekte ve önerilmektedir [36, 37].

Prangos ferulacea (L.) Lindl bitkisinin İran'da yetişen çeşidinin fitokimyasının ve farmakolojik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada monoterpenler, seskiterpenler, kumarinler, flavonoidler, alkaloidler, tanenler, saponinler ve terpenoidlerin bu bitkide bulunan temel bileşenler olduğu bildirilmiştir. Önceki araştırmalar ise bu bitkinin bazı kısımlarının çeşitlerinin antioksidan özelliklerinin α -tokoferolden (E vitamini) daha yüksek olduğunu ve *P. ferulacea*'nın farklı büyüme aşamalarındaki ana bileşiklerinin monoterpenler, özellikle α -pinen ve β -pinen olduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada bu bitkilerle yapılan antibakteriyel çalışmalarda baharat olarak da kullanılan yaprak bölümlerinin ekstraktının *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermis* ve *P. aeruginosa* gibi gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal özellikleri ortaya konmuştur. Bu araştırmalarda limonen, α -pinen ve humulen gibi bazı bileşiklerin

varlığı bu bitkinin antibakteriyel özellikler sergilemesinin nedeni olarak öne sürülmüştür. Çözücü etkisinin antibakteriyel aktivite ile olan ilişkisinin görüldüğü bir başka çalışma da ise metanol ve etanol ekstraktların aktivitelerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışma bitkinin antiviral, antidiyabetik, antispazm ve analjezik etkilerinin üzerine de genel bildirimler vermiştir [38].

Apiaceae familyasına ait bitki *Seseli tortuosum*'un antioksidan aktivitesi serbest radikal süpürme aktivitesi DPPH, bakır indirgeme gücü CUPRAC ve toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu analizleri ile yapılmış olup özütte toplam fenolik içerik $36,58 \pm 1,30$ mg GAE/g gallik asit eşdeğeri, CUPRAC değeri $0,762 \pm 0,05$ troloks eşdeğeri ve DPPH süpürme aktivitesi değeri $\%69,18 \pm 0,64$ olarak tespit edilmiştir [39].

Kekik türleri ile yapılan bir çalışmada *Satureja spicigera* türünün $\%42,69-51,15$ oranında karvakrol içerenlerinin karvalrol tipi $\%19,6 - 34,6$ timol içerenlerin ise timol tipi olmak üzere iki çeşitte olduğu bildirilmiştir. Bitkinin uçucu yağındaki diğer önemli bileşenler γ -terpinen ($\%3,4-14,7$) ve p-simen ($\%9,1-34,1$) ve metil karvakrol ($\%5,7-21,2$) olarak kaydedilmiştir [40].

Analizlerinde çalışılan bitki kısmının önemi vurgulanan bu çalışmada; Çiçeklenme ve vejetatif olmak üzere iki fizyolojik aşamada hasat edilen *Limonium delicatulum*'un 10 ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri in vitro olarak değerlendirilmiş ve fenolik bileşikleri ters faz yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir. Sonuçlarda çözücü ve fizyolojik gelişim aşamasının fenollerin miktarını ve biyolojik aktiviteyi önemli ölçüde etkilediği görülmüş olup en iyi antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çiçeklenme aşamasında bulunmuştur. Etanol ekstraktları en fazla toplam antioksidan aktiviteye sahipken, aseton ekstraktları en büyük radikal süpürme kapasitesine DPPH ($IC_{50} = 2$ g/mL) sahip metanol ekstraktları ise beta-carotene ağartmasının en iyi inhibisyonuna sahip bulunmuştur. Etanol ekstraktları en yüksek toplam antioksidan aktiviteyi (177 mg gallikasit eşdeğeri/g bitki) ve antibakteriyel aktiviteyi (*Salmonella*'ya karşı 16 mm inhibisyon çapı) göstermiş olup HPLC ile en yüksek miktarda tayin edilen fenolik bileşikler p-kumarik asit ve klorojenik asittir [41].

Achillea millefolium (Asteraceae, civanperçemi) ile yapılan çalışmada su ve etanol özütleri tohum, çiçek ve yapraklardan hazırlanmış olup antioksidan aktivite ferrik tiyosiyanat ve H₂O₂ radikal temizleme analizleri ölçülmüştür. Bitki ekstralarının fenolik bileşenleri ve flavonoid yapıları belirlendiğinde *Achillea millefolium* 'un çiçek, yaprak ve tohumları etkili H₂O₂ radikal süpürme aktivitesi ve lipid peroksidasyon inhibisyonu göstermiştir. Bir bitki için antioksidan aktivitede doğru yaklaşım farklı birçok metodun vereceği sonuçların bir araya getirilip değerlendirilmesi olduğu için çalışma bizim çalışmamızı da desteklemektedir [42].

Lamiaceae familyasına ait Türkiye'de endemik olarak yetişen ada çayı bitki türlerinin 2 cinsinin toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, aseton ve etanol özütleri 8 adet gram pozitif ve 6 adet gram negatif olmak üzere toplam 14 adet standart bakteri suşuna karşı disk difüzyon metoduyla araştırılmıştır. Test sonuçlarında 6 bakteri suşuna karşı hiçbir ekstrenin aktivite göstermediği görülmüş olup zayıf antimikrobiyal aktiviteye sahip olan özütlerden en az birinin diğer bakteri türlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada; Bir bitkinin içerdiği bileşenlere göre her bakteriye karşı farklı aktivite göstermesi bitkiler üzerinde sektörel anlamda yoğun çalışmalar yapılması gerektiğini öngörmüştür.[43].

Fenolik bileşenlerin aydınlatılması amacıyla yapılan çalışmada yaban mersini bitkisinin bileşenlerinin ve antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amaçlanmış olup 15 fenolik bileşen RP-HPLC ile analiz edilmiş ve 7 farklı fenolik bileşiğin varlığı görülmüştür. Çalışmamıza benzer klorojenik asit ve vanilik asit varlığının görüldüğü çalışmada 0,067-7,53 mg/100 g kuru ağırlık (KA) arası miktarlarda sirinjik asit, klorojenik asit, benzoik asit, *protokatekuik* aldehit asit, sinapik asit, *protokatekuik* asit ve vanillik asit tespit edilmiştir [44].

Boyar madde çalışmalarında deri sanayiinde, yapraklarının infüzyonu ile ise özellikle antiseptik olarak ilaç sanayiinde kullanılan boyacı sumağı olarak bilinen *Cotinus coggygia* (Scop.) bitkisine çalışmalarımıza benzer işlemler yapılmış olup ekstraktlarda tayin edilen fenolik bileşenlerin miktarlarının $176 \pm 0,025 - 199,07 \pm$

0,044 mg gallik asit eşdeğeri /g bitki aralığında değiştiği belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktların indirgeme kapasiteleri DPPH; çalışmamıza benzer çözücü etkisine göre metanol > su ≥ aseton şeklinde sıralanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile en yüksek antimikrobiyal aktivite su özütünde görülmüş olup ve en hassas bakterinin *Staphylococcus aureus* olduğu belirlenmiştir [45].

Farklı çay ekstraktları ile yapılan bir çalışma da taze çay yaprağı ve yeşil çay yaprağından elde edilen özütlerde en yüksek verim (78,8-169,5 mg taze çay/g kuru çay, 11,8-88,5 mg yeşil çay/g kuru çay) ham ekstraktlarla elde edilmiştir. Ham ekstraktlar ve etil asetat özütleri *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* üzerinde antibakteriyal aktivite göstermiştir. Buna karşın su özütleri incelenen bakterilerde herhangi bir aktivite göstermemiştir [46].

Kapadokya bölgesinde yetişen çalışmamız bitkisi *S. spicigera* ile aynı familyadan olan tür *Thymus sipyleus* ile *Globulariaceae* familyasına ait *Globularia trichosantha* ve *Globularia orientalis* bitkileri kullanılarak 8 farklı metot ile antioksidan aktivite çalışmaları yapılmış olup çalışılan 3 bitkinin de antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu bitkilerin 10 farklı bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmış olup bakteriler üzerinde en iyi sonucu *Thymus sipyleus* bitkisi verirken *Candida albicans* bakterisinin bu bitkilerin hiçbirine duyarlı olmadığı görülmüştür [47].

Şerbetçi otu, *Humulus lupulus*'un yaprakları ve kozalakları farklı şehirlerde yetiştirilmiş ve analiz edilmiştir. Yaprak ekstraktları fenolik bileşikleri kafeik asit eşdeğeri cinsinden 0,099-0,542 mg CAE/mL kozalak ekstraktları 0,738 – 1,734 mg CAE/mL gözlenmiş olup DPPH aktivitesi yapraklarda kozalaktan daha yüksek gözlenmiştir. Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ile gram negatif *Escherichia coli* ile antimikrobiyal çalışmaları yapılmış olup iki bakteriye karşı da duyarlı oldukları tespit edilmiştir [48].

Yabani iğde cinsi *Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.)*'in HPLC ile fenolik madde profili çalışmasında; $319,33 \pm 7,02$ mg/g gallik asit yanında rutin, kuersetin,

mirisetin, kaempferol and isorhamnetin fenolik bileşikleri ise 1,551–196,89 mg/g değerleri arasında tespit edilmiştir. *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı disk difüzyon yöntemi ile aktivite gösterdiği belirtilmiştir [49].

Datura metel L. Boru çiçeğinin kuru ve taze yaprakları ile yapılan çalışmada; Kuru yaprak ekstraktları DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) indirgeme aktivitesi sonuçları bütanol > kloroform > etil asetat > metanol > hekzan ekstrakt sıralaması taze yaprak ekstraktları ise metanol > hekzan > kloroform > etil asetat > butanol sıralaması göstermiştir. Metanol ekstraktı kuru ve taze yaprakları gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı aktivite göstermiştir [50].

1.2. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında; halk arasında şifa amaçlı kullanılan *S. spicigera*, *P. ferulacea* ve *A. millefolium* bitkilerinin metanol, aseton, etil asetat ve su ekstraktlarının Folin Ciocalteu(FCR) metodu ile toplam fenolik bileşenleri , Alüminyum nitrat metodu ile toplam flavonoid bileşenleri, DPPH serbest radikal giderici etkisi, Bakır (II) iyonu indirgeme gücü (CUPRAC), Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi son olarak İndirgeme kapasitesinin spektrofotometrik UV yöntemi analiz edilmesi ve antioksidan profilinin HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi) ile desteklenmesi ve disk difüzyon metodu kullanılarak ekstraktların *Bacillus cereus* (SBT8), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Candida albicans* suşlarına karşı *in vitro* ortamda antimikrobiyal etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri

Bitkilerin insan yaşamında yadsınmaz bir rolü vardır. Sebze olarak tüketilen birçok bitkinin yanı sıra halk arasında tedavi edici amaçlarıda kullanılan bitkiler bulunmaktadır. Çalışmamızda kullanılan Artvin dağ yamaçlarında yetişen Trabzon kekiği olarak bilinen latince adı *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss olan köndar otu, Artvin Yusufeli de yetişen latince adı *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. olan çaşır otu ve Sakaryada yetişen civanperçemi *Achillea millefolium*'nin Balkanlar kökenli türü kunitsa otu yöresel olarak tedavi için kullanılan bitkilerdir. Tablo 2.1.'de bitkilerin latince adları ve ait oldukları familyaları verilmektedir.

Tablo 2.1. Çalışma bitkileri

	Latince ismi	Familya	Bitki kısmı
Köndar otu	<i>Satureja spicigera</i> (K.Koch) Boiss	<i>Lamiaceae</i>	Yaprak
Çaşır otu	<i>Prangos ferulacea</i> (L.) Lindl.	<i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>)	Gövde
Kunitsa Otu	<i>Achillea millefolium</i>	<i>Compositae</i>	Yaprak

2.1.1. *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss



Şekil 2.1. *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss

Şekil 2.1. 'de verilen Artvin dağ yamaçlarında yetiştikten sonra toplanan ve hastalıklara karşı çeşitli formlarda şifa amaçlı kullanılan halk bitkilerinden latince ismi *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss olan Trabzon kekiği; Artvinde ‘‘Köndar’’ olarak bilinir ve çok yıllık *Lamiaceae* ailesi *Satureja* türünde bir bitkidir [51].

Kekiğe benzerliği ile bilinen daha keskin kokulu bu bitkiyle ilgili çalışmalar az olup çeşitli formlarında halk tarafından geleneksel şifa yöntemi olarak midenin kaslarının rahatlamasına yardımcı olduğu düşünülerek kronik gastrit, iştahsızlık, hazımsızlık, aşırı duyarlı bağırsak ve kolik gibi gastrointestinal problemleri hafifletmek için kullanılmaktadır. Artvinde neredeyse yemeklerin tümüne yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı çeşni olarak eklenen köndarın antioksidan ve antibakteriyel etkileri bu geleneksel yöntemleri desteklemesi amacıyla araştırılmıştır.

Lamiaceae ailesine ait bitkilerin güçlü antioksidan özellik gösteren bileşikler yönünden zengin olduğu bilinmektedir [52-55]. Kekik ve vahşi kekik antispazmotik ve balgam söktürücü ilaç içeren şifalı otlar olarak kabul edilmektedir [56]. Bazı bitkilerin virüs, mantar, protozoa ve bakteriye karşı antibakteriyel özellikleri nedeniyle çok sayıda uçucu yağ ve bunların bileşenleri araştırılmıştır.

Kekik, nane, tarçın, kimyon ve karanfilin esans yağları çoğu test edilenler arasında güçlü antimikrobiyal özellikler göstermiştir. Çoğunun hastane içi enfeksiyonları öne çıkaran mikroflorya karşı geniş bir antibiyotik aktivite spektrumuna sahip olması antibiyotik tedavisinde enfeksiyon giderimi için değerli bir yardımcı yapar. [57-62]. Hastalıklara karşı kullanım kürleri farklı ve özeldir kullanılmalarına dikkat edilmelidir.

2.1.2. Prangos ferulacea (L.) Lindl



Şekil 2.2. *Prangos ferulaceae (L.) Lindl.*

Şekil 2.2.'de verilen Yusufeli'de yetiştikten sonra toplanan ve hastalıklara karşı çeşitli formlarda tedavi edici olarak kullanılan latince ismi *Prangos ferulacea* olan çasır bitkisidir. Türkiyenin önemli bir merkezi olduğu *Apiaceae* familyasına ait *prangoslar* çok yıllık bir cinstir. *Prangos* cinsi, 17 tür içeren 21 taksonla temsil edilir ve Türkiye florasında bulunan 10 taksonu endemiktir [63]. *Prangos ferulaceae (L.) Lindl.* Türkiye'nin kuzey ve güney Anadolu Bölgelerinde doğal olarak yayılır [64]. Yaprakları dere otunu andıran çok ağır kokulu bitkiye bu bölge yörelerinde 'çasır' adı verilmektedir [65]. Bu tür dünyada pek çok ülkede tıbbi bitki olarak kullanılmış ve önceki yıllarda yapılan araştırmalar *P. ferulaceae* ekstrelerinin çeşitli oranlarda antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [66]. Bu bitkinin ana bileşikleri monoterpenler olup %65'i özellikle α ve β -pinen kaynaklılarıdır [67].

Yusufeli yöresinde ilkbaharda çasır bitkilerinin 10-20 cm lik taze fidanları tüketilmektedir. Çoğunlukla suda haşlanıp yenilmekte ya da tuzlu suda bekletilip salata malzemesi olarak tüketilmektedir. Gıda tatlandırıcısı ve katkı maddeleri olarak da kullanılmaktadır. *P. ferulaceae* bitkisi halk arasında kadın hastalıklarında (rahim enfeksiyonları, doğum esnası), soğuk algınlığını giderici olarak, romatizmal rahatsızlıkların tedavisinde, kan basıncı düzenlemede ve öksürük tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda H1N1 virüsüne karşı antiviral aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [68].

Kurutulmuş kök kısmı toz halinde bal ile karıştırıldıktan sonra afroditide olarak tüketilir. Özellikle bitkinin gövde ve köklerinden sindirim bozuklukları tedavisinde yararlanır. Yaraların iyileşmesinde ve kanamaların durdurulmasında faydası çokça görülmüştür [69]. Hastalıklara karşı kullanım kürleri farklı ve özeldir kullanılmalarına dikkat edilmelidir. *Apiaceae* familyasına ait bitkiler yapılarında uçucu yağ ithiva ettiklerinden eski zamanlardan beri ilaç ve baharat olarak kullanılmaktadır [70]. *P. ferulaceae*'nin de çeşitli (meyve, çiçek, yaprak, gövde) bölgelerinden yağ elde edilir. *Prangos*'un esansiyel yağları ile ilgili önceki çalışmalar kullanılan organlara bağlı olarak verim %0,2- %1,1 arasında değişim göstermiştir [71-73]. Uçucu yağlar da kimyasal bileşimleri sayesinde antifungal, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahiptir [74].

2.1.3. *Achillea millefolium*



Şekil 2.3. *Achillea millefolium*

Bilinen 250'yi geçen türü olan Civanperçemi, *Achillea millefolium* Bileşikgiller (*Compositae*) familyasına ait *Achillea* alt grubunun en yaygın yetişen ve tüketilen türdür [75]. Şekil 2.3.'de verilen Balkanlarda yetişen türlerine kunitsa (kunica) dendiği gibi birçoğu yöresel olarak çeşitli şekilde adlandırılıp kullanılan Civanperçemi bitkisinin Türkiye'de de 40 kadar türü bulunmaktadır [76]. Güneşin çok etkili olduğu bölgelerde azotça zengin nem oranı az topraklarda bolca yetişirler. Bulunduğu yerden çevresine kısa sürede yayılırlar. Tüylü ot 10-130 cm boyunda yükselen, dolu gövdeli, ilkbahar-yaz arası yeşilden sarımsı yeşile dönen renkte yaprakları olan çiçekleri oldukça küçük bir bitkidir. Kunitsa otunun gövde,yaprak ve çiçek bileşimlerinde antioksidan özellik gösteren apigenin, luteloin, kuersetin ve rutin bulunur [77].

Alternatif tıpta antimikrobiyal, antispazmodik ,astrenjan, karminatif , diyaforetik , sindirimi kolaylaştırıcı, uyarıcı, tonik ve vazodilatör olarak kullanılır [78]. Düzenli şekilde tüketilen çayı ile migren hastalığına iyi geldiği ve kemik iliğindeki kan üretimini düzene soktuğu yapılan araştırmalarda görülmüştür [79]. Hastalıklara karşı kullanım kürleri farklı ve özeldir kullanılmalarına dikkat edilmelidir.

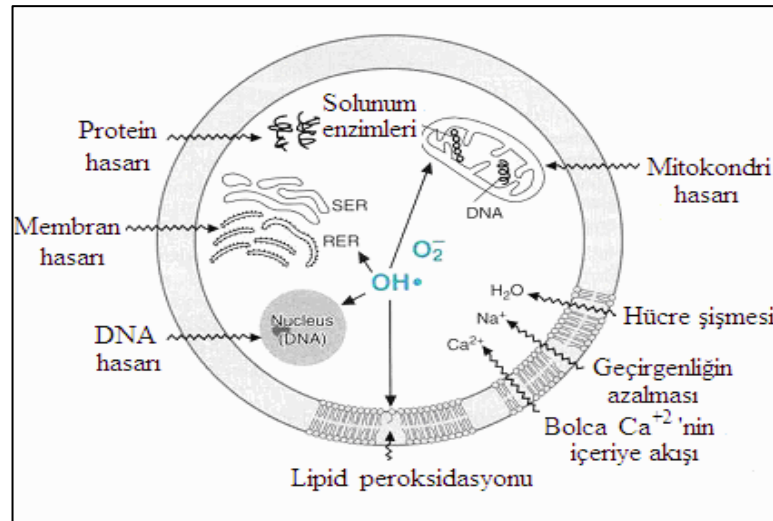
2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip ve genellikle elektriksel açıdan yüksüz son derece reaktif atom ya da moleküller olup iyonlar ve uyarılmış moleküllerin ayrılmaları sonucunda oluşurlar [80]. En basit serbest radikal birer proton ve elektron bulunduran hidrojen atomudur ve ortaklanmamış elektronlar atom veya molekülün üst kısmında konulan bir nokta ile gösterilir. Hücrede (iç-dış) çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar sonucu sürekli olarak serbest radikal yapımı vardır.

Serbest radikaller kovalent bağların homolitik kırılması, molekülün elektron kaybetmesi veya moleküle elektron transferi ile atom veya molekül dış orbitallerinde ortalanmamış elektronların bulunmasıyla meydana gelir. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller elektron transferleri ile negatif yüklü, pozitif yüklü veya nötral olarak oluşabilirler [81]. Serbest oksijen radikalleri ile birlikte en önemli radikaller karbon, azot, kükürt türevi olanlar ve inorganik moleküllerdir [82].

Oksijen içeren bir ortamda metabolik reaksiyonlar neticesinde fiziksel ve kimyasal etkilerle oksijen radikali meydana gelir. Biyolojik sistemlerde gözlenen en önemli serbest radikal oksijen radikali , okside edici etkilere sahip oksijen türlerini ve bazı radikal olmayan bileşikleri içeren ve reaktif oksijen türleri (ROT) adı verilen oluşumlardır. Reaktif oksijen türleri, merkezinde oksijen olan radikaller (süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), akloksil radikali (RO^{\cdot}), peroksil radikali (ROO^{\cdot}) ve oksijen merkezli radikal olmayan türler (hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijendir (O_2)) olarak iki sınıfa ayrılırlar [83]. Nitrik oksit (NO^{\cdot}), nitrik dioksit (NO_2^{\cdot}) ve peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) gibi azot türleri ise diğer reaktif türlerdir. [84-85].

Bağışıklık sistemi hücrelerinin savunma mekanizmasında serbest radikal reaksiyonları gerekli olsa da, serbest radikallerin artan miktarı doku hasarına hatta hücre ölümüne neden olmaktadır [86]. Serbest radikaller, şekil 2.4.'de verildiği üzere hücrelerin karbonhidrat, DNA, protein ve lipitler gibi tüm metabolik bileşiklerine etki ederler ve yapısal bozulmalarını gerçekleştirirler. (.) [87]. Tütün ürünleri, alkol, virüsler, lipit(yağ) metabolizması ürünleri, güneş ışınları, X ve kozmik ışınlar, fabrika-sanayi atıkları, egzoz gazları, ozon, ağır metaller, kirli hava ve su gibi etkenlerle de serbest radikallerin oluşabildiği bilinmektedir [88]. Bunların yanında stres (katekolamin artışıyla katekolamin oksidasyonu) ,aktif fagositler ve sitotoksikler gibi biyolojik olarakda serbest radikaller üretilir. Günümüzde serbest radikaller kanser başta olmak üzere kardiyolojik hastalıklar, yaşlanma, akciğer ve karaciğer hastalıkları, immun sistem hastalıkları, nörolojik hastalıklar, ürolojik hastalıklar ateroskleroz, hipertansiyon ve göz hastalıkları gibi pek çok hastalıktan sorumlu ajanlar olarak görülmektedir [89].



Şekil 2.4. Serbest radikallerin. hücresel etkileri [90]

Günümüzde serbest radikaller tıp, biyoloji ve ilaç sanayinde organizmada oluşturdukları hasarlar sonucunda gittikçe artan yoğun bir etkiye sahiptirler. Özellikle son 25 yıldaki çalışmalar sonucunda organizmayı reaktif oksijen türleri etkisi sonucu oluşan hasara karşı korudukları için antioksidanların önemi vurgulanmıştır. Gıda endüstrisinde lipit peroksidasyonunun serbest radikalik reaksiyonları, prosesler

esnasında karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir ve üretimde antioksidan bileşiklerin kullanılmasıyla lipit yapılı gıdaların oksidasyonunu engellemeyi amaçlarlar [90].

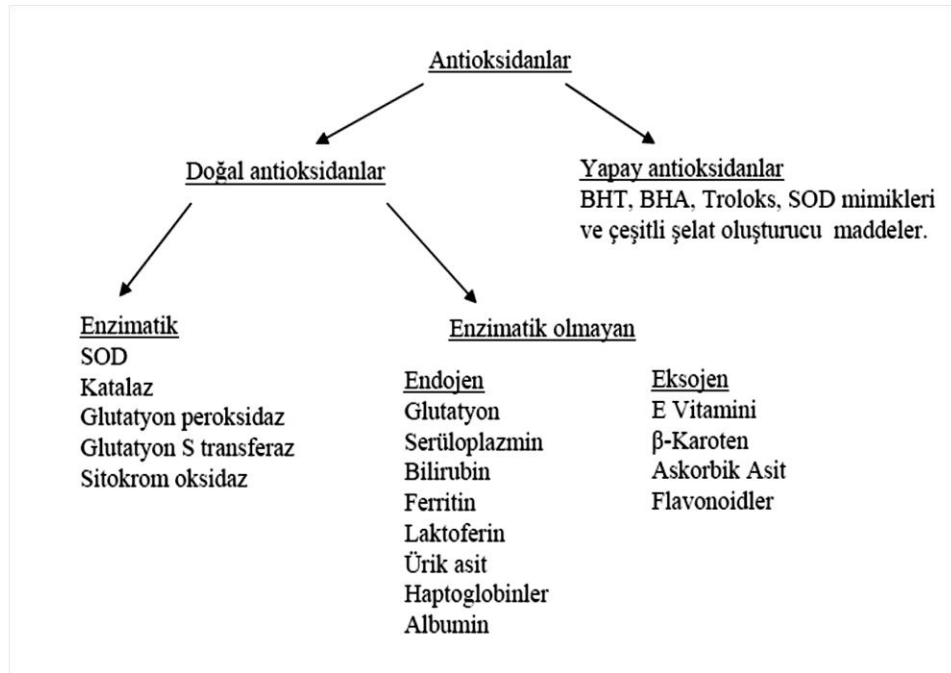
2.3. Antioksidanlar

Organizmada metabolik süreçte serbest radikaller oluşmakta ve hücrel savunma mekanizmaları ile antioksidanlar sayesinde belirli bir dengede ortadan kaldırılmaktadırlar. Dengeyi bozacak oksijen miktarına maruz kalma, metabolize olan toksik maddeler, patojen maddelere karşı düzensizlikler, diyetle antioksidan etkili bileşiklerin yetersiz alımı sonucu oluşan malnütrisyon gibi sebeplerle dengenin serbest radikal üretimi tarafının artması sonucu bozulmasıyla “oksidatif stres” meydana gelir [91]. Oksidatif stresi, reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana gelişini ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak bilinen bu sistemler metabolizma dengesi için çok önemlidirler. Antioksidan savunma mekanizmaları farklı şekillerde etkisini göstermektedir. Bu mekanizmalar:

1. Bozulan hücre yapısının onarılması
2. Detoksifikasyon (oluşan radikallerin temizlenmesi)
3. Radikal ürünlerin üretimini önlenmesi
4. ikincil radikal oluşturan zincir reaksiyonlarının durdurulması
5. Hücre içi antioksidan kapasitesinin artırımı şeklindedir [80].

Antioksidanların sınıflandırılması farklılıklar görülmektedir. Endojen (hücre içi,doğal) ve eksojen(hücre dışı) antioksidan veya enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar şeklinde sınıflandırmalar da vardır. İnsan vücudundaki antioksidan savunma sisteminin başlıcaları; ferritin, albümin, laktoferrin, seruloplasmin gibi metal iyonlarını bağlayabilen proteinler, enzimler ve çözünebilen (su ve yağda) radikal tutucularıdır [81]. Aşağıdaki Tablo 2.2.’de antioksidanların temel çeşitleri özet şeklinde verilmiştir [80].

Tablo 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması



Organizmamızda doğal olarak bulunan antioksidan bileşiklerin yanı sıra beslenmemizin önemli bir kısmını oluşturan meyve ve sebzeler ile de dışarıdan antioksidan bileşikler alabiliriz. Bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin temel kaynağını oluşturmaktadır [92]. Baharat ve çay olarak kullanılan bitkisel bileşikler, meyve ve sebzeler ve yağlı tohumlar yapılarında bulunan antioksidan bileşikleriyle pek çok çalışmaya konu olmuş ve antioksidan özelliklerinin fenolik bileşiklerden ve özellikle de flavonoidler yapısından kaynaklandığı belirtilmiştir [93].

Beslenme ile alınan taze sebze ve meyvelerin hastalıklara karşı koruyucu ve vücudu destekleyici etki gösterdiği bilinmektedir. Sebze ve meyvelerin yapılarında bulunan askorbik asit, selenyum, β -karotenoidler, glutasyon, fitosteroller, flavonoidler, kumarinler, fenolik asitler, izotiyosiyanatlar ve α - tokoferoller gibi antioksidan özellikli bileşenler sayesinde koruyucu etki gösterdikleri düşünülmektedir. Antioksidan yapılu maddeler kanser hücresi yapıcı nitrozamin oluşumunu durdurmak, oluşan radikallerin temizlenmesinde (detoksifikasyon) gerekli enzimleri indüklemek, kanser yapıcıları (karsinojen) bağlamak gibi çeşitli mekanizmalarla antioksidan aktivite gösterirler [94]. Sebze ve meyvelere uygulanan klinik çalışmalarla içerdikleri fitokimyasalların; bazı kanser türlerinin oluşma riskini azalttığı, immuniti, diyabet,

obesite sorunlarının, kardiovasküler hastalıkların, romatolojik hastalıkların ve yaşlanma ile oluşan metabolizmal sorunların önlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir [95, 96].

Organizmada etkinliklerini hücre içinde gösteren yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksidin (H_2O_2) dismutasyonundan sorumlu katalaz (KAT), süperoksit radikallerinin dismutasyonundan sorumlu süperoksit dismutaz (SOD, substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim) ve hücre içi (endojen) sistemde düşük konsantrasyonda oluşan peroksit ürünlerinin (R_2O_2) dismutasyonundan sorumlu glutatyon peroksidaz (GPx) enzimatik antioksidanlardır [97,98]. Glutatyon aminoasitleri hücre içine taşınması yanında çeşitli metabolik fonksiyonları olan suda çözünen önemli bir antioksidan olup askorbat, hidrojen peroksit, disülfidler ve serbest radikalleri indirgeyebilir ve böylece hücreleri (eritrosit membranları lökositleri ve lens proteinlerini) oksidatif hasara karşı korur [99]. Glutatyon yanı sıra albümin, bilirubin, ferritin, ürik asit, seruloplazmin, hemoglobinde endojen kaynaklı enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak verilebilir.

İndirgeyici özellikte hücrenel ajan olan polifenol yapılı maddeler, E vitamini (zincir kırıcı antioksidan etki gösteren α - tokoferol) , C vitamini (askorbik asit) ve A vitamini (radikal toplayıcı etkisi bulunan β -karoten) gibi moleküller insan ve hayvan organizmasında kendiliğinden oluşamayan bitkiler tarafından ikincil metabolit olarak üretilen maddelerdir. Bu hücrenel ajanlar radikallerin temizlenmesinde ve zincir reaksiyonlarının durdurulmasında etkili birer antioksidan maddeler olup varlıklarını enzimatik olmayan yolla sürdürürler [80].

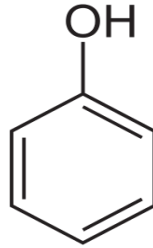
Gıdaların imalat prosesi sırasında en çok karşılaşılan sorun lipid oksidasyonudur ve oksidasyon sonucunda oluşan yağlarda acılaşıma (ransidleşme), yağ içeren diğer gıdalarda kıvam, tat (aroma), renk bozulmaları besinsel gıda kalitesinin azalmasına neden olmaktadır. Gıda endüstrisi için lipid oksidasyonunu önlemek veya azaltmak, toksik oksidasyon ürünlerinin oluşmasına izin vermemek, kalite devamlılığı ve son kullanma tarihlerini (SKT) uzatmak amacıyla antioksidan kullanımı gereklidir [93]. Günümüzde en yaygın kullanılan sentetik oksidanlar propil gallat (PG) ,bütillenmiş

hidroksianisol (BHA), t-bütül hidrokinon (TBHQ) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) antioksidanlarıdır [8,9].

Paketli market ürünleri ve işlem görmüş gıdaların tüketilmesi ile bu gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan sentetik antioksidanların vücuda girişi sağlanır. Sentetik antioksidanların ve meydana getirdikleri yan ürünlerin hastalıklara sebep olduğunu ortaya koyan çalışmaların olması nedeniyle doğal bitkisel kaynaklardan ,sentetik antioksidanların yerini alabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmaların sayısı artarak önem kazanmıştır [100, 101]. Sentetik antioksidanların insan sağlığı açısından tehlike oluşturduğunu gösteren çalışmalar üzerine günümüzde tüketicide organik adı altında doğal ürünleri tercih eder olmuştur. Bu nedenle de araştırmacıların tüketiciyi desteklemek adına da sentetik antioksidanların yerine geçebilecek doğal antioksidanlara karşı ilgisi artmıştır Ar-Ge çalışmaları önem kazanmıştır. Araştırmacılar tarafından doğal bitkisel kaynakları incelemekte ve bu kaynaklardan elde edilecek doğal antioksidan bileşiklerin gıdaların işleme prosesi sırasında sentetik antioksidanlar yerine gıdalara katkı sağlaması hedeflenmektedir [102, 103].

Antioksidanların en önemli grubunu suda çözünebilen fenolik yapılu maddeler (fenolik antioksidanlar) oluşturmaktadır. Meyve ve sebzelerde yüksek oranda bulunan fenolik bileşiklerin sağlık üzerine pozitif etkileri söz konusudur. Bitkilerin yapısında olan fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesini gösteren çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar bu bileşenlerin önemini daha da artırmıştır. Bu bileşenler özellikle patojenler olmak üzere iç ve dış zarar verici koşullara karşı immun sistemde koruyuculuk sağlarlar [104].

Şekil 2.5.'de verilen fenol yapılu bileşikler bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan ve antioksidan yapıdaki ikincil metabolitlerdir. Aromatik zincir halkasına bağlı bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubu içeren fenol yapılu bileşikler genellikle suda çözünür ve yapılarındaki farklılıklara rağmen polifenoller olarakta adlandırılırlar [105].



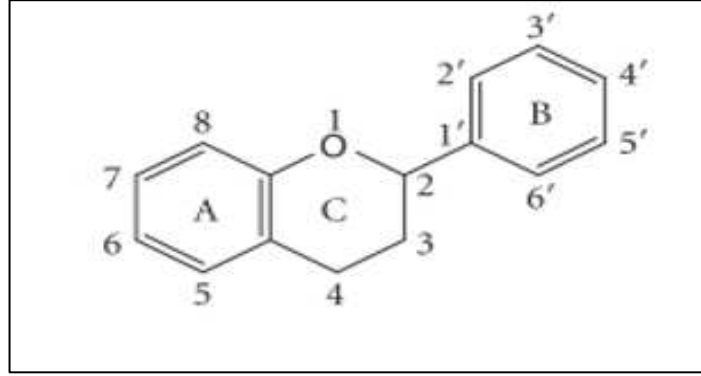
Şekil 2.5. Fenol

Fenolik yapılı bileşikler fenolik asitler; stilbenler (resveratrol), hidrokisisinamik asitler (kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit) ve hidrokisibenzoik asitler (gallik asit, siringik asit, total galatlar), flavonoidler; lignin, İzoflavonoidler, kumarinler, tanninler flavanoller (kateşin, epikateşin, epikateşin galat, epikateşin-3-gallat), flavonoller (kuersetin, kaemferol, kuersatagetin), flavonlar (rutin, apigenin, luteolein), flavononlar (mirisetin, naringin, naringenin) ve antosiyaninler olmak üzere temel olarak ikiye ayrılır. Fenolik yapılı bileşiklerin besinlerde kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir [106].

Fenolik bileşiklerin yapıları serbest radikal temizleme ve metal iyonu şelatlama özelliklerinin oluşmasında etkindir ve fonksiyonel grupla bağlı olan hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonunun antioksidan özellik göstermeleri ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan madde olarak etkinlik göstermeleri, fenolik bileşenli doğal ürünlerin çeşitli proses sistemine girmesini ve araştırma ve geliştirme (ARGE) çalışmalarında kullanılmaya başlamasını sağlamıştır. Bu fenolik yapılı bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip oldukları ve bu sayede kolesterol düzeylerinde, iskelet sistemi üzerinde ve özellikle de antikanserojen olarak etkili oldukları tıp alanında pek çok çalışmada rapor edilmiştir. Fenolik bileşiklerin sadece antioksidan özellikleri ile değil antimikrobiyal özellikleri ile istenmeyen bakteri enfeksiyonlarını inhibe edebileceği yönündeki görüşlerin artmasıyla bu konuyu desteklemek amacıyla da çokça çalışma yapılmaktadır [107].

Şekil 2.6.'da görülen flavonoidler fenolik bileşiklerin iki temel grubundan biridir ve renksiz flavonoidlerinde doğada bulunmasına rağmen bitkisel pigmentler olarak

bilinirler. Son 20 yıla kadar 6000 kadar alt birimi saptanmış olup renkli flavonoid pigmentleri birçok meyve sebzenin renginden sorumludur. Flavonoid alt grubunun önemli bir birimi olan antosiyaninler önemli antioksidan maddeler içerirler ve bitkilerin meyve, yaprak ve çiçeklerine karakteristik rengini veren pigment maddeleridir [108].



Şekil 2.6. Flavonoidlerin genel yapısı

Doğal antioksidanların birçoğu özellikle de flavonoidler farklı biyolojik etkilere sahiptirler. Meyve ve sebze gibi doğal kaynaklı besinlerin kullanımıyla kalp damar hastalıkları ve kanser hastalıkları arasındaki ters orantı içerdikleri flavonoidlerden kaynaklandığı rapor edilmiş olup içeriğinde kuersetin bulunan meyve ve sebze (örneğin; elma ve soğan) tüketimi arttığında koroner kalp rahatsızlıkları riskinin azaldığı görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada ise kuersetin ve mirisetin gibi flavonoid yapılı bileşiklerin artan tüketimi ile toplam kolesterol ve kötü kolesterol (LDL) konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür [109-111].

2.4. Antimikrobiyal Maddeler

Günümüzde enfeksiyonel hastalıkların tedavisi etken mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılık analizi sonuçlarına göre enfeksiyon etkeninin duyarlı olduğu en uygun antimikrobiyal ile yapılır. Bitkiler ve bitkisel kaynaklı ilaç hammaddeleri ilaç sanayiinde tedavi için kullanılan ilaçların çok büyük bir kısmını oluşturur. [112]. Gerek aromatik gerekse tıbbi bitkilerden elde edilen özütlerin antimikrobiyal etkilere sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle bakterilerde gelişen antibiyotik dirençliliğinin önüne geçmek için ilaçlar yerine veya ilaçlara yardımcı olarak bitkisel ürünlerin antimikrobiyal olarak kullanılmaları önerilmektedir [113]. Uygun ortam koşullarında yapılmış olan çoğu çalışmada çeşitli bitkilerden elde edilmiş özütlerin antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir [114].

2.4.1. Antimikrobiyal maddelerin özellikleri

Antimikrobiyal maddeler başta bakteri ve küfler olmak üzere mikropların gelişimini engelleyerek bunlara karşı direnç gösterir ve mikropların hastalık edici özelliklerine karşı canlı metabolizmasını korurlar. Antimikrobiyal maddeler etkinlik gösterebildikleri mikroorganizma tür-cins sayısının az ya da çok olmasına göre dar ya da geniş spektrumlu şeklinde tanımlanır. Hastalık enfeksiyonuna neden olan mikroorganizma üzerine etkili ve tedavide ideal olan maddeler en dar spektrumlu olan antimikrobiyal maddelerdir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler ise konak canlıının doğal bağışıklığı için çok önemli olan ve yaşamsal dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozmasına rağmen çok sayıda patojenin aynı anda etkili olduğu enfeksiyonlarda kullanılır [115].

Bakteri ve mantar türleri tarafından oluşturulan mikroorganizmalara etki gösteren, mikroorganizmaları öldüren mikrobisidal maddeler ve mikroorganizmaların üremesini durduran mikrobistatik maddeler antibiyotikler olarak bilinir. Antibiyotiklerle benzer özellik gösteren kimyasal yolla sentez edilen tamamiyle sentetik olan maddelere de kemoterapötik denir [80, 115]. Antibakteriyel maddeler bakteriler üzerine protein sentezi inhibisyonu (mikrolit antibiyotikler, amino glikozitler, tetrasiklinler), hücre

duvarı sentezi inhibisyonu (beta-laktamlar , penisilinler, glikopeptidler), sitoplâzma zarının yapısının bozulması (kolistin ve polimiksinB), nükleik asit işleyişinin bozulması (nitrofurantoin , kinonlar, rifampisin), metabolizmanın kimyasal yapılardaki benzerlik sayesinde bozulması (trimetoprim/sulfametoksazol, sulfonamidler, trimetoprim) olmak üzere beş farklı şekilde etki eder [80].

2.4.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

2.4.2.1. *Bacillus cereus*

İnsanlar ve hayvanlar için patojen olup su, toprak, süt gibi ortamlarda bulunan hareketli basillerdir. Gram-pozitif, kapsülsüz, santral yada subterminal yapılı sporlu, aerob ve seçmeli (fakültatif) anaerob basillerdir. Üreme hücreleri (sporlar) pastörilizasyon gibi ısı işlemler esnasında dayanıklı olduğundan özellikle süt ve süt ürünlerinde önemlidir. Kan zehirlenmesi (sepsis), besin zehirlenmesi,göz enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, beyin kanaması, akciğer ve karaciğer apsesi, pnömoni gibi hastalıklara yol açabilir [116, 117].

2.4.2.2. *Staphylococcus aureus*

Sıcakkanlı hayvanlar ve insanda patojen olan koagülazı pozitif, kapsülü olmayan, hareketsiz, sporsuz ve gram pozitif stafilokok bakteri türüdür. *S. aureus*'un içerdiği sıcağa dayanıksız ekzotoksinler makrofaj, eritrositler, trombosit ve lökositler ve gibi çok sayıda hücreyi etkiler. *S. aureus*, toksik şok sendromu (TŞS), bakteriyel endokardit, tromboflebit (ven iltihabı, flebit), deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, solunum sistemi enfeksiyonları, besin ve kan zehirlenmesi, eklem enfeksiyonları, osteomyelit (kemik iltihabı), pnömoni, menenjit, ve bakteriyemi gibi hastalıklara yol açabilen dayanıklı bir bakteri türüdür. [116-118].

2.4.2.3. *Escherichia coli*

İnsan ve hayvan gastrointestinal sistemin tüm floralarında bulunabilen *E. coli* doğada toprak ve suda bulunur. Koli basili de denilen hareketli bakteri gram negatif, endospor oluşturmeyen, kapsüllü, laktozu asit ve gaz ile fermente eden, pastörizasyon veya kaynatma ile ölebilen basillerdir. idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, sepsit (kan zehirlenmesi) ve ishal gibi hastalıklara yol açabilirler [116, 117].

2.4.2.4. *Candida Albicans*

Candida albicanslar maya tipindeki mantar türleri olup *Candida* cinsine ait türler içinde en yaygın görülen mantar enfeksiyonu albicanslara aittir. Eşeyli çoğalan diplot bir türdür ve sağlıklı yetişkin bireylerin %45'inin ağız florasında, sağlıklı kadınların %20-30'unun vajen florasındaki varlığı bilinmektedir. Memelilerin bağırsaklarının da flora üyesi olan *Candida* oluşabilecek enfeksiyonların temel etkenidir [119, 120]. Bağırsak florasının önemli bir mikroorganizması olan *E.coli*, patojenitesi yüksek olduğundan en az bulunması istenen fakat flora içi denge için de olmazsa olmaz bir bakteridir [121, 122].

Migren, kas ve eklem rahatsızlıkları, idrar yolu enfeksiyonları, ishal, karaciğer enzimlerinde (ALT, AST) artış, pankreas enzimlerinde azalma, kilo kontrolü sorunlar, diş ve dişeti hastalıkları, kronik yorgunluk, uyku bozukluğu, enerji eksikliği, depresif tükenmişlik hissi, huzursuzluk, kronik ağrı tabloları, dolaşan ağrılar, fibromiyalji, cilt hastalıkları, üriner sistem hastalıkları, çocuklarda hiperaktivite, öğrenme ve davranış bozuklukları, iştahsızlık, tekrarlayan otit ve enfeksiyon hastalıklarına yol açabilirler [123, 124].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyalleri

Tez çalışmasında kullanılan *S. spicigera*, *P. ferulacea* ve *A. millefolium* bitkileri hasat zamanlarında temin edildikten hemen sonra stok çözeltileri hazırlanıp kalan bitki ve stoklar derin dondurucuya kaldırılmış -30°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan standart mikroorganizmalar Kocaeli Üniversitesi Biyokimya bölümü ve Sakarya Üniversitesi Biyoloji bölümünden temin edilmiştir. Bitkilerden antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmek amacıyla metanol, etilasetat, aseton ve su özütleri hazırlanmıştır. Bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivite özelliklerini belirlemek için *Bacillus cereus* (SBT8), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) patojen standart bakteri suşları ile *Candida albicans* (ATCC 10231) adlı maya kullanılmıştır.

3.3. Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan analitik saflıktaki kimyasal maddeler ve antioksidan standart maddeler Merck ve Sigma-Aldrich’den temin edilmiştir. Tüm deneylerde kullanılan su ise bidistile sudur. Çalışmada kullanılan temel araç-gereçler Tablo 3.1.’de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan ekipmanlar

Cihaz	Model	Marka
-------	-------	-------

UV-Vis Spektrofotometre	MULTISKAN GO	Thermo SCIENTIFIC
Soğutmalı santrifüj	NF 800 R	Nüve
Santrifüj	NF 200	Nüve
Manyetik Karıştırıcı	MSH-20D	WiseStir
pH metre	PHS-3BW	BANTE instrument
Su banyosu	Nb20	Nüve
Hassas terazi	AS 220/C/2	RADWAG
Çalkalamalı inkübatör	ES-20	Grant-bio
Vortex	QL-861	HINOTEK
Blender	wizzard Pro	KENWOOD
Otomatik pipetler	Eppendorf Research plus	Eppendorf
Derin dondurucu	UDD 100BK	Uğur
Otoklav	Vapour-Line ^{eco}	VWR
Swab,Eküvyon	Loopplast/Cultiplast	ISOLAB
Petri kutusu	90mm×15mm	ISOLAB
HPLC	DGU-20A ₅ /LC-20AD	SHIMADZU
SPD-M20A/SIL-20A _{HT} /		
CTO-10as _{VP}		
Kolon	C ₁₈ ters faz kolon	Inertsil ODS-GL
		SCIENCES
		(4,6 mm×250 5µm)
HPLC Filtre	PVDF-20/25 0.20µm	Chromafil Xtra
Vial	2ml-9-V1002	Alwsa Technologies
Vial kapak	9-SP3002-2A	Alwsa Technologies

3.3.1. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler; su, metanol, aseton, etil asetat, MHA (Muller Hilton Agar), SDA (Sabouraud Dekstroz Agar) ve McFarland Çözeltisi (Merck)'dir. Muller Hilton Agar :17 g MHA distile su ile son hacim 500 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. %4 Sabouraud Dekstroz Agar: 65 g SDA distile su ile son hacim 1000 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Mc Farland No:

0.5 bulanıklık standardı: Distile su ile hazırlanmıştır (UV 'de saf suya karşı 0,08-1 625 nm absorbands).

3.3.2. Antioksidan aktivite tayininde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Toplam fenolik madde miktarı analizinde kullanılan çözeltiler:

20 g Na_2CO_3 100 mL saf su içerisinde çözülmesiyle %20'lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlanır. Ticari olarak hazır alınan FCR'den 10 mL alınıp 100 mL saf su içerisinde çözülür ve %10'luk Folin-Ciocalteu reaktifi hazırlanır.

Toplam flavonoid madde miktarı analizinde kullanılan çözeltiler:

%10'luk Alüminyum nitrat çözeltisi; 17,4 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 100 mL balon jodede deiyonize su ile çözülüp %10'luk çözelti hazırlanır.

1 M Sodyum asetat çözeltisi; 13,5 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 100 mL balon jodede deiyonize su ile çözülüp 1 M çözeltisi hazırlanır.

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi analizinde kullanılan çözeltiler:

0,1 mM DPPH çözeltisi 4 mg DPPH'in 100 mL etanolde çözülmesiyle hazırlanır.

CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) analizinde kullanılan çözeltiler:

0,01 M'luk CuCl_2 çözeltisi; 67,50 mg CuCl_2 50 ml destile suda çözülerek 0,01 M'luk çözelti hazırlanır.

$7,5 \times 10^{-3}$ M'luk etanolik neokuprin çözeltisi; 75 mg neokuprin 50 ml etanolde çözülerek $7,5 \times 10^{-3}$ M'luk çözelti hazırlanır.

pH: 6,5 1 M'lık tampon hazırlanması; 7,5 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 70 ml saf suda çözülerek, pH-metre yardımıyla pH'sı 6,5'e ayarlanır ve toplam hacim 100 ml'ye saf su ile tamamlanır.

Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesinin analizinde kullanılan çözeltiler:

2 mM FeCl_2 çözeltisi: 0,034 g FeCl_2 balon jodede 100 ml destile su ile çözülerek hazırlanır.

5 mM Ferrozin çözeltisi: 0,062 g ferrozin 25 mL'lik balon jodede çözülerek hazırlanır.

İndirgeme kapasitesi analizinde kullanılan çözeltiler:

%1'lik $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi: 1,25 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 100 ml destile suda çözülerek %1'lik çözelti hazırlanır.

%10'luk TCA çözeltisi: 10,10 g TCA 100 ml destile suda çözülerek % 10'luk çözelti hazırlanır.

%0,1'lik FeCl_3 çözeltisi: 0,16 g FeCl_3 100 ml destile suda çözülerek % 0,1'lik çözelti hazırlanır.

pH=6,6 0,2M fosfat tamponu: 28,02 g KH_2PO_4 ve 27,90 g Na_2HPO_4 çözeltileri pH=6,6 tampon olacak şekilde karıştırılıp hazırlanır.

3.4. Analizler

3.4.1. Bitkilerin ekstraksiyon aşaması

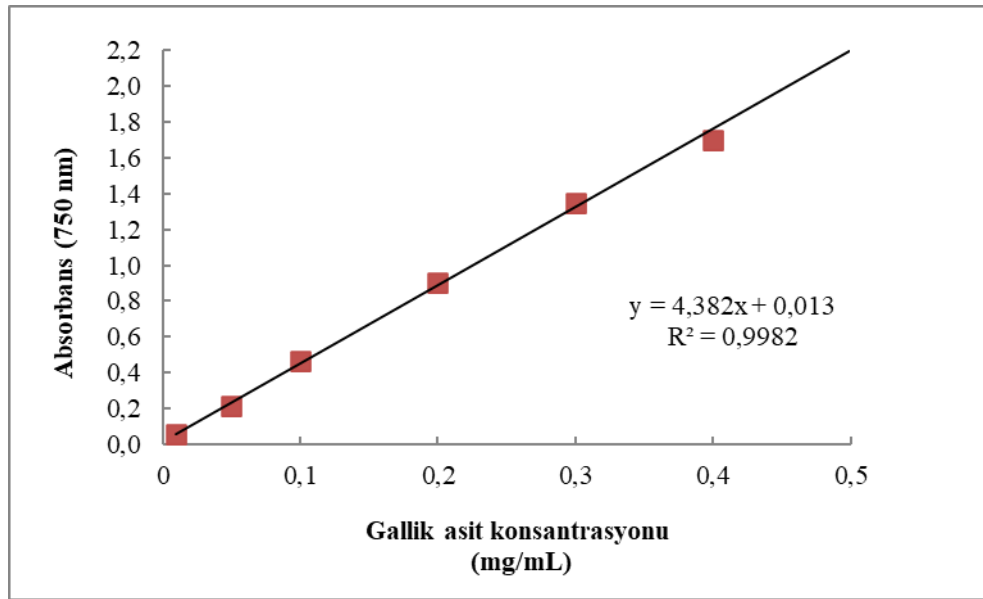
Bitkisel kaynaklar ortalama 45°C sıcaklıkta etüvde kurutulduktan sonra paçalanarak iri tozlar haline getirildi. Bitki/çözücü oranı 1/25 olacak şekilde çözücüleri eklendi ve 12 saat çalkantılı su banyosunda 300 rpm hızda ekstraksiyonları sağlandı.

Ekstraksiyon çözücüleri metanol, etilasetat, aseton ve 100°C'deki su olup elde edilen ekstraksiyon çözeltileri 12 saat sonunda whatman tipi süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü. Ekstraksiyon süzüntüleri evaporatörde metanol, etilasetat, asetonun 50°C suyun ise 75-80°C'de çözücüleri uçuruldu ve kalan katı maddeler tartılarak stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözeltiler her bitkinin kalan katı maddesi ekstrakte edildiği dört çözücüde çözülerek 20 mg/mL şeklinde hazırlandı. Stok çözeltiler 5000 rpm'de 10'ar dakika santrifüjlenerek, çökeltme işlemi uygulanıp derin dondurucuda (-20°C) saklandı. Bu stok çözeltilerden istenilen konsantrasyonlarda seyreltmeler analizler esnasında çözücüleri ile yapıldı.

3.4.2. Folin metodu toplam fenolik madde analizi

Fenolik yapıli antioksidanların kolorimetrik yöntemler (UV) ile tayininde kullanılan Folin Ciocalteu reaktifi (FCR), fosfomolibdat ($H_3PMO_{12}O_{40}$) ve fosfotungstat ($H_3PW_{12}O_{40}$) karışımı bir reaktiftir [125]. Yöntem test edilen bitkinin FCR reaktifinin oksidasyonunu inhibe etmesi gereken miktarını ölçen elektron transferine dayalı bir metottur. Analiz suda ve organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin FCR ile bazik ortamda sarı-mavi renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Reaksiyon sonucunda oluşan mavi renkli kompleks 740-760 nm civarı maksimum absorbands verir [126].

Toplam fenol miktarı analizi Folin Ciocalteu yöntemine modifiye işlemler eklenerek uygulandı [127]. Analiz için, numune ekstraktların çözeltileri çözücüleri ile hazırlandı ve fenolik yapıli olan gallik asid standardının distile saf su içindeki çözeltileri standart grafiği için kullanıldı. 0,01-0,50 mg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonlarda gallik asit çözeltileri hazırlanıp 750 nm'deki absorbands değerleri ve konsantrasyon değerleri ile şekil 3.1.'de verilen standart çalışma grafiği hazırlandı. Absorbansın konsantrasyonla doğru orantılı olduğu analiz standart grafiğinde elde edilen doğru denklemi $y=4,382x+0,013$ olarak elde edildi. Gallik asit grafiğine göre bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit / g ekstre olarak hesaplandı.

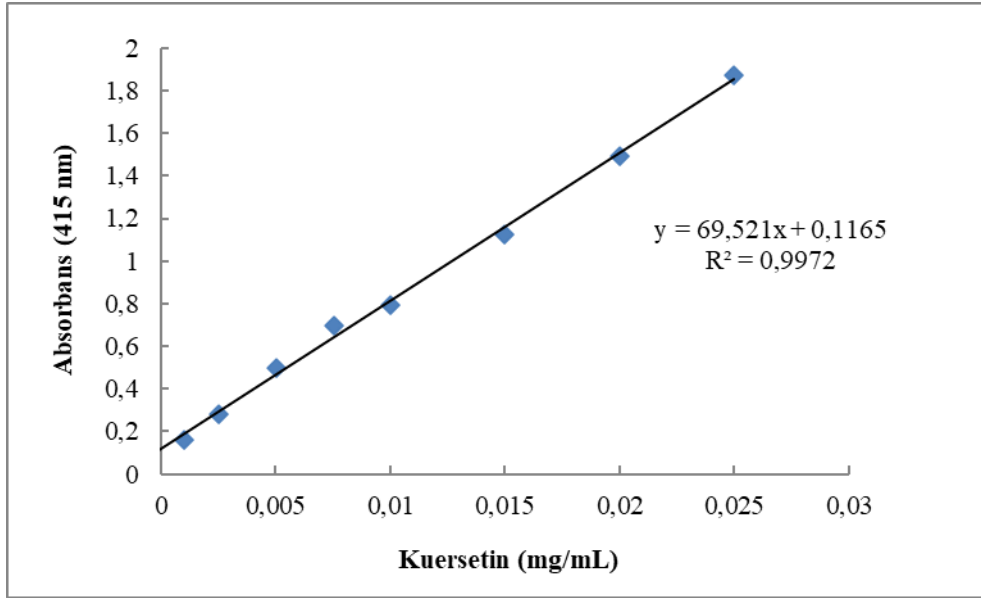


Şekil 3.1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

0,5 ml örnek veya standart , % 10'luk 2.5 ml FCR ve %20'lik 7,5 ml sodyum karbonat çözeltisi tüpe eklenerek 2,5 saat oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme sonunda çözelti absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 750 nm'de ölçüldü. Analizler üç tekrarlı olarak yapılmış olup okuma esnasında blank olarak numune yerine her birinin çözücüsü ilave edilerek hazırlanmış çözeltiler kullanıldı.

3.4.3. Alüminyum nitrat metodu ile toplam flavonoid madde analizi

Bitki ekstralarının toplam flavonoid miktar analizleri standart kuersetine eşdeğer olarak Moreno ve arkadaşlarının alüminyum nitrat metodu modifiye edilerek uygulandı [128]. Toplam flavonoid yapılı antioksidan miktarı analizinde standart kuersetin maddesinin şekil 3.2.'de verilen kalibrasyon eğrisi için 12,5 mg kuersetinin 25 ml metanolde çözeltisi hazırlanıp bu stok çözeltilerden 25-250 µl aralığında 6 farklı çözelti alınarak metanol ile hacimleri 4,8 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltilere 0,1 ml sodyum asetat eklenmiş ve 2 dakika kadar bekledikten sonra 0,1 ml %10'luk (w/v) $Al(NO_3)_3$ ilave edilerek elde edilen karışımlar 45 dakika karanlıkta bekletildikten sonra meydana gelen mavi renkli çözeltilerin absorbans değerleri UV'de 415 nm'de ölçülmüştür.



Şekil 3.2. Kuersetin kalibrasyon eğrisi

Toplam flavonoid madde analizi için 10 mg/ml konsantrasyonundaki ekstraktlardan ve blank olarak metonolden 500 µl alınarak yukarıda belirtildiği gibi reaktif çözeltiler ilave edilmiş ve metanol ile hacimleri 5 ml'ye tamamlanmıştır. Karanlıkta 45 dk (24°C) bekletilen çözelti karışımlarının absorbansları 450 nm'de madde içeriği µg kuersetin eşdeğeri (QE) /gram ekstrakt olarak verilerek üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.4.4. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi analizi

Serbest radikal yakalama etkinliği analizi sentetik oksidan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) azot radikali kullanılarak Blois'in metodu modifiye edilerek uygulandı. Analiz bitki ekstraktlarının proton veya elektron verebilme kabiliyetlerinin DPPH çözeltilerinin rengini açması temelinde spektrofotometrik (mor rengin açılması) olarak izlenmekle beraber reaksiyon karışımının absorbansının düşmesi yüksek serbest radikal giderme kapasitesinin belirtisidir [129].

Troloks ve BHT maddeleri standart olarak kullanılmış olup 50 µg ile 1000 µg aralığında konsantrasyona sahip 1 mL bitki ekstrakt ve standartlar üzerine 4 mL DPPH ilave edildi. Ek olarak 1 mL etanolün 4 mL DPPH ilavesiyle kontrol çözeltisinde hazırlandıktan sonra tüm çözeltiler oda sıcaklığında 30-35 dk bekletildi. Süre sonunda

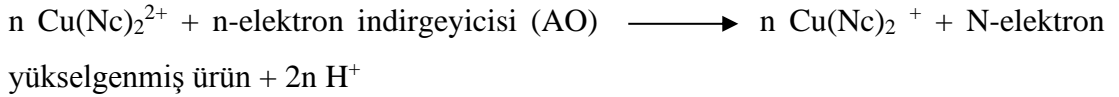
517 nm dalga boyunda absorbanları ölçüldü ve kontrole karşı numune absorbanları değerlendirildi. Analizler 3 tekrarlı olarak belirlendi. Aktivite değeri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH giderim aktivitesi)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbanı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbanıdır.

3.4.5. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite analizi (CUPRAC)

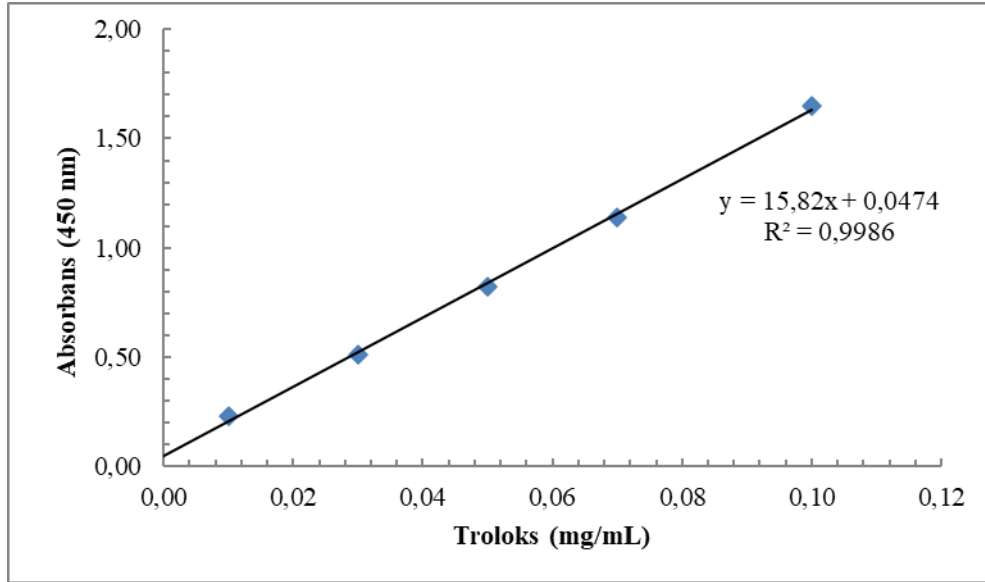
R. Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu method ile toplam antioksidan kapasite tayini ve hem hidrofilik hem de lipofilik toplam antioksidan kapasite ölçülebilir. İndirgenme yeteneği ile antioksidan kapasitenin tayin edildiği metotta elde edilen test sonuçları; troloks eşdeğeri antioksidan kapasite cinsinden ($TEAC_{\text{CUPRAC}}$) ifade edilmiştir [130]. Bu yöntemde kullanılan pigment verici (kromojenik) oksidasyon reaktifi bis-neokuproin $CuCl_2$ ile antioksidan polifenol bileşen arasındaki reaksiyonda kinon formu görülmekte ve reaksiyon aşağıdaki gibi ilerlemektedir:



$Cu(II)$ -Nc bileşiği 450 nm'de maksimum absorban veren güçlü renk oluşumu ile $Cu(I)$ -Nc kelatına dönüşmektedir ve bu reaksiyonda hidroksil grubu bulunan antioksidan yapılu bileşikler 2n-e donörü olarak hareket etmektedir [132, 133].

Bakır (II) İyonu indirgeyici antioksidan kapasite analizinde tüpe 1'er mL 0,01M $CuCl_2$, $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuproin ve 1M amonyumasetat tamponu (pH: 7) reaktifleri ard arda eklenerek çalkalandıktan sonra 600 μ L ekstre çözeltisi ve 500 μ L ekstre çözgeni toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde ilave edilip son çözelti karışımı elde edildi. Tüpler 24 °C'de ağzı kapalı şekilde 40-45 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de absorban değerleri belirlendi. BHT, Troloks ve C vitamini metodun standart maddeleri olup şekil 3.3.'de verilen Troloks grafiğinin eğimi ile bitki numuneleri doğrularının

eğimleri oranlanarak CUPRAC aktivitesi $TEAC_{CUPRAC}$ olarak ifade edildi. Analizler 3 tekrarlı olarak belirlendi [133].



Şekil 3.3. Troloks kalibrasyon eğrisi

3.4.6. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi analizi

Protein ve lipid gibi bileşenlerle oksidatif özellikte istenmeyen reaksiyonlar meydana getiren demir fenton reaksiyonları sonucunda ise serbest radikal oluşturma kabiliyetindedir. Bu reaksiyonlarda Demir (II) konsantrasyonunun azalması oksidatif hasara karşı koruyuculuk göstermektedir [131]. Antioksidan maddeler metal şelatlama özelliği bulduğunda serbest haldeki demiri bağlayarak onu etkisizleştirirler ve radikal oluşumlarını inhibe ederler.

Farklı konsantrasyonlardaki (100-1000 $\mu\text{g/mL}$) bitki ekstraktlarının Demir (II) (Fe^{+2}) iyonlarını şelatlama aktivitesi, Demir (II) iyonlarını bağlamak için kuvvetli bir demir şelatlayıcı ferrozin reaktifi ile ortamdaki metal bağlayıcı bileşiklerin yarışması mantığıdır [134]. Kırmızı renkli Fe^{+2} /ferrozin kompleksinin oluşumu şelatlama gücüne göre önlenir. 1 mL bitki numunesine 100 μL 2 mM FeCl_2 çözeltisi ve 3,7 mL su eklenerek oda koşullarında 35 dakika inkübasyondan sonra 200 μL 5 mM ferrozin çözeltisi ilave edilip vorteks uygulandı. 3 dakika vortekslenen karışımların

absorbansları 562 nm'de deiyonize suya karşı okundu. 1 mL deiyonize su ile kontrol çalışıldı. EDTA (10-1000 µg/mL) çözeltileri standart olarak kullanıldı ve analizler 3 tekrarlı olarak belirlendi. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon (Fe}^{+2} \text{ şelatlama aktivitesi)} = 1 - \frac{562 \text{ nm'de örnek absorbansı}}{562 \text{ nm'de kontrol absorbansı}} \times 100$$

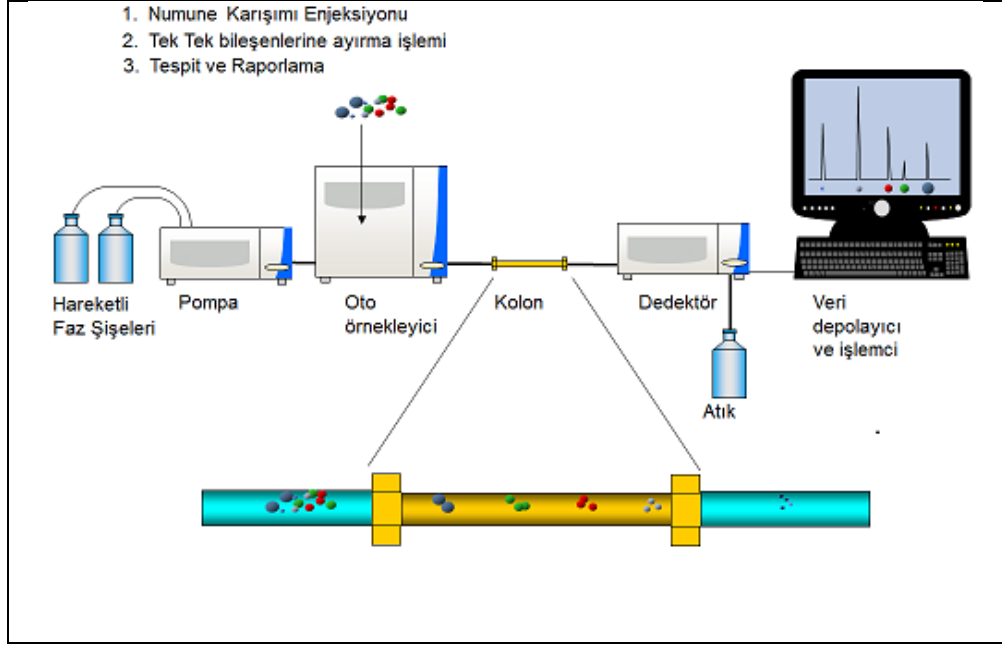
3.4.7. İndirgeme kapasitesi analizi

Bitki ekstraktlarının indirgeme kapasitesi; ortamdaki indirgen madde Fe⁺³ iyonlarını Fe⁺² iyonlarına indirger ve FeCl₃ ilavesiyle oluşan mavi renkteki kompleks bileşiğin absorbans değeri belirlenir. Yüksek indirgeme kapasitesi absorbans değerinin artması ile doğru orantılıdır [135]. 100-1000 µg/mL arası hazırlanan 1 mL bitki ekstraktları ve standart madde çözeltilerine 2,5 mL % 1'lik K₄Fe(CN)₆.3H₂O ve 0,2 M 2,5 mL fosfat tamponu eklendikten sonra 50°C'de 20 dakika inkübe edildi ve ardından 2,5 mL % 10'luk TCA eklenerek 3000 rpm'de 8 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatant çözeltilerinden 2,5 mL, eşit hacimde destile su ve 0,5 mL % 0,1'lik FeCl₃ çözeltisi ile karıştırıldı ve deiyonize suya karşı 700 nm'de absorbanslar okundu. Analizler 3 tekrarlı olarak belirlendi.

3.4.8. HPLC (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi)

Tıbbi laboratuvarlar, ilaç Ar-ge ve kalite kontrol merkezleri, gıda üretim ve kontrol prosesi, veterinerlik, ziraat ve kimya gibi çok sayıda sanayii dalında kullanım alanı bulan kromatografi, saflaştırma, ayrıştırma ve ölçüm gibi birçok amaç için kullanılan bir metottür. Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC; High Performance Liquid Chromatography) bir karışımdaki her bileşeni öncelikle ayırmak sonra sırasıyla tanımlamak ve miktarını belirlemek için kullanılan kromatografik bir teknik olup bu amaçla kullanılan cihazlar arasında yaygın olarak kullanılanlardandır. Kromatografik metota dayalı prosesler sabit (durgun) ve hareketli fazlar arasında kütle aktarımını içeren ayırma teknikleridir. Karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı (hareketli) fazı kullanan HPLC uçucu olmayan kimyasal ve biyolojik bileşenlerin ayırımı için

kullanılır. Şekil 3.4. 'de şematik gösterimi verilen HPLC metodunun temeli; çözülmüş sıvı haldeki bileşenlerin genellikle bir kolon içerisinde yer alan katı bir destek üzerindeki durgun (sabit) faz ile etkileşim göstermesiyle kolon içinde farklı hızlarla hareket etmeleri sonucunda bileşenlerin farklı zamanlarda kolondan ayrılması ile birbirlerinden ayrılmasına dayanır [136].



Şekil 3.4. HPLC cihazının şematik gösterimi

Bitki ekstraksiyonlarının fenolik madde miktar tayinleri ve antioksidan aktiviteleri çeşitli spektrofotometrik (UV) metotlar ile belirlendikten sonra var olduğu görülen bu özelliklerini ortaya koyan fenolik madde profillerinin belirlenmesi adına özel bir metod oluşturularak HPLC proses sisteminde kromatografik ayrımları yapıldı. Fenolik yapıli bileşiklerin belirlenmesi ve miktarlarının belirlenmesi için alıkonma zamanları standartlarla karşılaştırılmıştır.

Antioksidan özellik gösteren standartlara göre özel bir metod oluşturulmuş olup standart alıkonma zamanları belirlendi ve standart grafikleri çizildi. Numune çözeltileri ise metoda uygun şekilde Hplc'de okunup içerdikleri antioksidan özellik gösteren standartların alan değerleri hesaplandıktan sonra standart grafiklerde yerine konup miktarları belirlenmiştir.

- Hplc metod aşağıda verilen şekilde uygulanmıştır;
- Ters faz kolonu: Inertsil ODS-3 GL Sciences Inc. 5 µm (4,6x150 mm) C18
- Cihaz: Shimadzu SPD-M10 Avp PDA detector (275 nm).
- Akış hızı:1 mL/dk.
- Sıcaklık:40 C°.
- Hareketli (Mobil) faz A: Asetonitril : %0,1 Fosforik Asid (15:85 v/v)
- Numune konsantrasyon:20 mg/mL
- Filtre:0,20 µm PVDF-20/25 filter.
- Süre :35 dk.
- Dalga boyu:275 nm.
- Enjeksiyon hacmi;10 µL.

3.4.9. Antimikrobiyal aktivite için besiyerlerinin hazırlanması

Tez çalışmasında bakterilerinin gelişip üremesi ve etkinlik göstermesi için çoğunlukla tercih edilen başlıca besiyerleri Müeller- Hinton agar ve Sabouraud Dekstroz Agar kullanıldı. Hazırlanan besi yerleri 125⁰C basınçta 15 dakika steril edildi ve agar besiyeri kontrollü bir şekilde 20 ml petri kaplarına dökülüp oda sıcaklığında katılaştıktan sonra sıvı besiyerleri ile birlikte buzdolabında kullanılacağı zamana kadar saklandı.

3.4.10. Disk difüzyon yöntemi (Kirby Bauer Yöntemi)

Antimikrobik duyarlılık testleri arasında çok uzun süredir kullanılmasına rağmen popüler yöntemlerden biri olan disk difüzyon yöntemi (Kirby Bauer yöntemi), halen rutin klinik laboratuvarlarda kullanılan en yaygın duyarlılık test yöntemidir. Klinik çalışmalarda zor üreyen ancak çok sık görülen bakteriler dahil çoğu bakteriyel patojenin ve birçok antimikrobik ajanın test edilmesini sağlayan bir yöntemdir [137].

Bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için laboratuvar çalışmalarına uygun disk difüzyon yöntemi uygulandı. Bitkilerin konsantrasyonları 20 mg/ml olacak şekilde antimikrobiyal etkisi incelenecek çözeltiler hazırlandı. Katı besiyerlerinde

ürettilip etkinleştirilmiş mikroorganizmaların 12-24 saatlik taze kültürlerinden öze yardımıyla alınan koloniler deiyonize su içinde süspansiyon edilerek bir spektrofotometre yardımıyla 0,5 McFarland bulanıklığa denk gelecek şekilde $1,5 \times 10^8$ kob/mL dilüsyon hazırlandı ve daha sonra *Candida albicans* Saboraund Dextose Agar (SDA)'a diğer mikroorganizmalar ise Mueller-Hinton Agara'ya dikkatli yayılmalar yapıldı. İlk olarak 0,5 McFarland standardına göre ayarlanan bakteri süspansiyonlarına steril pamuk uçlu eküvyonu batırıldı ve fazla sıvıyı uzaklaştırmak için eküvyonu tüpün iç duvarında döndürüldü daha sonra petrilerin her tarafına gelecek şekilde dikkatlice 3 kez farklı yönlerde yayılım yapıldı. 20 mg/mL konsantrasyonundaki bitki ekstraktları boş steril disklerle (WhatmannNo:1) 20 µL emdirilerek mikroorganizma ekilmiş katı besiyerlerine uygun şekilde yerleştirildi. İnkübasyon etüvde bakterilerin 37°C'de, mayanın 30°C'de 24 saat bırakılmasıyla gerçekleştirildi. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvelle ölçülerek aktivite değerlendirmeleri yapıldı.

Analizlerde pozitif kontrol olarak bakteriler için Ampisilin standart antibiyotik diskleri, maya için Flukonazol standart antibiyotik diski, negatif kontrol olarak ise madde çözücülerinin emdirildiği diskler kullanıldı. Bu çalışma her bir ekstre için üç kez tekrarlanıp, belirtilen değerler bu ölçümlerin ortalamalarıdır.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Folin Metodu ile Toplam Fenolik Madde Analizi Sonuçları

Çalışmalar aromatik bitki bileşenleri içinde fenollerin hidroksil gruplarının serbest radikallerine etki etme gücü sebebiyle fenolik yapıli bileşikler ile antioksidan kapasite arasında doğru orantılı bir bağlantı gösterir. [138]. Tablo 4.1.'de gallik asitin $y=4.696x+0,026$ standart grafiği denkleminde yararlanılarak bitkilerdeki toplam fenolik maddenin miktarı gallik asite eş değeri olarak mg fenolik madde/gram ekstre olarak ifade edilmekte olup sonuçlar 3 paralel testin ortalamasıdır ve standart sapma değeri göz önüne alınarak verilmektedir.

Tablo 4.1. Bitkilerin toplam fenolik madde miktarı (mg fenolik madde/gram ekstre)

Bitki Numuneleri	Sıcaklık	Metanol	Etil Asetat	Su	Aseton
<i>S. spicigera</i>	45°C	12,40 ±0,40	7,50 ±0,01	1,57 ±0,03	20,71 ±0,89
<i>A. millefolium</i>	45°C	39,63 ±0,01	14,07 ±0,92	3,37 ±0,05	54,27 ±0,04
<i>P. ferulacea</i>	45°C	66,55 ±0,35	72,09 ±0,04	6,82 ±0,52	82,11 ±0,50

Toplam fenolik madde miktarı çadır otu aseton ekstraktında en yüksek değerde gözlemlendi. *A. millefolium* bitkisi aseton ekstraktı > metanol ekstraktı > etil asetat ekstraktı > su ekstraktı şeklinde çözücü farklılığına göre sıralanmıştır. *S. spicigera* için aseton ekstraktı > metanol ekstraktı > etil asetat ekstraktı > su ekstraktı şeklinde çözücü farkı etkisi görülürken *P. ferulacea* için değeri aseton ekstraktı > etil asetat ekstraktı > metanol ekstraktı > su ekstraktı şeklindedir. Genel değerlendirilmede; Köndar otunun fenolik madde miktarı diğer iki bitkiye göre daha düşük olarak bulunurken çadır otunun tüm ekstraksiyonlarının yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür.

Çözücü farklılığının her bir bitkinin ekstraksiyonu esnasında fenolik madde miktarı eldesine etkisi görülmüştür.

Çeşitli aromatik bitkilerde toplam fenolik madde miktarı ile yapılan çalışmalarda su özütleri 2,40-50,80 mg GAE/g, metanol özütleri ise 1,20-36,50 mg GAE/g olarak kaydedilmiştir [139]. Literatürde, Zheng ve arkadaşlarının Caşır bitkisi ile aynı familyaya (*Apiaceae*) ait olan Lao Kişnişinin (*Coriandrum sativum*) aseton ekstraktındaki toplam fenolik madde değerlerinde $3,12 \pm 0,06$ mg GAE/g (taze bitki) bulmuştur [140]. Metanol ekstraktlarında ise $12,50 \pm 0,3$ mg GAE/g (kurutulmuş bitki) değerleri vermiştir [141]. Benzer çalışmalardan da anlaşılacağı gibi, bitkilerin kimyasal yapısındaki farklılıklar ve çalışmalarımızda gördüğümüz solvent farklılıkları fenolik madde miktarını doğrudan etkilemektedir.

4.2. Alüminyum Nitrat Metodu ile Toplam Flavonoid Madde Analizi Sonuçları

Çalışmamızda incelediğimiz flavonoidler, serbest radikal süpürücü olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre proliferasyonunu inhibe etmeleri, antibiyotik, antialerjik, antidiüretik, antiülser ve antiinflamatuvar ilaçlar olarak görev yapmaları nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Ayrıca antioksidan, antiviral ve antibakteriyel özelliklere sahiptirler ve sebzelerde, meyvelerde, tahıllarda, çayda ve bazı baharatlarda bulunurlar [142]. Analizlerimizde standart olarak kullandığımız kuersetin, diyet gıdalarında en yaygın flavonoidlerinden biridir. Birçok sebze, meyve, zeytinyağı, kırmızı şarap ve çayda bulunur. Kuersetin bir serbest radikal temizleyicisi olarak tanımlanırken düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksitlenebilirliğini ve sitotoksik etkilerini azaltma, reaktif oksijen bileşiklerinin üretimi ile ilişkili hücre ölümüne karşı koruyucu olma gibi etkileri görülmüştür [143].

Tablo 4.2.'de kuersetinin $y=69,521x+0,1165$ standart grafiği denkleminde yararlanılarak bitkilerdeki toplam flavonoid madde miktarı kuersetine eş değer olarak μg flavonoid madde/gram ekstre olarak ifade edilmekte olup sonuçlar 3 paralel testin ortalamasıdır ve standart sapma değerleri göz önüne alınarak verilmektedir.

Tablo 4.2. Bitkilerin toplam flavonoid madde miktarı (µg flavonoid madde/gram ekstre)

Numuneler	Sıcaklık	Metanol	EtilAsetat	Su	Aseton
<i>S. spicigera</i>	45°C	799,41 ±1,01	149,45 ±0,18	1288,79 ±2,30	1040,72 ±1,38
<i>A. millefolium</i>	45°C	865,47 ±0,46	966,19 ±1,38	205,41 ±0,09	960,00 ±0,37
<i>P. ferulacea</i>	45°C	16,42 ±0,01	35,37 ±0,46	120,26 ±0,37	167,34 ±0,37

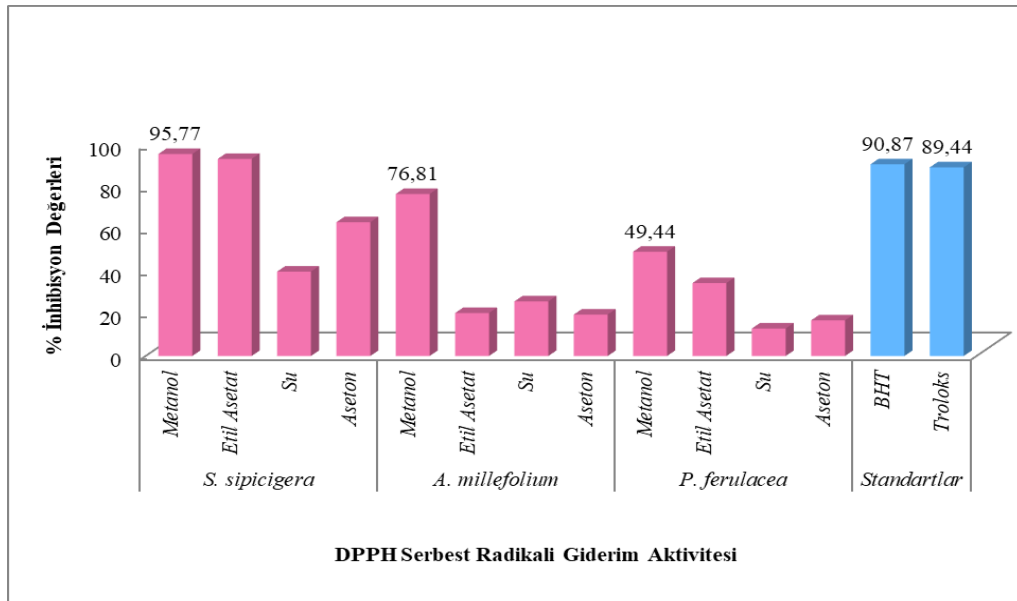
Toplam flavonoid madde tayini sonuçlarında *S. spicigera* ve *A. millefolium* ekstraktlarının *P. ferulacea*'ya göre daha yüksek toplam flavonoid maddeye sahip olduğu gözlemlendi. En yüksek toplam flavonoid madde içeriği ise *S. spicigera*'nın su ekstraktında görüldü. Solvent benzerliğine göre 2015 yılında Iloki-Assanga ve arkadaşları, 2016 yılında ise Elkhalifa Chemsu ve arkadaşlarının yaptığı analizlerle benzer değerler elde edildi [144, 145].

A. millefolium'un flavonoid madde içeriği diğer bitkilere göre ortalama, *P. ferulacea*'nın ise düşük olarak belirlendi. Solvent farklılığının bitkilere etkisinin olduğu, yapısal farklılıklarından ötürü üç bitkininde farklı çözücüde en yüksek toplam flavonoid madde içerdiği görüldü.

Bitkinin çalışılan kısmına bağlı olarak *Prangos* türleri ile yapılan bazı çalışmalar yüksek antioksidan aktivite gösterirken, bazıları düşük antioksidan aktivite göstermiştir [146, 147]. Literatürde bu türlerin meyve ve yaprak kısımlarının ekstraksiyonunda daha yüksek değerler belirlenirken gövde kısımlarında daha düşük antioksidan aktivite elde edilmiştir [148]. Çalışmamızda *Prangos* türü *P. ferulacea*'nın gövde kısımları kullanılmış olup değerlerinin düşük olmasının yukarıdaki benzer nedenler ile olabileceği yargısına varılmıştır. Bu analizde, bitki kısımlarının ekstraksiyonunda ekstraksiyon koşullarının, prosesin ve solvent özelliklerinin bitkilerin fenolik içeriği üzerinde etkili olabileceği sonucuna varılabilir.

4.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Analiz Sonuçları

Bitkisel maddelerin antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda en yaygın radikallerden biri DPPH radikalidir. Şekil 4.1.'de verilen bitki ekstraktlarının aktivite (% inhibisyon) değerleri 1000 µg/mL konsantrasyonda analiz edildi ve BHT ve Troloks standartlarına göre giderim aktivitesi karşılaştırmaları yapıldı. Sonuçlara göre DPPH giderim aktivitesi, köndar otunun metanol ekstratı %95,77 (±0,14) en yüksek olup etil asetat ekstratı %93,43 (±0,10) ile birlikte standartlar BHT %90,87 (±0,01) ve Troloks %89,44 (±0,11) değerlerinden fazla olduğu görülmüştür. Analizlerde antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalaması olup aktivite sıralaması genel olarak *S. spicigera* > *A. millefolium* > *P. ferulacea* şeklinde kaydedildi. Sonuçların solvent farklılığına göre değişmekte olduğu ve üç bitkinin de metanol ekstraktlarının % inhibisyon değerlerinin en fazla olduğu görüldü.



Şekil 4.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon değerleri)

Bitki ekstraktlarıyla yapılan benzer bir DPPH radikali giderme çalışmasında da metanol, etil asetat ve metanol ekstraktları arasında en etkili ekstraktın metanol olduğu belirtilmiş ve antiradikalik aktivite ile toplam fenolik madde içeriği ilişkisi vurgulanmıştır. [149]. *Ferula* cinsi bitkinin gövde kısımları ile yapılan çalışmada

metanol ekstresine artan polaritede (%100 hekzan, %60 metilenklorür-%40 metanol) kolon kromatografisi uygulanarak TLC ve HPLC paralelinde birleştirilen fraksiyonlara antioksidan DPPH radikal giderme testleri uygulanmış ve en etkili fraksiyonlar (153-215. Fr arası; %60 metilenklorür- %40metanol) üzerinde kaydedilmiştir [150]. Tez çalışmamız araştırmalar ile benzer özellik göstermiş ve Şekil 4.1.'deki grafikte görüldüğü üzere metanol ekstraktının su, etil asetat ve aseton ekstraktlarından daha iyi aktivitesi kaydedilmiştir.

4.4. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Analizi (CUPRAC) Sonuçları

Antioksidan maddelerin elektron verme yeteneğini yansıtan indirgeme gücü antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde önemli bir özelliktir. CUPRAC metodu ile çalışılan bitki ekstraktları ve standart antioksidanların konsantrasyona karşı absorbans değerlerinin kalibrasyon grafiklerinin eğimleri değerlendirmeler için oranlandı. Bitki ekstraktlarının ve standartların doğru denklemleri Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Standart ve bitki numunelerinin doğru denklemleri (TEAC_{CUPRAC} denklemleri)

Troloks	$y = 15,821x + 0,047$
C vitamini	$y = 14,443x + 0,041$
BHT	$y = 16,787x + 0,075$
<i>S. spicigera</i> Metanol Ekstraktı	$y = 7,062x - 0,007$
<i>S. spicigera</i> Etil Asetat Ekstraktı	$y = 0,676x + 0,055$
<i>S. spicigera</i> Su Ekstraktı	$y = 1,047x + 0,007$
<i>S. spicigera</i> Aseton Ekstraktı	$y = 3,807x + 0,024$
<i>P. ferulacea</i> Metanol Ekstraktı	$y = 0,375x + 0,023$
<i>P. ferulacea</i> Etil Asetat Ekstraktı	$y = 0,419x + 0,028$
<i>P. ferulacea</i> Su Ekstraktı	$y = 0,374x + 0,034$
<i>P. ferulacea</i> Aseton Ekstraktı	$y = 0,040x + 0,054$
<i>A. millefolium</i> Metanol Ekstraktı	$y = 0,564x + 0,046$
<i>A. millefolium</i> Etil Asetat Ekstraktı	$y = 0,842x + 0,043$
<i>A. millefolium</i> Su Ekstraktı	$y = 0,300x + 0,035$
<i>A. millefolium</i> Aseton Ekstraktı	$y = 1,077x + 0,045$

Bitki ve standart maddelerin antioksidan konsantrasyonuna karşı CUPRAC yöntemi ile bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite analizinde verdikleri absorbans sonuçlarından elde edilen grafiklerde yukardaki doğru denklemlerinin eğimleri ile hesaplamalar yapıldı. Grafiklerdeki her bir doğru eğimi Troloks standartı doğru denklemi eğimine oranlanmış ve TEAC_{CUPRAC} değerleri kaydedilmiştir. CUPRAC analizi değerleri Tablo 4.4. ve 4.5.'deki gibidir.

Tablo 4.4. Standartların TEAC_{CUPRAC} değerleri

	Troloks.	BHT.	C vitamini
Eğim.	15,821	16,787	14,443
TEAC _{CUPRAC}	1	1,061	0,913

Tablo 4.5. Bitki özütlerinin TEAC_{CUPRAC} değerleri

Numuneler	Sıcaklık		Metanol	Etil Asetat	Su	Aseton
<i>S. spicigera</i>	45°C	Eğim	7,062	0,676	1,047	3,807
		TEAC _{CUPRAC}	0,446	0,043	0,066	0,241
<i>P. ferulacea</i>	45°C	Eğim	0,375	0,419	0,347	0,400
		TEAC _{CUPRAC}	0,026	0,024	0,022	0,025
<i>A. millefolium</i>	45°C	Eğim	0,564	0,842	0,296	1,077
		TEAC _{CUPRAC}	0,036	0,053	0,019	0,068

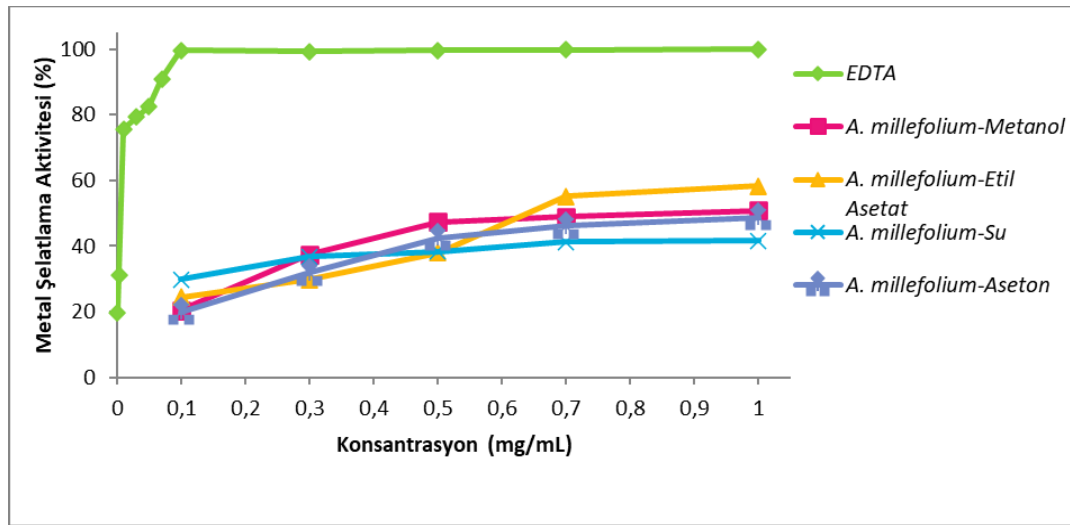
Yukarıdaki tablodan da görüleceği üzere gıdalara koruyucu katkı maddesi olarak eklenen sentetik antioksidan BHT, yüksek antioksidan aktivitesi özelliği ile aynı miktardaki Troloks ile neredeyse aynı aktivitede indirgeyici özellik göstermektedir. Bir diğer standart madde C vitamini ise aynı miktardaki Troloks'a çok yakın aktivite göstermektedir. Bitki özütlerinin ise aynı miktardaki Troloks standartına göre çok yüksek aktivite göstermediği ve sıralamanın *S. spicigera* > *A. millefolium* > *P. ferulacea* şeklinde olduğu belirlendi. Solvent farklılığı etkisi metanol ekstraktı numunelerinin absorbanslarının diğer çözücülere göre daha iyi su ekstraktının ise düşük aktivite gösterdiği şeklinde görülmüştür.

CUPRAC aktivitesi için *Apiaceae* familyasına ait Kanna bitkisinin (*S. tortuosum*) (c:0.4, 0.8, 2) ve standart antioksidan olarak Troloks'un (c:0.04, 0.08, 0.2) absorbansları hesaplanmıştır ve çalışmamıza benzer olarak Troloks'a göre düşük CUPRAC aktivitesi görülmüştür [151]. Ayrıca *Apiaceae* familyasına ait çeşitli aromatik bitkilerin indirgeme gücü FRAP ve CUPRAC testleri Zengin ve arkadaşları

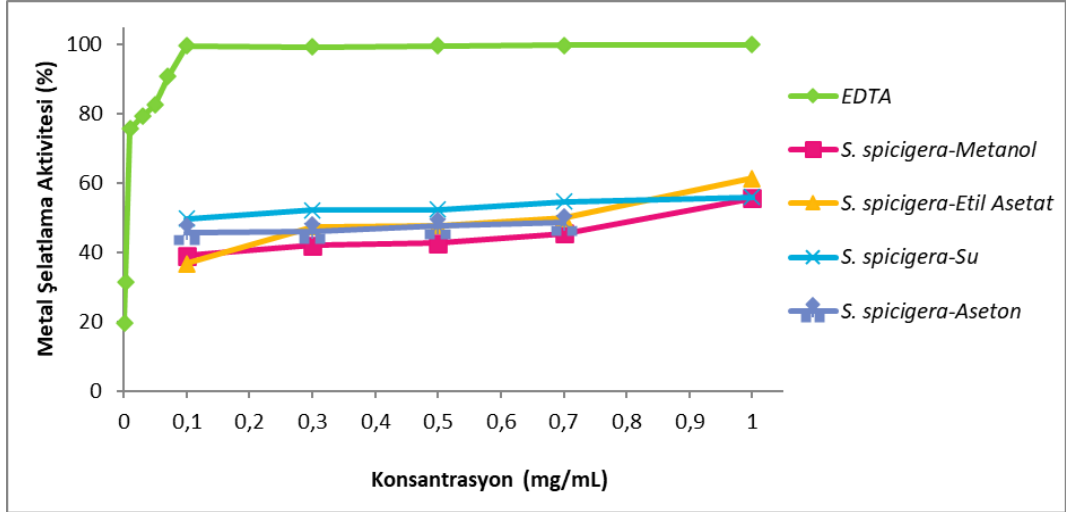
tarafından 2015 ve 2017 yıllarında her bitkide farklı ortalama sonuçlar rapor edilmiştir [152, 153]. Literatürde *Lamiaceae* familyasına ait *Thymus sipyleus*, bitkisinin CUPRAC yöntemi ile Trolox standardından daha iyi antioksidan kapasite değerleri mevcut olup yapısal farklılıkların antioksidan kapasitesi üzerine etkilerinden bahsedilebilir [154].

4.5. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Analizi Sonuçları

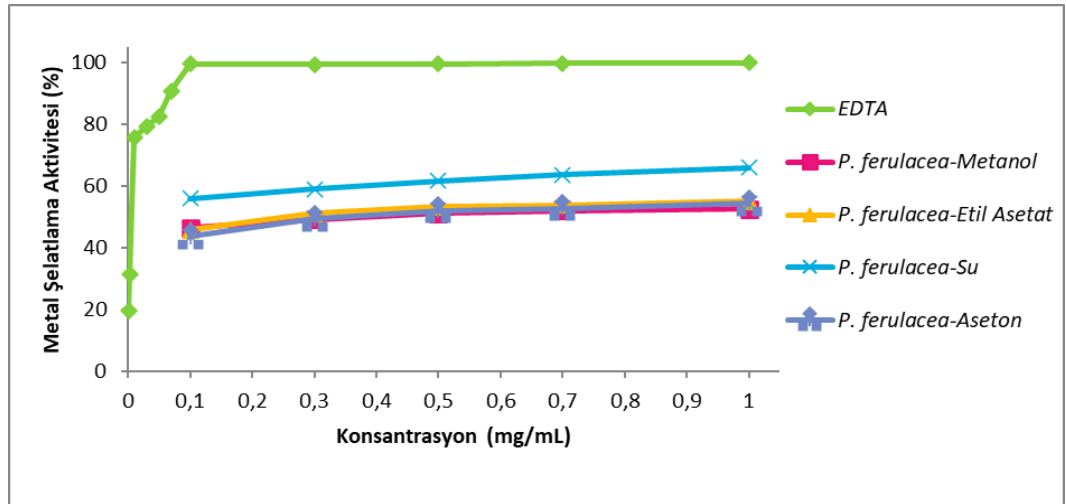
Bitki özütlerinin çözeltide bulunan oksidan Fe^{+2} iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışmasıyla metal iyonu şelatlama aktivitesi belirlendi. Yüksek metal şelatlayıcı kabiliyetine sahip olan EDTA standart olarak kullanılarak kıyaslamalar yapıldı. Bitkilerin herbir ekstraktının metal şelatlama aktivitesini gösteren Şekil 4.2.–4.4.’deki konsantrasyon-% inhibisyon grafikleri oluşturuldu.



Şekil 4.2. *A. millefolium* ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği

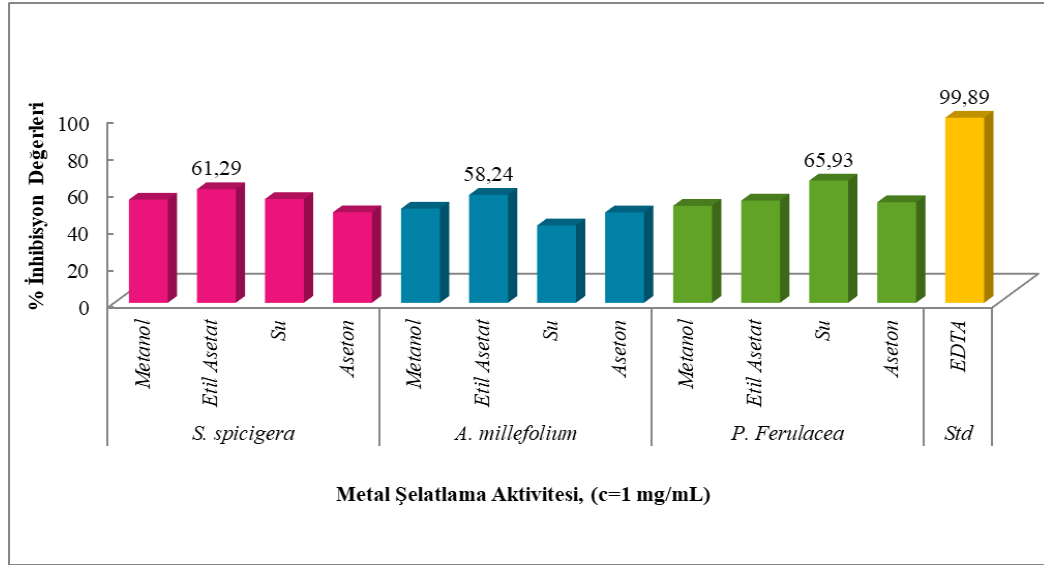


Şekil 4.3. *S. spicigera* ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği



Şekil 4.4. *P. ferulacea* ekstraktlarının metal şelatlama aktivite grafiği

Yukarıdaki grafiklerden görüldüğü gibi tüm bitki özütlerinin konsantrasyonu arttıkça şelatlama aktivitesinde arttığı belirlendi. Bununla birlikte solvent değişikliklerinde ekstraktların Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitelerinin birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Benzer metal şelatlama aktivitesi karşılaştırmalı sonuçları *Lamiaceae* türleri için Dorman ve arkadaşları tarafından kaydedilmiştir [155]. Tüm bitki numunelerinin 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'de gösterdiği şelatlama aktiviteleri ile EDTA standartı aktivitesi arasında karşılaştırmaları Şekil 4.5.'de verildiği gibi % inhibisyon değerlerine göre yapıldı.



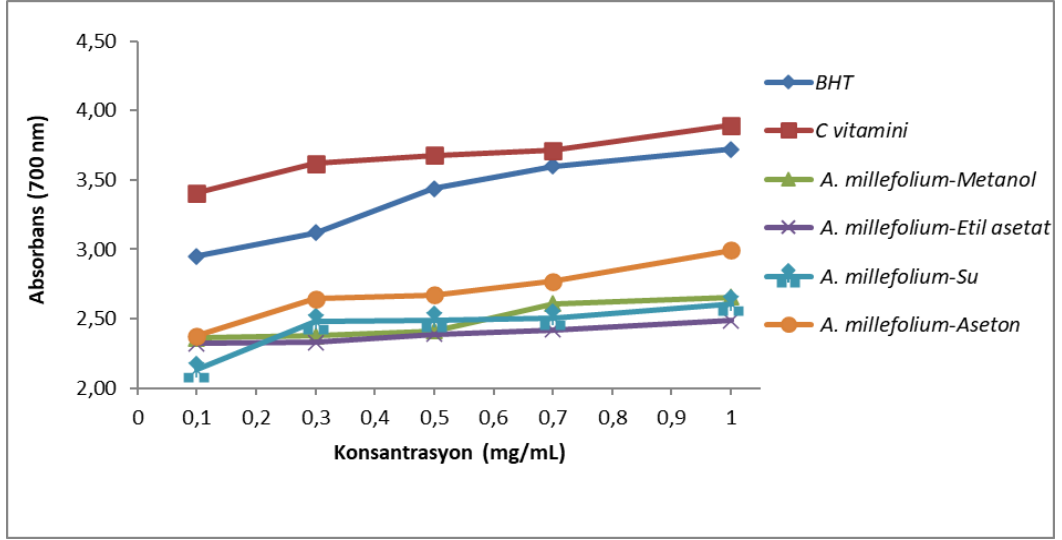
Şekil 4.5. Bitki ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi (% inhibisyon değerleri)

Tüm ekstraktların %50 ve üzeri aktivite göstermesine rağmen ekstraktların hiçbirinin Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesinin EDTA standartından daha iyi olmadığı belirlendi. EDTA standartı 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kadar düşük konsantrasyonda bile %90,11 şelatlama aktivitesi göstermiştir. Benzer şekilde taze yeşil bitkilerle yapılan metal şelatlama aktivitesi çalışmalarında etanol özütünde (66,8 mg taze bitki/mL) %41 verim alınırken başka bir analizin su özütünde (1 mg/mL) %51,6 verim alınmıştır [156, 157].

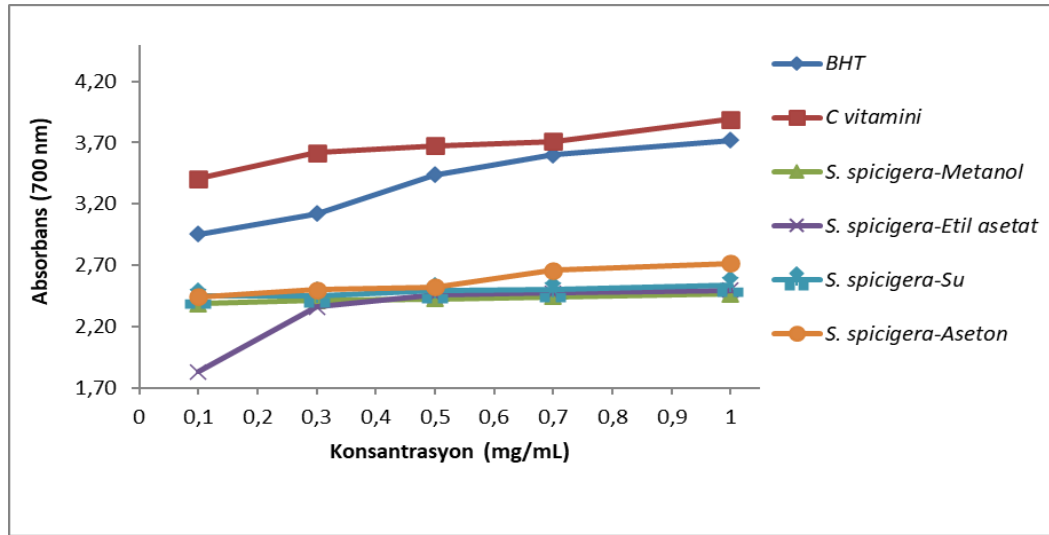
4.6. İndirgeme Kapasitesi Analizi Sonuçları

İndirgeme kapasitesi değerlendirilmesi diğer antioksidan özellikler ile de yakından ilişkili olup bitkisel materyallerin Fe^{+3} 'ü indirgeme özellikleri bakımından güçlü sentetik antioksidanlarla karşılaştırılması esasına dayanır. Antioksidan bitkinin aktivite gösterebilmesi için önemli bir mekanizma olan elektron verebilme yeteneğinin de bir çeşit göstergesidir. Bitki örneklerinin ortamda bulunan oksidan Fe^{+3} 'ü indirgeme kapasitesini değerlendirmek amacıyla değişen ekstrakt ve standart (BHT ve C vitamini) konsantrasyonlarında oluşan komplekslerin absorbansları belirlendi. Standart BHT ve C vitamini ile tüm numune ekstraktlarının Şekil 4.6.–4.8.'deki konsantrasyon-absorbans grafikleri çizildi.

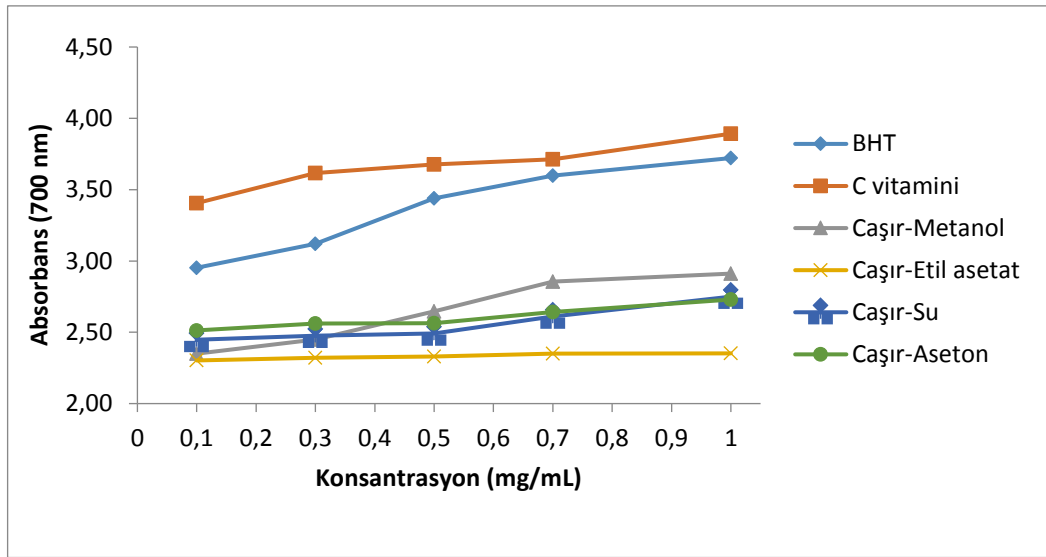
S. spicigera > *A. millefolium* > *P. ferulacea*



Şekil 4.6. *A. millefolium* ekstraktlarının indirgeme kapasitesi



Şekil 4.7. *S. spicigera* ekstraktlarının indirgeme kapasitesi.



Şekil 4.8. *P. ferulacea* ekstraktlarının indirgeme kapasitesi

Çalışma sonucunda grafiklerden de anlaşılacağı üzere analiz edilen bitki numunelerinin Fe^{+3} 'ü indirgeme kabiliyetlerinin olmasına rağmen standartlarla göre yüksek değerlerde bulunmadığı belirlenmiş olup çalışılan bitkilerin indirgeme gücü yetenekleri genel olarak *A. millefolium* > *S. spicigera* > *P. ferulacea* şeklinde sıralandıkları görüldü. Antioksidan bileşikler için indirgeme kapasitesi analizinde yüksek absorbans değeri ile indirgeme kapasitesi arasında doğru orantılı bir artış olduğu kabul edilmektedir. *P. ferulacea* etil asetat ekstraktındaki küçük artışlar hariç tüm ekstraktların konsantrasyon arttıkça belirgin artan indirgeme kapasitesi gösterdiği belirlendi.

Bununla birlikte absorbans sonuçlarının üç farklı bitki çeşidinde ve solvent farklılıklarında birbirine çok yakın değerler olduğu ve bitki örneklerinin 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'deki kapasite değerleri ancak standartların 100 $\mu\text{g/mL}$ (C vitamini; $3,44 \pm 0,02$ BHT: $2,75 \pm 0,04$)'deki değerleri ile yakın bir sonuç vermiştir. *Lamiaceae* familyasından mercanköşk, biberiye, adaçayı ve kekik bitkileriyle yapılan çalışmalarda aynı standartlar ile çalışılmış ve çalışmamıza benzer sonuçlar elde etmişlerdir [158].

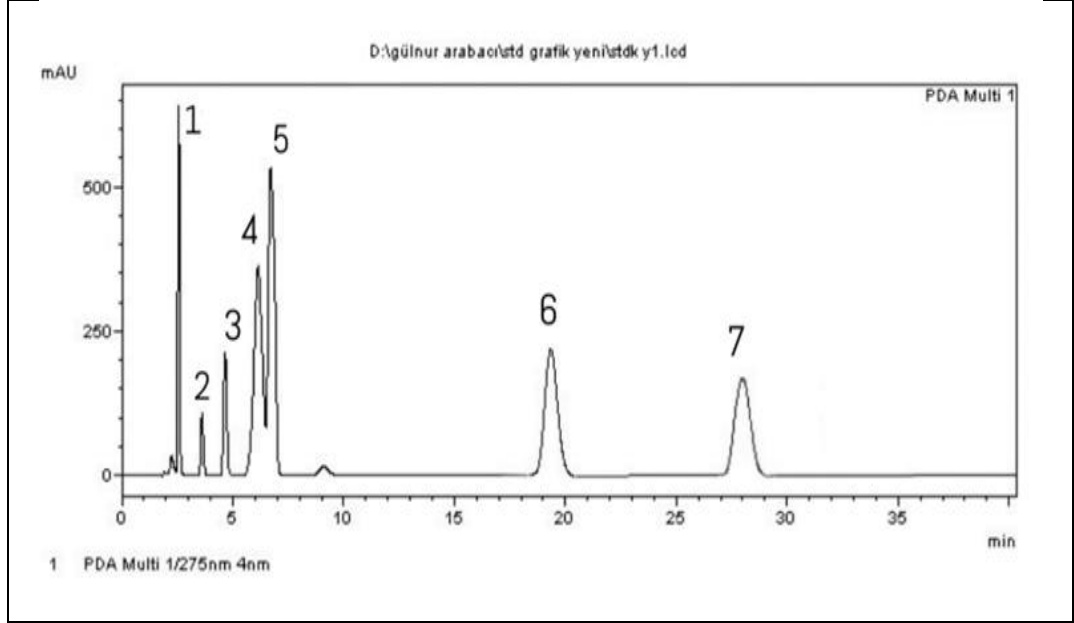
4.7. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile Fenolik Madde Profiline Belirlenmesi

Antioksidan özellikleri ve fenol/flavonoid bileşenlerinin miktarları çeşitli analizler ile tayin edilmiş olan tez çalışması bitkilerinin bu özelliklerinin kaynağı olan fenolik bileşenlerinin belirlenmesi için HPLC ile kromatografik ayrımları yapılmıştır. HPLC ile fenolik yapıdaki maddelerin belirlenmesi ve miktarlarının tayini için spektrumları ve alıkonma zamanları standartlarla karşılaştırılmıştır. HPLC analizinde ayrımlar Inertsil ODS-3 GL Sciences Inc. 5 µm (4,6x150 mm) C18 ters faz kolonu ile yapıldı. Standart reaktiflerin kolonda tutunma zamanları ve kalibrasyon denklemleri Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Standart reaktiflerin HPLC ile profil sonuçları

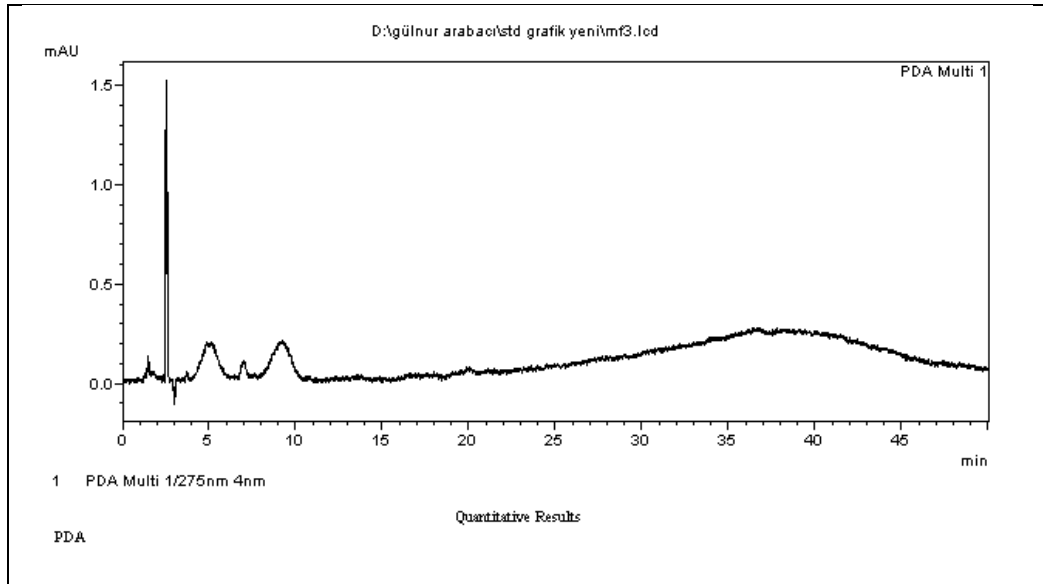
Fenolik bileşikler	Alıkonma zamanı (dk)	Konsantrasyon aralığı(mg/mL)	Kalibrasyon denklemi	(R ²)
Gallik asit/ 1	2,59	0,01-0,1	y=3E+07x+46898	0,9996
Eskulin/ 2	3,67	0,01-0,1	y=5E+06x+53614	0,9717
Klorojenik asit/ 3	4,81	0,01-0,1	y=7E+06X+201852	0,9925
Kafeik asit/ 4	6,37	0,01-0,1	y=4E+07x-306749	0,9601
Vanilik asit/5	6,95	0,01-0,1	y=3E+07x-19153	0,9977
Rutin/ 6	19,47	0,01-0,1	y=1E+07x+80092	0,9918
Naringin/7	28,75	0,01-0,1	y=2E+07x+18506	0,9965

Standart olarak kullanılan yedi farklı fenolik bileşiğin HPLC ile optimizasyonu Şekil 4.9.'da gösterilmektedir. HPLC'ye enjekte edilen örneklerin kromatogramları çoğu fenolik asitin maksimum UV absorbands değeri verdiği 270 nm'de incelendi [159].

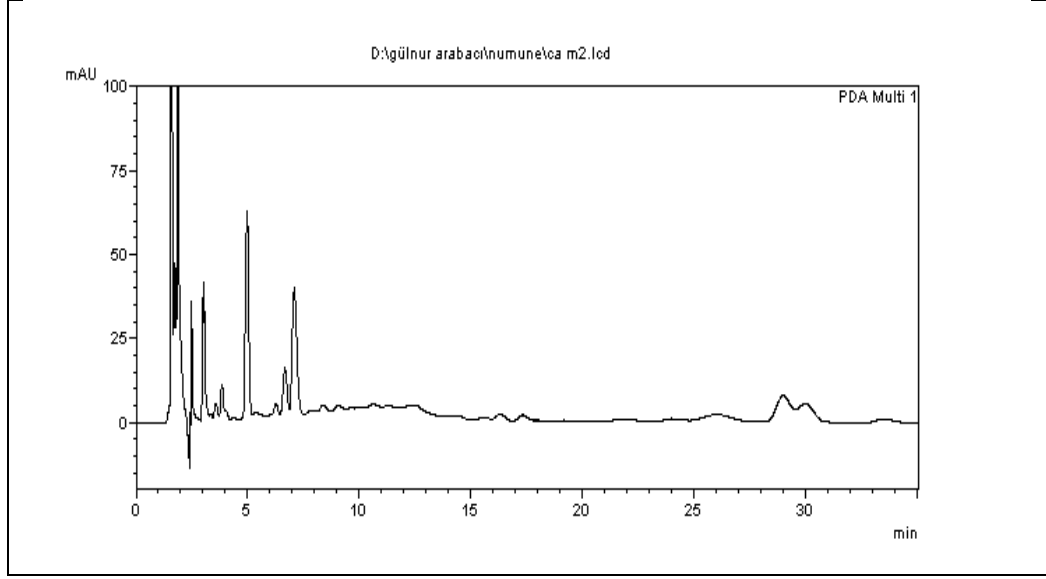


Şekil 4.9. Standart fenolik bileşiklerin HPLC profillerinin belirlenmesi. 1: Gallik asit, 2: Eskulin, 3: Klorojenik asit, 4: kafeik asit, 5: Vanilik asit, 6: Rutin, 7: Naringin

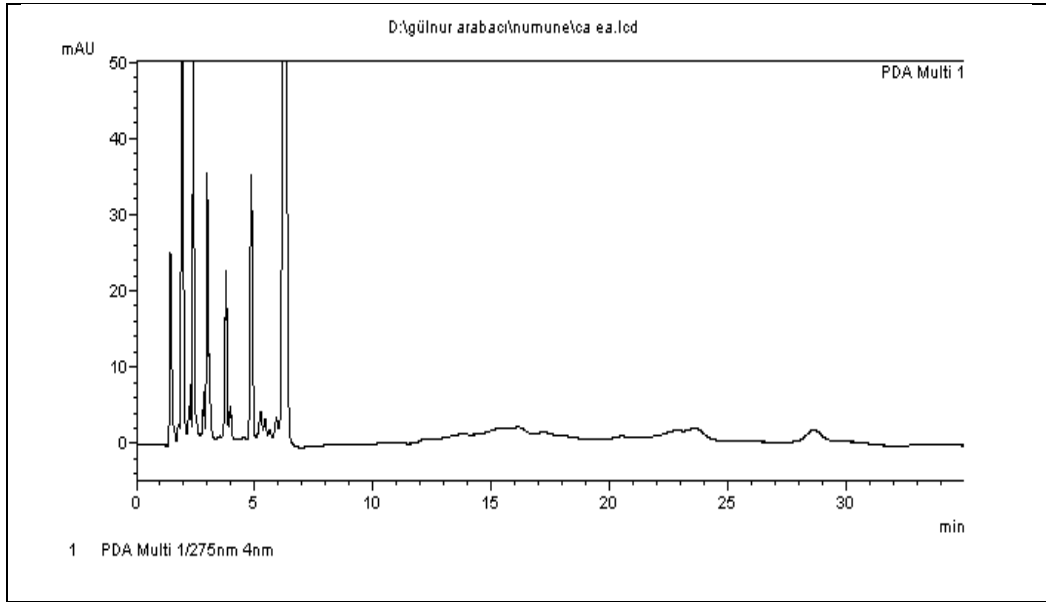
HPLC analizlerinde kullanılan solventler (mobil faz)'in kolondo tutunma ihtimali sebebiyle solventler numune gibi cihazda okutulmuş olup Şekil 4.10.'daki mobil fazdan kaynaklanan pikler tanımlanmıştır.



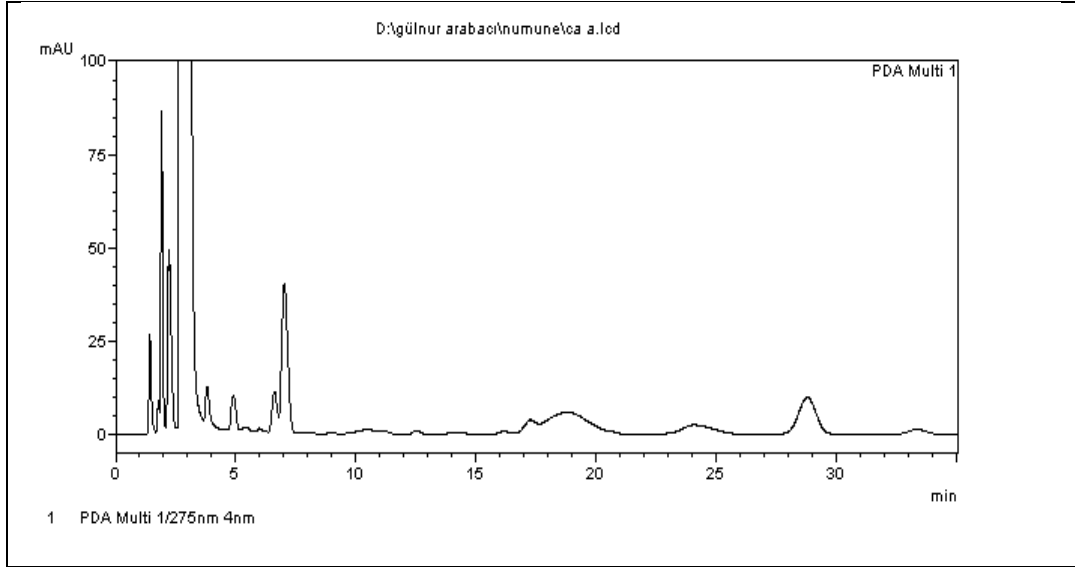
Şekil 4.10. Hareketli (Mobil) faz A: Asetonitril : 0.1% Fosforik Asid(15:85 v/v) kromatogramı



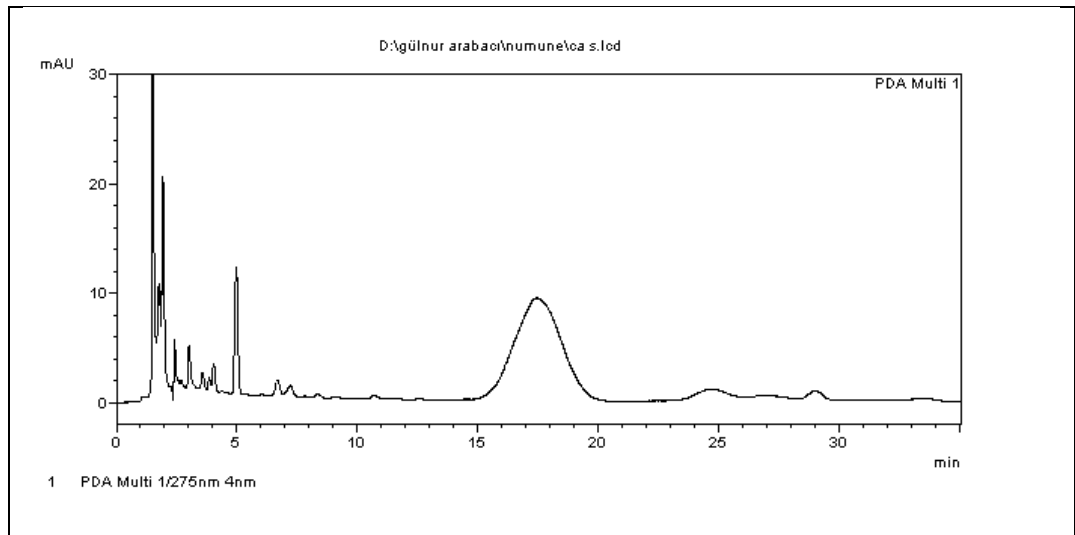
Şekil 4.11. *P. ferulacea* metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.12. *P. ferulacea* etil asetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.13. *P. ferulacea* aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



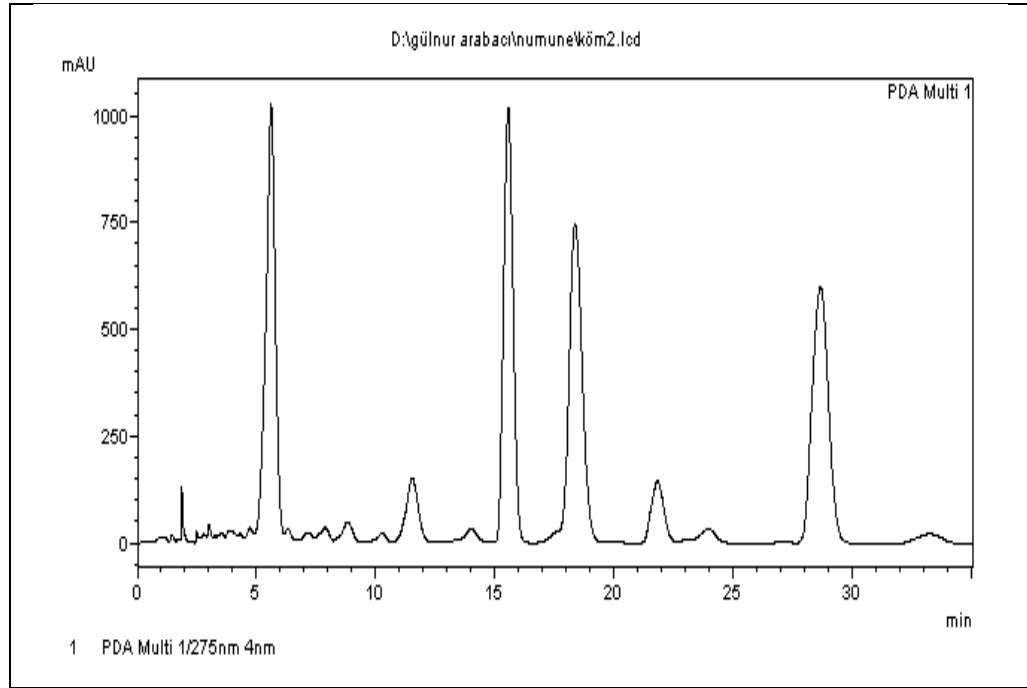
Şekil 4.14. *P. ferulacea* su ekstraksiyonu HPLC kromatogramı

Kromatografik ayırma işlemi HPLC'ye göre fenolik ve flavonoid bileşikler için çalışılan standartlarla analiz sonucunda *P. ferulacea* yedi fenolik bileşiği de ekstraktlarında içermesinden dolayı bitkinin fenolik antioksidan bir madde olduğu sonucuna varılabilir. Ancak aşağıdaki Tablo 4.7.'de alıkonma zamanları ve miktarları verildiği üzere farklı ekstreler farklı fenolik bileşikler içerir solventin etkisi profil belirlemede de önemli bir faktördür.

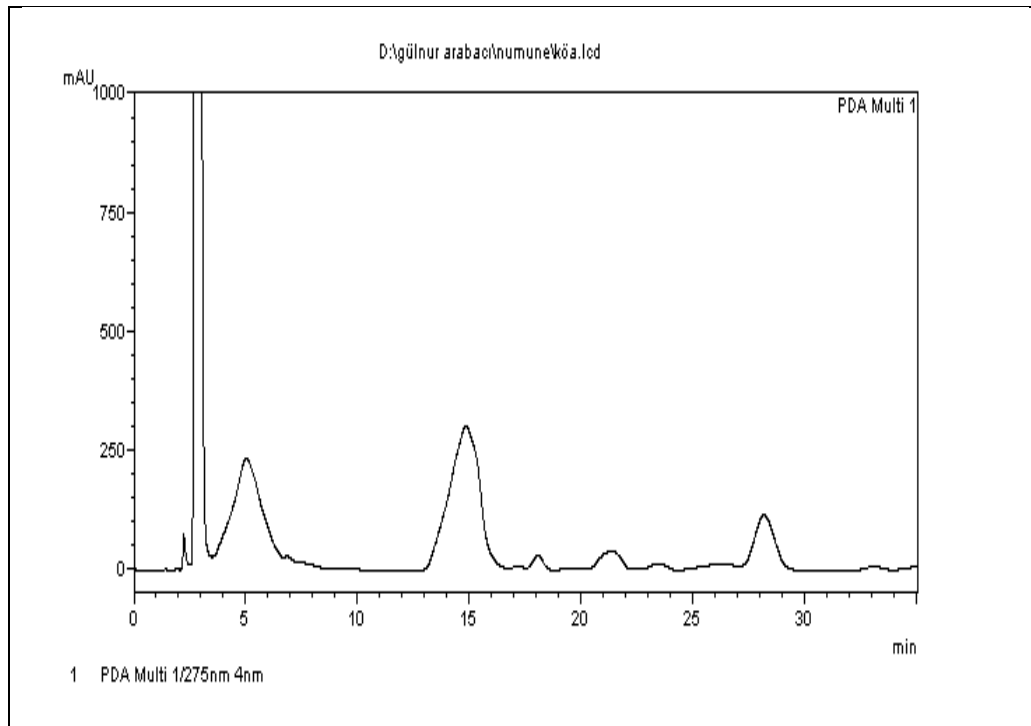
P. ferulacea bitkisinin metanol ekstraktında rutin (Şekil 4.11.), aseton ekstraktında ise klorojenik asit (Şekil 4.13.) dışında tüm standart fenolik bileşikler gözlenmiştir. Tüm ekstraktlarda (Şekil 4.11.-4.14.) gallik asit ve naringin bileşikleri tespit edilmiştir. Bitkimizin tüm ekstraktlarında gözlenen gallik asidin H₂O₂'nin zararlı etkilerine karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir [160]. Tüm analizlerde en yüksek miktar *P. ferulacea* bitkisinin aseton ekstraktında gallik asit olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.7. *P.ferulacea* bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler

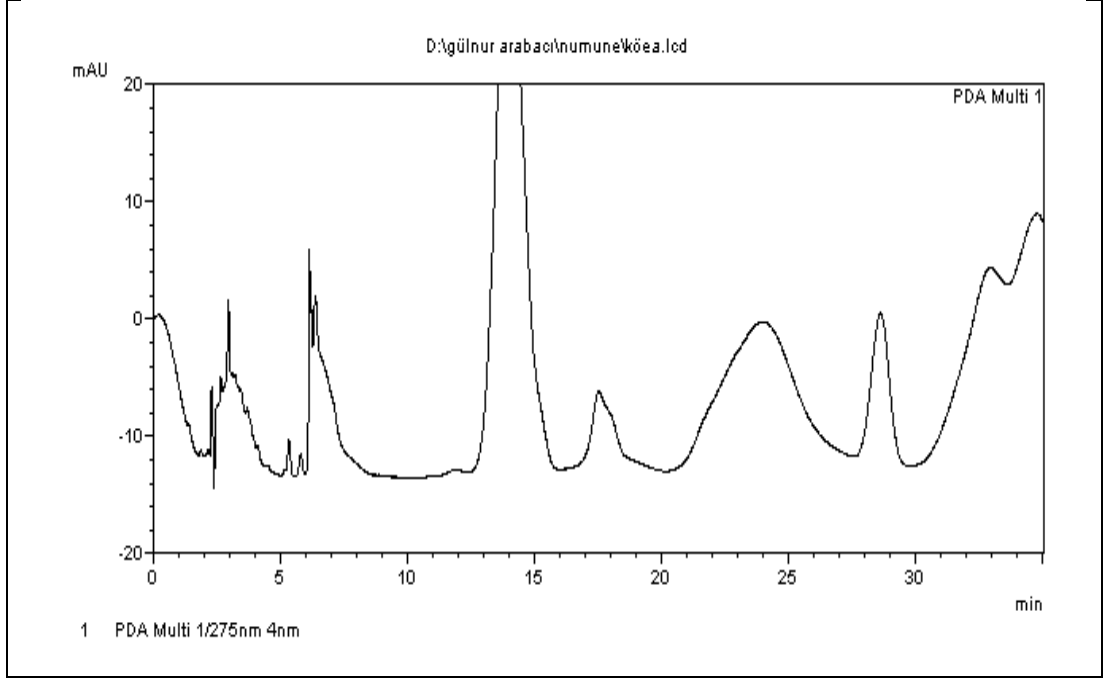
	Pik no	Fenolik Bileşikler	Alıkonma zamanı(dk)	Alan	Miktar (mg/20mg/mL ekstrakt)
	1	Gallik asit	2,97	70542,3	0,001
<i>P.ferulacea</i>	4	Kafeik asit	6,68	16633,2	0,008
Su Ekstraktı	5	Vanilik asit	7,19	13748,2	0,001
	6	Rutin	17,44	1261175,1	0,118
	7	Naringin	28,98	125635,8	0,001
	1	Gallik asit	2,71	58868703,2	1,961
<i>P.ferulacea</i>	2	Eskulin	3,80	103554,2	0,010
Aseton	4	Kafeik asit	6,61	155970,9	0,012
Ekstraktı	5	Vanilik asit	7,02	703462,4	0,024
	6	Rutin	18,20	648429,2	0,057
	7	Naringin	28,77	492903,2	0,024
	1	Gallik asit	2,47	12863,0	0,003
<i>P.ferulacea</i>	2	Eskulin	3,08	297727,7	0,049
Metanol	3	Klorojenik asit	4,96	592895,1	0,056
Ekstraktı	4	Kafeik asit	6,67	147654,8	0,011
	5	Vanilik asit	7,08	502971,3	0,017
	7	Naringin	28,99	204351,5	0,009
	1	Gallik asit	2,40	239054,3	0,006
<i>P.ferulacea</i>	2	Eskulin	3,77	118484,7	0,013
Etilasetat	3	Klorojenik asit	4,85	228916,6	0,004
Ekstraktı	4	Kafeik asit	6,22	1116419,2	0,038
	7	Naringin	28,61	632183,9	0,002



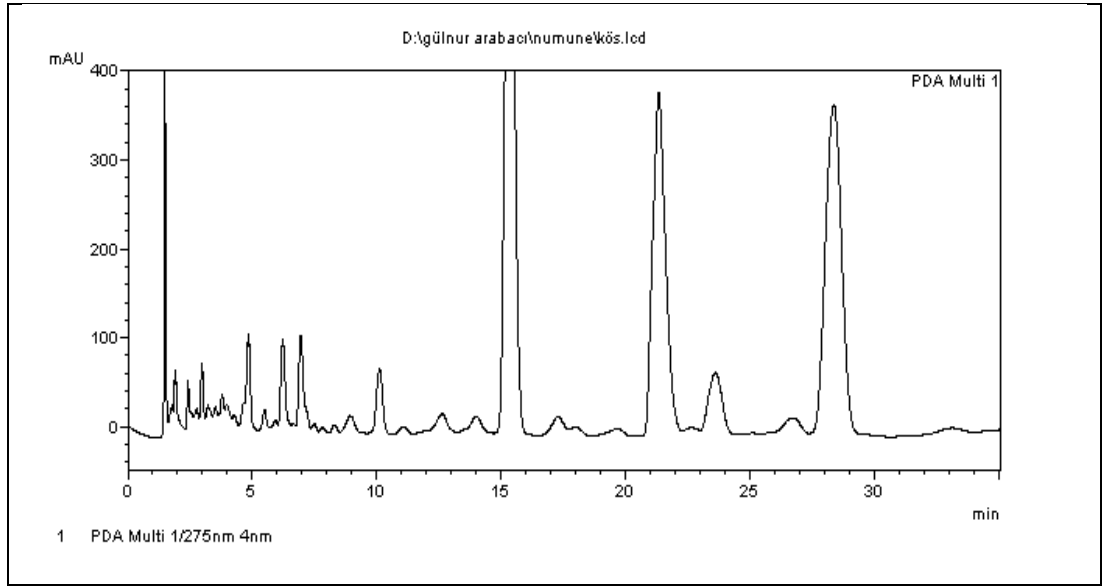
Şekil 4.15. *S. spicigera* metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.16. *S. spicigera* aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.17. *S. spicigera* etil asetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.18. *S. spicigera* su ekstraksiyonu HPLC kromatogramı

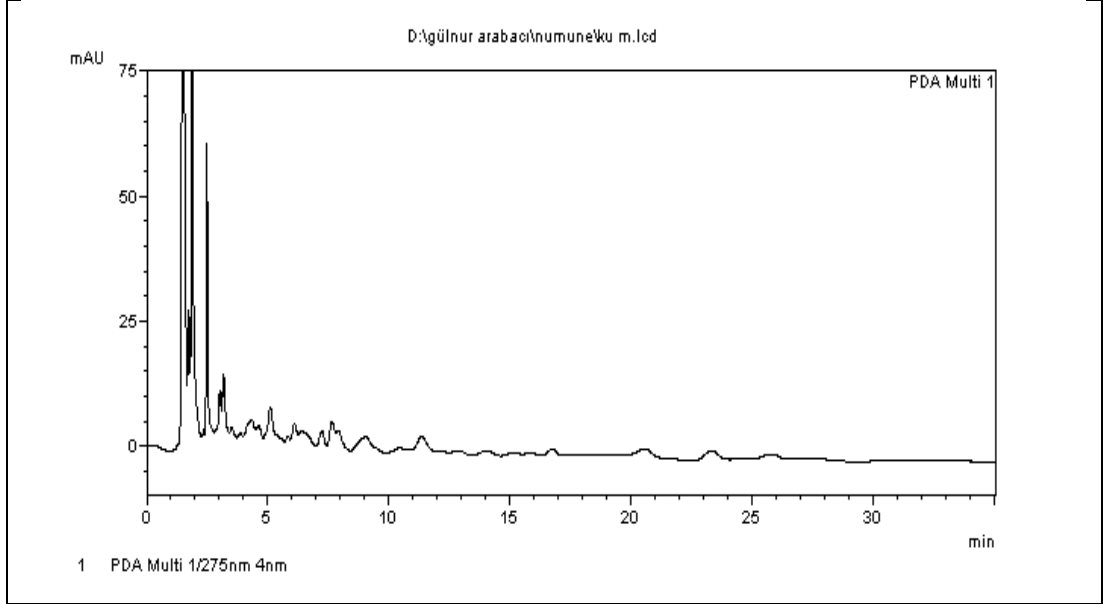
HPLC profil sonuçlarına göre *S. spicigera* bitkisinin metanol (Şekil 4.15.) ve su (Şekil 4.18.) ekstraktlarında yedi standart bileşiğin tamamı gözlenmiştir. Aseton ekstraktında gallik asit, klorojenik asit, rutin ve naringin bileşikleri (Şekil 4.16.) tespit edilirken etil asetat ekstraksiyonunda galik asit, klorojenik asit, vanilik asit ve naringin bileşikleri tespit edildi (Şekil 4.17.).

Tablo 4.8. *S. spicigera* bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler

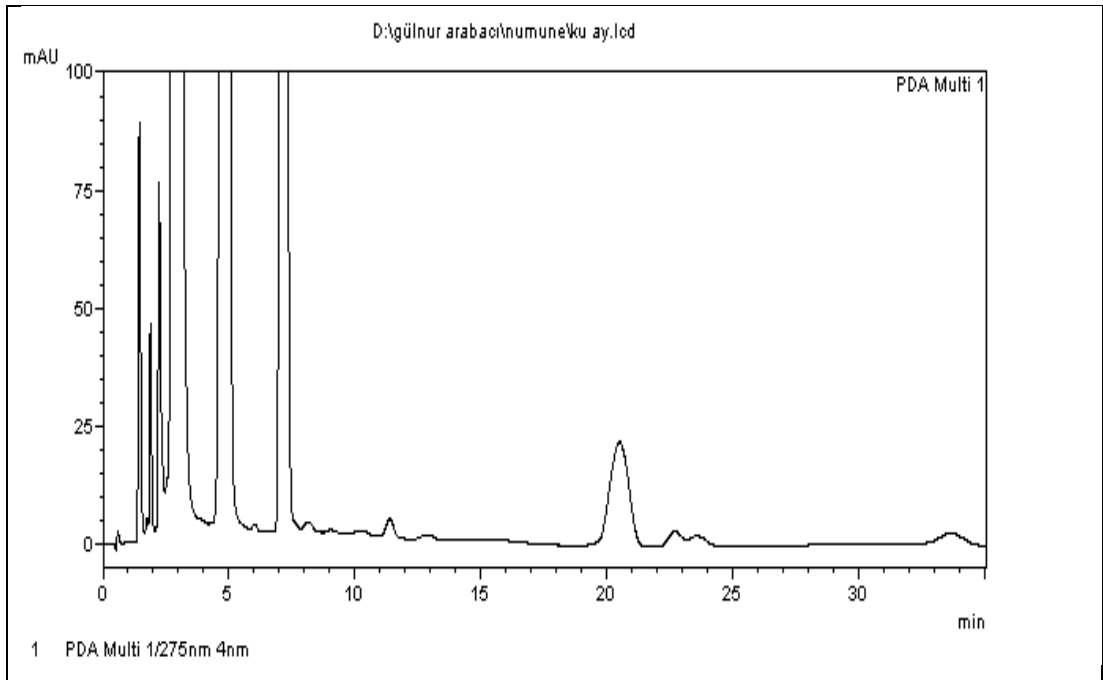
	Pik no	Fenolik Bileşikler	Alıkonma zamanı(dk)	Alan	Miktar (mg/20mg/mL ekstrakt)
<i>S.spicigera</i> Su Ekstraktı	1	Gallik asit	2,97	380939,9	0,011
	2	Eskulin	3,78	137092,1	0,017
	3	Klorojenik asit	4,84	1049893,5	0,121
	4	Kafeik asit	6,21	2057920,4	0,059
	5	Vanilik asit	6,94	1402533,4	0,047
	6	Rutin	20,41	13590558,4	1,351
	7	Naringin	28,34	16636750,5	0,083
<i>S.spicigera</i> Aseton Ekstraktı	1	Gallik asit	2,71	63802280,0	2,125
	3	Klorojenik asit	5,02	16959319,5	2,394
	6	Rutin	18,96	809538,8	0,073
	7	Naringin	28,16	6589740,6	0,329
<i>S.spicigera</i> Metanol Ekstraktı	1	Gallik asit	3,01	172003,0	0,004
	2	Eskulin	3,52	67643,4	0,003
	3	Klorojenik asit	5,61	27007317,1	3,829
	4	Kafeik asit	6,31	191678,8	0,012
	5	Vanilik asit	7,18	291323,1	0,010
	6	Rutin	18,35	28534530,3	2,845
	7	Naringin	28,65	27562572,8	1,377
<i>S.spicigera</i> Etilasetat Ekstraktı	1	Gallik asit	2,97	33399,0	0,019
	4	Kafeik asit	6,15	37141,7	0,009
	5	Vanilik asit	6,40	34148,4	0,002
	7	Naringin	28,61	607066,2	0,029

Tablo 4.8.'de alıkonma zamanları ve miktarları (mg) verildiği üzere gibi farklı ekstraktlar farklı fenolik ve flavonoid bileşikler içerir. Tüm ekstraktlardaki tüm standart bileşiklerin miktarları 0,003-3,829 mg arasında hesaplandı. En yüksek fenolik bileşik miktarı klorojenik asit olarak bulundu (3,829 mg/mL metanol ekstrakt). Bulgularımız daha önceki çalışmalar ile benzerlik göstermiş olup çalışmamızda *S. spicigera* bitkisinde bulunan en yüksek fenolik bileşik olan klorojenik asidin Bouayed ve

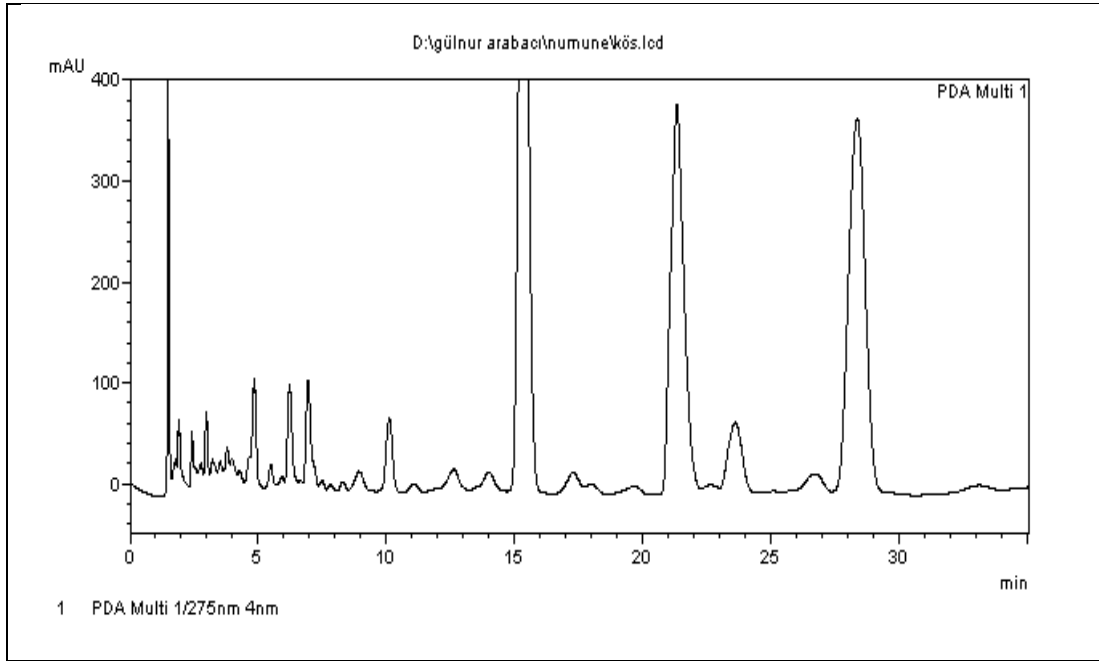
arkadaşları tarafından yapılan araştırmada yüksek değerde anksiyolitik ve antioksidan kapasiteye sahip bir fenolik bileşik olduğu bildirilmiştir [161, 162].



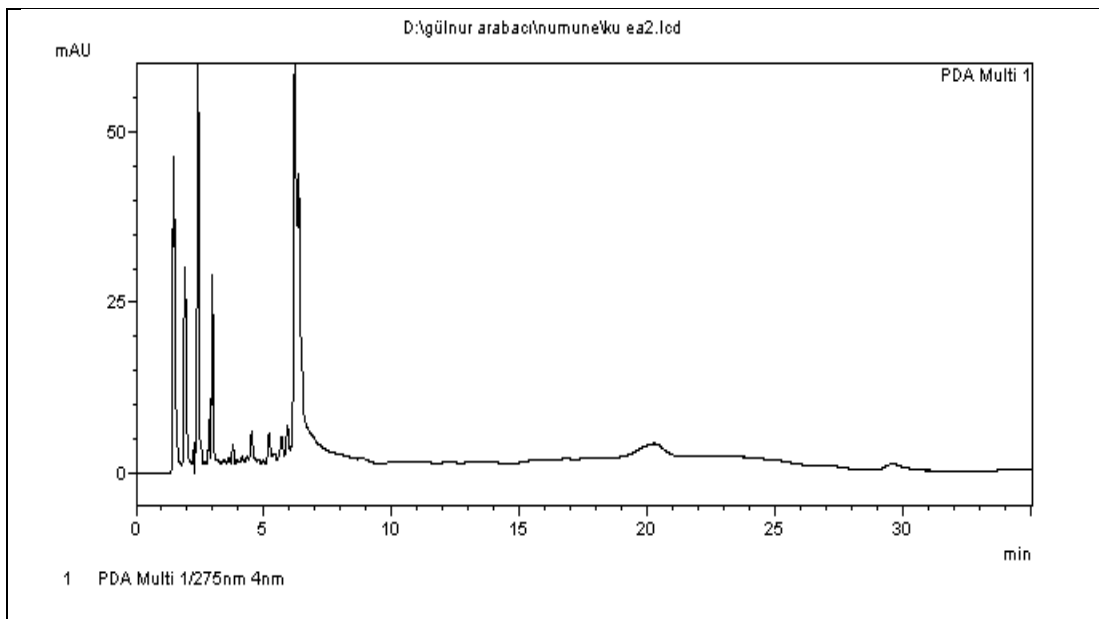
Şekil 4.19. *A. millefolium* metanol ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.20. *A. millefolium* aseton ekstraksiyonu HPLC kromatogramı



Şekil 4.21. *A. millefolium* su ekstraksiyonu ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.22. *A. millefolium* etilasetat ekstraksiyonu HPLC kromatogramı

HPLC profil sonuçlarına göre *A. millefolium* bitkisinin bütün ekstraktların da eskulin bileşiği gözlenmemiştir. Aseton ekstraktında yüksek değerlerde gallik asit ve klorojenik asit ve ilaveten rutin ve vanilik asit bileşikleri (Şekil 4.20.) tespit edilirken diğer ekstraksiyonlarda (Şekil 4.19., Şekil 4.21. ve Şekil 4.22.) düşük miktarda bileşikler tespit edildi.

Tablo 4.9. *A. millefolium* bitkisi ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşikler

	Pik no	Fenolik Bileşikler	Alıkonma zamanı(dk)	Alan	Miktar (mg/20mg/mL ekstrakt)
<i>A.millefolium</i> Su Ekstraktı	1	Gallik asit	2,42	441551,3	0,013
	3	Klorojenik asit	4,84	231187,5	0,004
	4	Kafeik asit	6,50	10902,1	0,008
	5	Vanilik asit	7,12	65494,8	0,003
<i>A.millefolium</i> Aseton Ekstraktı	1	Gallik asit	2,72	64538369,5	2,150
	3	Klorojenik asit	4,88	12461770,6	1,751
	5	Vanilik asit	7,14	8509095,9	0,284
	6	Rutin	20,43	643789,2	0,056
<i>A.millefolium</i> Metanol Ekstraktı	1	Gallik asit	2,47	244288,5	0,007
	4	Kafeik asit	6,09	25686,0	0,008
	5	Vanilik asit	7,22	34225,3	0,002
<i>A.millefolium</i> Etil asetat Ekstraktı	1	Gallik asit	2,97	122825,5	0,003
	4	Kafeik asit	6,20	469051,8	0,019
	5	Vanilik asit	6,35	335939,6	0,012
	6	Rutin	20,24	115220,8	0,004

Tablo 4.9.'de alıkonma zamanları ve miktarları (mg) verildiği üzere gibi bitkinin farklı ekstraktları farklı fenolik ve flavonoid bileşikler içerir. Çalışmamızda kullandığımız üç bitkinin de aseton ekstraktlarının yüksek sonuçlar vermesi HPLC uygulamaları için asetonun uygun çözücü olarak kullanılabilceğini ön görmemizi sağlar.

4.8. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin tayini için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Bitkilerin konsantrasyonları 20 mg/ml olacak şekilde hazırlanmış özütlerinin *Bacillus cereus* (SBT8), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) adlı patojen standart bakteri suşları ile *Candida albicans* (ATCC 10231) adlı maya suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Antimikrobiyal aktivite sonuçları (-, antimikrobiyal aktivite yok. Pozitif kontroller; ampisilin ve flukonazol, negatif kontroller; su,metanol,etilasetat,aseton ,İZÇ: inhibisyon zon çapı;mm)

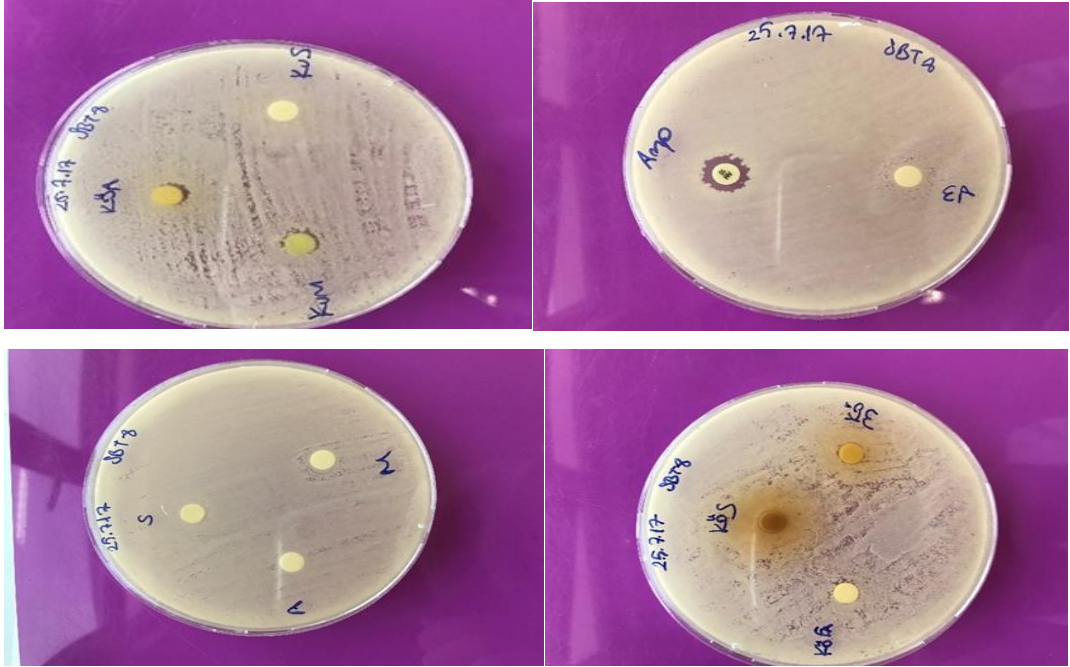
	<i>Bacillus cereus</i> (SBT8)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Candida albicans</i>
	İZÇ (İnhibisyon Zon Çapı: mm)			
Ampisilin	15	24	34	-
Flukonazol	-	-	-	19
<i>A. millefolium</i> etil asetat	8	8	9	8
<i>A.millefolium</i> metanol	-	6	9	10
<i>A.millefolium</i> aseton	-	6	6	7
<i>A. millefolium</i> su	-	-	8	-
<i>P. ferulacea</i> etil asetat	-	-	9	-
<i>P.ferulacea</i> metanol	-	-	6	-
<i>P. ferulacea</i> aseton	-	-	7	-
<i>P. ferulacea</i> Su	-	-	11	6
<i>S.spicigera</i> etil asetat	-	5	8	6
<i>S. spicigera</i> aseton	-	5	9	4

<i>S.spicigera</i> metanol	-	10	13	-
<i>S. spicigera</i> su	-	11	11	7
Negatif Kontrol (Su,etilasetat, metanol,aseton	-	-	-	-

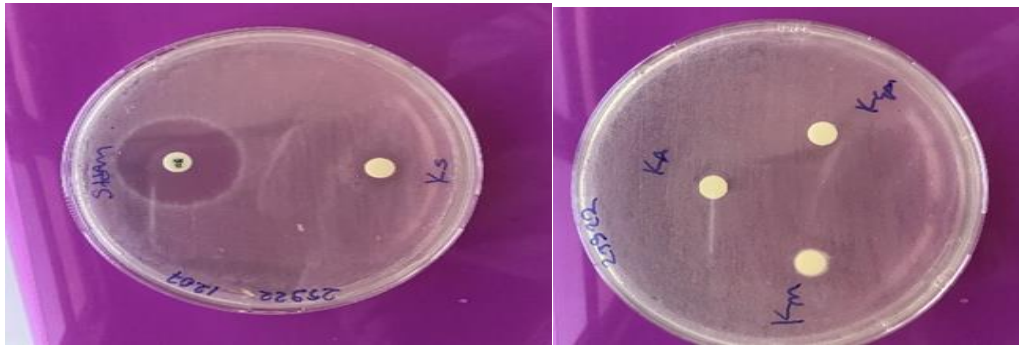
Tablo 4.10.'da verildiği üzere antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösteren, gıda zehirlenmelerine neden olan *Bacillus* çeşidi *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı (Şekil 4.23., 4.27. ve 4.31.) *A. millefolium* bitkisinin etil asetat ekstraktı (8 mm İZÇ) hariç hiçbir bitki ekstraktı sonuç verememiştir [163]. *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı (Şekil 4.24., 4.28. ve 4.32.) *A. millefolium* (6-8 mm İZÇ) ve *S. spicigera* (5-11 mm İZÇ) bitkileri sonuç vermiş olup *P. ferulacea* bitkisinin hiçbir ekstraksiyonu sonuç vermemiştir. Benzer bir çalışmada *P. ferulacea* bitkisinin esansiyel yağ bileşenlerinin aynı bakteriye karşı aktivite gösterdiği bilinmektedir. Uçucu yağların kimyasal bileşimleri sayesinde mantar önleyici etkilere ve antibakteriyel özelliklere daha çok sahip oldukları bilinmektedir. Bu yüzden çalışmamızda *P. ferulacea* bitkisinin kalın gövde kısmının değerlendirilmesinin sonuçlar üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir [164].

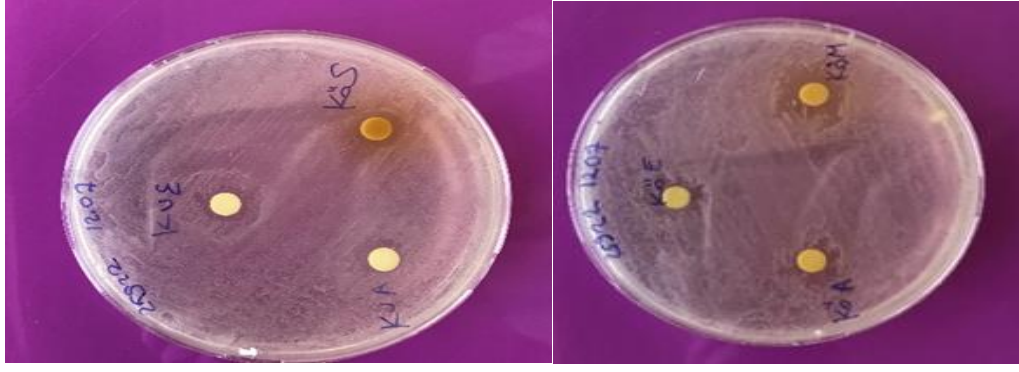
Staphylococcus aureus (ATCC 25923) bakterisine karşı (Şekil 4.25., 4.29. ve 4.33.) çalışılan 12 bitki ekstraktında (5-13 mm İZÇ) aktivite göstermiş olup en yüksek aktiviteyi *S. spicigera*'nın metanol ekstraktı (13 mm İZÇ) vermiştir. *Candida albicans* 'a karşı (Şekil 4.26., 4.30. ve 4.34.) ise 3 bitkide aktivite göstermiş olup *A. millefolium* 'un metanol ekstraktı (10 mm İZÇ) en yüksek değeri vermiştir. Genel bir değerlendirme yapmak istersek çalışmamıza göre *S. spicigera* 'nın diğer bitkilerden daha aktif bir antimikrobiyal olduğu sonucuna varabiliriz. Bir kekik türü olan *S. spicigera* 'ya benzer kekik türleriyle de yapılan çalışmalarda bu çeşitlerin iyi bir antimikrobiyal olduğu görülmüştür [81, 165].

Sonuç olarak antioksidan aktivite sonuçlarında olduğu gibi antimikrobiyal aktivite sonuçlarında da bitkini çeşidi, ekstraksiyon çözücü farklılığı, çalışılan bitki bölümü gibi şartlar aktivite sonuçları üzerinde çok fazla etkilidir.

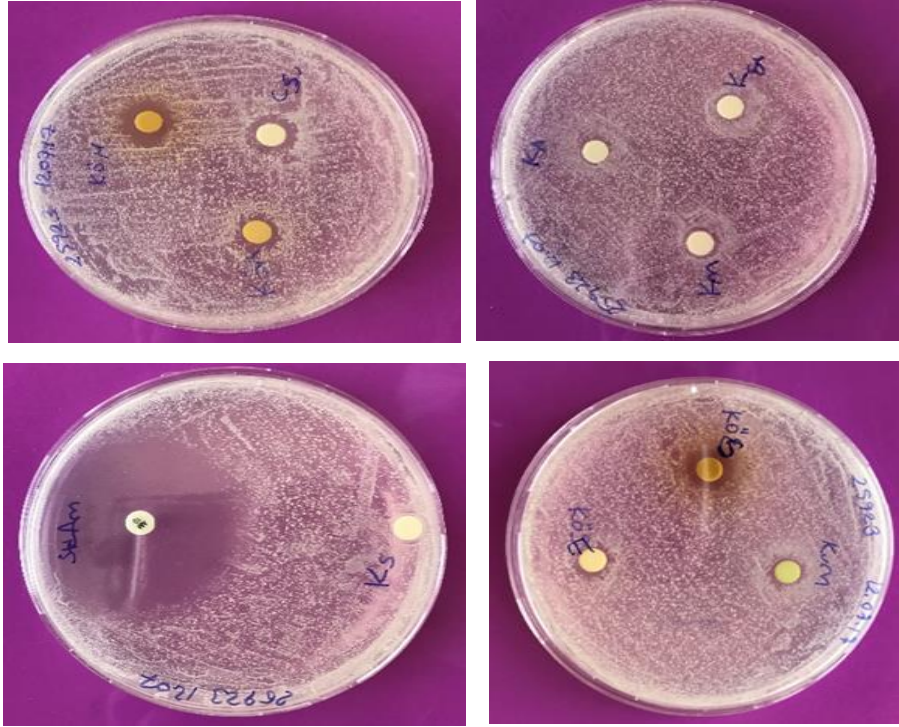


Şekil 4.23. *S. spicigera* bitkisinin *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : metanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, KÖS : su eks., KÖA : aseton eks., KÖEA:etil asetat eks., KÖM: metanol eks.)

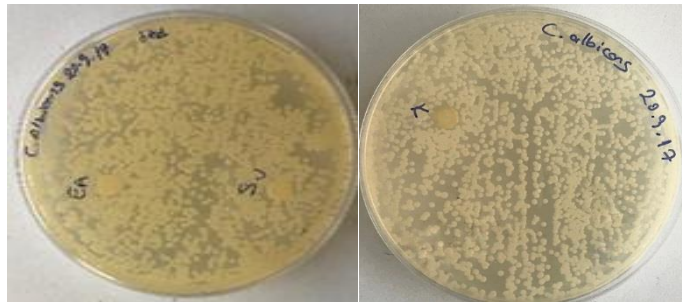


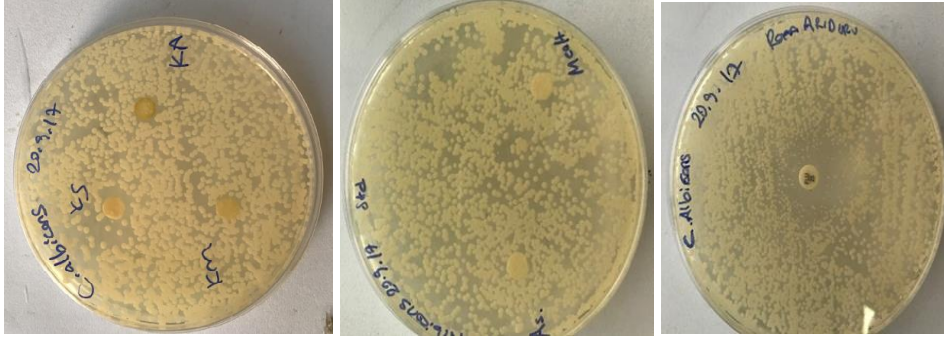


Şekil 4.24. *S. spicigera* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü,KEA : etil asetat körü, KS: su körü, KÖS : su eks., KÖA: aseton eks., KÖM: metanol eks., KÖE:etil asetat eks.)

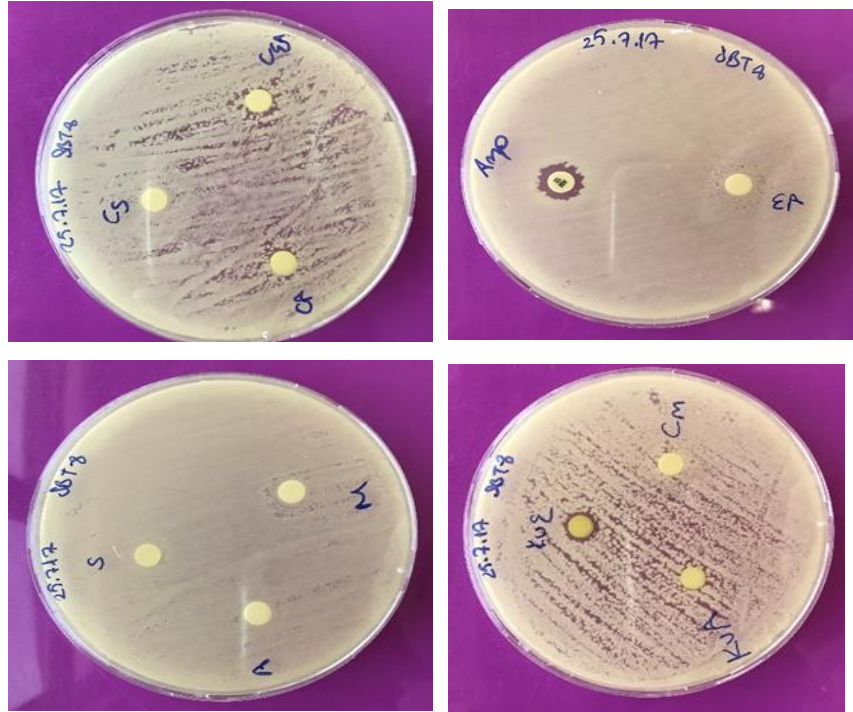


Şekil 4.25. *S. spicigera* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü,KEA : etil asetat körü, KS: su körü, KÖS : su eks., KÖE: etil asetat eks., KÖM: metanol eks., KÖA:aseton eks.)

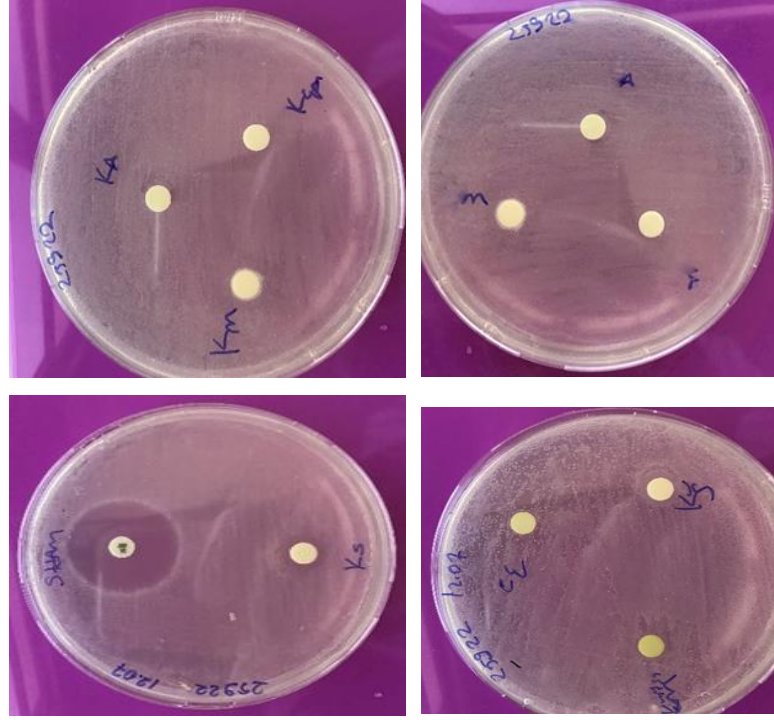




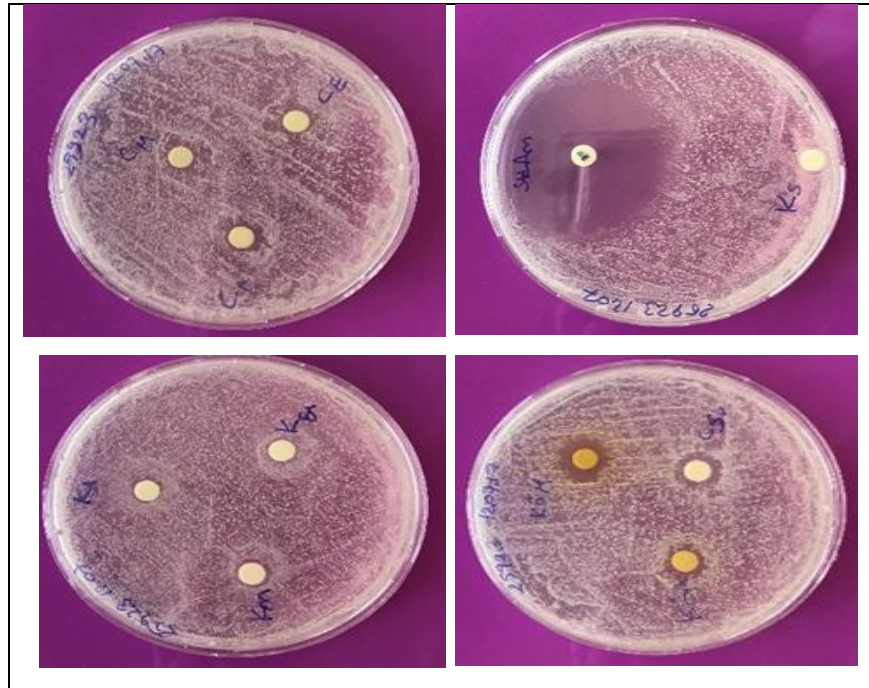
Şekil 4.26. *S. spicigera* bitkisinin *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (As: aseton körü, Meoh : metanol körü, EA : etil asetat körü, Su: su körü,, KS : su eks., KA : aseton eks., KM: metanol eks, K:etil asetat eks.)



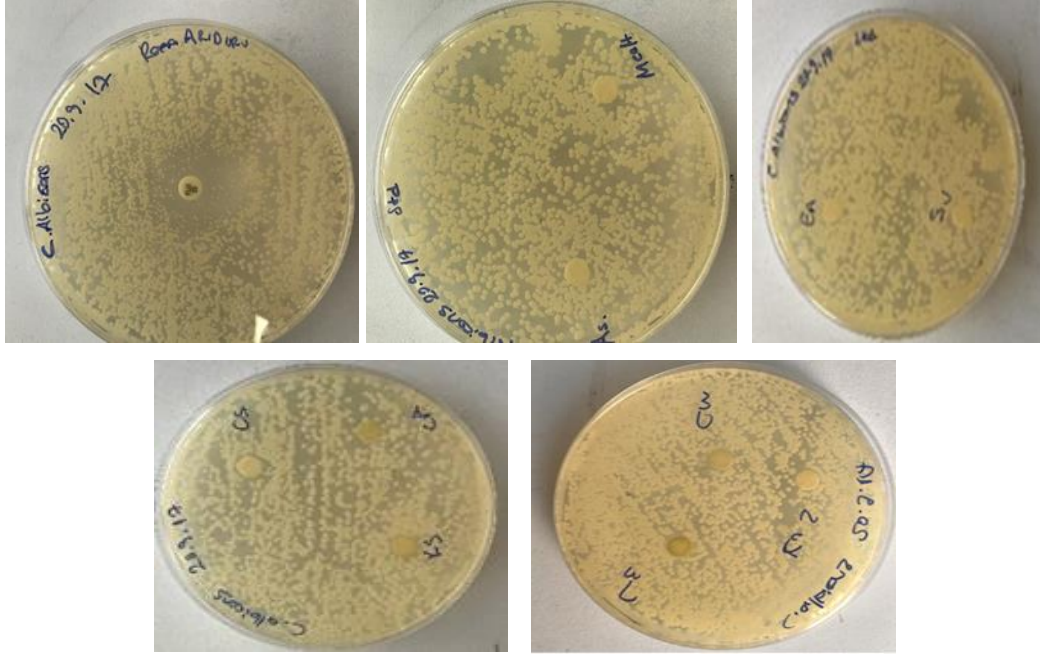
Şekil 4.27. *P. ferulacea* bitkisinin *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : metanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, CS : su eks, CA : aseton eks., CM: metanol eks., CEA: etil asetat eks.)



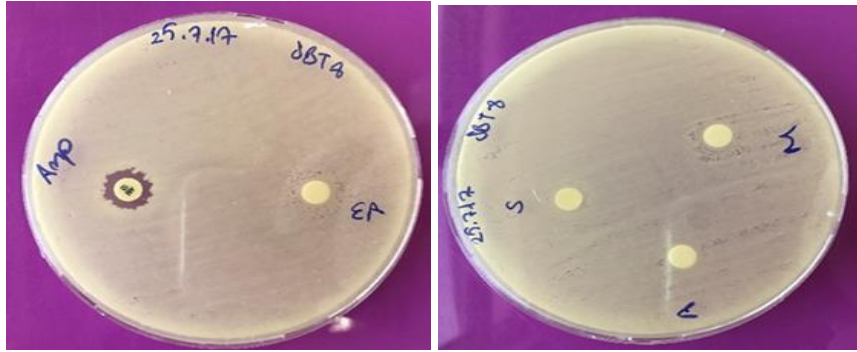
Şekil 4.28. *P. ferulacea* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü, KEA : etil asetat körü, Ks: su körü, S : su eks., A : aseton eks., M: metanol eks., CE: etil asetat eks.)



Şekil 4.29. *P. ferulacea* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü, KEA : etil asetat körü, KS: su körü, CS : su eks, CA : aseton eks., CM: metanol eks., CEA: etil asetat eks.)

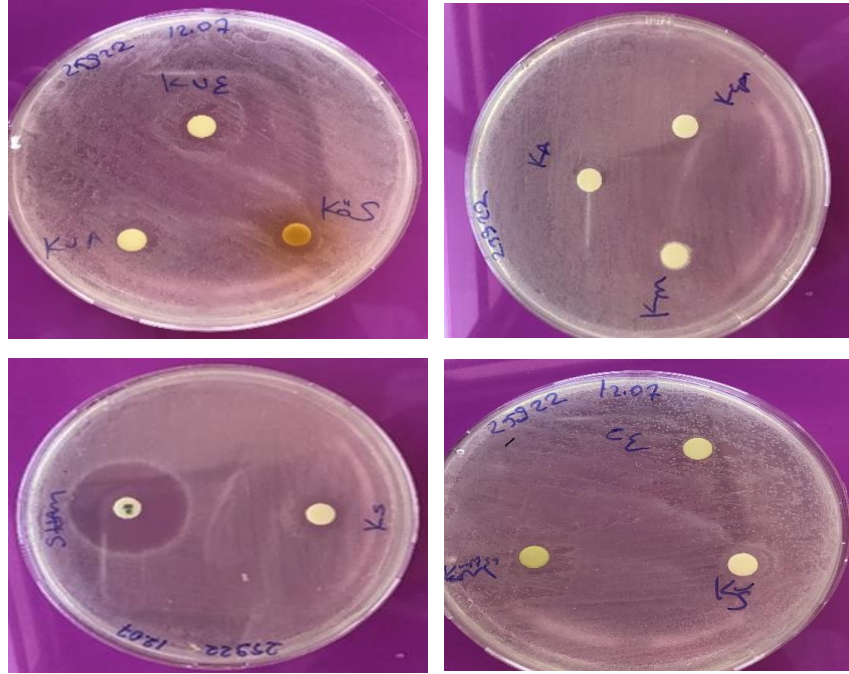


Şekil 4.30. *P. ferulacea* bitkisinin *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (As: aseton körü, Meoh : metanol körü, EA : etil asetat körü, Su: su körü, CS : su eks, CA : aseton eks., CM: metanol eks., CEA: etil asetat eks.)

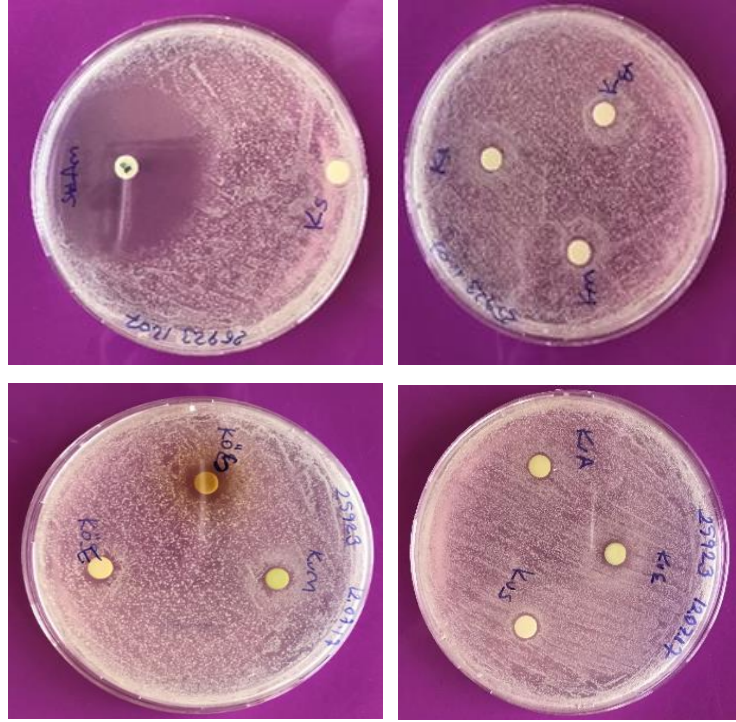




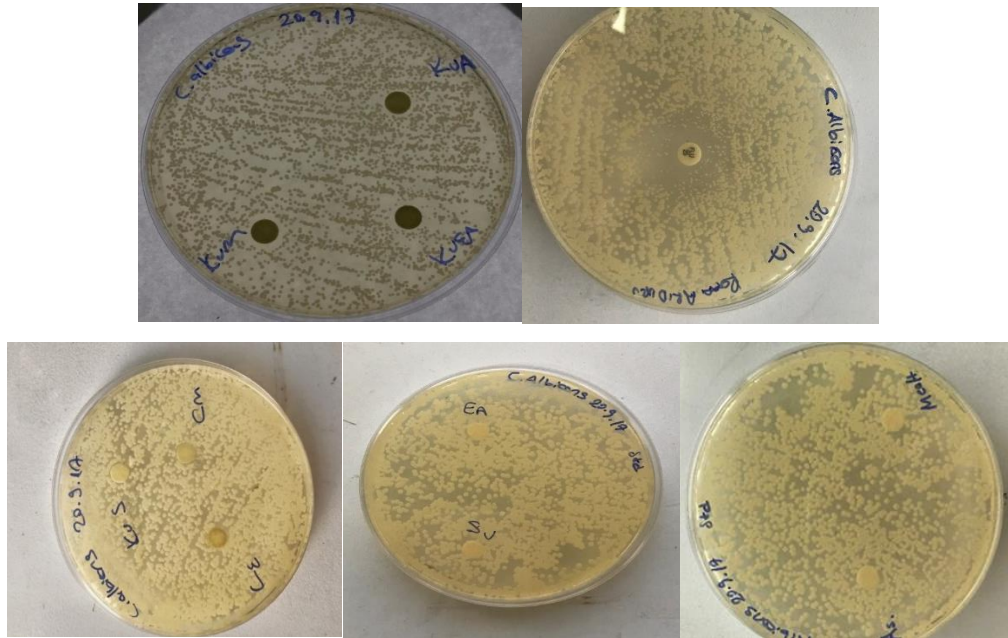
Şekil 4.31. *A. millefolium* bitkisinin *Bacillus cereus* (SBT8) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (A: aseton körü, M : metanol körü, EA : etil asetat körü, S: su körü, KuS : su eks., KuA : aseton eks., KUM: metanol eks., KUE: etilasetat eks.)



Şekil 4.32. *A. millefolium* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü, KEA : etil asetat körü, KuS: su körü, KuS : su eks., KuA : aseton eks., KUM: metanol eks., KUE: etilasetat eks.)



Şekil 4.33. *A. millefolium* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (KA: aseton körü, KM : metanol körü, KEA : etil asetat körü, KuS : su eks., KuA : aseton eks., KUM: metanol eks., KUE: etilasetat eks.)



Şekil 4.34. *A. millefolium* bitkisinin *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite sonuçları. (As: aseton körü, Meoh : metanol körü, EA : etil asetat körü, Su: su körü, KuS : su eks., KuA : aseton eks., KUM: metanol eks., KUE: etilasetat eks.)

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasında bileşenlerindeki fenolik ve flavonoid maddelerden dolayı tedavi amaçlı kullanıldıklarında yararlı sonuçlar alındığını düşündüğümüz, *Satureja spicigera* (K.Koch) Boiss, *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. ve *Achillea millefolium* bitkilerinin 4 farklı çözücü ile ekstraksiyonları çeşitli spektrofotometrik yöntemlerle antioksidan özelliklerinin incelenmesi için analiz edildi. Günümüzde hastalıkların antibiyotik ilaçlara karşı göstermiş oldukları dirence karşı yardımcı doğal yöntemlerin kullanımının artmasından dolayı bu bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri de disk difüzyon yöntemiyle belirlendi.

İnsanların sağlık konusuna doğal ürünlere daha fazla ilgi göstermeye başlamaları, ilaç gibi tıbbi etkili ürünleri yan etkileri dolayısıyla kullanmak istememeleri ile birlikte doğal ürünlerin ve fonksiyonel gıda ürünlerinin önemi artmıştır. Doğal ürünlerin direkt ya da çay şeklinde tüketimlerinin yanı sıra gıdalara eklenerek de kullanımı oldukça yaygındır. Günümüzde en yaygın kullanılan fonksiyonel gıda takviyelerinden birisi antioksidanlardır. Antioksidan maddeler aktivitelerini; serbest radikallerin inaktivasyonu, metal iyonlarıyla şelat oluşturma (kompleks yapı), hidro-peroksitlerin indirgenmesi veya bu özelliklerin bir arada bulunması şeklinde gösterirler. Bu mekanizmalarla sağlanan antioksidan aktivitelerin bileşenlerde bulunan fenolik ve flavonoid bileşikler sayesinde olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bitkilerde görülen antioksidan aktivitenin bitkide bulunan pek çok doğal antioksidan bileşiğin birbirleriyle sinerjistik olarak faaliyet göstermesi ve serbest radikallere etki ederek güçlü bir savunma sağlanmasıyla hastalıklara karşı savunma mekanizması oluşturmalarından kaynaklı olduğu yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir [166]. Antioksidan maddelerce zengin gıda kaynaklarının üretimindeki artış ve tüketicilerin bu konuda bilinçli bir şekilde davranmasını sağlayacak bilinçlendirmenin yapılması

yaşam kalitesini arttırarak daha sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için büyük önem taşımaktadır.

Bitkilerin içeriğindeki fenolik yapıli bileşiklerin eldesinde ve buna bağlı maksimum antioksidan kapasitesi değerine ulaşılmada ekstraksiyon çözücüsü (solvent) farklılığının aktiviteye etkisi incelendiğinde varılan en genel sonuç bitkilerin metanol özütlерinin analiz değerleri ile aseton özütlерinin analiz değerlerinin etil asetat ve su özütlерinin analiz değerlerinden daha iyi şekilde aktivite gösterdiğidir. Bitkilerin HPLC ile fenolik madde tayininde ise spektrofotometrik yöntemlerle paralel olarak aseton ve metanol ekstraktları su ve etil asetat ekstraktlarından daha iyi sonuçlar vermiştir. Bitkisel kaynakların yapısal farklılıklarından ötürü ekstraksiyon esnasında örnekler için tek bir solvent sisteminin kullanımının söz konusu olmamasıyla birlikte her bitkinin daha iyi aktivite gösterdiği bir çözücüsünün var olduğu kabul edilmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlarında açıkça ortaya koyduğu gibi analizlerde farklı çözücülerle çalışarak en uygun çözücü seçilebilir ve bu sayede bitkilerin antioksidan aktivitesinde yüksek sonuçlar kaydedilebilir.

Yapılan çalışmadaki sonuçlara göre analiz bitkilerinin antioksidan aktivitelerinde fenolik yapıli madde miktarlarındaki farklılıkların etkileri görülmüştür. Bitki örneklerinin tüm ekstraksiyonlarında elde edilen farklı antioksidan aktivite değerlerinin, ekstraksiyon esnasında solvante geçen fenollerin miktarı ve kimyasal yapılarından dolayı olduğu söylenebilir. Güçlü radikal yakalama kapasitesine ve yüksek fenolik/flavonoid madde içeriğine sahip olmanın tüm antioksidan aktivitesi çalışmalarında yüksek sonuca etki etmediği belirlenmiş olup tek bir analiz metodu ile bitkinin antioksidan kapasitesi hakkında karar vermenin doğru olmadığı anlaşılmakta ve antioksidan aktivitesi belirlenirken elde edilen aktivite sonuçlarının her bir özelliğe göre verilerek farklı metotların uygulanması gerekmektedir.

Bu kapsamda uygulanan spektrofotometrik antioksidan analizlerine genel olarak bakıldığında yapısal olarak bitkilerin aktivitelerinin *Satureja spicigera* > *Achillea millefolium* > *Prangos ferulacea* şeklinde olduğu görüldü. Araştırma veri ve sonuçlara göre; yöresel halk arasında özellikle mide rahatsızlıklarına karşı şifa amaçlı olarak

tüketilen *Satureja spicigera* ve çeşitli kanser hastalıklarında tüketilen *Achillea millefolium*'un antioksidan özellikleri deneysel olarak belirlenmiş olup tüketilmeleri sonucu alınan olumlu etkilerde antioksidan özelliklerinin etkili olduğu düşünülmektedir. İlaveten *Prangos ferulacea*'nın şifa amaçlı tüketilmeleri sonucunda hastalıklara karşı sağladıkları yararların; kalın gövde bölümü ile yapılan çalışmasında diğer bitkilere göre daha az aktivite göstermesine rağmen sahip olduğu antioksidan aktivitesinin katkısının olduğu düşünülmektedir.

HPLC antioksidan madde profil sonuçlarına göre; *S. spicigera* bitkisinin metanol ve su ekstraktlarında yedi standart bileşiğin tamamı gözlenmiş olup aseton ekstraktında gallik asit, klorojenik asit, rutin ve naringin bileşikler tespit edilirken etil asetat ekstraksiyonunda galik asit, klorojenik asit, vanilik asit ve naringin bileşikler tespit edildi. *A. millefolium* bitkisinin tüm ekstraktlarında eskulin bileşiği gözlenmemiş olup aseton ekstraktında yüksek değerlerde gallik asit ve klorojenik asit ve ilaveten rutin ve vanilik asit bileşikler tespit edilirken diğer ekstraksiyonlarda düşük miktarda bileşikler tespit edildi. *P. ferulacea* bitkisinin ise metanol ekstraktında rutin, aseton ekstraktında ise klorojenik asit dışında tüm standart fenolik bileşikler gözlenmiş olup tüm ekstraktlarda gallik asit ve naringin bileşikler tespit edilmiştir. Kromatografik ayırma işlemi HPLC'ye göre fenolik ve flavonoid bileşikler için çalışılan standartlarla yapılan analizler sonucunda bitkilerin antioksidan yapıları bileşikler ekstraktlarında içermelerinden dolayı antioksidan özellik gösterdikleri sonucuna varılabilir.

Araştırmamızın ikinci aşaması bitkilerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesidir. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalarda, 4 farklı çözücü kullanılmıştır. Bitkilerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda bitki özütlerinin gram-pozitif, gram-negatif bakteriler ve mayaya karşı her bir bitkinin farklı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bitkilerin antimikrobiyal bileşenlerinden test amaçlı kullanılan mikroorganizma çeşitlerinin her birinin farklı ölçülerde etkilendikleri birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir. Bu farklı etkinin bitkilerin sahip olduğu kimyasal yapı, test edilen mikroorganizma türleri, ekstraksiyon işlemindeki solvent miktarı ve farklılığı gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda incelenen bitki ekstraktlarında tüm test

mikroorganizmalarına karşı etkili olmayışı bu nedenlerden kaynaklanabilir. Araştırmamızda mikroorganizmalar üzerine daha etkili olan çözücülerin su ve etil asetat olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite yönünden bitkileri genel olarak karşılaştırdığımız da antioksidan aktiviteye paralel olarak *Satureja spicigera* > *Achillea millefolium* > *Prangos ferulacea* sıralamasını elde etmiş bulunmaktayız.

Günümüzde geleceğe yönelik antioksidan olarak kullanılan sentetik ajanların yan etkilerinden dolayı yerlerini alabilecek doğal antioksidan arayışları devam etmekte ve ilgi giderek artmaktadır. Bu tip araştırmalarla yüksek antioksidan aktivitesi gösteren en uygun solvent ekstraktlı bitkileri belirleyerek özellikle ilaç ve gıda üretim proseslerindeki araştırma ve geliştirme merkezlerinde antioksidan özelliklerinin belirlenmesiyle çalışmaların endüstriyel sanayi uygulamalarına yönelik devamlılığının sağlanması önerilmektedir. Sağlık sistemlerindeki antioksidan etkilerin incelenmesi çalışmaları ile de hastalıklara karşı tedavi edici alternatif yolları uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması düşünülmekte olup ilaç sanayi ile olumlu birlikteliklerin yapılması tavsiye edilmektedir.

Bakteri kaynaklı hastalıklara karşı günümüzde kullanılan çoğu antibiyotik ilaç, bakterilerin etken maddeye karşı gösterdiği direncin artması yüzünden etkisiz hale gelmektedir. Bu nedenle insanlar çok eskilerden beri faydalanılan bitkilere ve bitkilerle tedavi olarak bilinen alternatif tıpa doğru yöneltmiştir. Diğer ülkelerden ithal edilen farklı ilaç etken maddeleri yerine daha ucuza elde edilebilecek bitki drog veya ekstrelerin antimikrobiyal etki bakımından çok daha önemli olduğu düşünülmektedir.

Tüm bulgular çalışma bitkilerimizin daha ayrıntılı ve profesyonel çalışmalar ile gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılan çeşitli hasarlara sebep olduğu ileri sürülen sentetik antioksidan maddeler yerine aranılan doğal antioksidan maddelerden biri olabilecek özellikte olduğunu gösterir niteliktedir. Özellikle su ekstraktlarının antioksidan aktivite göstermeleri bitkileri günlük tüketimde bu konuda iyi bir aday yapmaktadır. Ayrıca patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon zonları antibakteriyal aktivite olarak kullanılabilirliklerini de düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada yöresel olarak şifa içeren bitki olarak kabul edilen ve kullanılan *Satureja spicigera*, *Achillea millefolium* ve *Prangos ferulacea* bitkilerinden elde edilen ekstraktların direkt bitki kaynaklı özel bir ayrıştırma işlemi uygulanmadan hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu ve benzeri çalışmalar ile ilgili daha fazla araştırma ve yatırım yapıldığı takdirde tarımsal bir ülke olan Türkiye’de bitkisel drog eldesi ile gıda ve sağlık endüstrisinde büyük gelişmeler görülebilir. İhtiyaç fazlasının satılmasıyla da yeni bir pazar oluşması mümkün olabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Bourdon, E., Blache, D. 2001. The importance of proteins in defense against oxidation. *Antioxidants Amp; Redox Signaling*, 3 (2) ; 293-311.
- [2] Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease .*Annual Review of Nutrition*, 16;33-50.
- [3] Halliwell, B., Gutteridge, J. 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- [4] Parseh, H., Hassanpour, S., Emam-Djome, Z., Lavasani, A.S. 2012. Antimicrobial properties of pomegranate (*Punica Granatum L.*) as a Tannin rich fruit: a review, The 1th International And The 4th National Congress On Recycling of Organic Waste in Agriculture, Iran.
- [5] Düzgüner, V. 2005. Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, M.K.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (Vet) Anabilim Dalı.
- [6] Sánchez-Moreno, C., Jiménez-Escrig, A., MartínStroke A. 2009. Roles of B vitamins, homocysteine and antioxidants. *Nutrition Research Reviews*, 22 (1) ; 49-67.
- [7] Ames, B.N., Shigenaga, M.K. , Hagen T.M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The USA*, 90 (17); 7915-7922.
- [8] Koudelka, S., Turanek Knotigova, P., Masek, J., Prochazka, L. Lukac, R., Miller, A.D., Turanek J. 2015. Liposomal delivery systems for anti-cancer analogues of vitamin E, *Journal of Controlled Release*, 207 ;59-69.
- [9] Pisoschi, A.M., Pop A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review*European Journal of Medical Chemistry*, 97 ;55-74.
- [10] Kulawik, P., Ozogul, F. , Glew, R. , Ozogul Y. 2013. Significance of antioxidants for seafood safety and human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (3) 475-491.

- [11] Makoto, A., Janusz, M., Gebicki, Daisuke, I., Hisao, T. 2018. Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies. *Carbohydrate Polymers*, 199;141-149.
- [12] Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*, 1988; 27 (4), 969-972.
- [13] Bisha, B., Weinsetel, N., Brehm-Stecher, B. F., Mendonca, A. 2010. Antilisterial effects of gravinol-s grape seed extract at low levels in aqueous media and its potential application as a produce wash. *Journal of Food Protection*, 73(2), 266-273.
- [14] Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94(4), 550-557.
- [15] Cao, G., Sofic, E., Prior, P. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 749-760
- [16] Fabad, J. Abbasoğlu, U. 1996. Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *Pharm. Sci.*, 22, 111-118.
- [17] Kulkarni, A.A. 2000. Mikropropagation and Secondary Metabolite Study in *Taxus spp.* and *Withannia Somnifera (L) Dunal*, DSc Thesis, National Chemical Laboratory, Pune.
- [18] Sökmen, A., Gürel, E., 2001. Sekonder Metabolit Üretimi. *Bitki Biyoteknolojisi*, 1: Bitki Doku Kültürleri 211-267 (Ed.M.Babaoğlu, E. Gürel,S. Özcan). Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- [19] Naz, S., Ahmad, S., Rasool, S.A., Siddiqi, R., Sayeed, S.A. 2007. In vitro antibacterial activity of the extracts derived from *Terminalia Catappa*, *Research Journal of Microbiology*, 2 (2): 180- 184.
- [20] Titz, A., 2004. Policy, research&development and commercialisation strategies, *Scope for Diversified and Sustainable Extraction*, 22-26 Bangalore, India. 72-80.
- [21] Acıbuca, V., Budak, D. 2018. Dünya’da ve türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım Gıda Bil. Der. Çukurova Journal Agriculture Food Science* 33(1): 37-44, 2018.
- [22] Deans, S. G., Ritchie, G. A. 1987. Antimicrobial properties of plant essential oils. *International Journal Food Microbioly*, 5, 165-180.

- [23] Özcan, M. 1998. Inhibitory of spice extracts on the growth of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 strain. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung. A*, 207, 253-255.
- [24] Ak, T. 2006. Curcumin'in antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [25] Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*, 27 (4), 975-978.
- [26] Pratt, D.E., Hudson, B.J.F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants.; Hudson B.J F.; Ed.; Elsevier; Amsterdam, 17-192.
- [27] İşbilir, Ş.S., 2008 Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [28] PRIOR, R.I. 1998. Antioxidant capacity and health benefits of fruits and vegetables. NABC Meetings in Portland, Oregon.
- [29] Nehir, E., Karakaya, S., Taş, A., 1999. Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması. TÜBİTAK Projesi.
- [30] Frankel, E. 1999. Naturel phenolic antioxidants and their impact on health. Chapter 25, 393-410 In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.
- [31] Halvorsen, B., Holte, K., Myhrstad, M., Barıgmo, I., Hvattum, E., Remberg V. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants." *The Journal of Nutrition*, 132(3), 461- 471.
- [32] Opara, E., Rockway, S. 2006. Antioxidants and micronutrients". *Disease a Month*, 52, 151-163.
- [33] Orak, H.H. 2006. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities and its correlation of some important red wine grapevarieties which are grown in Turkey. , *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 9(1).
- [34] Mammadov, R. 2014. Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti. Yayın No:841.
- [35] Nakiboğlu, M., Otan, H. 1994. Flavonoids of the medicinal plants. *Anadolu, Journal of AARI*, 4, 1, 70-93.

- [36] Del Campo, J., Amiot, M.J., Nguyen The, C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*, 63,10, 1359-68.
- [37] Hsieh, P. C., Mau, J. L., Huang, S. H. 2001. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. *Food Microbiol.*, 18, 35-43.
- [38] Kafash-Farkhad, N., Asadi-Samani, M., Rafieian-Kopaei, M. 2013. *Life Science Journal* 10(8s).
- [39] Uysal, Ş., Zengin, G., Güler, G.Ö., Aktümsek, A. 2017. Seseli tortuosum'un antioksidan aktivitesi ve yağ asidi kompozisyonu .S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi 43 (2), 175-188.
- [40] Bahtiyarca, Bağdat, R., İpek, A. Arslan, N. 2010. Essential oil composition of culture materials of *Satureja spicigera* (c. Koch) Boiss. From Turkey. *Pharmacognosy Magazine (Sci)* 6: 22, 138-145.
- [41] Medini. F., Fellah, H., Riadh K., Chedly A. 2014. Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science* 8 (2014) 216–224.
- [42] Keser, S., Yılmaz, Ö., Türkoğlu, İ. 2013. Antioxidant activity, total phenolic And flavonoid content of water and ethanol extracts from *Achillea Millefolium* L. *Turk J Pharm Sci* 10 (3), 385-392, 2013
- [43] Ayaz, A., Duman, R. 2009. *Sideritis hololeuca* Boiss. & Heldr. apud Bentham ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *violascens* P.H.Davis ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi Selçuklu Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi 33:29-36.
- [44] Yıldız, A. 2010. Trabzon yöresine ait yaban mersini (*Vaccinium Myrtillus* L.)'nin Hplc ile fenolik yapısının aydınlatılması ve antioksidan Özelliklerinin belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- [45] Bektaş, E., 2011. *Cotinus Coggygria* (Scop.) bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi.
- [46] Velioglu, S. 2007. Farklı Çay Ekstraktlarının Antioksidan, Antibakteriyal Etkileri ve Fenolik Madde Dağılımının HPLC ile Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri.
- [47] Surmuş, M., 2012. Kapadokya Bölgesinde Yetişen Bazı Bitkilerin antimikrobiyal Ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir.

- [48] Abrama, V., Cehb, B., Vidmira, M., Herceia, M., Lazća, N., Bucika, V., Možinaa, S., Koširb, I., Kaća, M., Demšara, L., Ulriha, N. 2015. A comparison of antioxidant and antimicrobial activity between hop leaves and hop cones, *Industrial Crops and Products* 64:124–134
- [49] Yogendra, Kumara, M.S., Tirpudea, R.J., Maheshwarib, D.T., Bansala, A., Ksipra M. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves in vitro *Food Chemistry* 141: 4, 3443–3450.
- [50] Alabri, T.H.A., Amira, H., Al Musalami, S., Hossain, M.A., Weli, A.M., Al-Riyami, K. 2014. Comparative study of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and dry leaves crude plant extracts of *Datura metel* L, *Journal of King Saud University - Science* 26: 3,237–243.
- [51] www.tubives.com, Taxon Page: *Satureja Spicigera*. Erişim Tarihi: 14.05.2021
- [52] Youdim, K.A., Damien Dorman, H.J., Deans, S.G. 1999. The Antioxidant Effectiveness Of Thyme Oil, A-Tocopherol And Ascorbyl Palmitate On Evening Primrose Oil Oxidation. *J. Essent. Oil Res.* 11: 643.
- [53] Bahtiyarca Bağdat, R., İpek, A., Arslan, N. 2010. Essential Oil Composition of Culture Materials of *Satureja spicigera* (c. Koch) Boiss. From Turkey. 6 th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. April 18st-22th, 2010. Antalya, Turkey.
- [54] Bozdemir, Ç. 2019. Türkiye’de yetişen kekik türleri, ekonomik önemi ve kullanım alanları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi Cilt 29, Sayı 3.*
- [55] Eminağaoğlu, O., Tepe, B., Yumrutaş, O., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. 2007. The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch.) Boiss. and *Satureja cuneifolia* ten. *Food Chem*, 100, 339–343.
- [56] Guenther, E. 1949. *The Essential Oils* . VIII. P.399. Robert E. Krieger Publ. Co. Malabar, Florida.
- [57] Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Portugal, H. 2006. Potentiation of antifungal activity of amphotericin b by essential oil from *Cinna-Monium Cassia*. *Phytother. Res.*, 20, 58.
- [58] Lis-Balchin, M., Deans, S. G., Hart, S. 2007. Bioactive Geranium oils from different commercial sources. *Journal Of Essential Oil Re-Search. J. Essent. Oil Res.*, 8, 281.

- [59] Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., Antonietta Milillo, M. 2007. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin . *Int. J. Phytother. Phyto-Pharm.*, 14, 727.
- [60] Shin, S., Kim, J. H. 2005. In vitro inhibitory activities of essential oils from two Korean Thymus Species against antibiotic-resistant pathogens. *Archives of Pharmacal Research*, 2005, 28, 897.
- [61] Lee, K.G., Shibamoto, T. 2002. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50: 4947.
- [62] Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N. 2002. Anti-Oxidant activity of chemical components from Sage (*Salvia Officinalis* L.) and Thyme (*Thymus Vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50: 1845.
- [63] Guner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babac, M.T. 2012. Türkiye bitkileri listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, İstanbul.
- [64] www.tubives.com. Turkish Plants Data Service. Erişim Tarihi: 01.05.2021.
- [65] Baytop, T., 1994. Dictionary of Turkish Plant Names. No:578, 192. Ankara.
- [66] Kafash-Farkhad, N., Asadi-Samani, M., Rafieian-Kopaei, M. 2013. A review on phytochemistry and pharmacological effects of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. *Life Science Journal*, 10:360- 367.
- [67] Amiri, H. 2007. Essential oil variation of *Prangos ferulacea* Lindl. in different stage of plant growth. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23, 121-127.
- [68] Lee, C.L., Cheng, L.H., Chang, F.R. 2009. Influenza A (H1N1) Antiviral and cytotoxic agents from *Ferula assa-foetida*. *Journal of Natural Products*, 72, 53-64.
- [69] Öztürk, M., Özcelik H. 1991. Useful plants of Eastern Anatolia. Siskav foundation Semih Ofset Printing Company, Ankara.
- [70] Gonçalves, M.J., Tavares, A.C., Cavaleiro, C, Cruz M.T., Lopes, M.C., Canhoto, J, Salgueiro, L. 2012. Composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oils of *Seseli tortuosum* L. and *Seseli montanum* subsp. *peixotoanum* (Samp.) M. Laínz from Portugal. *Industrial Crops and Products* 39: 204–209.

- [71] Baser, K.H.C., Ermin, N, Adiguzel N, Aytac Z, 1996. Composition of the essential oil of *Prangos ferulaceae* (L.) Lindl. *Journal Essential Oil Research*, 8:297-298.
- [72] Baser, K.H.C., Ozek, T, Demirci, B, Duman H, 2000. Composition of essential oil of *Prangos heyneae*. H. Duman et M.F. Watson, a new endemic from Turkey. *Flavour Fragrance Journal*,15:47–49.
- [73] Razavi, S.M., Nazemiyeh, H, Zarrini, G, Asna-Asharii S, Dehghan G, 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Prangos ferulaceae* (L.) Lindl from Iran. *Natural Product Research.*, 24:530-533.
- [74] Mirzaei, H.H., Meshkatsadat, M.H., Soheilvand, S, 2007. Determination of essential oil composition of *Prangos acaulis* (DC) Bornm obtained by hydrodistillation and supercritical fluid extraction methods. *Journal of Applied Sciences*, 7:2535- 2538.
- [75] www.tr.wikipedia.org Erişim Tarihi: 20.10.2021
- [76] www.herbalisatabay.com Erişim Tarihi: 15.10.2021
- [77] www.50mucizebitki.com Erişim Tarihi: 15.10.2021
- [78] www.zdravstvo.com/kunica Erişim Tarihi: 09.08.2020
- [79] Trepen, M. 1994. *Gesundheit aus der Apotheke Gottes-Tanrı'nın Eczanesinden Sağlık*, Anahtar Kitaplar Yay., Çev.: N.Eröztürk.
- [80] Akyüz E. 2007. *Polygonum bistorta* ssp. *Carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- [81] Koç L. Y. 2012. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkileriyle, Kansersiz Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı Ankara.
- [82] Akkuş, G. 1995. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimosa Basım Yayın ve Dağıtım* ,syf:1-20, Konya.
- [83] Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Antioxidants *Redox Biology is A Fundamental Theme of Aerobic Life Plant Physiol*, 141: 312-322.
- [84] Halliwell, B. 1995. Antioxidant characterization, methodology and mechanism, *Biochem Pharmacol*, 49(10):1341-8.

- [85] Simon, H.U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F. 2000. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*, 5 (5), 415-418.
- [86] Bektaş, E., 2011. *Cotinus Coggygria (Scop.)* Bitkisinin Antioksidan Ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
- [87] Altan N., Dinçel A. S., Koca S. 2006. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31 (2) 51–56.
- [88] Sies, H. 1991. Oxidative stress :from basic research to clinical application, *The American Journal of Medicine*, 91(3), 31-38.
- [89] Türkoğlu, A., Duru M. E., Mercan N., Kıvrak İ., Gezer K. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Food Chemistry*, 101, 267-273.
- [90] Onat, T., Emerk K. ,Sözmen E. Y. 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, İstanbul, 670-673.
- [91] Halliwell, B. 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View.” *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- [92] İşbilir, Ş.S. 2008. Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [93] Diri, M. 2006. *Coridothymus capitatus* (L). Reichb. uçucu yağının analizi, su ve etanol ekstraktlarının antioksidant aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muğla.
- [94] Vecchia, Cl., Altieri, A., Tavani A. 2001. Vegetables, fruit , antioxidants and cancer: A Review of Italian Studies. *European Journal of Nutrition*, 2001; 40, 261-267.
- [95] Grugliano, D., Ceriello, A., Esposito, K. 2006. The effect of diet on inflammation: Emphasis on the metabolic syndrome. *Journal of American College of Cardiology*, 48(4), 677-685.
- [96] Schroder, H. 2007. Protective mechanism of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18, 149-160.
- [97] Halliwell, B., Gutteridge J. M., Cross C. M. 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? , *J Lab.Clin Med*, 119(6) 598:620

- [98] Mates, J. M., Peres-G., Costo I. N. 1999. Antioxidant,enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603.
- [99] Onat, T., Emerk K. ,Sözmen E. Y. 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, İstanbul, 674 .
- [100] Ocksook, Y₁, Eduardo M. Jovel, G. H. Neil Towers, Wahbe T. R., Cho D. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of native *Rosa* sp. From British Columbia, Canada, 58(3), 178-189.
- [101] Kil, H.Y., Seong E. S., Ghimire B. K., Chung M., Kwon S., S. ,Goh E. J., Heo K.,Kim M. J., Lim J.D., Lee D., Yu C. Y. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of crude Sorghum ekstract,Food Chemistry, 115:1234-1239.
- [102] Kelen, M., Tepe B. 2008. Chemical composition ,antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora,Bioreource Techology, 99:4096-4104.
- [103] Oliveira, I., Sousa A. , Isabel C.F.R., Ferreira, Bento A. , Estevinho L. and Pereira A. J. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks ,Food and Chemical Toxicology , 46, 2326-2331.
- [104] Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317-333
- [105] Balasundram, N., Sundram, K., Saman, S., 2006. Phenolic compounds in plants agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- [106] Tunalıer Z., Öztürk N., Koşar M., Başer K.H.C., Duman H., Kırimer N., 2002. Bazı Sideritis Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı.
- [107] Raciye, M., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S., 2012. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar-Antioxidants as functional food ingredients. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Instrumentation Science & Technology* 2(2): 45-50.
- [108] Du, Q., Zheng, J., Xu, Y., 2008. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 390-395.
- [109] Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Helövaara, M., Teppo, L., Pukkala, E. And Aromaa, A., 1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiol*, 146, 223-230.

- [110] Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fıdanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B. S., Toshima, H., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H. And Katan, M. B., 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. International Medicine.*, 155, 381-386.
- [111] Coşkun T., 2005. Nutrition and metabolism unit, Department of Pediatrics, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey Health benefits of functional foods, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48: 69-84.
- [112] Dağcı E. K., Dığrak M., 2006. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2).
- [113] Toroğlu S.Dığrak M., Çenet M., 2006. Baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* Linn ve *Zingiber officinale* Roscoe bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve antibiyotiklere in-vitro etkilerinin belirlenmesi, *KSÜ Fen Müh. Dergisi*, 9(1).
- [114] Esen M., 2008. *Verbascum pinetorum* (Boiss.) O. Kuntze bitki ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.
- [115] Öztürk H., 2009. *Jurinea Consanguinea* 'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- [116] Murray, R. P., Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M., Pfaller, A., 2009. *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu, A., Kubar, A., Yıldiran, Ş. T., Tanyüksel, M., Atlas Kitapçılık, 1:455-737.
- [117] Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M., 2003. *Bakteriyoloji, Mikrobiyoloji*. Asra Tıp Yayınları, İzmir, 41-131.
- [118] Waldvogel, F. A., 1995. *Staphylococcus aureus*, principles and practice of infectious diseases, in: Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., (Editors), 4. Baskı, New York, 1754-1776.
- [119] Nazlıkul, H., 2008. *Unutuğum Bedenim – Yarım Doktor Candan Eder* Ankara S:55-58, 71-80, 84-87, 106-111, 127-129,146-153, 220-225.
- [120] Schmidt, Michael A., Smith, Lendon H., Schnert Keith W., 1994. *Beyond antibiotics: fifty ways to boost immunity*, Berkeley, CA:Nort Atlantic Books,
- [121] Nazlıkul, H., 2007. *Gerçek Detoksu Keşfet*, Detay Yayın, İstanbul.

- [122] Chaitow, Leon N.D., 1989. *Candida Albicans: Is yeast Your Problem?* Rochester, VT: Inner Traditions International, Ltd.
- [123] Crook, William M.D., 1992. *Cronic Fatigue Syndrome and the Yeast Connection*. Jackson, TN: Professional Books Future Healty.
- [124] Acarkan T., Hüseyin H., Elvan, Bayram R., *Bağırsaklarda candida albicans Bilimsel Nöralterapi ve Regülasyon Derneği*, İstanbul, Turkey .
- [125] Singleton, V. L., Orthofer , R. Lamuela-Raventos, R. M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent, *Methods in enzymology*, 299: 152- 178.
- [126] Vinson, J., Zubik, L., Bose, P., Sammon, N. Proch, J., 2005. Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants, *Journal of the American College of nutrition*, 24(1): 44-50.
- [127] Gamez-Meza, N., Noriega - Rodriguez, J.A., Medina-Juarez, L.A., 1999. Ortega - Garcia,J., Cazarez - Casanova, R., Anguloguerrero, O., *Oxidants: Journal of the American Oil Chemists Society*, 76, 1445.
- [128] Moreno Min, Isla Mı, Sampietro Ar, Vattuone Ma., 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol*; 71: 109–114.
- [129] Blois M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199–1200.
- [130] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. A., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970-7981.
- [131] Durmuş, M. 2012. *Kapadokya bölgesinde yetişen bazı bitkilerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi*. Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir.
- [132] Ardağ, A., 2008. *Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması*, Yüksek lisans tezi, Fen bilimler enstitüsü, Analitik anabilim dalı, Adnan Menderes Üniversitesi.
- [133] Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E., Apak, R., 2006 *Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (Prunusarmeniaca) assayed by Cuprac, Abts/ Teac and folin methods; International Journal of Food Science and Technology*, 41: 76- 85.

- [134] Dms Tcp., Madeira Vmc., Almeida Lm., 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- [135] Oyaizu M.,1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- [136] Eser, B., Sepici Dınçel, A., 2018. Kromatografiye giriş, yüksek performanslı sıvı kromatografi kullanımında basit ipuçları, *Journal of Health Services and Education*; 2(2): 51-57 ISSN: 2636-8285
- [137] Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 2016. *Journal of Turkish Society of Microbiology* ISSN 0258-2171 e-ISSN 2458-7516 http://tmc.dergisi.org/pdf/tmc_supplement_2016.pdf
- [138] Vinson, J.A., Yong, H., Xuchui, S., Zubik, L., 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3631–3634.
- [139] Wong, C., Li, H., Chen, g K., 2005. A Systematic survey of antioxidant activity of 30 chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97: 705-711
- [140] Zheng, W., Wang, S.Y.,2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5165-5170. DOI: 10.1021/jf010697n
- [141] Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas G.J.E., Komaitis, M., 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1190-1195. DOI: 10.1021/jf040083t
- [142] Kozłowska, A., Szostak-Wegierek, D. , 2014. Flavonoids- food sources and health benefits. *Rocz Panstw Zakl Hig* ,65:9-85.
- [143] Gökce, C., Tonguc, M., Ozturk, 2018. Antioxidant nutrients in periodontal health. *EÜ Journal of the faculty of Dentistry*. 39_1: 19-3. DOI: 10.5505/eudfd.2018.75437
- [144] Iloki-Assanga, S.B., Lewis-Luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Research Notes*. 8,1-14 doi: 10.1186/s13104-015-1388-1

- [145] Elkhalfa Chemsal, A., Dourdour, S., Zohra, L., 2016. Total phenolic and total flavonoid contents of different solvent extracts of *Bassia muricata*(L.) Asch. and evaluation of antibacterial and antioxidant activities, *J Chem Pharm Res.* 8(4): 1317-1321 <http://www.jocpr.com/articles/total-phenolic-and-total-flavonoid-contents-of-different-solvent-extracts-of-bassia-muricata-asch-and-evaluation-of-ant.pdf>
- [146] Coruh, N., Sagdicoglu, A.G. , Celep, F., Ozgokce, 2007. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food Chemistry*, 100:1237-1242
- [147] Ahmed, J. Guvenc, A., Kucukboyaci, N. , Baldemir, A., Coskun, M., 2011. Total phenolic contents and antioxidant activities of *Prangos* Lindl. (Umbelliferae) species growing in Konya Turk Journal Biology.
- [148] Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Vincieri, F.F., Pomani, A., 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry* 2006 99, 464-469.
- [149] Milauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, *Food chemistry*, 85 (2): 231-237.
- [150] Öztürk, N., Demirtaş, İ., Elmastaş, M., 2010. Çaçır (Ferula) Bitkisinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fitokimyasal araştırmalar, 24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak
- [151] Uysal, Ş., Zengin, G., Güler, G.Ö., Aktümsek, A., 2017. Seseli tortuosum'un antioksidan aktivitesi ve yağ asidi kompozisyonu, S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi, 43 (2), 175-188
- [152] Zengin G, Ceylan R, Uysal S, Aktumsek A 2015. Biological activities of three extracts from *Artemisia squamata*: A study on antioxidant and enzyme inhibitory potential. *Current Bioactive Compounds* 11(3): 152–155.
- [153] Zengin G, Bulut G, Mollica A, Haznedaroglu MZ, Dogan A, Aktumsek A 2017. Bioactivities of *Achillea phrygia* and *Bupleurum croceum* based on the composition of phenolic compounds: In vitro and in silico approaches. *Food and Chemical Toxicology* 107: 597–608.
- [154] Durmus, M., 2012. Some Plants In Cappadocia region antimicrobial and antioxidant investigation of properties, Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey.

- [155] Dorman, H., Peltoketo, A., 2013. Hiltunen Characterisation of the Antioxidant Properties of Deodourised Aqueous Extracts from Selected Lamiacea Herbs. *Food Chemistry*. 2013 83: 255-262.
- [156] Heimler, D., Isolani, L. Vignolini, P. Tombelli, S. Romani, A., 2007. Polyphenol content and antioxidative activity in some species of freshly consumed salads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 1724-1729.
- [157] Saçan, O., Orak, H., R. Yanardağ, 2008. Antioxidant activity of water extract of *Eruca Sativa* Mill. *Asian Journal Of Chemistry*. 20(5), 3462-3474.
- [158] Dorman, H. , Peltoketo, A. Hiltunen, R. Tikkanen, M., 2003. Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiacea herbs. *Food Chemistry* 83, 255-262.
- [159] Öztürk, N., Tuncel M. Ve Tuncel N.B., 2007. Determination of phenolic aournal of liquid chromatography & related technologies, 30, 587-596, 2007.
- [160] Bouayed, J., Rammal, H., Dicko, A. , Yonos, C., Soloumani, R., 2007. Chlorogenic acid a polyphenol from *Prunus domestica* (mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. *Journal of the Neurological. Sciences* 2007 262, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.06.028>
- [161] Sarker, U., Oba, S., 2019. Antioxidant constituents of three selected red and green color *Amaranthus* leafy vegetable, *Science Reports*, 9:18233 |<https://doi.org/10.1038/s41598-019-52033-8>
- [162] Bouayed, J., Rammal, H., Dicko, A., 2007. Chlorogenic acid a polyphenol from *Prunus Domestica* (Mirabelle) with coupled anxiolytic and antioxidant effects, *J Neurol Sci*. 262:77–84. doi: 10.1016/j.jns.2007.06.028
- [163] Koneman EW, Allen SD, Jandan WM, Schreckenberger PC, Winn WC., 1997. *Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology*, fifth Ed, Lippincot: 651-654, New York.
- [164] Massumia, M.A., FAZELİB, M.R., ALAVİC., AJANİD, Y., 2007. Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. fruits *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* 3(3): 171-176
- [165] Kılıç. T. 2006. Analysis of essential oil composition of *Thymbra Spicata* Var. *Spicata*: antifungal, antibacterial and antimycobacterial activities. *Z Naturforsch C*. 61(5-6):324-8.

- [166] Zin Zm., Abdul-Hamid A., Osman A., 2002. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Food Chemistry*, 78, 227-231.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Rana ARIDURU

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Doktora	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Anabilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Anabilim Dalı	2013
Pedagojik Formasyon	Sakarya Üniversitesi / Eğitim Fakültesi	2013
Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Edebiyat Fakültesi / Kimya Bölümü	2009 (Mezuniyet Derecesi 2.'lik)
Lise	Sakarya Anadolu Lisesi	2004

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2009-2011	Neutec İlaç	Ar-GE Asistanı

KATILDIĞI KURS, EĞİTİM VE SEMİNERLER

2010	Hplc Ve Gc Sistemlerinde Tıps İle Tricks Semineri SemLab A.Ş.
2008	Ts En Iso 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi Eğitimi
2007	Good Manufacturing Practices (Gmp) Eğitim

YABANCI DİL

İngilizce

ESERLER (makale, bildiri, proje vb.)

1. Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Proje No: 20125001062
2. Bilgicli, AT; Kandemir, T; Tuzun, B; Arıduru, R; Günsel, A; Abak, C; Yarasir, MN; Arabaci, G; - Octa-substituted Zinc(II), Cu(II), and Co(II) phthalocyanines with 1-(4-hydroxyphenyl)propane-1-one: Synthesis, sensitive protonation behaviors, Ag(I) induced H-type aggregation properties, antibacterial-antioxidant activity, and molecular docking studies - APPLIED ORGANOMETALLIC CHEMISTRY - ISSN : 0268-2605 - DOI : 10.1002/aoc.6353 - - English - Early Access - 2021 - WOS:000668486600001
3. Rana Arıduru, Gülnur Arabacı - Ciğertaze otu (*salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi - SAÜ Fen Bilimleri Dergisi - Vol.17 - pp.241-246 - ISSN : - DOI : 10.5505/saufbe.2013.15238 - Mayıs 2013
4. R. Arıduru, G. Arabaci, - “Analysis of the chelating activity of iron (II) ions in a Freshliver (*Salvia Officinalis*)” 7th International BAU Drug Design Congress 19-20-21 December 2019, istanbul Poster sunum/Bildiri
5. R. Arıduru, G. Arabaci, - “Analysis of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rue (*Ruta graveolens*) Plant” 7th International BAU Drug Design Congress 19-20-21 December 2019, istanbul Poster sunum/Bildiri
6. R. Arıduru, G. Arabaci, - “Evaluation of the chelating activity of iron (II) ions in a Rue (*Ruta graveolens*) Plant” 5th International Eurasian Congress on ‘Natural Nutrition, Healthy Life & Sport’ 02-06 October 2020
- 7.R. Arıduru, G. Arabaci, - “Analysis of Antioxidant Properties of *Achillea Millefolium* plant Extract with HPLC” 5th International Eurasian Congress on ‘Natural Nutrition, Healthy Life & Sport’ 02-06 October 2020, Ankara, Turkey Poster sunum/Bildiri
- 8.R. Arıduru, G. Arabaci, - “Determination of Antioxidant Activities in Rue (*Ruta graveolens*) Plant”, 1401 pp, - - Vol. - pp. - ISSN : 2018 International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences EurasianBioChem Ankara Poster sunum/Bildiri
9. R. Arıduru, G. Arabaci, - “Evaluation of Antioxidant Activities of Wormwood (*Artemisia absinthium*) Extracts”, 1042 pp,Nisan - - Vol. - pp. - ISSN : - DOI : 2018

International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences
EurasianBioChem Ankara Poster sunum/Bildiri

10. R.Arıduru, G.Arabaci, - “Determination of Antioxidant Activities in Freshliver (Salvia Officinalis) Plant”, 212 pp, Eylül - - Vol. - pp. - ISSN : - DOI : 2017 ICAS 2017 Yıldız Teknik Üniversitesi İstanbul Poster Sunum/Bildiri

11.Alıcı Esmâ Hande, Arıduru Rana, Arabacı Gülnur - Inhibition of Polyphenol Oxidase by Thiolic Compounds - - Vol. - pp. - ISSN : - DOI : 2014 2nd International Bau Drug Desingn Congress Poster sunum/Bildiri

12. Arıduru Rana, Alıcı Esmâ Hande, Arabacı Gülnur - Determination of Antioxidant Activities in Wormwood Artemisia Absinthium Plant - - Vol. - pp. - ISSN : - DOI : 2014 – 2nd International Bau Drug Desingn Congress Poster sunum/Bildiri