



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MUŞ İLİNDEN TOPLANAN *VERBASCUM INSULARE* BOİSS. & HELDR. VE
INULA HELENİUM L. SUBSP. *PSEUDOHELENİUM* GRIERSON
BİTKİLERİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE FENOLİK İÇERİKLERİ

NİMET YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Ekim-2018
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MUŞ İLİNDEN TOPLANAN *VERBASCUM INSULARE* BOİSS. & HELDR. VE
INULA HELENİUM L. SUBSP. *PSEUDOHELENİUM* GRIERSON
BİTKİLERİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE FENOLİK İÇERİKLERİ

NİMET YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EKİM-2018
MUŞ
HER HAKKI SAKLIDIR

TEZ KABUL VE ONAYI

Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN danışmanlığında, Nimet YILMAZ tarafından hazırlanan “**Muş İlinden Toplanan *Verbascum insulare* Boiss. & Heldr. ve *Inula helenium* L. subsp. *pseudohelenium* Grierson Bitkilerinden Elde Edilen Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik İçerikleri**” adlı tez çalışması 16/11/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA

Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

Muş Alparslan Üniversitesi, Eğitim Fakültesi

Temel Eğitim Bölümü

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Metin KERTMEN

Siirt Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu,

İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.



Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu (BAP) tarafından 17-EMF-4901-07 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all materials and results that are not original to this work.

Nimet YILMAZ

Tarih: 16.11.2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Muş İlindeki *Verbascum insulare* ve *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium*
Bitkilerinden Elde Edilen Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri
ile Fenolik İçerikleri**

Nimet YILMAZ

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

2018, 78 Sayfa

Jüri

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA

Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Metin KERTMEN

Muş ilinden toplanan *Verbascum insulare* ve *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium* bitkilerinin yaprak ve kök kısımlarından elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının fenolik madde içerikleri HPLC ile belirlenerek, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırıldı. *I. helenium* bitkisinin yaprak etanol ekstraktında gallik asit, vanilin ve salisilik asit tespit edilmezken, kök etanol ekstraktında ise sadece gallik asit varlığı tespit edilmedi. Gallik asit varlığı hiçbir ekstraktımızda tespit edilmedi. *V. insulare* bitkisinin yaprak saf su ekstraktında curcumin ve salisilik asit tespit edilmezken, kök saf su ekstraktında ise vanilin varlığı tespit edilmedi. Gallik asit varlığı hiçbir ekstraktımızda tespit edilmedi. *I. helenium* yaprak ve köklerinden elde edilen etanol ekstraktları çalışmamızdaki bütün mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivite gösterirken, saf su ekstraktlarının sadece funguslar üzerine antifungal aktivite gösterdiği saptandı. *V. insulare* ekstraktlarımız funguslar üzerine antifungal aktivite gösterirken, hiçbir ekstraktımızın antimikrobiyal aktivite göstermediği saptandı. Aynı zamanda *V. insulare* etanol ekstraktımızın saf su ekstraktımızdan daha iyi antifungal aktivite gösterdiği belirlendi. *I. helenium* ekstraktlarımızın güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu, özellikle DPPH radikallerini gidermede ve lipid peroksidasyonlarını inhibe etmede BHA ve BHT standart antioksidanlara yakın ya da daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. *V. insulare* ekstraktlarımızın antioksidan özelliklerine bakıldığında etanol ekstraktının saf su ekstraktından daha iyi aktivite gösterdiği belirlendi. Genel olarak bakıldığında özellikle *V. insulare* etanol ekstraktımızın standart antioksidanlardan (BHA ve BHT) daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Ekstrakt, HPLC, Fenolik, *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium*, *Verbascum insulare*

ABSTRACT

Master Thesis

Antimicrobial and Antioxidant Activities and Phenolic Contents of Extracts from *Verbascum insulare* and *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium* Plants

Nimet YILMAZ

Muş Alparslan University

The Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Biology

Advisor: Dr. Yusuf ALAN

2018, 78 Pages

Jury Members

Advisor: Dr. Yusuf ALAN

Jury: Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA

Jury: Dr. Metin KERTMEN

The aim of this study was to investigate the antimicrobial, antioxidant activities and phenolic contents of extracts from two different plants, namely, *Verbascum insulare* and *Inula helenium* subsp. *Pseudohelenium* collected from Muş province in Turkey. For this purpose, the ethanol and pure water extracts were obtained from the leaf and root parts of such plants and investigated using HPLC. The test results showed that none of gallic acid, salicylic acid and vanillin was found in the leaf ethanol extract of *I. helenium*, gallic acid was not present in the root ethanol extract only. While the leaf pure water extract did not contain gallic acid, vanillin and curcumin, the root pure water extract did not comprise gallic acid, kaempferol, vanillin, salicylic acid and curcumin. Gallic acid was not identified in any of the extracts. Curcumin and salicylic acid were not found in the leaf pure water extract of *V. insulare* plant, whereas vanillin was not present in its root pure water extract. Similarly, gallic acid was not detected in any of the extracts. The ethanol extracts of *I. helenium* leaves and roots showed antimicrobial activity against all microorganisms in this study, whereas pure water extracts displayed antifungal activity against fungi only. Although all *V. insulare* extracts were found to show antifungal activity against fungi, none of them showed antimicrobial activity. It was also observed that *V. insulare* ethanol extract showed better antifungal activity in comparison with the pure water extract. Another important finding of this study was that *I. helenium* extracts possessed strong antioxidant features. Particularly, in the removal of DPPH radicals and inhibition of lipid peroxidation, they showed similar or higher activity than BHA and BHT standard antioxidants. In terms of the antioxidant properties of the *V. insulare* extracts, ethanol extract was seen to show better activity than pure water extract. In general, particularly *V. insulare* ethanol extract showed higher activity than standard antioxidants (BHA and BHT).

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Extract, HPLC, *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium*, Phenolic, *Verbascum insulare*

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Muş Alparslan Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımın tüm safhalarında yardımlarını esirgemeyen ve titizlikle takip eden tez danışmanlığımı yürüten değerli hocam Muş Alparslan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Temel Eğitim Bölümü ABD Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN'a,

Akademik yaşam ile ilgili tecrübelerini paylaşan, tez çalışmalarımın gerçekleşmesi için her türlü imkanı sağlayan Muş Alparslan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ABD Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Ahmet SAVCI'ya, Muş Alparslan Üniversitesi Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölüm Başkanı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Enver Fehim KOÇPINAR'a, Muş Alparslan Üniversitesi Hemşirelik ABD Üyesi Sayın Prof. Dr. Ercan BURSAL'a ve çalışma materyali olan bitkilerin tetkik ve teşhisinde yardımcı olan Bitlis Eren Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Dr. Öğretim Üyesi Murat KURŞAT'a teşekkür ederim en içten teşekkürlerimi sunarım.

Manevi dayanaklarım aileme teşekkürler.

Nimet YILMAZ

Kasım, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Asteraceae Familyası	2
1.1.2. <i>Inula</i> cinsi	3
1.1.2.1. <i>Inula helenium</i> L. subsp. <i>pseudohelenium</i> Grierson.....	4
1.2. Scrophulariaceae Familyası	5
1.2.1. <i>Verbascum</i> cinsi	6
1.2.1.1. <i>Verbascum insulare</i> Boiss. & Heldr	7
1.3. Antimikrobiyal Maddeler	8
1.3.1. Sekonder metabolitler	10
1.3.2. Fenolik Bileşikler.....	10
1.3.3. Fenolik Asitler	11
1.4. Test Mikroorganizmalarının Genel Özellikleri.....	12
1.4.1. <i>Bacillus subtilis</i>	12
1.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.4.3. <i>Bacillus megaterium</i>	12
1.4.4. <i>Enterobacter aerogenes</i>	12
1.4.5. <i>Escherichia coli</i>	13
1.4.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
1.4.7. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
1.4.8. <i>Yarrowia lipolytica</i>	14
1.4.9. <i>Candida albicans</i>	14
1.4.10. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
1.5. Serbest Radikaller	15
1.5.1. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri:.....	17
1.5.1.1. Serbest radikallerin proteinlere etkisi:	17
1.5.1.2. Serbest radikallerin DNA'ya etkisi:.....	18
1.5.1.3. Serbest radikallerin lipidlere etkisi:	18
1.5.1.4. Serbest oksijen radikallerin hücre zarına etkileri:.....	18
1.6. Antioksidanlar.....	19
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
2.1. Materyal	21
2.1.1. Kullanılan bitki materyali	21
2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler	21
2.1.3. Yararlanılan alet ve cihazlar	21

2.2. Yöntem.....	22
2.2.1. Soxhlet ile bitki ekstraktlarının hazırlanması	22
2.2.2. Antioksidan özelliğın belirlenmesinde kullanılan yöntemler:	22
2.2.2.1. FRAP yöntemine göre indirgeme kapasite tayini	22
2.2.2.2. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi tayini.....	23
2.2.2.3. ABTS radikali giderme aktivitesi tayini	23
2.2.2.4. Cuprac yöntemine göre indirgeme kuvveti tayini.....	24
2.2.2.5. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini	24
2.2.3. Agar kuyucuk yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteyi belirleme.....	25
2.2.4. HPLC ile fenolik içerik analizi	25
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
3.1. Antioksidan Aktivite.....	27
3.1.1. FRAP yöntemi ile indirgeme kapasite tayini	27
3.1.2. DPPH* radikali giderme kapasite tayini.....	30
3.1.3. ABTS ⁺ giderme aktivitesi	33
3.1.4. Cuprac yöntemine göre indirgeme kuvveti tayini.....	35
3.1.5. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini	37
3.2. Antimikrobiyal aktivite.....	40
3.3. Fenolik Çalışma Bulguları	47
4. SONUÇ	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1.1. Doğal ortamında <i>V. insulare</i> bitki türü.....	5
Şekil 1.2. Doğal ortamında <i>I. helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i> bitki türü.....	8
Şekil 1.3. Antioksidan sistemler.....	16
Şekil 1.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu.....	16
Şekil 3.1. <i>V. insulare</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) FRAP yöntemi indirgeme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması	28
Şekil 3.2. <i>I. helenium</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) FRAP yöntemi indirgeme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması	29
Şekil 3.3. <i>V. insulare</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) DPPH• giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması	30
Şekil 3.4. <i>I. helenium</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) DPPH• giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması.....	32
Şekil 3.5. <i>V. insulare</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (50-100 µg/ml) ABTS•+ giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırılması	34
Şekil 3.6. <i>I. helenium</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (50-100 µg/ml) ABTS•+ giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırılması	34
Şekil 3.7. <i>V. insulare</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) Cuprac yöntemi indirgeme kuvvetlerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması.....	36
Şekil 3.8. <i>I. helenium</i> bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) Cuprac yöntemi indirgeme kuvvetlerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması.....	37
Şekil 3.9. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre <i>V. insulare</i> bitkisinin toplam antioksidan aktivite tayini.....	39
Şekil 3.10. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre <i>I. helenium</i> bitkisinin toplam antioksidan aktivite tayini.....	40
Şekil 3.11. <i>I. helenium</i> kök su ekstraktının <i>E. coli</i> 'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon görüntüsü	49

Şekil 3.12. <i>I. helenium</i> yaprak su ekstraktının <i>C. albicans</i> 'a karşı oluşturduğu inhibisyon zon görüntüsü.....	49
Şekil 3.13. Fenolik standartların HPLC kromatografisi.....	48
Şekil 3.15. <i>I. helenium</i> bitkisinin köklerinden elde edilen etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi.....	50
Şekil 3.14. <i>V. insulare</i> bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi.....	52



ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. Radikaller, simgeleri ve özellikleri.....	17
Çizelge 2.1. HPLC çalışma koşulları ve gradient elüsyon programı.....	26
Çizelge 3.1. <i>V.insulare</i> ve <i>I. helenium</i> subsp. <i>helenium</i> bitkilerinden elde edilen ekstraktların FRAP yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.....	27
Çizelge 3.2. <i>V.insulare</i> ve <i>I. helenium</i> subsp. <i>helenium</i> bitkilerinden elde edilen ekstraktların DPPH radikal giderme yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.....	30
Çizelge 3.3. <i>V.insulare</i> ve <i>I. helenium</i> subsp. <i>helenium</i> bitkilerinden elde edilen ekstraktların ABTS radikal giderme yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.....	33
Çizelge 3.4. <i>V.insulare</i> ve <i>I. helenium</i> subsp. <i>helenium</i> bitkilerinden elde edilen ekstraktların CUPRAC yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.	35
Çizelge 3.5. <i>V.insulare</i> ve <i>I. helenium</i> subsp. <i>helenium</i> bitkilerinden elde edilen ekstraktların Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.....	38
Çizelge 3.6. <i>V. insulare</i> yaprağından elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi.....	41
Çizelge 3.7. <i>V. insulare</i> köklerinden elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi.....	42
Çizelge 3.8. <i>I. helenium</i> yapraklarından elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi.....	43
Çizelge 3.9. <i>I. helenium</i> bitkisinin köklerinden elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi.....	44
Çizelge 3.10. Antibiyotik disklerinin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi.....	46
Çizelge 3.11. <i>V. insulare</i> bitkisinin yaprak ve kök ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin miktarları (µg/ml).....	48
Çizelge 1.12. <i>I. helenium</i> bitkisinin yaprak ve kök ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin miktarları (µg/ml).....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ABTS	:2,2-Azino-Bis-3-Etilbenzo-Tiyazolin-6-Sülfonik Asit
Cu²⁺	: Kuprik iyon
CuCl₂	: Bakır(II) Klorür
DPPH	:1,1-Difenil-2-Pikril-Hidrazil
Fe⁺³ – TPTZ	: Ferrik-Tripiridilriazin Kompleksi
FeCl₂	: Demir(II) Klorid
FeCl₃	: Demir(III)Klorür
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
K₂S₂O₈	: Potasyum Persülfat
K₃Fe(CN)₆	: Potasyum Ferrosiyandır
Na₂HPO₄	: Disodyum Fosfat
NH₄SCN	: Amonyum Tiyosiyanat
O^{2•-}	: Süper Oksit Radikali
•OH	: Hidroksil Radikali
OH⁻	: Hidroksil Grubu
SCN⁻	: Siyanür Radikali

Kısaltmalar

ATP	: Adenozin Tri Fosfat
BHA	: Butillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Butillenmiş Hidroksi Tolüen
DMSO	: Dimetil sülfoksit
PG	: Propil Gallat
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
TBHQ	: Tersiyer Butilhidrokinon
TCA	: Trikloro Asetik Asit

1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın var oluşundan günümüze kadar hayatın devamı için kullanılan vazgeçilmez temel kaynaklardan biridir. İnsanlar kendi ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla tabiatta bulunan bitkileri birçok alanda ve çeşitli özelliklerinden ve çeşitli hastalıkların tedavisinde faydalanmak için kullanmışlardır (Njume ve ark., 2009, Deveci ve ark., 2016). Bitkilerin insanlar tarafından sıklıkla kullanıldıkları alanları; ilaç sanayi, kozmetik ve parfümeri, yiyecek endüstrisi, ev temizlik ürünleri imalatı vb. şeklinde sıralayabiliriz. Geçmişten günümüze insanlar bitkilerden daha ziyade gıda olarak istifade etmişlerdir. Günümüzde ise bitkilerin koku verici, tatlandırıcı, tedavi edici vb. özelliklerini ortaya çıkaran ve sekonder metabolit olarak adlandırılan ürünleri için kullanılmaktadırlar (Bayram ve ark., 2010; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Halk arasında tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin çeşitli kısımlarının, kaynatma veya suya daldırma, pişirme ve/veya harici olarak uygulanması gibi birçok kullanış şekli bulunmaktadır. Bitkilerin dâhilen kullanılışları durumunda ise genellikle bal veya pekmez ile tatlandırılmaktadır. Günümüze kadar ülkemizde yapılan halk ilacı araştırmalarına baktığımızda insanlar tarafından, bitkisel kökenli ilaçların en fazla basur tedavisi için kullanıldığı karşımıza çıkmaktadır (Gürhan ve Ezer, 2004). Basur hastalığının öyküsü insanlık tarihi ile eş zamanlı bir görünüm çizmektedir. Milattan önce 1700-1500 yıllarında yazılmış olan papirüslerde anal patolojiler geniş yer bulmuştur. Edwin Smith papirüsleri adı verilen yazıtlarda tür belirtmeksizin tüm ağırlı anal hastalıklar için bir topikal tedavi önerilmektedir. Öğütülmüş akasya yapraklarının kaynatılması ile hazırlanan bulamacın anüse yerleştirilmesi ve üzerine keten bezinden bir tampon konulması ile hastanın hızla iyileşeceği bildirilmiştir (Sökücü, 2007).

Bitkilerde antioksidan özellik gösteren temel bileşenleri; fenolik bileşikler ve flavonoidler olarak sayabiliriz (Connor ve ark., 2002; Guo ve ark., 2003). Fenolik bileşikler ve flavonoidler, temel maddeleri fenol olan ve güneş ışığı yardımıyla bitkilerin hertarafında bulunabilen organik yapılu bileşiklerdir. Suda ve organik çözücülerde çözünürler. Flavonoidler, UV ışınlarına ve mikroorganizmalara karşı bitkilerin kendilerini korunmalarını sağlar. Lipit peroksidasyonu canlı organizmada istenmeyen bir durumdur. Polifenolik bileşikler ve flavonoidler, canlı organizmada hayati öneme sahip lipid peroksidasyonunun oluşmasını engellemek için, serbest radikallerin zararlı etkilerini inhibe ederek ve metal iyonlarını şelatlayarak oksidasyonu azaltmak suretiyle antioksidan özellik gösterirler (Stevenson ve Hurst, 2007).

Fenolik bileşikler bitkilerin tüm kısımlarında karşılaşılabilen sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşikler bitkiler tarafından birçok fonksiyonun (büyüme, lignifikasyon, pigmentasyon, tozlaşma gibi çeşitli süreçlerde ve patojenlere, predatörlere ve çevresel strese karşı direnç vb.) ortaya çıkması sürecinde sekonder metabolit olarak üretilirler (Taner, 2015).

Yeryüzünde bulunan bütün bitkiler, çok farklı özellikte ve miktarlarda fenolik bileşikler ihtiva etmektedirler. Fenolik bileşikler sebze ve meyvelerde tat ve renklerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Bitkiler yapılarında buldukları fenolik bileşiklerin antioksidan özellik ve antimikrobiyal etkilerine sahip olmalarından dolayı sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır (Yorulmaz ve Tekin, 2008). Bu özellikleri göz önünde tutularak fenolik bileşiklerin ilaç ve gıda endüstrisinde kullanım alanları gittikçe artmaktadır (Sarıçam, 2014).

Mikroorganizmalar nedeniyle ortaya çıkan birçok hastalığın tedavisinde insanlar çoğunlukla antimikrobiyal etki gösteren ilaçlar kullanmaktadırlar. Ancak kullanılan bu ilaçlara karşı mikroorganizmalar çeşitli savunma mekanizması oluşturmuştur ve direnç kazanmıştır. Bu direnç nedeniyle antimikrobiyal ilaçların kullanımı kısıtlanmaktadır (Öztürk, 2008). Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirmiş olduğu direnç mekanizmalarından dolayı antimikrobiyal etkili bitkisel ürünlerin önemi günden güne artış göstermektedir. Bitkilerde elde edilen ekstraktlar ve uçucu yağlar antimikrobiyal bileşiklerin doğal kaynağını meydana getirmektedir. Antimikrobiyal etki özelliğine sahip sekonder metabolitler, gıdalarda oluşan mikroorganizmaların gelişimini önleyebilmektedirler (Berk, 2012).

Bu çalışmamızda halk arasında basur tedavisinde kullanılan Muş ilinde yetişen *V. insulare* ve *I. helenium* subsp. *pseudohelenium* bitkilerinin kök ve yapraklarından elde edilen su ve etanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal etkileri ve fenolik içerikleri araştırılmıştır.

1.1. Asteraceae Familyası

Yeryüzünde 1620 cins ve 22750' den fazla tür ile temsil edilen Asteraceae familyası oldukça geniş habitat göstermekte ve ülkemizde de pek çok takson ile temsil edilmektedir. Türkiye' de Asteraceae familyasına dâhil olan bitkiler 130 kadar cins ve yaklaşık 1100 kadar türü kapsamaktadır. Bu familyadaki türlerin bir kısmı çalı formunda, birçoğu ise otsu bitkilerden oluşmaktadır. Yapraklar alternat ya da oppozit dizilişli veya

hepsi tabandadır. Çiçek durumu kapitulum, tabanında braktelerden meydana gelmiş bir involukrum bulunmaktadır. Çiçekler hermafrodit ya da tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçeklerde kaliks; papus, halka, pul biçiminde ya da körelmiştir. Korolla beş petalli, simpetal, tüp biçiminde veya dil şeklinde uzamıştır. Tüpsü olanlar aktinomorf, dilsiz olanlar zigomorftur. Stamenler beş tane; anterleri birleşik, filamentleri serbesttir. Ovaryum alt durumlu, iki karpelden meydana gelmiş, tek ovullüdür. Meyve tipi aken, bazen tepesinde bir papus ya da kaliks artığı taşıyabilir (Davis, 1982; Tanker ve ark., 2004).

Familyaya ait; *Aster*, *Inula*, *Xanthium*, *Eupatorium*, *Carpesium*, *Saussurea* ve *Taraxacum* cinsleri çeşitli ilaçların bileşimine giren etken maddeleri içerirler; dolayısıyla tıbbi değeri yüksek olan türleri kapsar. Bu familyaya özgü birçok tür; ilaç elde eldesinde, kauçuk kaynağı ve pestisit olarak, yemeklik yağ elde etmek amacıyla ve sebze olarak kullanılır. Bu familyaya ait bazı türlerin süs bitkisi olarak kullanımı oldukça yaygındır (Özhan, 2012).

Bu familyanın üyelerinden izole edilen çeşitli etken madde grupları bulunmaktadır. Bu madde gruplarını; uçucu yağlar, monoterenler, seskiterpenler, seskiterpen laktonlar ve diğer seskiterpen türevleri, diterpenler, triterpenler, flavonoidler, fenolik asitler, steroidler, benzofuranlar, glikolipidler, poliasetilenler ve aminoasit türevleri olarak sayabiliriz (Ferreira ve ark., 2004; Bai ve ark., 2005; Wu ve ark., 2006; Manez ve ark., 2007).

1.1.2. *Inula* cinsi

Inula L. cinsi, Akdeniz Bölgesi başta olmak üzere; Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında naturalize olmuş; kuru, kayalık, dağlık bölgelerden, nemli, gölgeli, alçak alanlara kadar geniş bir habitat gösteren türleri içermektedir. Bu türler, birkaç santimetreden 3 m'ye kadar değişebilen çeşitli boylarda, genelde çok yıllık, bazen de tek yıllık olan bitkilerden oluşmaktadır (Zhao ve ark., 2006; Özhan, 2012).

I. helenium rizomları en zengin inulin kaynağıdır. Çok eski zamanlardan beri uyuz ve cilt hastalıklarında kullanılmaktadır. *I. helenium* ve *I. graveolens* türlerinin kök ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar astım ve boğmaca öksürüğünün tedavisinde kullanılmaktadır (Akay, 2002; Çınar, 2012). *I. hupehensi*'nin kökleri, şeker hastalığı, bronşit ve bağırsak ülserleri birçok hastalık tedavisinde kullanılmıştır. *Inula* türlerinden izole edilen timol türevleri, antibakteriyel aktivite göstermiştir (Zhao ve ark., 2010). *I.*

viscosa türü diüretik topikal inflammatik ve h mostatik gibi terapötik amaçla kullanılmaktadır. Yapılan *in vitro* alışmalarda *I. viscosa*'nın sulu ekstraktlarının antifungal etki, organik çözücü ekstraktları antibakteriyal etki göstermiştir (ınar, 2012).

Dünyada *Inula* türlerinin ait bazı türleri geleneksel tıbbi bitkiler olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sınırlı sayıda yapılan fikorimyasal araştırmalar ile aktivite çalışmalarında, *Inula* cinsine ait türlerden izole edilen bileşiklerin önemli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir ( zhan, 2012).

1.1.2.1. *Inula helenium* L. subsp. *pseudohelenium* Grierson

I. helenium bitkisi (Şekil 1.1) iki yıllık, ot formunda, çiçeklenme dönemi 6-8 aylarda olan, genellikle *Pinus* ormanları, *Quercus* alılıkları, bozkırlar, püskürük molozlar, tahıl ve nadas tarlalarında yayılış gösterir, 650-2300 m arasında değişen rakımlarda rastlanılan, endemik, ülkemizdeki dağılımı kuzey ve karasal anadolu ve dünyadaki dağılımı ise Türkiye olan bir türdür (Anonim, 2017a).

Avrupa ve Doğu Asya'da yaygın olarak bulunan *I. helenium* türüne ait bitkilerin kökleri geleneksel olarak Avrupa'da terletici, idrar söktürücü, balgam söktürücü olarak; Japonya'da geleneksel tıpta hazırlanan ilaçların bileşiminde koku verici olarak ve in'de sindirim sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde, bronşit tedavisinde ve koruyucu olarak kullanılmaktadır (Konishi ve ark., 2002).

I. helenium türüne ait bitkiler halk ilacı olarak daha ziyade; astım, bronşit, boğmaca gibi solunum rahatsızlıkları, sindirim sistemi bozuklukları, üriner enfeksiyonlar ile cilt hastalıklarının tedavisinde ve sinek kovucu olarak kullanıldığı ortaya konmuştur. Ayrıca bu bitkinin köklerinden elde edilen uçucu yağın sahip olduğu potansiyel antistafilokok etkinin de, etnofarmakolojik kullanımıyla bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Karacaoğlu, 2014).

I. helenium ekspektoran, antitussif, diyaforetik ve bakterisidal etkilerinden dolayı; *I. britannica* ve *I. japonica* ise bakteriyal ve viral enfeksiyonların, enflamasyonların ve tümörlerin tedavisinde geleneksel in tıbbında sıklıkla kullanılmaktadır (Zhao ve ark., 2006; Gökbulut, 2011). *I. helenium* L. türünün başlıca kimyasalı alantolakton olup, bu kimyasal bakterilere karşı güçlü etkiye sahiptir. Ayrıca *I. helenium* türleri seskiterpen, uçucu yağ, laktonlar ve bazı fenolik maddeler yönünden zengindir ve kökleri Avrupa'da solunum yolları hastalıklarında, Japonya'da alternatif tıpta ve güzel koku olarak, in'de ise özellikle bronşit hastalığında önleyici olarak kullanılmaktadır (Sevindik, 2014).

Türkiye’de halk arasında Andızotu kökü olarak bilinen *I. helenium* L. türünün kökleri daha ziyade, safra söktürücü, idrar arttırıcı, solunumu rahatlatıcı, kuvvet verici ve kurt düşürücü olarak kullanılmaktadır (Honda ve ark., 1996; Baytop, 1999; Gökbulut, 2011).

Sistematikteki yeri;

I. helenium’un TÜBİVES’ e (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) göre sistematik olarak sınıflandırılması:

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Asterales
Familya	: Asteraceae
Cins	: <i>Inula</i> L.
Tür	: <i>Inula helenium</i> L. subsp. <i>pseudohelenium</i> Grierson.



Şekil 1.1. Doğal ortamında *I. helenium* bitkisine ait görüntü (Nimet YILMAZ 25.07.2017)

1.2. Scrophulariaceae Familyası

Scrophulariaceae, familyası yaklaşık olarak 200 cins ve 3000 tür içerir. Scrophulariaceae familyasının en fazla bilinen cinsi *Verbascum* olup dünyada 360 tür ile temsil edilmektedir (Yılmaz, 2009).

Otsu veya yarı çalimsı (nadiren küçük ağaçlar), ototrof, kısmen ya da nadiren tamamen parazitik otlar, iç floem yok. Yapraklar stipulasız, alternat, dairesel veya karşılıklı dizilişli. Çiçekler erdişi, yaprak koltuklarında tek veya rasemoz veya spika ya

da panikula şeklinde. Kaliks 4-5 parçalıdan, bilabiata kadar veya iki loblu. Korolla birleşik genellikle zigomorf ve bilabiata, bazen tabanda mahmuz veya keseli, bazen hemen hemen aktinomorf; korolla parçaları daima tomurcukta kiremit dizilişli. Stamenler korollaya bağlı 4 ve didinam ya da 2, nadiren 5, anterler enine ya da uç tarafta kapaklardan ve teğetsel açılır; verimsiz stamenler 1-3 veya yok. Ovaryum terminal stiluslu, üst durumlu, genellikle horizontal ve iki gözlü; ovüller şişkin eksensel plasenta üzerinde çok veya az miktarda; ovaryum 2 paryetal iki parçalı plasenta ile nadiren bölmesiz. Meyvalar genellikle bir kapsul, bazen kendiliğinden açılmaz (Davis, 1978).

1.2.1. *Verbascum* cinsi

Verbascum cinsine ait türler Kuzey Yarıküre'nin ılıman bölgelerine yayılmış olup kuru, açık ve kayalık habitatları tercih etmektedir (Yılmaz, 2009). *Verbascum* cinsi yurdumuzda 'Sığırkuyruğu, Kral şamdanı' olarak bilinmektedir. *Verbascum* cinsi yurdumuzda birçok yörede daha farklı isimler (masijark, dımıga gibi) ile de adlandırılmaktadır.

Türkiye'de ise 248 tür ve 129 melez ile temsil edilmektedir Türkiye, *Verbascum* cinsi için bir endemizm merkezidir. Endemik türler genel olarak Doğu, Güney ve İç Anadolu'da yayılış göstermektedir. Endemik tür sayısı 171 olup, endemizm oranı % 69 civarındadır (Karavelioğulları ve ark., 2015).

Verbascum'dan elde edilen droglar tıpta infüzyon halinde solunum sistemi rahatsızlıklarında, yatıştırıcı, idrar arttırıcı ve kabızlık sorunu için kullanılmaktadır (Zeybek, 1985; Çakır ve Bağcı., 2006).

Verbascum türlerinin ekstrat, dekoksasyon ve infüzyonları çok eski zamanlardan beri tüm dünyada halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde *V. phlomoides*, *V. densiflorum* ve *V. thapsus* çiçekleri balgamı söktürmek ve göğüsü yumuşatmak amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Verbascum türleri uzun yıllar çeşitli tıbbi amaçlarla (cilt bakımı, romatizma, adet sancıları ve hemoroid tedavisi gibi) kullanılmıştır. Bunun yanı sıra tohumlarından balık zehiri olarak da yararlanılmıştır (Baytop, 1999). Bu türlerin biyolojik olarak flavonoidler, phenylethanoidler, neolignan glikozitler, saponinler, iridoidler ve monoterpen glikozitleri gibi aktif bileşikleri içerdiği önceden yapılmış çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir (Tatlı ve ark., 2004; Şanlı, 2015).

Yapılan araştırmalarla *Verbascum* türlerinin çiçeğinin, müsilaj, uçucu yağ, hesperozit ve verbaskozit gibi flavon glikozitleri, yaprağının ise; saponin, müsilaj, rezin ve acı maddeler ihtiva ettiğı belirtilmiştir (Baytop, 1999). Bazı *Verbascum* türlerinin farklı gelişme dönemleri sırasında toprak üstü kısımlarında, kök, yaprak, çiçek ve tohumlarında sekonder metabolit olarak bilinen biyolojik aktif maddeleri (alkoloid, saponin, flavonoid, lakton, kumarin ve askorbik asit gibi) içerdikleri saptanmıştır (Yalçın, 1989).

V. cherianthifolium var. *cherianthifolium* ve *V. chrysochaete*'nin toprak üstü kısımları egzama, romatizma, basur ve adet kanaması ağrılarında, *V. lasianthum*'un ise yaprak ve çiçekleri basur için kullanılmaktadır (Kurtoğlu, 2011). *Verbascum* türlerinin antiseptik, astrenjan, emolyan, balgam söktürücü, yatıştırıcı, ağrı kesici, idrar arttırıcı ve sıtmaya karşı kullanılmakta olduğu bilinmekte, bununla birlikte, tümör, enflamasyon, migren, solunum sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanıldıkları bilinmektedir (Kurtoğlu, 2011).

Yüzyıllar boyunca Avrupa, Asya, Afrika ve Kuzey Amerika toplumlarında bazı *Verbascum* L. türlerinin yaprak ve çiçeklerinin geleneksel tıpta enfeksiyon tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Robbers ve Tyler, 1999).

1.2.1.1. *Verbascum insulare* Boiss. & Heldr

V. insulare bitkisi (Şekil 1.2) iki yıllık, ot formunda, çiçeklenme dönemi 6-8 aylarda olan, genellikle nehir kenarları, ormanlar, *Corylus* ve *Quercus* çalılığı ve volkanik keselerde yayılış gösteren, 350-2000 m arasında değışen rakımlarda rastlanılan, endemik olmayan, ülkemizdeki dağılımı kuzey anadolu ve dünyadaki ılıman Avrasya'dan Çin'e kadar olan bir türdür (Anonim, 2017b).

Sistematikteki yeri;

V. insulare'nin TÜBİVES' e (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) göre sistematik olarak sınıflandırılması:

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Lamiales
Familya	: Scrophulariaceae
Cins	: <i>Verbascum</i> L.
Tür	: <i>Verbascum insulare</i> Boiss. & Heldr.



Şekil 1.2. Doğal ortamında *V. insulare* bitkisine ait görüntü (Nimet YILMAZ 14.07.2017)

1.3. Antimikrobiyal Maddeler

Antimikrobiyal madde, düşük dozlarda bile bakteri, virüs, mantar gibi mikroorganizmaların gelişimini önleyen, biyolojik kökenli sekonder metabolitlerdir (Ünlü, 2016; Topal, 2013).

Antibiyotikler, bazı bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen, bakteriler üzerine etki gösteren doğal maddelerdir. Antibiyotiklerin bu etkileri bakterilerin çoğalmasını engelleme (bakteriyostatik etki) veya onları öldürme (bakterisidal etki) şeklindedir. Antibiyotikler gibi etki gösteren, buna rağmen sentetik olarak üretilen kimyasal maddeler ise “kemoterapötik ajanlar” olarak adlandırılmaktadır (Saran ve Karahan, 2010).

Bu maddeler enfeksiyöz mikroorganizmaların etrafa yayılmasını, başka canlılara bulaşmasını ve oluşturabilecekleri enfeksiyonun yaygınlaşmasını engelleyerek kontrol altına alınmasına imkan sağlamaktadır. Ayrıca antimikrobiyal maddeler gerekli koruyucu ve tedavi edici önlemlerin alınması için de zaman kazanılmasına imkan sağlamaktadır (Arda, 1997; Özcan, 2013).

Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaların çeşitli yapı ve işlevleri üzerine beş farklı yoldan etki etmektedir (Akşit, 1993; Özgümüş, 2010; Topal, 2013; Ünlü, 2016);

1. Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu
2. Sitoplazma zarının fonksiyonu ve yapısının bozulması
3. Protein sentezinin inhibisyonu
4. Nükleik asit sentez ve işlevinin bozulması
5. Kimyasal yapılarındaki benzerlik yolu ile metabolizmanın bozulması (Antimetabolit etki) şeklindedir.

Antimikrobiyal ilaçlar, uzun bir süre enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkili olmuştur. Fakat antimikrobiyal ajanların uzun süreli kullanılması sonucunda mikroorganizmaların direnç geliştirmesi ve bazı dirençli patojenlerin görülmesi ile antimikrobiyal ajanların istenmeyen yan etkilerin ortaya çıkması gibi nedenlerden dolayı bu ajanların tedavi olanakları sınırlanmıştır (Rojas ve ark., 2006; Pulcini ve ark., 2012; Özcan, 2013).

Antimikrobiyal direnç, her geçen gün artarak karşımıza çıkmakta ve bu durum çoklu dirençlilik kazanımıyla giderek daha büyük bir problem haline gelmektedir. Antibiyotik kullanımının insan ve hayvanlarda artması sonucunda antibiyotiğe maruz kalan mikroorganizma sayısının artması, gıda üretim endüstrisinde yanlış ve fazla antibiyotik kullanılması ile direncin besin zincirine geçmesi, dezenfektanların yanlış ve rastgele kullanımı ile antimikrobiyal özelliği olan maddelerin su ve toprağa karışması sonucunda dirençli genlerle mikroorganizmaların daha güçlü savunma mekanizmalarına sahip olmaları gibi nedenlerle insan ve hayvan sağlığı açısından gittikçe artan bir tehdit oluşturmaktadır (Karaaslan, 2013; Başkaya, 2015).

Sentetik olarak üretilen ilaçların birçoğu da bitkilerde bulunan herhangi bir bileşiğin izole edilmesi ve kimyasal olarak üretilmesi sonucu yapılmaktadır. Bu nedenle hastalık etmenleri, sentetik olarak üretilen ilaçlar karşısında dirençli mikroorganizmalar olduğundan ilaçların etkinliği yok olmaktadır. Bu açıdan bitkiler birçok etken madde içerdiğinden dolayı hastalık etmenleri olan mikroorganizmaların bu etken maddeleri çözüp direnç oluşturmaları güç olmaktadır (Özer ve ark., 2001).

Bitkiler tarafından üretilmiş olan flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, berberin, kinin ve emetinler gibi bileşikler enfeksiyon sonucunda oluşan hastalıkların tedavi edilmesinde yoğun olarak kullanılmaktadır (Hussain, 2011).

Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin bileşenleri çeşitli yollar ile mikroorganizma üzerinde etkili olur. Bitkilerde bulunan antimikrobiyal maddeler yaygın etkileri; sitoplazmik zarın bozulmasına, DNA/RNA işlevinin yok olmasına ve sentezinin durdurulmasına, sitoplazma içeriğinin pıhtılaşmasına ve hücredeki iletişimin engellenmesi şeklindedir (Radulovic ve ark., 2013).

1.3.1. Sekonder metabolitler

Sekonder metabolitler özellikle fenolik bileşikler, biyoaktif özelliklerinden dolayı ilaç, kozmetik ve tıbbi bileşiklerin eldesinde önemli kullanım alanına sahiptir. Fenolik bileşiklerin antioksidan, antikanser aktivitelerinin çok güçlü olması ile bu bileşiklerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Öte yandan sentetik olarak üretilen ilaçların birçok yan etkileri ortaya konulmuş ve bunların sağlık yönünden tehlikeli oldukları belirtilmiştir. Sentetik ilaçların bu etkileri azaltmak için doğal kaynaklardan, bunların yerini alabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunması gerektiği üzerinde durularak bu yönde çalışmalar ilerlemesi gerekmektedir (Sasaki ve ark., 2002; Adak, 2017).

Bitkiler, kendilerini mikrobiyal enfeksiyonlar gibi biyotik saldırılardan korumak için antimikrobiyal bileşikler üretmek yeteneğine sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı bitkiler ve bitkisel ürünler mikroorganizmalara karşı aktivite çalışmalarında kullanılmaktadır (Kan ve ark., 2009).

Bitki tarafından üretilen kimyasal bileşikler; metabolik yol ve fonksiyonlarına göre primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer metabolitlerin sentezi bütün canlılarda neredeyse aynıdır ve bu metabolitlerin yaşam için çok önemli görevleri vardır (büyüme, metabolizma ve üreme). Sekonder metabolitlerin ise bitkinin büyüme ve gelişmesinde görevleri bulunmaz fakat bitkinin bulunduğu çevreye uyumunda, üremede, bitkinin savunmasında işlevleri olan organik kimyasallardır (Şendoğan ve Çölgeçen., 2015)

1.3.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler; bitkiler tarafından üretilen ve antioksidan özellik gösteren çok önemli sekonder metabolitlerdir. Genellikle suda çözünen ve aromatik zincir halkasında en az bir veya birden fazla hidroksil grubu (OH⁻) içeren, basit fenolik bileşiklerden, yüksek oranda polimerize olmuş çok sayıda fenolik maddeleri içeren gruptur (Canyılmaz, 2015). Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler karşımıza en çok meyvelerde çıkmakla birlikte meyvenin çeşidine göre farklılıklar söz konusudur. Bununla birlikte

aynı meyve türü için; yetiştirme mevsimi, cins, ekolojik ve klimatolojik koşullar, bitki hastalıkları, toprak yapısı ve çeşidi gibi etkenler fenolik bileşik içeriğini etkilemektedir (Sellapan ve ark., 2002; Öztan, 2006).

Fenolik bileşikler bitkilerin tüm kısımlarında bulunabilen sekonder metabolitlerdir. Bitkiler büyüme, lignifikasyon, pigmentasyon, tozlaşma gibi çeşitli süreçlerde ve patojenlere, predatörlere ve çevresel strese karşı direnç sağlamak için ikincil metabolitler olarak fenolik bileşikleri üretirler (Taner, 2015).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

1.3.3. Fenolik Asitler

Bitkilerin yapısında bulunan fenolik asitler, sinamik ve benzoik asitlerin hidroksillenmesi ile oluşan yapılardır. İzoflavinler, flavinler, flavaninler, flavanoller, antosiyaninler ve flavinoller gibi altı gruptan oluşan yapılar ise flavonoidler olarak adlandırılmaktadır (Modanlıoğlu, 2012).

Flavonoidler ve fenolik asitler bitkilerde birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Bu fonksiyonları, bitki hücre duvarına destek malzemesi olma, bitkilerde en önemli olaylardan olan tohum dağılımı ve tozlaşma için kuşlar ve bitkinin renkli ve cezbedici olmasını sağlayarak böcekleri bitkiye çekmek, bitkinin çevresel stres şartlarına karşı (yaralanma, enfeksiyonlar, aşırı ışık veya UV ışınları gibi) bitkinin savunma mekanizmalarında rol oynamak şeklinde sayılabilir (Karadeniz, 1994).

Yapılan araştırmalar ile flavonoidlerin antialerjik, anti-inflamatuar, antiviral ve antiproliferatif özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Kühnau, 1976; Harborne, 1994). Ayrıca flavonoidlerin ve fenolik asitlerin, antioksidan ve antikanserojen etkileri belirlenmiştir (Osawa, 1987; Robards, 1999; Hayatsu, 1988; Stavric, 1994).

Fenolik asitler, kimyasal olarak hidroksisinamik (sinamik) ve hidroksibenzoik (benzoik) asitler olmak üzere iki gruptur. Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ (fenilmetan), hidroksisinamik asitler ise C₆-C₃ (fenilpropan) yapısındadır. Benzoik asit türevlerine, protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit ve gensitik asit örnek olarak verilebilir. Sinamik asit türevlerine ise, kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit örnek verilebilir (Yücel ve Ötleş, 2001; Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Flavonoidler; önemli antioksidan ve metal şelatlama özelliği olan, en geniş bitki fenolikleri sınıfını oluşturmaktadır. Bitkilerin özellikle yaprak, çiçek ve kökünde bulunan 8000'den fazla flavonoid çeşidi mevcuttur (Ren ve ark., 2003; Turan, 2016).

1.4. Test Mikroorganizmalarının Genel Özellikleri

1.4.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus türü, oksijenli ortamda yaşayan, sporlu çubuklar ailesinde bulunur ve gram pozitif boyanan, kenarları paralel, ucu yuvarlak veya künt biten, 0.5-1.2 µm eninde 2.5-10 µm boyuna sahip basillerdir. Tek tek veya uzun zincirler halinde görülen bakterilerdir (Koçak, 2011).

1.4.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus'lar, gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsülsüz, fakültatif anaerob, katalaz pozitif, oksidaz negatif, 0.5-1.5 µm çapında koklardır. Kanlı agarda beta-hemoliz yapar ve ayrıca mannitol, maltoz, sukroz ve trehaloz gibi çeşitli şekerleri fermente ederek asit oluşturur, fakat gaz oluşturmazlar (Okalin, 2017). Deri ve mukoza enfeksiyonları, sepsis ve endokarditler, sistem ve organ enfeksiyonları, besin zehirlenmeleri ve enteritler gibi çeşitli hastalıklara neden oldukları bilinmektedir (Bilgehan, 2000).

1.4.3. *Bacillus megaterium*

Bacillus megaterium, gram pozitif, endospoform oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir. Aerobik olarak kabul edilir. Toprakta bulunur, saprofit olarak kabul edilir. Patojen olmayan bakterilerdir. *B. megaterium* son derece büyük bir bakteridir, *E. coli*'nin yaklaşık 100 katı kadar büyüktür. *B. megaterium*, 1950'lerden beri yapının, protein lokalizasyonunun ve bakteri membranlarının incelenmesi için yaklaşık 60 µm küp boyutuna sahip olan muazzam boyutundan dolayı kullanılmaktadır. *B. megaterium* genellikle laboratuvarında kullanılır ve çeşitli proteinler ve biyolojik giderme kaynakları üretebilen bir endüstriyel organizma olarak kullanılır. *B. megaterium*'un biyoteknolojik ajan olarak çalışılması, önemli tıbbi, bilimsel ve endüstriyel ilerlemelerde kullanabilecek farklı proteinlerin bolluğunu sağlar (Patrica, 2007).

1.4.4. *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter cinsleri toprakta, suda, bitkilerde ve ayrıca insan ve hayvanların kalın bağırsağı ve dışkıında bulunurlar. *Enterobacter* cinsleri hareketlidir ve bazılarında

kapsül bulunmaktadır. *Enterobacter aerogenes* alt solunum yolu enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit, karın içi enfeksiyonlar, septik artrit, kemik iliği iltihabı ve göz enfeksiyonlarını da kapsayan çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu önemli nozokomiyal patojenlerdir (Yazgan, 2010).

1.4.5. *Escherichia coli*

Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0 - 1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca üreyebilirler. Fakültatif anaerop olup optimum üreme ısısı 37 °C'dir. *E. coli*, memelilerin ve kuşların bağırsak florasında bulunmaktadır. Normal koşullarda bağırsak florasında bulunur ve ortamdaki diğer flora bakterileri ve organizma ile dengede olduğu sürece patojen değildir. Normal koşullarda kokuşma-mayalaşma dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlarda konak organizmaya yardımcı olur. Ancak belirli koşullar altında *E. coli*, insanlar ve hayvanlar için patojen olup bazı bağırsak hastalıklarına neden olur. Herhangi bir nedenle buldukları yerin dışında başka dokulara geçme olanağını buldukları zaman çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Bu şekilde bağırsak dışı dokulara ve en çok üriner sistem, safra yolları ve safra kesesi, akciğer ve peritona ulaşan koli basilleri bu bölgelerde enfeksiyon oluştururlar (Bilgehan, 2000).

1.4.6. *Pseudomonas aeruginosa*

1.5 – 3.0 µm uzunluğunda ve 0.5 µm genişliğinde, bazen çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır. Gram negatiflerdir. Genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla 30 – 37 °C'lerde ve hafif bazik ortamda bol miktarda ürerler (Bilgehan, 2000).

1.4.7. *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae familyasına aittir. Mikroorganizma toprakta, suda, kanalizasyon sularında, ağız florasında, insan ve hayvan bağırsağında yaygın olarak bulunur. *Klebsiella pneumoniae* fırsatçı bir patojendir. Akciğer, solunum yolu ve üriner sistem enfeksiyonlara neden olur. *Klebsiella* türleri bazı literatürde et ve et ürünleri ile insana geçen patojen olarak belirtilmiştir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). *Klebsiella*'lar tarafından üretilen bakteriosinlere Pneumocin adı verilir. Doğada geniş bir yayılım gösteren bu bakteri; kuruluğa karşı dirençli, sıcaklığa ise dayanıksızdır. Buna rağmen oda sıcaklığında haftalarca ve 4°C'de aylarca canlı kalabilmektedir (Çiftçi, 2015).

1.4.8. *Yarrowia lipolytica*

Dipodascaceae familyasına ait askomisetik bir mayadır. Multilateral tomurcuklanma ile çoğalan hücreler globoz, elipsoid veya silindirik şekillidir. Askosporlar oval, şapka veya satürn şeklindedir. Her askusta 1-4 askospor oluşmaktadır. Genellikle pseudomisel ve septat hif oluşumu gözlenmektedir. Şekerleri fermente edemezler. Nitrat ve Diazonyum blue B (DBB) reaksiyonu negatiftir. Üreaz reaksiyonu pozitifdir (Öztürk, 2007; Akpınar, 2008).

Hidrofobik substratların parçalanması, dimorfizm, protein sekresyonu çalışmalarında model organizma olarak kullanılmaktadır. Bu maya sosis, peynir, süt ve süt ürünleri gibi lipid ve proteince zengin gıdalarda bulunmaktadır. Camambert ve mavi peynirde predominant olarak bulunan mayalardan biridir ve bu peynirlerde 106-107cfu/g konsantrasyonda bulunmaktadır. Bu kadar yüksek konsantrasyonda bulunması 5-10°C'de büyüebilmesi ve ekstrasellüler lipaz ve proteaz aktivitesine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Çoğu şuşları 32°C'nin üzerinde büyüebilmekte ve zorunlu aerobiktir (Tempel and Jakobsen, 2000; Öztürk, 2007).

1.4.9. *Candida albicans*

Klinik olarak önemli bir mayadır ve gerek insan vücudunda gerekse kültür ortamında değişik formlarda görülebilir. Maya, tomurcuklanmış blastokonidya, kısa veya uzun psödohif, gerçek hif şeklinde olabilir. Bu değişim yaygın olarak dimorfizm olarak isimlendirilir ancak doğru yaklaşım pleomorfizm şeklinde isimlendirmek olacaktır. Bu formların oluşumunda ortamın pH'sı, kimyasal bileşimi gibi birtakım ortam şartları etkilidir (Tan, 2014). *C. albicans* diğer *Candida*'ların yaptığı gibi konağa girmeden önce Y fazındadır. Konak dokuya temas ettikten bir süre sonra pseudomiselyumlar oluşturarak hastalık yapma yeteneğinde olan M fazına (mycelial faz) geçerler. Y fazında *Candida* sitoplazmalarını bir hücre membranı ve kalın bir hücre duvarı sarar. Bu fazdaki *C. albicans* hücresinin limona benzer bir görüntüsü oluşmaktadır. *Candida*'ların hücre duvarı birçok tabakalı olup ve hücre duvarında 7-50 nm çapında mikrofibriler yapılar bulunmaktadır. Bu mikrofibriler sayesinde yapısında beta gluklan bulunduğu düşünülen fibriler ağ oluşmaktadır (Aydın, 2004). Direk inceleme *Candida* türlerinin tespitinde en basit ve ekonomik yaklaşımdır. Dokuda 2-4 µm çapında tomurcuklu maya hücreleri, yalancı hif ve hiflerin taze hazırlanan prepatlarda gösterilmesi mümkündür. Özellikle steril vücut bölgelerinde direkt bakıda görülmesi tanı açısından önemlidir (Tan, 2014).

1.4.10. *Saccharomyces cerevisiae*

Fungus alemine ait tomurcuklanan bir maya türüdür. Ekmek veya bira mayası olarak da isimlendirilmektedir. Boyutları bakterilerden daha büyük, tek hücreli, genellikle elips şeklinde, 10-30 µm uzunluğunda ve 2-6 µm genişliğinde olan canlılardır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). *S. cerevisiae* moleküler biyoloji, genetik, biyokimya ve metabolik çalışmalarda en fazla kullanılan eukaryotik hücre modellerinden biridir. *S. cerevisiae*; mantarlar, bitkiler ve hayvansal organizmalar üzerinde yapılan birçok muhtemel biyolojik mekanizmayı ortaya çıkarılmasında en iyi karakterize edilen organizma olarak kabul edilmektedir (Bozhan, 2017).

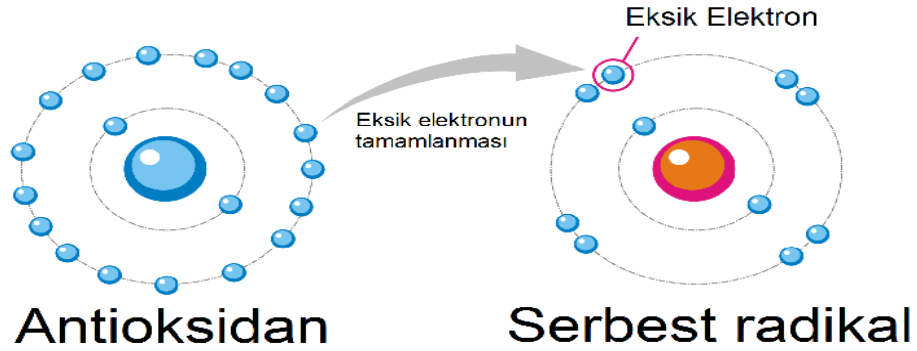
1.5. Serbest Radikaller

Kimyasal bileşikler iki veya daha fazla elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması sonucunda oluşmaktadırlar. Bu bağlar negatif yüke sahip elektronlarca sarılmıştır ve bu elektronlar tarafından oluşturmuş olduğu düzen bileşiğe kararlılık sağlamaktadır. Kararlı bileşiklerde elektronlar çiftlenmiş halde bulunurlar. Dış orbitalinde eşleşmemiş tek elektron bulunduran ve kimyasal olarak çok aktif olan atom veya moleküllere serbest radikaller denir (Bursal, 2009; Aras, 2016) (Şekil 1.3).

Serbest radikaller elektron alış-veriş reaktivitesi yüksek olan, atomik veya moleküler yapı halinde bulunan maddelerdir (Mercan, 2004). Serbest radikaller bu özelliklerinden dolayı biyolojik sistemlerde bulunan proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi hayati yönden önemli moleküllerle reaksiyona girerek bu moleküllerin fonksiyonlarının bozulmasına ya da yok olmasına neden olmaktadır (Velioğlu, 2000).

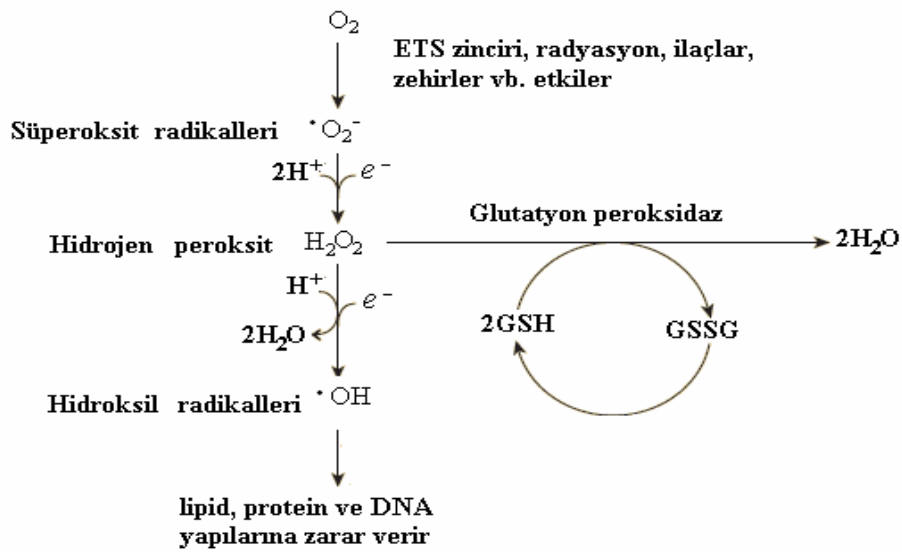
Serbest radikaller, oksijenli solunum yapan organizmalarda normal hücre içi metabolizmanın doğal bir sonucu olarak veya iyonize radyasyon, UV ışınları, karsinojenik bileşikler, çevresel kirleticiler gibi eksojen kaynaklı olarak karşımıza çıkmaktadır. Oksijen veya moleküler oksijen, oksijenli solunuma sahip organizmaların hayatta kalabilmeleri için gereklidir. Normal hücrelerdeki oksijenli solunum metabolizma süresince, oksijen aracılığı ile besinlerden biyokimyasal yollarla ve canlının bütün yaşamsal olaylarında kullanılmak üzere canlılarda kullanılabilir enerji formu olan Adenozin Tri Fosfat (ATP) enerjisi üretilmektedir. Oksijenli solunum işlemi sırasında oksijen birçok reaksiyon zinciri ile H₂O'ya indirgenmektedir. Oksijen metabolizması sonucunda canlılarda, yüksek düzeyde reaktiviteye sahip reaktif oksijen türlerinden

(ROT); süper oksit radikali ($O_2^{\cdot -}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ile radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2)'i üretilir (Dizdaroğlu, 2012; Aras, 2017).



Şekil 1.3. Antioksidan Sistemler (Anonymous, 2017c)

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (Çizelge 1.1) insan vücudunda meydana gelen farklı katabolik tepkimeler sonucunda sıklıkla oluşabilmektedir (Şekil 1.4). Yapılan çalışmalar serbest radikal mekanizmalarının birçok hastalık ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu hastalıklar; kanser, kalp ve damar hastalıkları (ateroskleroz ve yüksek tansiyon), yaşlanma, romatizmal artrit, şeker hastalığı (diyabet), sinir sistemi hastalıkları (Alzheimer ve Parkinson hastalıkları), kıkırdak doku iltihabı olarak sıralanabilir (Gardes-Albert ark., 2002). Güçlü reaktif özellik gösteren serbest radikaller hücrede farklı kısımlarda yer alan protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi molekülleri etkileyerek önemli değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olurlar (Keser, 2012).



Şekil 1.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu (Nelson ve Cox, 2004)

Çizelge 1.1. Radikaller, simgeleri ve özellikleri (Çöllü, 2007, Kıral, 2012.)

Radikal Adı	Simge	Özellikler
Hidrojen	H•	Bilinen en basit radikaldır
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	Moleküler hasar yeteneği zayıf, reaktivitesi çok düşüktür
Tekli oksijen	O ₂ •	Güçlü oksidatif oksijen formu, yarılanma ömrü hızlıdır
Süperoksit	O ₂ •	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünüdür
Hidroksil	OH•	Oksijen metabolitlerinden en toksik olanıdır
Perhidroksi radikal	HO ₂ •	Lipidlerde hızlı çözülerek lipid peroksidasyonu artırır
Peroksil radikal	ROO•	Peroksil daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Tiol radikali	RS•	Eşleşmemiş elektron ve sülfür içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO•	Organik peroksitlerin parçalanmasıyla oluşan oksijen metabolitleri
Triklorometil	CCl ₃	CCl ₄ metabolizma ürünü bir radikal, karaciğerde üretilir
Azot monoksit	NO	L-arjinin amino asitinden üretilir
Azot dioksit	NO ₂	Oksijenin NO ile reaksiyonundan üretilir

1.5.1. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri:

Serbest radikaller biyokimyasal reaktiflikleri nedeniyle biyolojik sistemlerde nötralize edilmiş halde bulunmaları önemlidir. Serbest radikaller vücutta bulunan antioksidan sistemler tarafından nötralize edilirler. Serbest radikaller nötralize edilmediklerinde canlı sistemlerde, hücre membranında bulunan proteinlerini yıkarak hücrelerin ölmesine, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranının şeklinin bozulmasına, hücre membranını sertleştirip hücresel işleyişin engellenmesine, çekirdek membranının deformasyonuna neden olarak çekirdekte bulunan kalıtım materyaline etki edip, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek ve ayrıca immün sistem hücrelerini yok ederek immün sistemin etkisini azaltarak çeşitli hasarlara neden olabilmektedir (Sertsever ve Gök, 2003).

1.5.1.1. Serbest radikallerin proteinlere etkisi:

Serbest radikaller proteinleri doğrudan etkiler. Bu etkilenme derecesi proteinlerin yapıtaşı kabul edilen ve proteinlerin karakteristik özelliklerini ortaya çıkaran amino asit içerikleri belirler. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri yapılarında doymamış bağ ve sülfür içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girebilmektedir (Devasagayam ve ark., 2003; Karabulut ve Gülay, 2016).

1.5.1.2. Serbest radikallerin DNA'ya etkisi:

Radyasyona maruz kalınması sonucunda canlı organizmada bulunan serbest radikal türleri DNA'ya etki ederek hücrede mutasyona ve ölüme yol açabilirler. Hidroksil radikali (OH^{\bullet}) pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek modifikasyonlara neden olmakta ve böylece protein sentezinde inhibisyona yol açmaktadır (Dizdaroğlu, 1991). Reaktif oksijen türleri proteinler üzerine etkisi mutajeniktir. Bu etkiler DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, pürinlerin oksidasyonu ile oluşan değişiklikler reaktif oksijen türlerinin ve özellikle de OH^{\bullet} 'in reaksiyonlarından kaynaklanmaktadır. Hidroksil radikali (OH^{\bullet}) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebilir ve değişikliklere yol açabilir (Akkuş, 1995).

1.5.1.3. Serbest radikallerin lipidlere etkisi:

Lipidler serbest radikallerin en fazla saldırdıkları biyomoleküller olup, bunların etkilerine karşı en hassas olan moleküllerdir. Hücre membranlarında ve gıdalarda bulunan kolesterol ve yağ asitleri gibi lipidler serbest radikallerle kolayca reaksiyona girme ve peroksidasyon ürünleri oluşturma eğilimindedirler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller etkisi ile oksidatif yıkımı olarak bilinen nonenzimatik lipid peroksidasyonu zincir reaksiyon şeklinde ilerler (Halliwell ve Gutteridge, 1990)..

Lipidlerin yıkımı sonucunda biyolojik yönden aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da ilk oluşum bölgesinden hücreye difüze olup hücrenin diğer bölümlerine oluşan hasarı yayılmasına neden olurlar. Lipid peroksidasyonu, membran yapısına direkt etki eden ve oluşturduğu reaktif aldehitlerle diğer hücre bileşenlerine indirekt zarar veren geri dönüşümsüz bir olaydır (Onat ve ark., 2002).

1.5.1.4. Serbest oksijen radikallerin hücre zarına etkileri:

Hücre zarı hücrelere karakteristik kimliğini kazandıran lipid, protein ve karbonhidrat gibi primer metabolitlerden oluşan seçici geçirgen özelliği ile hücrenin iç – dış haberleşme sistemini oluşturan muazzam bir yapıdır. Serbest radikaller hücrede bulunan lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek onların yapısını bozma eğilimindedirler. En fazla bilinen serbest radikallerden olan süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) hücrede membrana sahip yapılara saldırır. Bu yapılar; sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulumdur. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonu sonucunda membran

esnekliği azalır, hücre membranı sertleşir, seçici geçirgen özellik bozulur ve hücrenin şekil ve fonksiyon olarak deformasyona uğrar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerin yapısında bulunan sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur (Akkuş ve Tietz, 1995).

1.6. Antioksidanlar

Oksidasyon; canlıların hücrelerinde veya lipid içerikli gıdaların oksijen etkisi sonucunda renk, tat ve kokularında ortaya çıkan, genellikle istenmeyen değişimlerdir. Oksidan ise; bulunduğu ortamdaki diğer biyokimyasal bileşenleri oksitleme özelliğine sahip olan maddelere verilen genel addır. Canlı hücrelerinde ve gıdalarda oluşan oksidasyon reaksiyonlarını engelleme veya yavaşlatma yeteneğine sahip bileşenler ise genel olarak antioksidan olarak adlandırılmaktadır (Oğuz, 2008).

Antioksidan maddeler ise serbest radikaller ve oksijen metabolizması sonucunda oluşan toksisiteye karşı canlı organizmanın kendini korumasını sağlayan maddelerdir (Fantel, 1996; Tempel, 2000; Silinsin, 2016). Reaktif oksijen ve azot türlerine karşı özellikle oksijenli solunum yapan canlı organizmalarda çeşitli savunma sistemleri mevcuttur. Canlı organizmalarda bu sistemler ‘Antioksidan Sistem’ olarak adlandırılır (Bursal, 2009).

Antioksidan maddeler biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikalleri biyokimyasal reaksiyonlar ile nötr hale getirerek hücrelerin serbest radikallerden etkilenmesini önleyen ya da hücrelerin rejenerasyonunu sağlayan maddelerdir (Gök ve Sertsever, 2003). Canlılar reaktif oksijen türlerine karşı kendilerini savunmak amacıyla karmaşık antioksidan sistemleri geliştirmiştir. Bu antioksidan sistemler vasıtasıyla canlılar vücutlarındaki organ ve hücre sistemlerini koruma altına almışlardır. (Sernikli, 2015). Canlılar yaşamlarını devam ettirmek için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir dengeye ihtiyaç duyarlar (Cornelli, 2009). Radyasyon, çeşitli gazlar, ağır metaller, tarımda ürün verimini korumak ve arttırmak amacıyla kullanılan herbisitler, pestisitler gibi çevre kirleticiler ile tedavi amacıyla kullanılan birçok ilaç, vücutla etkileşime girerek bu dengenin bozulmasına neden olurlar. Bozulan denge sonucunda serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Organizmada bulunan oksidan maddeler belirli bir düzeyin üzerinde olursa veya antioksidanlar istenen miktarda değilse oksidan-antioksidan dengesi bozulursa bu durumda oksidan moleküller organizmada bulunan protein, lipid,

karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerin yapısını bozarak zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olurlar (Halliwell, 1991).

Organizma normal metabolik faaliyetlerini devam ettirebilmek için dengede giden bir aktif oksijen-antioksidan dengesine ihtiyaç duymaktadır. Oksidatif stres ise normal metabolik olayların sürdürüleşi için gerekli olan aktif oksijen-antioksidan dengesinin bozulmasını ifade edilir. Bu dengenin aktif oksijen lehine bozulması vücutta birçok hastalığın oluşumuna neden olmaktadır (Cornelli, 2009; Davidson, 2009).

Düşük konsantrasyonlarda bile antioksidanlar buldukları ortamdaki oksidasyon sonucunda bozunmaya uğrayabilecek biyomolekülleri oksidasyona karşı koruyan veya oksidasyonu tam olarak bertaraf eden bileşiklerdir (Atoui ve ark., 2005; Becker ve ark., 2004).

Doğal antioksidanlar, endojen (organizma tarafından sentezlenen) ya da ekzojen (dışarıdan besinlerle alınan) yapılardır. Araştırmacılar oluşan antioksidan üretim açığının kapatılabilmesi için bitki kökenli antioksidanların iyi bir alternatif olduğunu düşünmektedir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Bitkisel ürünler, hayvansal ürünler, enzimler ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır. (Hall, 2001; Turhan ve Üstün, 2006). Bitkisel kökenli antioksidanların vücutta daha ziyade serbest radikalleri giderici, peroksit parçalayıcı, singlet ve triplet oksijen kuençeri, enzim inhibitörü ve sinerjist fonksiyonları bulunmaktadır (Larson, 1998).

Sentetik antioksidanlar ise gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan maddelerdir. Bu maddeler gıda endüstrisinde daha ziyade gıda muhafaza, katkı, koku giderici, verim artışı gibi farklı amaçları yapmak üzere üretilen ve kullanılan kimyasal maddelerdir. Butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT), propil Gallat (PG), Tersiyer butilhidrokinon (TBHQ) en fazla bilinen sentetik antioksidanlardır. (İşbilir, 2008). Yapılan araştırmalar ile sentetik antioksidanların zararları ortaya çıkarılmış ve sentetik antioksidanların yerine kullanılacak doğal ve bitkisel kaynaklardan yeni antioksidan arayışı günden güne artmaktadır. Alternatif antioksidan kaynaklarının da belli özellikleri bulundurmaları gerekmektedir. Doğal ve bitkisel kaynaklarında ucuz, yenilebilir özellikte ve bol miktarda olması gerekmektedir (Maure ve ark., 2001; Jayaprakasha ve ark., 2003; Nandita ve Rajini, 2004; İşbilir, 2008).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan bitki materyali

Çalışmamızda kullandığımız bitki materyali olan *V. insulare* bitkisi 12.06.2017 tarihinde Muş Karaköprü mevki Karasu nehri kenarında ve *I. helenium* subsp. *pseudohelenium* bitkisi 21.07.2017 tarihinde Muş Çöğürlü köyünde tarafımdan toplanmıştır. Bitkilerin teşhisi Bitlis Eren Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Dr. Öğretim Üyesi Murat KURŞAT tarafından yapılmıştır.

2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Antioksidan aktivite kapasitesi belirleme için yapılan çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelerden 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil radikali (DPPH), 2,2-Azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit radikali (ABTS), Butillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) ve Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), neokuprin. FeCl₂, NH₄SCN, Na₂HPO₄, K₃Fe(CN)₆, Trikloro asetik asit (TCA), FeCl₃, etil alkol, fenolik içerik analizinde kullanılan standart fenolik bileşikler ve antimikrobiyal aktivite belirlemede kullanılan besiyerleri Sigma-Aldrich ve Merck'ten satın alındı.

2.1.3. Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalkalayıcı	: Nüve SL 350
Derin dondurucu	: Arçelik, Türkiye
Evaporatör	: Heidolph 94200, Bioblock Scientific
Hassas terazi	: Scaltec SBA 41
HPLC	: Agilent Technologies 1260 Infinity II
İnkübatör	: Elektro-Mag (0-300°C)
Magnetik karıştırıcı	: Stuart Scientific
Otomatik pipetler	: Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
pH-metre	: Hanna Instrument
Saf su cihazı	: Liston A 1210, Rusya
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm ³ 'lük quartz küvet
UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1208
Vorteks	: Four E'S Scientific Led Digital Vortex Mixer

2.2. Yöntem

2.2.1. Soxhlet ile bitki ekstraktlarının hazırlanması

Antioksidan, antimikrobiyal aktivite ve fenolik içeriklerin araştırılması ile ilgili çalışmalarda kullanılacak bitki numuneleri toplandıktan sonra (yaprak ve kök) gölgede kurutuldu. Bitkilerden 50'şer gram alınarak temizlendi ve öğütülerek toz haline getirildikten sonra soxhlette, 300 ml saf çözücülerde (etanol ve saf su) 70 °C'de 6 saat süre ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işleminden sonra, solvent-ekstrat karışımı bulunan balon, soxhlet düzeneğinden çıkarılarak rotary evaporatöre yerleştirildi. 70 °C'de 20 dakika süreyle tutularak solvent-ekstrat karışımından solvent tamamen uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstraktlar, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere koyu renkli cam şişeler içerisinde Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarları Uygulama ve Araştırma Merkezi -18 °C'de muhafaza edildi.

2.2.2. Antioksidan özelliğın belirlenmesinde kullanılan yöntemler:

2.2.2.1. FRAP yöntemine göre indirgeme kapasite tayini

Total indirgeme kuvveti tayini Oyaizu yöntemine göre yapıldı (Oyaizu, 1986). Çalışmada önceden hazırlanmış olan stok çözeltiler kullanıldı. Stok çözeltiden 25, 50 ve 100 µg/ml olacak şekilde alındı ve deney tüplerine aktarıldı, saf su ilave edilerek son hacim 1 ml'ye tamamlandı. Her bir tüpe 2.5 ml 0.2 M fosfat tamponu pH: 6.6 ve 2.5 ml % 1'lik $[K_3Fe(CN)_6]$ ilavesinden sonra karışım 50 °C'de 20 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra çözeltiye 2.5 ml %10'luk triklorasetik asit (TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 ml alınarak, üzerine 2.5 ml destile su ve % 0.1'lik 0.5 ml $FeCl_3$ ilave edildi. Absorbans 700 nm'de köre karşı okundu. Kör ve kontrol olarak saf su kullanıldı.

Bu yöntemin ilkesi; antioksidan içeren bir ekstraktın eklenmesi sonucu, oksidan olarak kullanılan ferrik-tripiridiltiazin ($Fe^{+3} - TPTZ$) kompleksinin, renkli formdaki ferro (Fe^{2+}) formuna indirgenmesine dayanmaktadır (Apaydın, 2008). Antioksidan kapasite tayini için kullandığımız bu yöntemde, test çözeltisinin renginin ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme özellikleri sebebiyle kompleks oluşturması sonucunda yeşil rengin değişik tonlarında renk açılmasının ortaya çıkması ile ve spektrofotometrede absorbans ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Bursal, 2009).

2.2.2.2. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi tayini

DPPH serbest radikal giderme Blois yöntemine (Blois, 1958) göre yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH[•]'ın 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 25, 50 ve 100 µg/µl konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve son hacim 3 ml olacak şekilde destile etanol ile eklendi. Numune tüplerine DPPH[•] çözeltisinden 1 ml ilave edilerek, 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Kontrol olarak, 3 ml etanol ve 1 ml DPPH[•] çözeltisinden oluşan çözelti kullanıldı.

DPPH radikali uzun ömürlü bir azot radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Özçelik ve ark., 2003). DPPH[•] radikali mor renge sahiptir. Mor renk eşleşmemiş nitrojen elektronlarının varlığından kaynaklanmaktadır. DPPH[•] radikali giderme kapasitesi yönteminde antioksidan aktivitenin tespiti için radikalın antioksidan özelliği olduğu düşünülen bitki ekstraktı veya saf maddeler ile reaksiyona girmesi sağlanır. Reaksiyon sonucunda karışımın renginde açılmalar olur ve sarı renk oluşur. Sarı renk oluşumu antioksidan maddelerin DPPH[•] radikallerini sarı renkli difenilpikrilhidrazine indirgemelerinden kaynaklanmaktadır. DPPH[•] radikali giderme kapasitesiyle ilgili yapılmış çalışmalarda 517 nm'de azalan absorbans geriye kalan DPPH[•] çözeltisi miktarını vermekte bu da serbest radikal giderme aktivitesi olarak bilinmektedir.

2.2.2.3. ABTS radikali giderme aktivitesi tayini

ABTS^{•+} giderme aktivitesi radikal giderme tayin yöntemi olarak sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesinde olduğu gibi ABTS^{•+} giderme aktivitesi de bitki ekstraktlarının veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde çok sık kullanılan bir tayin yöntemidir (Bursal, 2009). Bunun için öncelikle ABTS maddesinden radikal formu olan ABTS^{•+}'nin oluşturulması gerekmektedir. Bunun için 2.45 mM K₂S₂O₈ ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Önceden hazırlanmış olan ABTS^{•+} radikal çözeltisinin 734 nm'de absorbansı alınarak 1.660±0.02 absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi. Elde edilen değer kontrol absorbansı olarak kullanıldı. ABTS^{•+} Radikal çözeltisinden tüplere 4 mL bırakıldı. Tüplerin üzerine 100 µl bitki ekstraktından eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübe edildi.

Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm'de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)'den oluşan köre karşı kaydedildi. Azalan absorbans ortamdaki yok edilen ABTS^{•+} radikallerinin miktarını vermektedir (Wu ve ark., 2009).

2.2.2.4. Cuprac yöntemine göre indirgeme kuvveti tayini

Numunelerimizin kuprik iyonu (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi Cuprac yönteminin farklı bir versiyonuna göre yapıldı (Gülçin, 2006). Bunun için deney tüplerine 0.01 M'lık 0.25 ml CuCl₂ çözeltisi ilave edildi. Bunun üzerine 0.25 ml 7.5x10⁻³ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi ve 1 M'lık amonyum asetat tamponu aktarıldı. Çözelti karıştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlarda (25–100 µg/ml) *V. insulare* ve *I. helenium* bitkilerinin ekstraktları ve standartlar ilave edildi. Yarım saatlik bir inkübasyondan sonra 450 nm'de absorbansları kaydedildi. Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan kuprik iyon (Cu²⁺) indirgeme kapasitesini göstermektedir.

2.2.2.5. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini

Total antioksidan aktivite tayini tiyosiyanat yöntemine göre belirlendi (Mitsuda ve ark., 1966). Çalışmada daha önceden hazırlanan olan stok çözeltiler kullanıldı. Deney tüplerine pipetlerle pipetlendi ve hacim tampon çözeltisiyle 2.5 ml'ye tamamlandı. Deney tüplerine kaplarına linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Her on saatte bir vezin kaplarından 100'er µl alınarak, 4.7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu, 100 µl Fe²⁺ çözeltisi daha sonra da 100 µl SCN⁻ çözeltisi ilave edildi. Kontrol için 2.5 ml tampon çözeltisi ve 2.5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. Kör olarak 4.8 ml etanol, 100 µl Fe²⁺ ve 100 µl SCN⁻ ilavesiyle hazırlanan çözelti kullanıldı.

Toplam antioksidan indirgeme tayini; linolenik asit, Tween-20 ve fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyon çözeltisinde bulunan doymamış bir yağ asidi olan linolenik asidin oda sıcaklığında 100 saat oksijen ile inkübasyonu sonucunda oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak 500 nm'de ölçülmesi esasına dayanır. Yüksek absorbans, peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Oluşan peroksit Fe²⁺'yi Fe³⁺'e yükseltir ve oluşan Fe³⁺ ortama ilave edilen amonyum tiyosiyanat ile kompleks oluşturarak 500 nm'de maksimum absorbans verir. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Ortamda bulunan herhangi bir antioksidan maddenin varlığında lipid peroksit ürünü oluşmaz ve konsantrasyonu, dolayısıyla absorbansı düşük çıkar.

2.2.3. Agar kuyucuk yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteyi belirleme

Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyucuk yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu yöntemde göre, standart bakteriler Mueller Hinton Agar bulunan besi ortamında bir gece 37°C’de ve mayalar ise Sabouraud Dekstroz Agar bulunan besi ortamında bir gece 27 °C’de kültüre alınmış ve daha sonra Mc Farland 0.5 bulanıklığına göre hazırlanmıştır. Bakteri ırkı süspansiyonundan eküvyon çubuk ile yayma ekim gerçekleştirilmiş ve daha sonra steril cam bir boru ile 6.0 mm çapında kuyucuklar açıldı. Bitki ekstraktlarının 10 mg/ml çözeltilerinden kuyucuklara sırasıyla 5 µl, 10 µl, 20 µl, 40 µl ve 80 µl aktarılmıştır.

Bakteriler 37 °C’de ve mayalar ise 27 °C’de 24 saatlik inkübasyonun ardından petri plaklarında gözlenen inhibisyon zon çapları mm olarak kaydedilmiştir. İnkübasyon sonunda ekstrakt yüklenen kuyucuklar çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları petri plaklarının alt yüzeyinden cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Yapılan işlemler üç seri olarak çalışılmıştır. Ölçüm sonuçlarından elde edilen zon ölçülerinden tablolar oluşturularak, standart sapmaları hesaplandı.

2.2.4. HPLC ile fenolik içerik analizi

HPLC ile fenolik madde miktarı tayini için 14 farklı standartın (Askorbik asit, Gallic asit, Miricetin, Absisik asit, Quercetin, Apigenin, Kaempferol, Curcumin, Catechol, Vanilin, Cafeic asit, Cinnamic asit, Rosmarinic asit ve Salisilic asit) son konsantrasyonları 10 mg/ml olacak şekilde tartılıp 50 ml’lik balon jöjeler içine konuldu. Standartlar hazırlanan % 1’lik asetik asit ile 1/9 oranında asetonitril ilave edilerek çözelti hazırlandı. Çözeltiye 1/1 oranında metanol ilave edilerek standartları çözmek için gerekli olan stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltilerden 5 farklı oranda (100 mM, 75 mM, 50 mM, 25 mM ve 10 mM) olacak şekilde numuneler hazırlandı (Tapan, 2016).

V. insulare ve *I. helenium*’un yaprak ve köklerinden elde edilen su ve etanol ekstraktları HPLC’ye yüklemek için 20 mg/ml olacak şekilde seyreltilerek, 0.45 µm’lik membran filtreden geçirilerek filtre edildi. Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş entegre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile elde edilmiş kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız HPLC cihazının çalışma koşulları ve gradient elüsyon programına ait bilgiler aşağıdaki gibidir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. HPLC çalışma koşulları ve gradient elüsyon programı

HPLC çalışma koşulları programı		Gradient elüsyon		
Model	Agilent Technologies 1260 Infinity II	Süre (dak)	A (%)	B (%)
Kolon	ACE 5 C18 (250x4.6 mm id)	0	90	10
Kolon Fırını	G7130A	25	60	40
Dedektör	1260 DAD WR	39	40	60
Pompa	1260 Quat Pump VL	50	10	90
Mobil Faz	A: %1 Asetik Asit B: Asetonitril	55	90	10
Dedeksiyon	272, 280 ve 310 nm			
Otosampler	1260 Vialsampler			
Akış Hızı	1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	28 °C			
Enjeksiyon	20 µl			

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Antioksidan Aktivite

Antioksidan kapasitesi ölçüm yöntemleri; gıda, beslenme, farmakolojide kullanılan bitki çeşitlerinin ve bu bitkilerden elde edilen biyolojik içeriklerin, biyolojik etki kabiliyetlerinin aydınlatılması açısından sıklıkla kullanılmaktadır. Bu amaçla serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelat oluşumu ve indirgeme kapasitelerinin araştırılması gibi antioksidan ölçüm yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Bursal, 2009). Mevcut araştırmamızda bu yöntemlerden FRAP (demir indirgeme kapasitesi), DPPH (1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil) serbest radikali giderme aktivitesi, ABTS (2,2-Azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik Asit) radikali giderme aktivitesi, CUPRAC yöntemine göre indirgeme kuvveti tayini ve Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre toplam antioksidan aktivite tayini yöntemleri kullanıldı. *I. helenium* ve *V. insulare* bitkilerinin kök ile yapraklarından elde edilen etanol ve su ekstraktlarına ait bulgular, antioksidan özellikleri bilinen standart antioksidanlardan BHA ve BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılarak elde edilen sonuçlar aşağıda grafikleri çizilerek gösterildi.

3.1.1. FRAP yöntemi ile indirgeme kapasite tayini

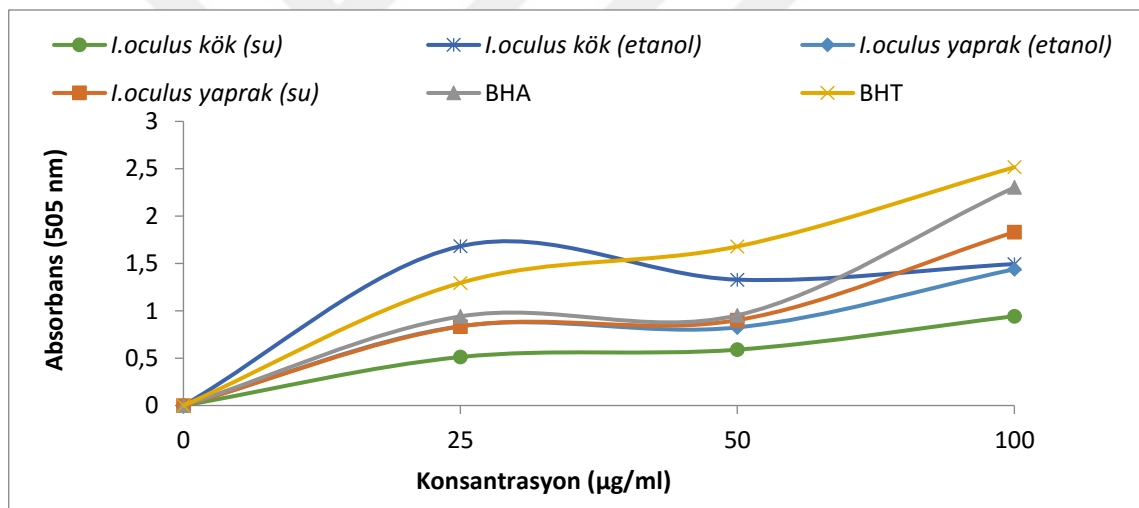
İndirgeme kapasite tayini için sıklıkla kullanılan bu yöntem, test çözeltisinin ortama eklenen antioksidan maddeler ile kompleks oluşturması, çözeltide renk açılması ile orta çıkan ve 700 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçülmesine dayanmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *V.insulare* ve *I. helenium* subsp. *helenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların FRAP yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans Değerleri (700 nm)					
	<i>Verbascum insulare</i>				BHA	BHT
	Yaprak Etanol	Yaprak Su	Kök Etanol	Kök Su		
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	0.614	0.457	0.458	0.258	0.900	0.840
50	1.074	0.551	0.716	0.357	1.039	1.105
100	1.630	0.854	1.060	0.650	1.893	1.550
<i>Inula helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i>						
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	0.356	0.361	0.587	0.442	0.900	0.840
50	0.469	0.561	0.609	0.541	1.039	1.105
100	0.725	0.911	1.202	0.778	1.893	1.550

Çalışmamızda *V. insulare* bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan BHA ve BHT gibi artan ekstrakt konsantrasyonu ile paralel olarak artış göstermekle birlikte 50 µg/ml'deki konsantrasyonun BHT'den ve 100 µg/ml'deki konsantrasyonun ise BHA'dan az miktar olsa bile daha fazla indirgeme kapasitesinin olduğu anlaşılmaktadır.

V. insulare bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının standart antioksidanlar gibi antioksidan özellik sergilediği bulgulardan açık bir şekilde görülmektedir. Diğer taraftan çalışmada analiz edilen *V. insulare* bitkisi yapraklarından elde edilen su ekstraktlarının indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan BHA ve BHT gibi artan ekstrakt konsantrasyonu ile paralel olarak artmakta fakat artış miktarlarının nisbeten az olduğu grafikten anlaşılmaktadır. Bulgular incelendiğinde *V. insulare* etanol ekstraktının BHA ve BHT'ye benzer indirgeme özelliği göstermiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *V. insulare* bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) FRAP yöntemi indirgeme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

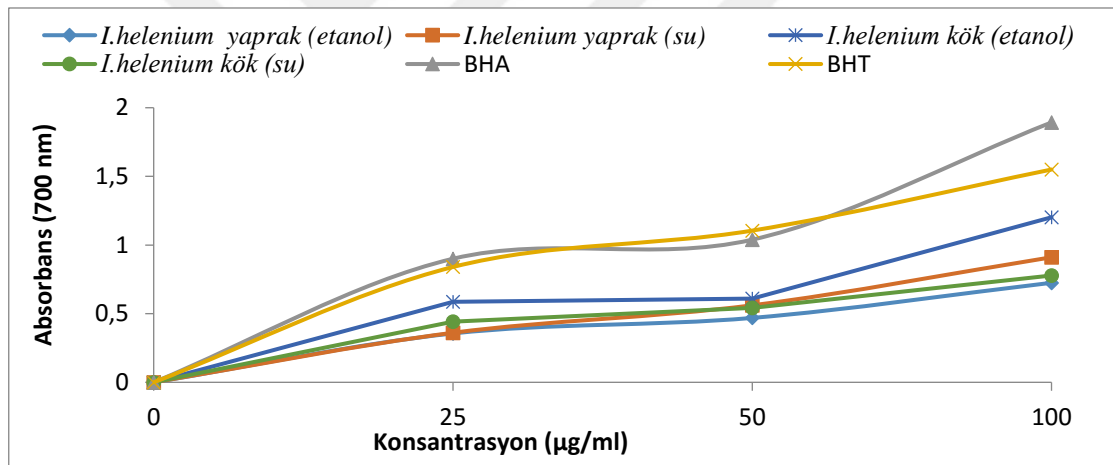
V. insulare bitkisinin köklerinden elde edilen etanol ve su ekstraktlarının indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan BHA ve BHT gibi artan ekstrakt konsantrasyonu ile paralel olarak artmakta fakat artış miktarlarının nisbeten az olduğu anlaşılmaktadır.

V. insulare bitkisi bir bütün olarak değerlendirildiğinde; 100 µg/mL konsantrasyonda indirgeme kapasitelerinin sıralaması; BHA > *V. insulare* yaprak etanol ekstraktı > BHT > *V. insulare* kök etanol ekstraktı > *V. insulare* yaprak su ekstraktı > *V. insulare* kök su ekstraktı şeklindedir.

Verbascum bitkisinin farklı türlerinin metanol ekstraktının saf su ekstraktına göre Fe^{+3} iyonlarını Fe^{+2} 'ye daha iyi indirgediğini ve askorbik asit ve BHT'nin en yüksek aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Mihailovic ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda bitkinin farklı bir türü ve etanol ekstraktı kullanıldığından bu çalışmayla birebir kıyaslamak mümkün görünmemektedir.

Çalışmada analiz edilen *I. helenium* bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ve su ekstraktlarının indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan BHA ve BHT gibi artan ekstrakt konsantrasyonu ile paralel olarak artmakta fakat artış miktarlarının nisbeten az olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı çalışmada analiz edilen *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen etanol ve su ekstraktlarının indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan BHA ve BHT gibi artan ekstrakt konsantrasyonu ile paralel olarak artmakta fakat artış miktarlarının nisbeten az olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *I. helenium* bitkisinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) FRAP yöntemi indirgeme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

I. oculus-christi L. ile yapılan bir çalışmada (Berk ve ark., 2011) standart antioksidanlar olarak BHA ve BHT kullanılmış ve ekstraktların konsantrasyona bağlı olarak indirgeme güçlerinin arttığı ve standartlara göre daha düşük aktivite sergiledikleri rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları ile bu çalışma verileri benzerlik göstermektedir. (Orakcı, 2014) *Inula thapsoides* subsp. *thapsoides* bitkisi üzerine çalışmasının sonuçlarına göre ekstraktların toplam indirgeme gücünün doza bağlı olarak artış sergilediğini tespit etmiştir. Bu durum bizim çalışmamızın sonuçlarıyla da uyumludur.

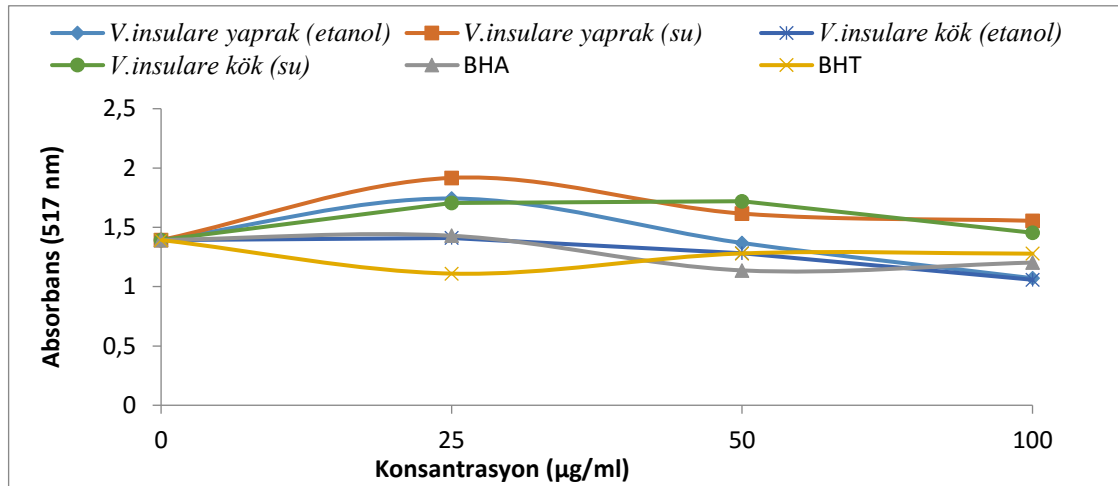
3.1.2. DPPH' radikali giderme kapasite tayini

DPPH radikali uzun ömürlü bir azot radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda renk açılması ve spektrofotometrede 517 nm'de azalan absorbans giderilen DPPH' radikali miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *V.insulare* ve *I. helenium* subsp. *helenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların DPPH radikal giderme yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans Değerleri (517 nm)					
	<i>Verbascum insulare</i>					
	Yaprak Etanol	Yaprak Su	Kök Etanol	Kök Su	BHA	BHT
0	1.393	1.393	1.393	1.393	1.393	1.393
25	1.743	1.917	1.410	1.704	1.429	1.110
50	1.368	1.616	1.282	1.720	1.137	1.280
100	1.071	1.555	1.580	1.455	1.203	1.278
	<i>Inula helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i>					
0	1.393	1.393	1.393	1.393	1.393	1.393
25	1.331	1.361	1.261	1.286	1.429	1.110
50	0.952	1.286	1.191	1.101	1.137	1.280
100	0.653	0.815	1.184	0.959	1.203	1.278

100 µg/mL konsantrasyondaki DPPH' indirgeme kapasiteleri *V. insulare* yaprak etanol ekstraktı > BHA > BHT > *V. insulare* yaprak su ekstraktı > *V. insulare* kök su ekstraktı > *V. insulare* kök etanol ekstraktı şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *V. insulare* bitkisinininden elde edilen ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) DPPH' giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

V. insulare bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının standart antioksidanlar gibi, su ekstraktlarının standart antioksidanlara benzer DPPH[•] radikali giderme aktivitesi sergilediği bulgulardan açık bir şekilde anlaşılmaktadır.

DPPH[•] radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki denkleme göre yapıldı. Burada A_{Numune} DPPH[•] radikal çözeltilisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, A_{Kontrol} ise sadece DPPH[•] radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA ve BHT kullanıldı.

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}}\right) \times 100 \quad (3.1.)$$

V. insulare bitkisinin yaprak ve köklerinden elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanlar 100 µg/ml konsantrasyonda sırasıyla *V. insulare* kök etanol ekstraktı (% 24.04) > *V. insulare* yaprak etanol ekstraktı (% 23.12) > BHA (% 13.64) > BHT (% 8.26) şeklinde DPPH[•] radikali giderme aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

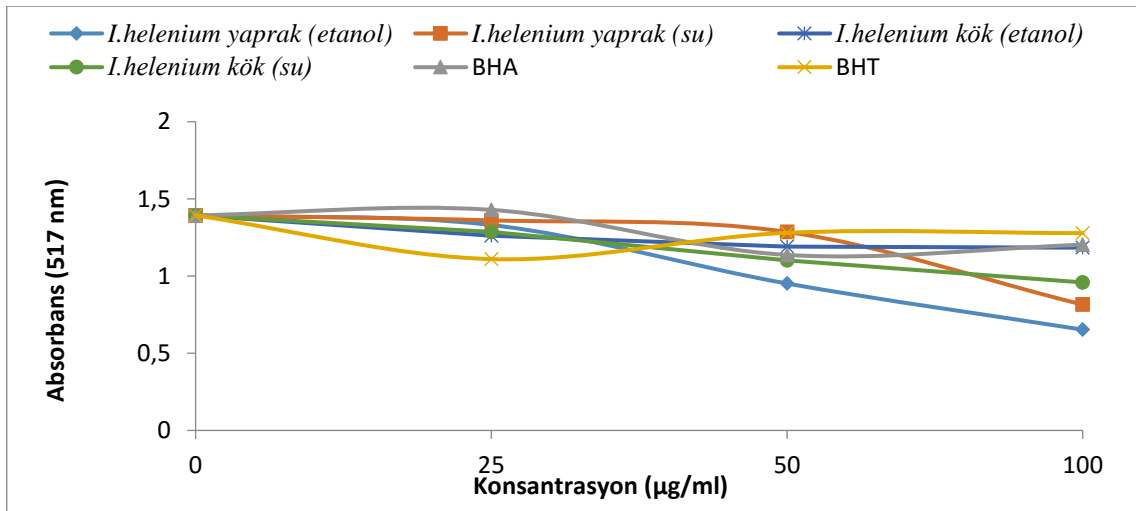
V. insulare yaprak ve kök su ekstraktları için DPPH[•] radikali giderme aktivitesi hesaplanamamıştır.

Sonuç olarak *V. insulare* bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstraktlarının DPPH[•] radikali giderme aktivitesinin standart antioksidan olan BHA ve BHT karşılaştırılmasında elde edilen sonuçların benzer özellikte olduğu standartlardan daha iyi radikal giderme aktivitesi göstermiştir.

(Mihailovic ve ark., 2016) ise *V. thapsus* türünün DPPH radikallerini giderme aktivitesi sonuçlarına bakıldığında metanol ekstraktının su ekstraktına göre oldukça yüksek aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Daha önce yapılan bir çalışmada (Esen, 2008) *Verbascum* bitkisinin farklı türlerinin metanol ekstraktlarının DPPH[•] radikallerini süpürmede standart antioksidanlara göre çok zayıf olduğu rapor edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları ile kıyaslandığında her ne kadar yapılan çalışmalar ile benzerlikler gösterse de farklı ekstraktlar kullanıldığından tam bir kıyas yapmak mümkün değildir.



Şekil 3.4. *I. helenium* bitkisinin elde edilen ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) DPPH' giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

DPPH' radikali ile ilgili hesaplamalar ile *I. helenium* bitkisinin elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanlar 100 µg/ml konsantrasyonda sırasıyla *I. helenium* etanol ekstraktı (% 53.12) > *I. helenium* su ekstraktı (% 41.49) > *I. helenium* su ekstraktı (% 31.15) > *I. helenium* yaprak etanol ekstraktı (% 15.00) > BHA (% 13.64) > BHT (% 8.26) şeklinde DPPH' radikali giderme aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir (Şekil 3.4).

I. helenium bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ve su ekstraktlarının standart antioksidanlar daha güçlü DPPH' radikali giderme aktivitesi sergilediği bulgulardan açık bir şekilde anlaşılmaktadır. Ayrıca *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen etanol ve su ekstraktlarının standart antioksidanlardan daha güçlü DPPH' radikali giderme aktivitesi sergilediği bulgulardan açık bir şekilde anlaşılmaktadır.

(Berk ve ark., 2011) yaptığı çalışmada *I. oculus-christi* L. bitkisinin su ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi sonuçlarına göre konsantrasyona bağlı olarak ekstraktların aktivitesi giderek artmıştır.

(Petkova ve ark., 2015) *Inula helenium* L. bitkisinin DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarına göre saf su ekstraktı etanole göre daha iyi aktivite göstermiştir.

(Silinsin, 2016) *I. graveolens* L. bitkisinin. DPPH' süpürme aktivitesinin % 50'ye yakın oranda serbest radikal gideren doğal antioksidan olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın sonuçları ile yapılan çalışmalar kıyasladığımızda benzerlikler gösterse de farklı ekstraktlar kullanıldığından ve farklı bitki türleri ile çalışıldığından tam bir kıyas yapmak mümkün değildir.

3.1.3. ABTS⁺ giderme aktivitesi

ABTS radikali DPPH gibi antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemle yapılan çalışmalarda renk açılması ve spektrofotometrede 734 nm’de azalan absorbans giderilen ABTS radikali miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir (Çizelge 3.3).

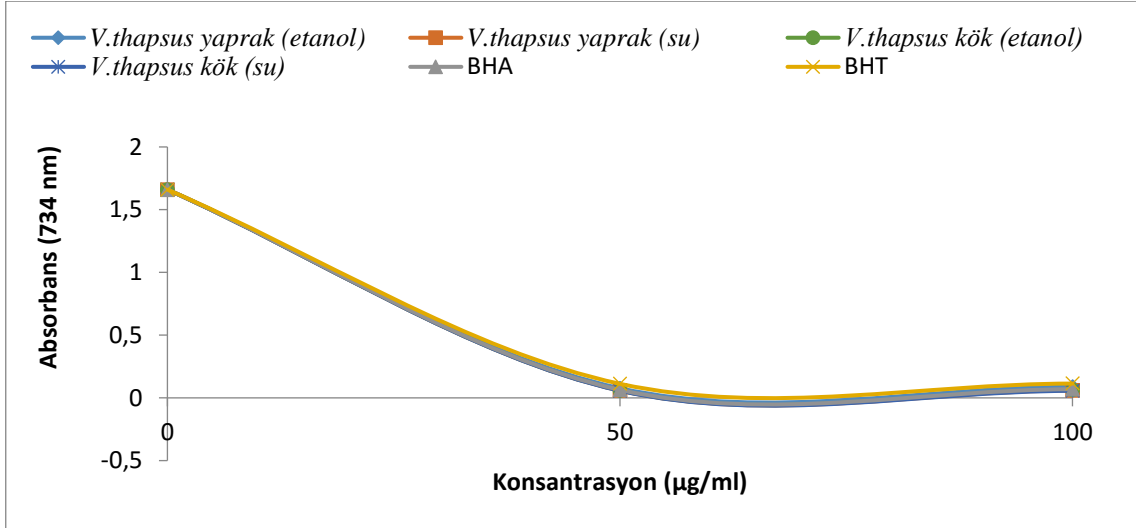
ABTS⁺ radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki denkleme göre yapıldı. Burada A_{Numune} ABTS⁺ radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, A_{Kontrol} ise sadece ABTS⁺ radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA ve BHT kullanıldı.

$$\text{ABTS giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}}\right) \times 100 \quad (3.2.)$$

Çizelge 3.3. *V.insulare* ve *I. helenium* subsp. *helenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların ABTS radikal giderme yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.

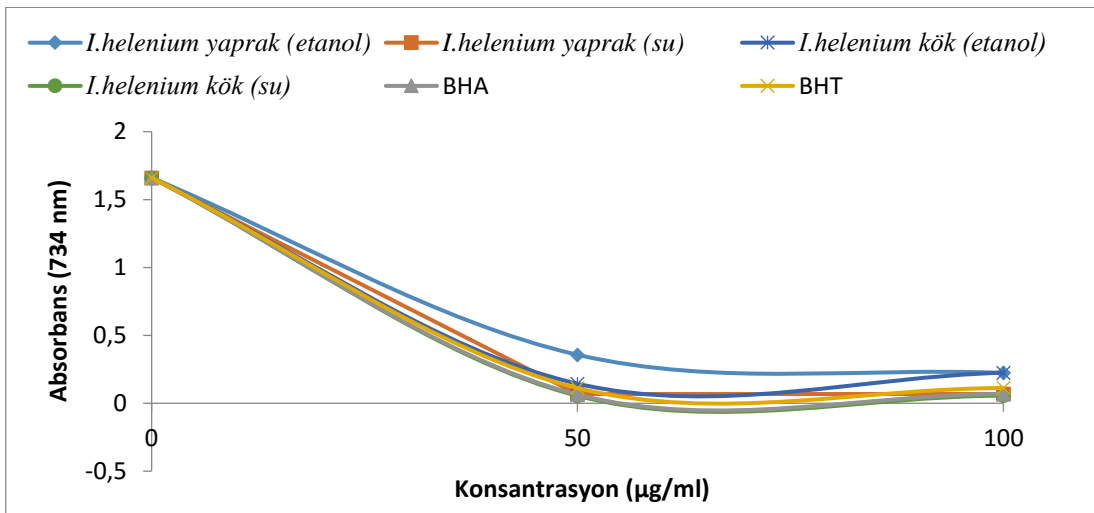
Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans Değerleri (734 nm)					
	<i>Verbascum insulare</i>					
	Yaprak Etanol	Yaprak Su	Kök Etanol	Kök Su	BHA	BHT
0	1.660	1.660	1.660	1.660	1.660	1.660
50	0.077	0.058	0.060	0.057	0.064	0.112
100	0.089	0.059	0.064	0.056	0.069	0.114
	<i>Inula helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i>					
0	1.660	1.660	1.660	1.660	1.660	1.660
50	0.357	0.068	0.144	0.055	0.064	0.112
100	0.223	0.068	0.225	0.056	0.069	0.112

Yaptığımız çalışmada *V. insulare* bitkisinden elde edilen tüm ekstraktlarımızın ABTS⁺ radikal temizleme kapasitesi çok yüksek ve standartlara yakın bir özellikte karşımıza çıkmaktadır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *V. insulare* bitkisinin elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (50-100 µg/ml) ABTS•+ giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırılması

V. flavidum' dan hazırlanan petrol eteri, aseton, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ABTS^{•+} radikal süpürme yöntemine göre araştırmış. ABTS^{•+} radikal süpürme deneyinde ise metanol ve su ekstraktlarının (100 µg/mL konsantrasyonda % 86.01 ve % 87.39 inhibisyon) standartlara yakın sonuçlar elde etmiştir (Civelek, 2018). Çalışmamızın sonuçları ile kıyaslandığında her ne kadar bu çalışma ile benzerlikler gösterse de farklı metanol kullanıldığından metanol ile etanol ekstraktları için tam bir kıyas yapmak mümkün değildir. Saf su ekstraktlarının kıyasında ise çalışmamızda % 96'ya yakın inhibisyon saptanmışına rağmen farklı bitkiler ile çalışıldığından birebir kıyaslama yapmak mümkün görünmemektedir.



Şekil 3.6. *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (50-100 µg/ml) ABTS•+ giderme aktivitelerinin BHA ve BHT ile karşılaştırılması

Çalışma bulguları incelendiğinde *I. helenium* yaprak etanol ekstraktının diğer örneklerle kıyasla bir miktar düşük bir ABTS^{•+} radikal temizleme kapasitesi gösterebilmekle birlikte, *I. helenium* bitkisinden elde edilen ekstraktlarımızın ABTS^{•+} radikal temizleme kapasitesi çok yüksek ve standartlara çok yakın olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 3.6).

(Petkova ve ark. 2015) yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre *Inula helenium* L. bitkisinin saf su ekstraktlarının ABTS radikal giderme aktivitesi etanol ekstraktının aktivitesine göre daha yüksek bulunmuş, ayrıca ekstraktların aktivitesinin doza bağlı olarak yükseldiği rapor edilmiştir.

Inula cinsinin farklı bir türüne ait yapılan bir tez çalışmasında (Karacaoğlu, 2014) bitkinin yaprak, kök ve çiçek kısımlarının metanol ekstraktı çalışılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre kök metanol ABTS giderme aktivitesi yaprak metanol aktivitesine göre daha yüksek bulunmuştur.

Çalışma sonuçlarının çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermemesinin nedeninin farklı tür ve çözücülerden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

3.1.4. Cuprac yöntemine göre indirgeme kuvveti tayini

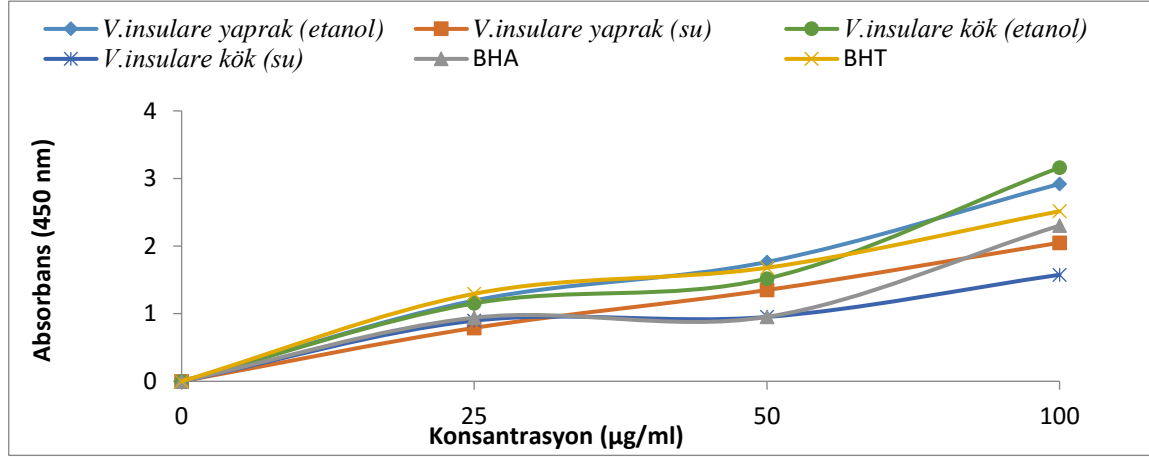
Bu yöntem ortamda bulunan neokuprinin antioksidan maddeler ile reaksiyonu sunucunda oluşan kuprik iyonlarının (Cu^{2+}) artan absorbanası, renk açılması ve 450 nm'de spektrofotometrede yapılan ölçümler ile indirgeme kapasitesini göstermektedir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *V.insulare* ve *I. helenium* subsp. *helenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların CUPRAC yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Verbascum insulare</i> Absorbans Değerleri (450 nm)					
	Yaprak Etanol	Yaprak Su	Kök Etanol	Kök Su	BHA	BHT
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	1.195	0.790	1.153	0.897	0.941	1.295
50	1.766	1.350	1.520	0.952	0.953	1.680
100	2.920	2.050	3.162	1.576	2.303	2.516
	<i>Inula helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i>					
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	0.837	0.835	1.682	0.512	0.941	1.295
50	0.825	0.902	1.329	0.590	0.953	1.680
100	1.439	1.831	1.494	0.943	2.303	2.516

100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda kuprik iyonlarını (Cu^{2+}), kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitelerinin sıralaması; *V. insulare* kök etanol ekstraktı > *V. insulare* yaprak

etanol ekstraktı > BHT > BHA > V. insulare yaprak su ekstraktı > V. insulare kök su ekstraktı şeklindedir (Şekil 3.7).



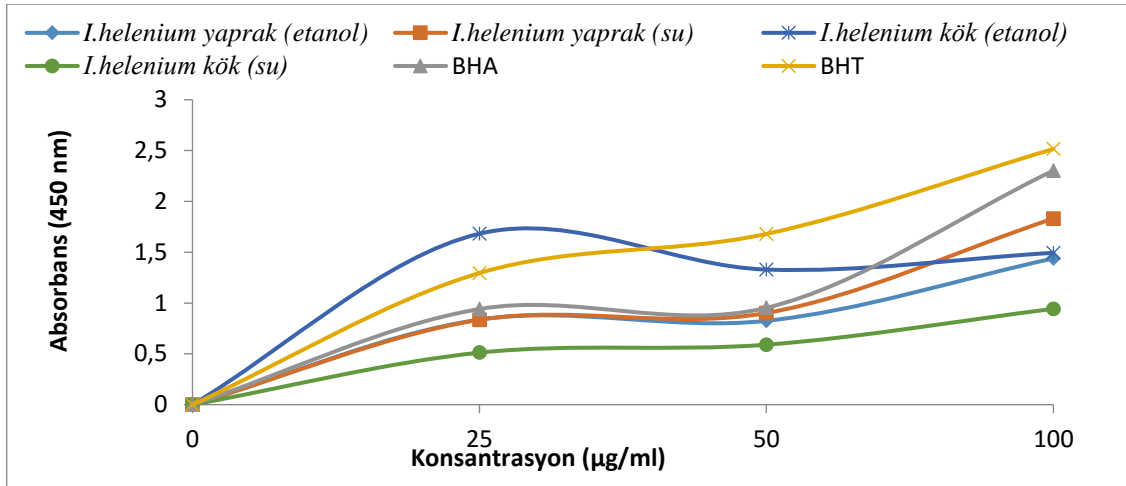
Şekil 3.7. V. insulare bitkisinininden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) Cuprac yöntemi indirgeme kuvvetlerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

V. insulare etanol ekstraktlarının, V. insulare su ekstraktlarına ve ayrıca standart antioksidanlar BHA ve BHT'ye göre daha yüksek indirgeme kapasitesi sergilemiştir.

(Danahaliloğlu, 2014) sonuçlarına göre BHA ve BHT ekstraktlara göre çok yüksek bakır iyonlarını indirgeme aktivitesi gösterirken ekstraktlar da konsantrasyona bağlı olarak artan anlamlı aktiviteler sergilemişlerdir. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olan *Verbascum* türü çalışıldığından ve kullanılan çözücü farklı olduğundan sonuçların farklı olduğunu söyleyebiliriz.

Yaptığımız çalışmada 25-50 µg/ml konsantrasyonlarında *I. helenium* etanol ve su ekstraktı standart antioksidanlar BHA ve BHT'ye benzer kuprik iyonlarını (Cu^{2+}), kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitesi sergilemiştir.

I. helenium su ekstraktı, etanol ekstraktına ve ayrıca standart antioksidanlar BHA ve BHT'ye göre daha düşük indirgeme kapasitesi göstermekle birlikte benzer özellik sergilemiştir. *I. helenium* kök etanol ekstraktı 25 µg/ml konsantrasyonda standart antioksidanlar BHA ve BHT'den daha iyi indirgeme kapasitesi gösterirken, 50 µg/ml konsantrasyonda BHA ile BHT arasında bir indirgeme kapasitesi göstermiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. *I. helenium* bitkisinininden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlardaki (25-100 µg/ml) Cuprac yöntemi indirgeme kuvvetlerinin BHA ve BHT ile karşılaştırması

100 µg/ml konsantrasyonda kuprik iyonlarını (Cu^{2+}), kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitelerinin sıralaması BHT > BHA > *I. helenium* yaprak su ekstraktı > *I. helenium* kök etanol ekstraktı > *I. helenium* yaprak etanol > *I. helenium* kök su ekstraktı şeklindedir.

(Petkova ve ark. 2015) *Inula helenium* L. bitkisinin çalışma sonuçlarına göre saf su ekstraktının etanol ekstraktına göre daha iyi aktivite gösterdiği ayrıca konsantrasyona bağlı olarak ekstraktların indirgeme gücünün arttığı belirtilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında bu çalışma sonuçlarıyla benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

3.1.5. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini

Bu yöntemde linolenik asit, Tween-20 ve fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyon çözeltisinde bulunan doymamış bir yağ asidi olan linolenik asidin oda sıcaklığında inkübasyonunda oluşan lipid peroksidin miktarının spektrofotometre ile 500 nm'de elde edilen ölçümüne dayanmaktadır. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. *V.insulare* ve *I. helenium* subsp. *helenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre total antioksidan aktivite tayini yöntemine spektrometre ile ölçüm değerleri.

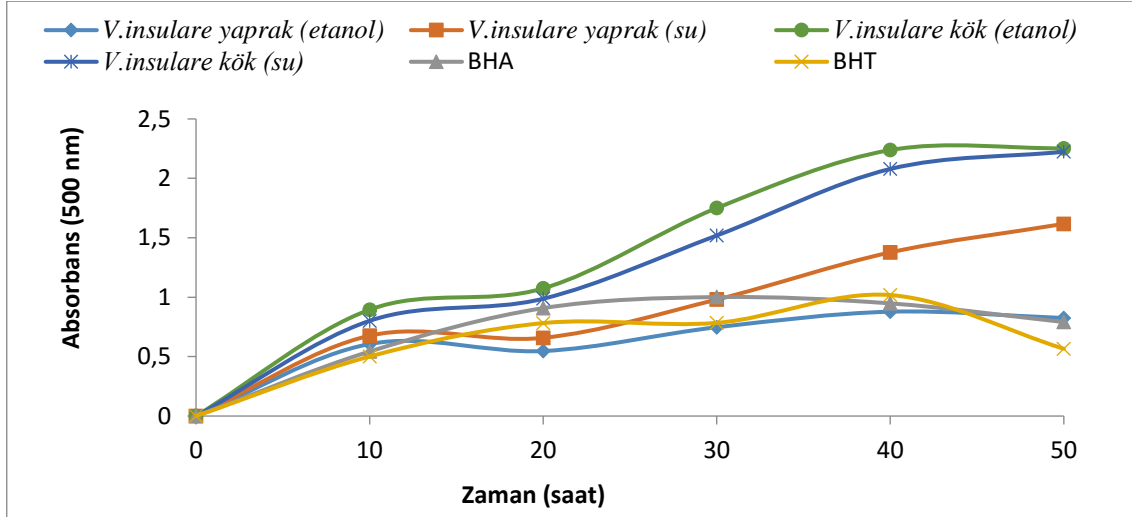
Zaman (Saat)	<i>Verbascum insulare</i>					
	Absorbans Değerleri (500)					
	Yaprak Etanol	Yaprak Su	Kök Etanol	Kök Su	BHA	BHT
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
10	0.606	0.676	0.895	0.801	0.543	0.501
20	0.547	0.658	1.074	0.987	0.908	0.782
30	0.747	0.980	1.750	1.519	1.001	0.784
40	0.878	1.377	2.238	2.079	0.948	1.018
50	0.825	1.617	2.253	2.224	0.791	0.566
<i>Inula helenium</i> subsp. <i>pseudohelenium</i>						
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
10	0.610	0.759	0.618	0.668	0.543	0.501
20	0.612	0.846	1.010	1.418	0.908	0.782
30	0.895	1.611	1.264	1.796	1.001	0.784
40	0.982	1.806	1.495	1.880	0.948	1.018
50	0.880	1.938	1.122	2.061	0.791	0.566

Kullanılan standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunu inhibe etme yüzdeleri, kontrol değerinin maksimumuna ulaştığı inkübasyon süresi olan kırkıncı saat temel alınarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{Lipid peroksidasyon inhibisyonu (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}}\right) \times 100 \quad (3.3.)$$

Burada A_{Numune} farklı konsantrasyonlardaki ekstrakt değerlerinin maksimumuna ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değeri, A_{Kontrol} ise kontrol değerinin maksimumuna ulaştığı inkübasyon anındaki absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA ve BHT kullanıldı.

Çalışma bulgularından da anlaşıldığı gibi *V. insulare* bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanların toplam antioksidan aktivite tayini sıralaması; *V. insulare* yaprak etanol (% 66.68) > BHA (% 64.02) > BHT (% 61.37) > *V. insulare* yaprak su (% 47.74) > *V. insulare* kök su (% 21.10) > *V. insulare* kök etanol ekstraktı (% 15.06) şeklindedir (Şekil 3.9).

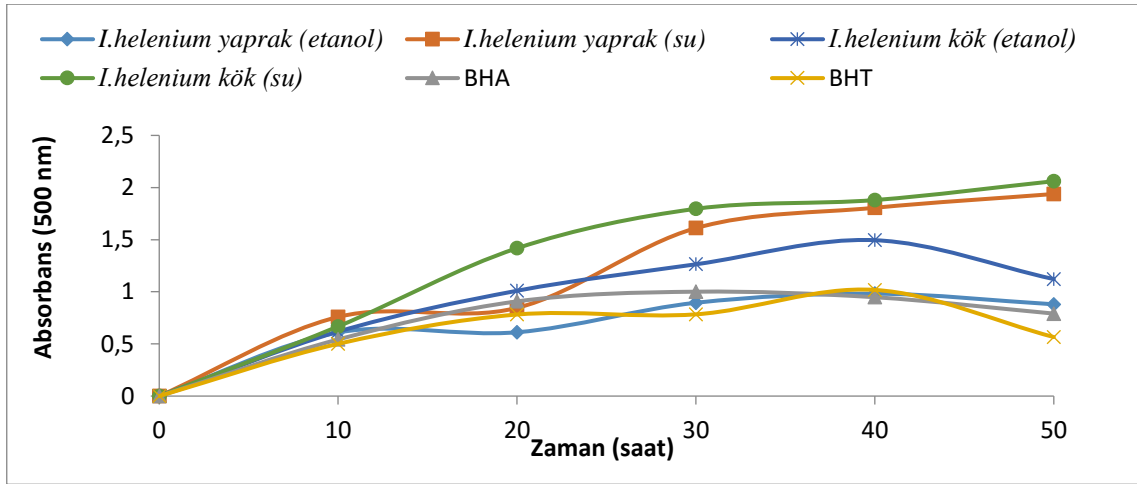


Şekil 3.9. *V. insulare* bitkisi yaprağının Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre toplam antioksidan aktivite tayini

V. insulare bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanlar BHA ve BHT'nin linoleik asit emülsiyonu peroksidasyonunu sırasıyla; *V. insulare* yaprak etanol ekstraktı % 66.68, *V. insulare* yaprak su ekstraktı % 47.74, *V. insulare* kök su ekstraktı % 21.10, *V. insulare* kök etanol ekstraktı % 15.06, olacak şekilde inhibe ederken aynı konsantrasyonda BHA ve BHT linoleik asit peroksidasyonunu sırasıyla BHA % 64.02 ve BHT % 61.37 olacak şekilde inhibe ettikleri gözlenmiştir.

(Danahaliloğlu, 2014) Hatay bölgesinde yetişen *Verbascum* bitkisinin farklı türleriyle (*V. antiochium*, *V. caesareum*, *V. gaillardotii*, *V. galilaeum*, *V. pinetorum*, *V. sinuatum* ve *V. tripolitanum*) yapılan bir çalışmada bitkilerin metanol ekstraktı çalışılmış ve standart antioksidanlar olan BHT ve BHA ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre BHA ve BHT çok yüksek lipit peroksidasyonlarını inhibe etme aktivitesi gösterirken ekstraktlar da standartlara yakın performans sergilemişlerdir. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olan *Verbascum* türü çalışıldığından ve kullanılan çözücü farklı olduğundan sonuçların farklı olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışma bulguları incelendiğinde *I. helenium* bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanların toplam antioksidan aktivite tayini sıralaması; BHA (% 64.02) > *I. helenium* yaprak etanol ekstraktı (% 62.73) > BHT (% 61.37) > *I. helenium* kök etanol ekstraktı (% 43.26) > *I. helenium* yaprak su ekstraktı (% 31.46) > *I. helenium* kök su ekstraktı (% 28.65) şeklindedir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre *I. helenium* bitkisi toplam antioksidan aktivite tayini

I. helenium bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstraktları ile standart antioksidanlar BHA ve BHT'nin linoleik asit emülsiyonu peroksidasyonunu sırasıyla; *I. helenium* yaprak etanol ekstraktı % 62.73, *I. helenium* yaprak su ekstraktı % 31.46, *I. helenium* kök etanol ekstraktı % 43.26 ve *I. helenium* kök su ekstraktı % 28.65 olacak şekilde inhibe ederken, aynı konsantrasyonda BHA ve BHT linoleik asit peroksidasyonunu sırasıyla BHA % 64.02 ve BHT % 61.37 olacak şekilde inhibe ettikleri gözlenmiştir.

(Berk ve ark., 2011) *I. oculus-christi* L. ile yapılan çalışmada standart antioksidanlar olarak BHA ve BHT kullanmış ve ekstraktların konsantrasyona bağlı olarak indirgeme güçlerinin arttığı ve standartlara göre daha düşük aktivite sergilediklerini rapor etmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları ile bu çalışma verileri benzerlik göstermektedir.

(Orakçı, 2014) *Inula thapsoides* subsp. *thapsoides* bitkisi üzerine yaptığı çalışmasının sonuçlarına göre ekstraktların toplam indirgeme gücünün doza bağlı olarak artış sergilediğini tespit etmiştir. Bu durum bizim çalışmamızın sonuçlarıyla da uyumludur.

3.2. Antimikrobiyal aktivite

İnsan sağlığına zarar veren birçok mikroorganizmaya karşı yanlış ve yetersiz antimikrobiyal madde kullanımı sebebiyle mikroorganizmalar bu ilaçlara karşı direnç göstermektedir. Son yıllarda doğal kaynaklı ilaçlarda görülmeyen veya çok az olan yan etkilerin sentetik ilaçlarda dikkati çekecek oranda fazla olması ile insanlar tekrar bitkilerle tedaviye yöneltmiş ve bitkilerin yapısında bulunan yeni maddelerin ortaya çıkarılmasına

ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda *V. insulare* ve *I. helenium* bitkilerinin yaprak ve köklerinden elde edilen su ile etanol ekstraktlarının agar kuyucuk yöntemi in vitro antimikrobiyal aktivitelerinin Gram (+), Gram (-) bakterilere ve Funguslar'a karşı gösterdiği etkiler araştırılmıştır. Araştırma sonucu elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda aşağıdaki çizelgeler oluşturulmuştur (Çizelge 3.6, 3.7, 3.8,3.9 ve 3.10).

Çizelge 3.6. *V. insulare* yaprağından elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	Etanol (DMSO 10mg/ml)					Saf Su- (DMSO 10mg/ml)				
	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	-*	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>B. megaterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>K. pneumonia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	12±0.6	-	12±1.5	19±4.2	25±3.0	-	-	15±1.0	17±1.0
	<i>C. albicans</i>	14±0.6	17±0.6	19±1.0	22±0.6	24±0.6	-	-	16±2.1	11±0.0
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	17±0.6

*: inhibisyon zonu yok, 1: 6 mm kuyucuk çapı ile birlikte.

Çalışma bulguları incelendiğinde *V. insulare* yaprak etanol ekstraktı, birer fungus olan *C. albicans* ve *Y. lipolytica*'ya karşı çok güçlü antifungal aktivite gösterirken, bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyel etkinlik göstermemiştir. Ayrıca *V. insulare* yaprak etanol ekstraktının 40 ve 80 µl'deki konsantrasyonlarında güçlü antifungal özellik gösterdiği görülmektedir. *V. insulare* yaprak saf su ekstraktının, *C. albicans* ve *Y. lipolytica*'ya karşı 40 -80 µl'de zayıf antifungal aktivite gösterirken, *S. cerevisiae*'ye karşı 80 µl'de etanol ekstraktından farklı olarak antifungal özellik göstermiştir. Ayrıca *V. insulare* yaprak saf su ekstraktının bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyel etkinliği gözlenmemiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.7. *V. insulare* köklerinden elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	Etanol (DMSO 10mg/ml)					Saf su (DMSO 10mg/ml)				
	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	.*	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>B. megaterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>K. pneumonia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	12±0.0	16±0.0	17±2.3	19±4.2	24±2.0	-	-	-	16±2.1 20±0.6
	<i>C. albicans</i>	12±0.0	16±0.0	17±1.7	16±4.7	18±5.9	-	-	15±1.5	17±1.0 18±0.6
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	11±0.0	11±0.6	-	-	-	-

*: inhibisyon zonu yok, 1: 6 mm kuyucuk çapı ile birlikte.

V. insulare kök etanol ekstraktının *C. albicans* ve *Y. lipolytica*'ya güçlü ve *S.cerevisiae*'ye karşı zayıf antifungal etki gösterdiği görülmektedir. *V. insulare* kök saf su ekstraktı, funguslara karşı orta düzeyde bir antifungal aktivite göstermiştir. Diğer taraftan *V. insulare*'nin bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal etkinlik göstermediği gözlemlenmiştir. *V. insulare* bitkisi bir bütün olarak ele alındığında yaprak etanol ekstraktlarında *C.albicans* ve *Y. lipolitica*'ya karşı güçlü bir aktivite var iken, *S.cerevisiae*'ye karşı herhangi bir aktivite olmadığı, kök etanol ekstraktlarında ise antifungal aktivite gözlemlenmiştir. Kök etanol ve saf su ekstraktlarında ise bütün funguslara karşı aktivitenin olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 3.7).

V. sinaiticum ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite test sonuçları incelendiğinde *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin kadar aktivite göstermiştir (Taged ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda ekstraktlarımız *Y. lipolytica*, *C. albicans*'a karşı Fluconazole kadar aktivite göstermiştir.

Antimikrobiyal aktivite ile ilgili yapılan çalışmalarda; *Verbascum* cinsine ait bitkilerden elde edilen ekstraktların *S. aureus* ve *C. albicans* başta olmak üzere *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*' a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Etil asetat ekstraktının en fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Şen, 2001).

V. undulatum'un köklerinden elde edilen ekstraktlara en duyarlı olan bakteriler, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *Salmonella enteritidis* olarak tespit etmişlerdir (Magiatis ve ark., 2001). *Verbascum* cinsine ait bitkinin topraküstü kısmından diklorometan ekstraktının bakterilerden *E. coli*, *S. aureus* ve *E. faecalis* üzerine etkili olduğu, *P. aeruginosa* ve *B. subtilis*'e etkisiz olduğu belirlenmiştir (Özbilgin, 2006). Bitkilerin metanol ekstraktı su ekstraktına oranla mikroorganizmalara karşı daha etkilidir. *V. thapsus*'un çiçeklerinden hazırlanan yağın *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* antibakteriyal aktivite gösterdiğini ve su ekstraktının ise *S. aureus*'a karşı antibakteriyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Türker ve ark., 2002). *V. gypsicola* bitkisinden hazırlanan ekstraktın *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyal aktivite göstermezken, *S. aureus* karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Dülger ve Gönüz, 2004). Bizim çalışmamızda ekstraktlarımızın *Y. lipolytica*, *S. cerevisiae* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Yaptığımız çalışmada ekstraktlarımızın *Y. lipolytica*, *S. cerevisiae* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *V. insulare* bitkisinin kök ve yapraktan elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarında hiçbir antibakteriyal tespit edilmemiş iken, etanol ekstraktlarında kuvvetli ve su ekstraktlarında ise orta düzeyin üzerinde antifungal aktivitenin olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.8. *I. helenium* yapraklarından elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	Etanol (DMSO 10mg/ml)					Saf su (DMSO 10mg/ml)					
	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	15±1.0	19±1.5	21±1.0	21±1.0	26±2.1	*	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	17±1.2	19±2.1	21±1.7	22±3.5	25±2.3	-	-	-	-	-
	<i>B. megaterium</i>	16±0.6	19±1.5	21±1.2	20±0.0	20±0.6	-	-	-	-	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	11±0.0	15±1.0	19±1.7	20±0.0	20±0.6	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	14±1.0	17±2.0	20±0.6	21±1.0	23±2.3	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	11±0.0	15±2.5	20±0.0	22±2.0	24±0.0	-	-	-	-	-
	<i>K. pneumonia</i>	15±4.5	17±3.5	19±2.3	22±3.5	22±4.0	-	-	-	-	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	19±2.1	23±2.7	25±1.7	28±0.6	30±2.0	-	-	15±2.3	19±2.3	25±0.6
	<i>C. albicans</i>	16±1.2	20±1.5	21±1.0	25±1.5	28±1.0	-	-	14±2.1	20±2.5	25±1.0
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	11±0.0	15±3.5	-	-	-	-	15±0.0

*: inhibisyon zonu yok, 1: 6 mm kuyucuk çapı ile birlikte.

I. helenium yaprak etanol ekstraktı (30 ± 2.0 mm) *Y. lipolytica*'ya karşı en yüksek aktiviteyi gösterirken, *S. cerevisiae*'ye (15 ± 3.5 mm) karşı en az aktivite göstermiştir. *I. helenium* saf su ekstraktı (25 ± 1.0 mm) *C. albicans*'a karşı en yüksek aktiviteyi gösterirken, *S. cerevisiae*'ye (15 ± 0.0 mm) karşı en düşük aktiviteyi göstermiştir. Saf su ekstraktlarının bakterilere karşı herhangi bir aktivitesi gözlenmemiştir (Çizelge 3.8).

I. helenium yaprak etanol ekstraktının geniş spektruma sahip antimikrobiyal özellik gösteren maddelerden daha güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve yaprak saf su ekstraktının, funguslara karşı güçlü bir antifungal aktivite gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 3.9. *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	Etanol (DMSO 10mg/ml)					Saf su (DMSO 10mg/ml)					
	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	5 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	11±0.0	12±0.6	18±1.5	16±0.0	18±1.2	.*	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	11±0.6	14±1.5	16±1	18±1.7	20±1.5	-	-	-	-	-
	<i>B. megaterium</i>	13±1.2	14±0.0	15±0	21±1.2	19±1.2	-	-	-	-	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	11±0.6	12±0.6	13±1.5	14±0.6	16±2.1	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	11±0.0	13±0.6	15±1.2	16±2.1	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	13±0.0	13±1.0	16±1.2	18±1.0	19±1.0	-	-	-	-	-
	<i>K. pneumonia</i>	11±0.0	11±0.0	17±3.0	17±1.2	18±1.7	-	-	-	-	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	17±1.2	19±1.2	20±0.0	22±0.0	29±1.2	-	-	-	12±1.7	16±1.2
	<i>C. albicans</i>	18±2.1	20±0.0	21±0.6	22±0.0	26±1.5	-	-	-	12±0.0	14±0.0
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	11±0.6	14±0.6	-	-	-	-	14 ¹ ±1.7

*: inhibisyon zonu yok, 1: 6 mm kuyucuk çapı ile birlikte.

I. helenium kök etanol ekstraktının bütün mikroorganizmalara karşı çok güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Çizelge 3.9). Etanol ekstraktı (29 ± 1.2 mm) *Y. lipolytica*'ya karşı en yüksek aktiviteyi gösterirken, *S. cerevisiae*'ye (14 ± 0.6 mm) karşı en düşük aktiviteyi göstermiştir. *I. helenium* kök etanol ekstraktını standart antibiyotikler ile karşılaştırdığımızda (Çizelge 3.10) Eritromisin antibiyotiğinin *B.s megaterium* ve *E. aerogenes* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisinden nispeten daha az antimikrobiyal etki göstermiştir.

I. helenium kök etanol ekstraktının geniş spektrum özelliğine sahip antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu görmekteyiz. *I. helenium* kök saf su ekstraktı, funguslara karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermedi. *I. helenium* saf su ekstraktları güçlü antifungal etki gösterirken, *I. helenium* etanol ekstraktlarının ise çok güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmektedir. Sonuç olarak, *I. helenium* yaprak ve köklerinden elde edilen ekstraktlarının benzer özellikte antimikrobiyal özellik gösterdikleri karşımıza çıkmaktadır.

I. graveolens' in topraküstü kısımları antibakteriyal etkinlikleri test edilmiş. Bunun sonucunda; *S. epidermidis* ve *B. subtilis*' e karşı zayıf aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bitki ekstraktının *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve *Enterococcus* hücre kültürlerine karşı aktivite göstermediği belirtilmiştir (Topçu ve ark., 1993).

(Özhan, 2012) *I. viscosa*, *I. helenium* subsp. *turcoracemosa*, *I. peacockiana*, *I. montbretiana* ve *I. thapsoides* subsp. *thapsoides* bitkilerinin çiçek, yaprak ve köklerinin su, metanol ve etil asetat ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktları ile yapmış olduğu çalışmada; *Inula* türlerinden elde edilen ekstraktların büyük çoğunluğunun, incelenen mikroorganizmalara karşı önemli derecede etki gösterdiği belirlemiştir. Tüm ekstraktların mayalara karşı kuvvetli antifungal etkiye sahip olduğu saptamıştır.

(Çınar, 2012) yaptığı çalışmada Gram (-) bakteriler arasında *I. helenium* subsp. *turcarasemosa*'nın metanol, etanol, etil asetat ve su ekstraktlarının bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu, *I. helenium* subsp. *vanensis*'in metanol, etil asetat ve su ekstraktlarının bakterilere karşı aktivitesi olduğunu, *I. helenium* subsp. *orygalis*'in metanol, etanol ve etil asetatlı ekstratlarının bakterilere karşı aktivitesi olduğunu, etil asetatlı ekstraktların antimikrobiyal aktivitesini olduğunu tespit etmiştir.

Çalışılan bitkilerin ve kullanılan çözücülerin farklı olması yapılan çalışmalar arasında birebir kıyaslama yapmamız mümkün görünmektedir.

Bizim çalışmamızda ise yaprak ve kökten elde edilen etanol ekstraktlarının çok güçlü antimikrobiyal aktivitesi ve su ekstraktlarının ise çok güçlü antifungal aktivitesi tespit edildi. Bu durum çözücülerin bitki içeriğini çözme yeteneklerinin farklı olması ve sonucunda bitki bünyesinde bulunan fenolik içeriklerinin miktarlarının farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çizelge 3.10. Antibiyotik disklerinin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	Antibiyotikler					
	Eritromisin	Ampicillin/ sulbactam	Amikasin	Rifampisin	Fluconazole	
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	20±0.00	14±1.15	11±1.00	21±0.00	-
	<i>S. aureus</i>	21±1.00	10±0.00	9±0.00	18±1.15	-
	<i>B. megaterium</i>	25±0.00	-	10±1.00	16±0.00	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	27±1.00	10±1.00	9±0.00	16±1.00	-
	<i>E. coli</i>	19±1.52	13±0.00	13±0.00	18±0.00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	19±0.00	-	14±1.15	8±0.00	-
	<i>K. pneumonia</i>	19±1.73	16±0.57	10±0.00	19±1.73	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	-*	-	-	-	21±0.00
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	23±1.52
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-

*:İnhibisyon zonu yok, 8 mm disk çapı ile birlikte.

Kontrol amaçlı olarak kullandığımız standart antibiyotikler (Çizelge 3.10) ile ekstraktlarımızı karşılaştırdığımızda; *V.insulare* bitkisine ait yaprak etanol ekstraktlarımızın flukonazole'den daha güçlü antifungal aktivite gösterirken, kök etanol ekstraktlarımız ise flukonazole'ye benzer özellikte antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Saf su yaprak ve kök ekstraktlarımızın flukonazole'ye benzer özellikte ve nispeten daha az aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. *V.insulare* saf su ekstraktlarımızın antibakteriyal aktivitesi ise gözlenmemiştir. *I. helenium* bitkisine ait yaprak ve kök etanol ekstraktlarımızın flukonazole'den daha güçlü antifungal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Saf su yaprak ekstraktlarımızın flukonazole'den daha güçlü antifungal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Saf su kök ekstraktlarımızın ise flukonazole'ye benzer özellikte ve nispeten daha az aktivite gösterdikleri ve antibakteriyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. *I. helenium* yaprak ve kök etanol ekstraktlarımızın Eritromisin antibiyotiğinden bir miktar daha düşük antibakteriyel aktivitesi olmasına rağmen Ampicillin/ sulbactam, Amikasin, Rifampisin antibiyotiklerinden daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Bitki ekstraktlarımızın antimikrobiyal özellikleri sonucunda mikroplara karşı kültür ortamındaki inhibisyon zonlarına ait petri görüntüleri aşağıdaki gibidir (Şekil 3.11-12-13-14).



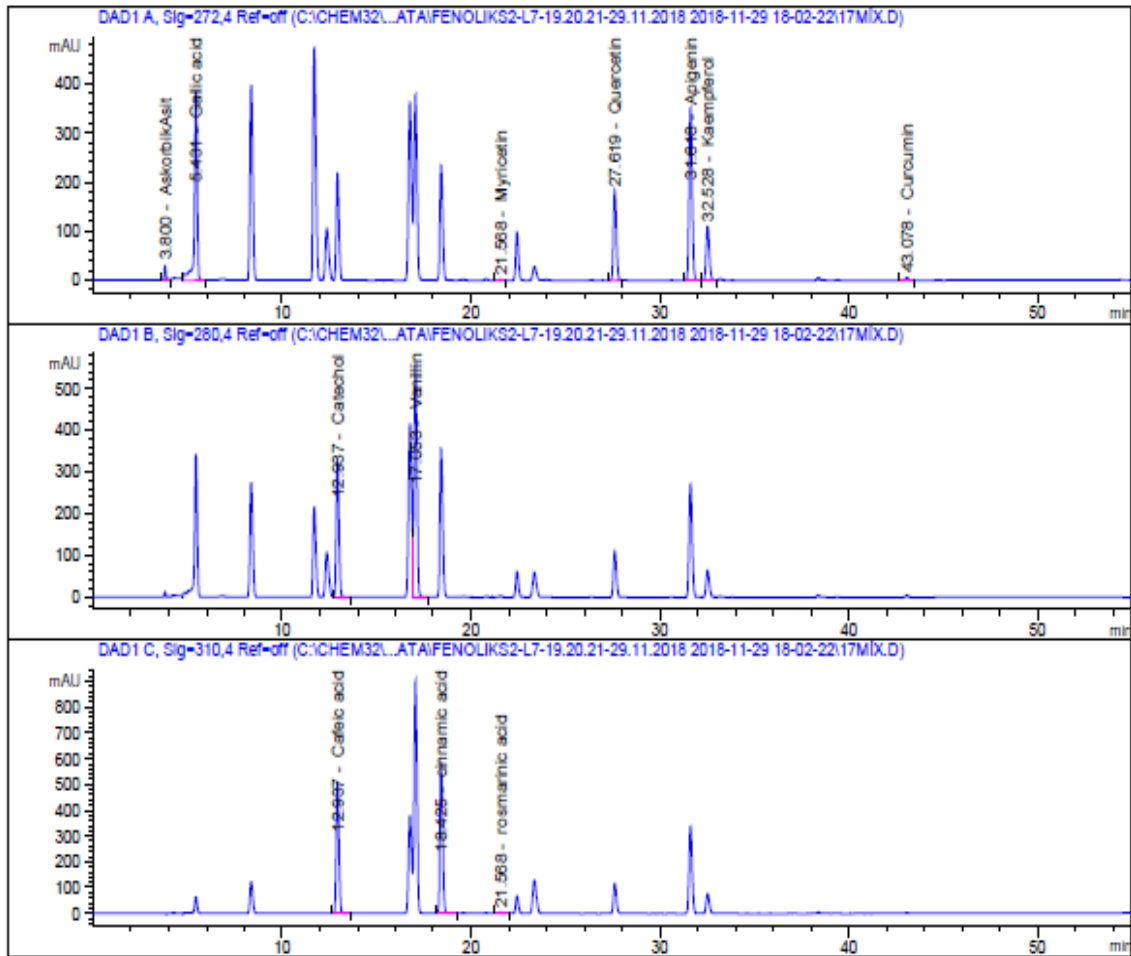
Şekil 3.11. *I. helenium* kök etanol ekstraktının *Escherichia coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon görüntüsü



Şekil 3.12. *I. helenium* yapra etanol ekstraktının *Candida albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zon görüntüsü

3.3. Fenolik Çalışma Bulguları

HPLC ile fenolik madde miktarı tayini için 14 farklı standartın (Askorbik asit, Gallic asit, Miricetin, Absisik asit, Quercetin, Apigenin, Kaempferol, Curcumin, Catechol, Vanillin, Cafeic asit, Cinnamic asit, Rosmarinic asit ve Salisilic asit) incelediğimiz *V. insulare* ve *I. helenium* bitkilerine ait fenolik bileşik miktarları Çizelge 3.11 ve 3.12' de ve standartların HPLC kromatografisi Şekil 3.13'te verilmiştir.

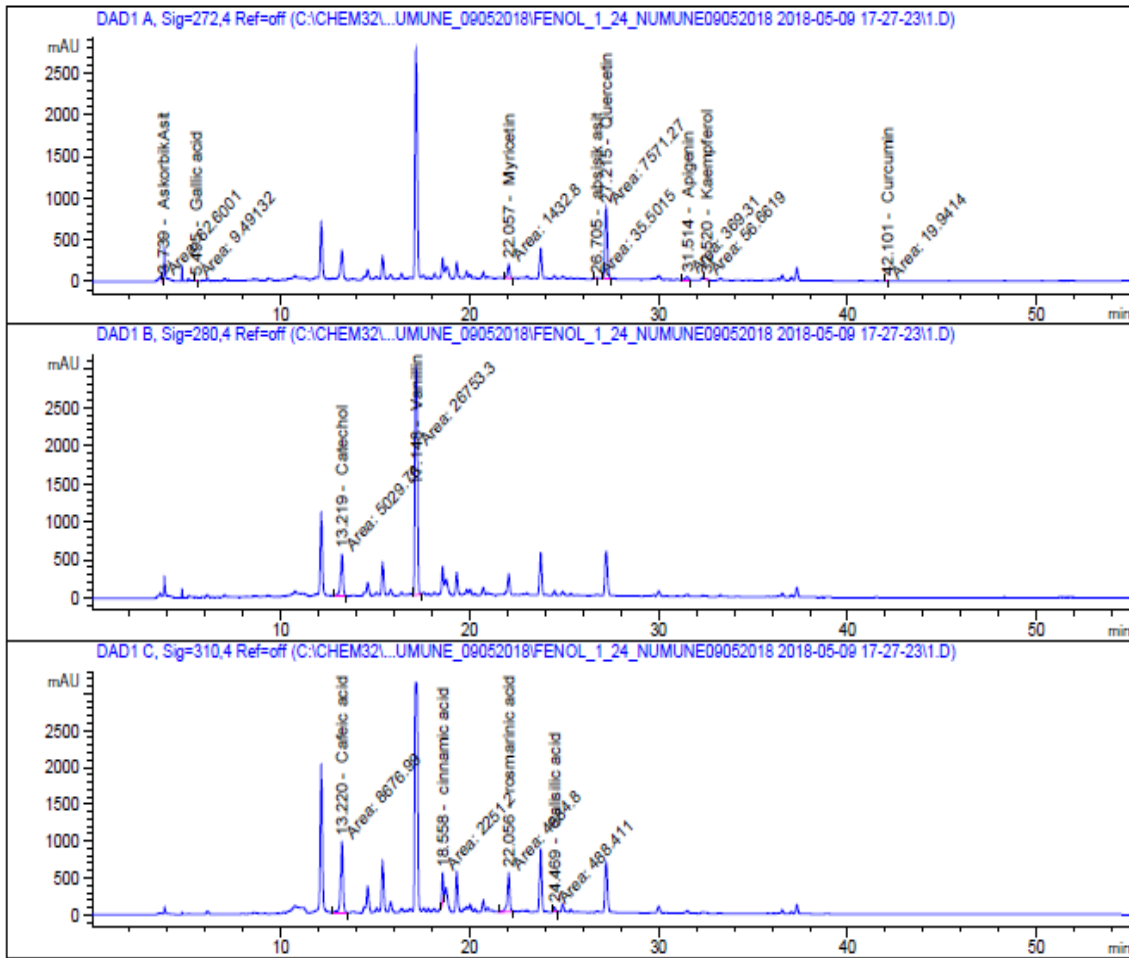


Şekil 3.13. Fenolik standartların HPLC kromatografisi

Çizelge 3.11. *V. insulare* bitkisinin yaprak ve kök ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin miktarları (µg/ml)

Fenolikler	Yaprak		Kök	
	Etanol	Saf su	Etanol	Saf su
Vanillin	255.367	76.626	41.593	0.000
Catechol	154.389	15.960	121.034	34.118
Kafeik asit	82.550	5.793	52.187	11.863
Mirisetin	67.903	35.698	108.492	12.018
Apigenin	66.680	4.592	21.563	20.640
Rosmarinik asit	58.381	7.823	10.356	3.330
Cinnamic asit	29.547	105.559	17.470	7.027
Absisik Asit	13.094	3.953	9.423	3.955
Salisilik asit	12.547	0.000	58.260	47.344
Curcumin	7.786	0.000	14.274	4.891
Kaempferol	6.816	1.412	5.574	4.089
Askorbik asit	4.796	4.664	46.169	63.778
Kuersetin	2.786	4.807	2.592	6.991
Gallik asit	0.000	0.000	0.000	0.000

V. insulare bitkisinin yaprağından elde edilen ekstraktların HPLC ile analiz miktarlarına bakıldığında etanol ekstraktında en fazla miktarda vanilin (255.367 µg/ml), en az miktarda kuersetin (2.786 µg/ml) varlığı tespit edilmiştir. Saf su ekstraktında ise en az miktarda kaempferol (1.412 µg/ml), en fazla miktarda ise cinnamic asit (105.559 µg/ml) olduğu belirlenmiştir. Etanol ekstraktında gallik asit tespit edilmezken, saf su ekstraktında ise üç farklı fenolik (gallik asit, salisilik asit ve curcumin) tespit edilmemiştir. Her iki ekstraktın fenolik madde miktarlarının birbirlerinden çok farklı olduğu belirlenmiştir. Kökten elde edilen ekstraktların HPLC analizi ile yapılan 14 farklı fenolik içeriği karşılaştırıldığında, etanol ekstraktında en fazla miktarda catechol (121.034 µg/ml) var iken, en az miktarda ise kuersetin (2.592 µg/ml) varlığı tespit edilmiştir. *V. insulare* kökünden elde edilen saf su ekstraktında en az miktarda rosmarinik asit (3.330 µg/ml) mevcut iken, en fazla miktarda ise askorbik asit (63.778 µg/ml) içerdiği belirlenmiştir. *V. insulare*'nin etanol ekstraktında gallik asit tespit edilmezken, saf su ekstraktında ise gallik asit ve vanilin tespit edilmemiştir. Kökten elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının fenolik madde miktarları kısmen benzemesine rağmen, bazı fenoliklerin birbirlerinden çok farklı miktarlarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.11). *V. insulare* yaprak etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi aşağıda verilmiştir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. *V. insulare* bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi

Yapılan çalışmalarda *Verbascum* cinsine ait türden elde edilen metanol ekstraktı flavonoit içerikleri açısından HPLC kullanılarak incelenmiş ve sonuçta mirsetin, luteolol, kemferol ve izoramnetin flavonoitlerinin bulunduğu saptamıştır (Özbilgin, 2006). *V. cheiranthifolium* yaprağından elde edilen su ekstraktında apigenin, klorojenik asit, rosmarinik asit ve kuersetin gibi fenolik bileşikler bulunduğu tespit edilmiştir (Dalar ve ark., 2014).

Verbascum cinsine ait bitkinin metanol ekstraktında mirsetin, luteolol, kemferol ve izoramnetin flavonoitlerinin bulunduğu gözlenmiştir. Ekstraktlarda saptanan flavonoitlerden koemferol'ün miktarının diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğu da belirlemiştir (Güzel, 2006). Fenolik bileşiklerin tanımlanması üzerine yapılan önceki çalışmalarda *Verbascum* türlerinde apigenin ve luteolin fenoliklerin varlığını tespit etmişlerdir (Tatlı ve Akdemir, 2004) *Verbascum* cinsi bitkiden elde edilen su ekstraktlarında yüksek konsantrasyonda kafeik asit varlığını belirlemiştir. Ayrıca *V.*

nigrum metanol ekstraktında ise neoklorojenik ve sinnamik asitlerin varlığını tespit etmişlerdir (Mihailovic ve ark., 2016). Çalışmamızdaki bitki örneği ile ilgili literatürde kısıtlı HPLC analiz sonuçları olduğundan dolayı *Verbascum* cinsi dikkate alındığında benzer fenoliklerin varlığı gözlemlenmiştir.

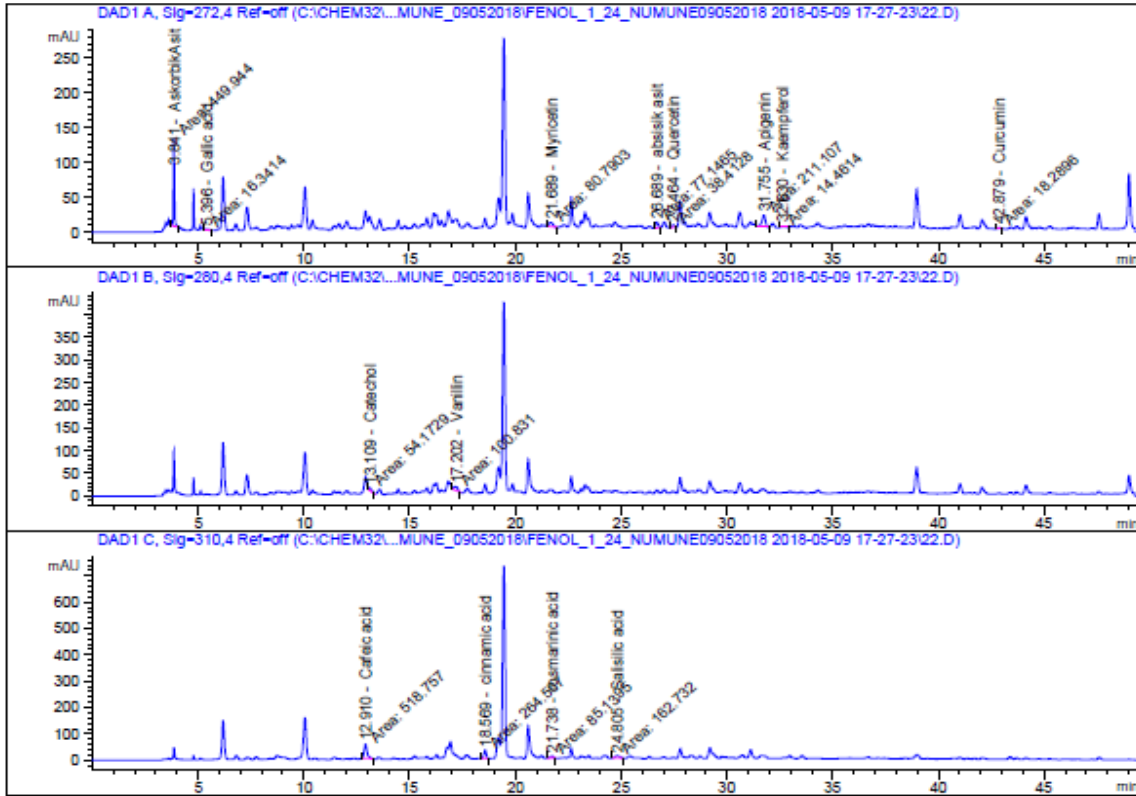
Çizelge 3.12. *I. helenium* bitkisinin yaprak ve kök ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin miktarları ($\mu\text{g/ml}$)

Fenolikler	Yaprak		Kök	
	Etanol	Saf su	Etanol	Saf su
Apigenin	18.227	5.408	24.278	29.173
Absisik Asit	17.573	6.827	4.585	1.415
Askorbik asit	17.492	12.608	50.667	94.038
Curcumin	14.022	0.000	7.547	0.000
Catechol	6.631	32.207	25.330	19.688
Kafeik asit	5.641	10.257	10.464	7.636
Kaempferol	4.318	1.234	1.736	0.000
Cinnamic asit	3.676	12.935	6.110	5.762
Kuersetin	3.385	2.133	7.909	3.006
Mirisetin	3.378	2.303	13.818	3.760
Rosmarinik asit	3.223	1.562	2.464	2.519
Salisilik asit	0.000	8994	37.194	0.000
Vanillin	0.000	0.000	1,564	0.000
Gallik asit	0.000	0.000	0.000	0.000

I. helenium bitkisinin yaprağından elde edilen ekstraktların HPLC ile analiz miktarlarına bakıldığında etanol ekstraktında en fazla miktarda apigenin ($18.227 \mu\text{g/ml}$), en az miktarda rosmarinik asit ($3.223 \mu\text{g/ml}$) varlığı tespit edilmiştir. Saf su ekstraktında en az miktarda kaempferol ($1.234 \mu\text{g/ml}$), en fazla miktarda ise catechol ($32.207 \mu\text{g/ml}$) olduğu belirlenmiştir. Etanol ekstraktında 3 farklı fenolik (gallik asit, vanilin ve salisilik asit) tespit edilmezken, saf su ekstraktında ise 3 farklı fenolik (gallik asit, vanilin ve curcumin) tespit edilmemiştir. Her iki ekstraktın fenolik madde miktarları birbirlerinden çok farklı olduğu belirlenmiştir.

Kökten elde edilen etanol ekstraktının HPLC analizi ile yapılan 14 farklı fenolik içeriği karşılaştırıldığında en fazla miktarda askorbik asit ($50.667 \mu\text{g/ml}$) var iken, en az miktarda ise vanilin ($1.564 \mu\text{g/ml}$) varlığı tespit edilmiştir. *I. helenium* kökünden elde edilen saf su ekstraktında en az miktarda absisik asit ($1.415 \mu\text{g/ml}$) mevcut iken, en fazla miktarda ise askorbik asit ($94.038 \mu\text{g/ml}$) içerdiği belirlenmiştir. Etanol ekstraktında gallik asit tespit edilmezken, saf su ekstraktında ise beş farklı fenolik (gallik asit,

kaempferol, vanilin, salisilik asit ve curcumin) tespit edilmemiştir. Kökten elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının fenolik madde miktarları kısmen benzemesine rağmen, bazı fenoliklerin birbirlerinden çok farklı miktarlarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.12). *I. helenium* kök etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi aşağıda verilmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen etanol ekstraktına ait HPLC kromatografisi

Yapılan çalışmalarda *Inula* cinsine ait bitkiden HPLC yöntemi ile chlorogenic acid, caffeic acid, alantolactone ve isoalantolactone maddelerin miktarlarının çok farklı oranda olduğunu tespit etmişlerdir (Wang ve ark., 2014). *Inula* cinsine ait bitkiden elde edilen metanol ve su ekstraktlarında HPLC ile fenolik madde analizinde 10 farklı standart (gallik asit, kafeik asit, rutin, luteolin, kamferol, rosmarinik asit, mirisetin, kuersetin, kumarin ve apigenin) kullanılmıştır. Metanol ve su ekstraktları en fazla kamferol (sırasıyla 40.87 ± 0.04 mg/g ve 34.36 ± 0.02 mg/g kuru ekstrakt) içermektedir. Aynı zamanda ekstraktlardan gallik asit, rutin, rosmarinik asit, kuersetin ve kumarin tespit edilmiştir. Ayrıca su ekstraktında apigenin de bulunmaktadır (Özkan ve ark., 2003). Çalışmamızda ise kökün saf su ekstraktında daha az fenolik madde miktarı tespit edilmiştir.

Inula türlerinin çiçek, yaprak ve köklerinden ayrı ayrı ekstraktlar elde edilmiş ve HPLC ile yapılan miktar tayinleri analizinde; klorojenik asit, kafeik asit, rutin, mirisetin, kuersetin, luteolin ve kemferol saptanmıştır (Gökbulut, 2011). *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstraktların ters faz-HPLC ile yapılan kalitatif ve kantitatif analizleri ile bitkinin çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kuersetin bileşiklerini içerdiği saptanmıştır (Karacaoğlu, 2014). Yapılan çalışmalar dikkate alındığında çalışmamızla kısmen benzerlik göstermekte olup, her bir bitki ekstraktında analiz edilemeyen bazı fenolik maddelerin de bulunması muhtemeldir.



4. SONUÇ

Bitkiler insanlık tarihi boyunca tedavi amaçlı olarak alternatif ve modern tıpta kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavi amaçlı olarak kullanılabilmesi için bir bitkinin bu amaca uygun belli özellikleri taşıması gerekmektedir. Bitkilerde bu özelliklerinin belirlenebilmesi için bitki bünyesinde bulunan maddelerin araştırmalar ile ortaya çıkartılması gereklidir. Bu çalışmada *Verbascum insulare* Boiss. & Heldr. ve *Inula helenium* L. subsp. *pseudohelenium* Grierson bitkilerin yaprak ve köklerinden elde edilen ekstraktların fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi, biyoaktif bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkisi, farmakolojik değerlerinin ön plana çıkarılması, doğal antioksidan kaynağı ve sentetik antimikrobiyal ajanlara karşı alternatif doğal antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Bitkilerden elde edilen ekstraktlar veya bu ekstraktların saflaştırılmış sonucunda elde edilen organik kökenli bileşiklerin total antioksidan aktiviteleri tespit etmek için birçok yöntem geliştirilmiş ve günümüzde de bu yöntemler kullanılmaktadır.

Çalışmamızda *V. insulare* ve *I. helenium* bitkilerinin antioksidan aktivite ve radikal giderme aktivitesi için FRAP, DPPH, ABTS, CUPRAC ve Toplam antioksidan aktivite tayini yöntemleri kullanıldı. Her iki bitkimizinden elde edilen ekstraktlar ABTS radikal giderme aktivitesinde standartlara yakın etki gösterdi. Yapraktan elde edilen ekstraktların genel olarak kökten elde edilen ekstraktlara göre daha iyi antioksidan aktivite sergilediği gözlemlendi. Ayrıca genel olarak etanol ekstraktlarının su ekstraktlarına göre daha iyi antioksidan özellik gösterdiği tespit edildi.

İnsan sağlığına zarar veren birçok mikroorganizma yanlış ve yetersiz antibiyotik kullanımından dolayı ilaç direnci göstermektedir. Bu nedenle, bitkiler başta olmak üzere doğal kaynaklardan elde edilebilecek yeni maddelerin keşfedilmesine büyük önem verilmesi gerekmektedir.

V. insulare yaprak ve kök etanol ekstraktlarının bakterilere karşı herhangi bir antibiyotik etkisi yok iken funguslara karşı geniş spektruma sahip antibiyotikler gibi (Fluconazole) çok güçlü antifungal etkisinin olduğu ve saf su ekstraktlarında etanol ekstraktlarına benzer şekilde bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi yok iken funguslara karşı güçlü antifungal etkisinin olduğu tespit edildi.

I. helenium yaprak ve kök etanol ekstraktlarının incelenen mikroorganizmalara karşı çok kuvvetli antimikrobiyal aktivitesinin olduğu ve saf su ekstraktlarının ise bakterilere karşı herhangi bir antibiyotik etkisi yok iken funguslara karşı geniş spektruma sahip antibiyotikler (Fluconazole) gibi çok güçlü antifungal etkisinin olduğu tespit edildi.

V. insulare'den ekstrakte edilen bileşikler geniş spektrumlu antifungal etkiye sahip iken, *I. helenium*'dan ekstrakte edilen bileşiklerin ise geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *V. insulare* ve *I. helenium* bitkilerinden ekstrakte edilen bileşiklerin günümüzde kullanılan antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

V. insulare ve *I. helenium* bitkisinin genel olarak etanol ekstraktlarının, saf su ekstraktlarına göre ve yapraktan elde edilen ekstraktların da kökten elde edilen ekstraktlara göre yaklaşık olarak üç kattan daha fazla fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edildi.

Çalışmamız sonucunda, *I. helenium* ve *V. insulare* türlerindeki bazı fenolik bileşiklerin dağılımı ve miktarı ortaya konulmuş, türlerin farklı kısımlarından değişik çözücülerle elde edilen ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirilmiş ve önemli bulgular elde edilmiştir.

Çalışmada incelenen bitkiler alternatif tıpta tedavi amaçlı kullanılmakla beraber, bu bitkiler ile ilgili daha fazla laboratuvar çalışmalarının yapılması, bu bitkilerin kimyasal özelliklerinin ve biyolojik etkilerinin daha iyi bilinmesi için bitkilerde bulunan bileşiklerin izole edilmesi ve karakterizasyonu için farmasötik testlere ve farmakolojik araştırmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, bu bitkilerden elde edilen ekstraktların canlı organizmalarda kullanıma uygunluğu amacıyla daha fazla araştırılması gerekmektedir. Literatürde yapılan araştırmalarda çalışma materyali olan *V. insulare* ve *I. helenium* subsp. *pseudohelenium* bitkileri ile ilgili daha önce yapılan fenolik içerik analizi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktivite tayini ile çok az çalışmaya rastlanması ve bu bitkilerin öneminin ortaya konabilmesi için daha fazla araştırmalarının ve elde edilecek sonuçların literatüre katkı sağlayacağını umuyoruz.

KAYNAKLAR

Adak, T., 2017. *Origanum solymicum* P.H Davis bitkisinden sekonder metabolitlerin izolasyonu ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Akay, F., 2002. *I. heterolepis* uçucu yağının kalitatif ve kantitatif olarak incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Akdemir Z.S., Tatlı I.I., Bedir E., Khan A.I., 2004. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Verbascum lasianthum*, *Turk Journal of Chemistry*, 28: 227-234.

Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoz Yayınları*, Konya, 1, 1995.

Akpınar, O., 2008. Süt ve süt ürünlerinden *Yarrowia lipolytica* izolasyonu, identifikasyonu ve ürettikleri alkalın proteaz ve ribonükleaz enzimlerinin aktivitelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Akşit, F., 1993. Bakteri genetiği ve antimikrobik maddeler. Mikrobiyoloji, Editör: N. Serter. *Anadolu Üniversitesi Yayınları No:490*, Eskişehir, s. 44-56.

Anonim, 2017a. http://www.tubives.gov.tr/ınula_helenium/index.html. [Erişim tarihi:10 Kasım 2017].

Anonim,2017b.<https://www.vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandır/verbascumins/index.html>. [Erişim tarihi:12 Kasım 2017].

Anonymous, 2017c. <http://www.chats.gen.tr/serbest-radikal-nedir.html>. Erişim tarihi: [10 Kasım 2017].

Apaydın, E., 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antioksidan aktivitedeki değişimler, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Aras, A., 2017. Türkiye’de yetişen endemik *Nepeta nuda* subsp.*lydiae* bitkisine ait farklı ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin Lc-Ms/Ms ile analizi, Doktora tezi, Dicle Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Arda, M., 1997. Mikrobiyal üremenin kontrolü, *Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi*, Ankara, 558 s.

Atoui, A. K., Mansourı, A., Boskou, G. and Kefalas, P., 2005. Tea and Herbal infusions: Their antioksidant activity and phenolic profile, *Food Chemistry*, 89, 27-36.

Bai, N., Zhou, Z., Zhu, N., Zhang, L., Quan, Z., He, K., Zheng, Q.Y., Ho, C.T., 2005. Antioxidative flavonoids from the flower of *Inula britannica*, *Journal of Food Lipids*, 12: 141-149.

Başkaya, Y., 2015. Bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkili antimikrobiyal maddeler üretebilen mikroorganizmaların topraktan izolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, *Fenbilimleri Enstitüsü*.

Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. 2010. Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-I*, 437-456, 11-15 Ocak, Ankara.

Baytop, T. 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), *Nobel Tıp Kitabevleri Ltd*, İstanbul.

Becker, E.M., Nissen, L.R. and Skibsted, L.H., 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, Review, *European Food Research Technology*, 219, 561-571.

Berk, Ş., Bektaş, B., Arslan S., 2011. Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Inula oculus-christi*, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (14),1695-1702.

Berk, Ş. 2012. *Myrtus communis*, *Pistacia vera*, *Arum maculatum*, *Ceterach officinarum*, *Inula oculus-christi* türlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu aktivitelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Bilgehan, H., 2000. Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları), 10. Baskı, *Bariş yayınları*, İzmir.

Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 26, 1199-1200.

Bozhan, N., 2017. Bazı schiff bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* kültür ortamlarında bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Bitlis Eren Üniversitesi ve Fırat Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Bursal, E., 2009. Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Cabaroğlu, T., Yılmaztekin, M., 2010. Aroma Biyoteknolojisi, *Gıda Biyoteknoloji.Nobel Yayıncılık*, Ankara.

Canıyılmaz, A., 2015. *Phillyrea latifolia*, *Cistus creticus* ve *Arbutus andrachne* türlerinin kimyasal içeriğinin ve fenolik ekstraktiflerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Civelek, E., 2018. *Verbascum pyramidatum* BIEB. üzerinde farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Cornelli, U., 2009. Antioxidant use in nutraceuticals, *Clinics in Dermatology*, 27: 175-94.

Çakır, T., Bağcı, E., 2006. *Verbascum euphraticum* Bentham ve *V. melitenense* Boiss (*Scrophulariaceae*) türleri üzerinde taksonomik bir çalışma. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18 (4), 445-458.

Çınar, A.E., 2012. Türkiye’de yetişen *Inula helenium* L. (Asteraceae) taksonlarının biyoaktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Çiftçi, E. 2015. Süleyman demirel üniversitesi tıp fakültesi hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarındaki karbapenemaz varlığının araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Çöllü, Z., 2007. *Urtica pilulifera* L. bitkisinin antioksidan aktivitesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Dalar, A., Yu Guo, Y., Konczak, İ., 2014. Phenolic composition and potential anti-inflammatory properties of *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* leaf, *Journal of Herbal Medicine* 4:195-200.

Danahaliloğlu H., 2014. Hatay Bölgesinde Yetişen Çeşitli *Verbascum* Türlerinin Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Davidson, G.P., Decker, T.R., 2009. Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer. *Nutrition in Clinical Practice*, 24, 250–260.

Davis, P.H., 1978. The Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol 5, *University Press, Edinburgh*.

Davis, P.H., 1982. The Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 7, *University Press, Edinburgh*.

Değerli, S., Berk, S., Malatyalı, E., Tepe, B., 2012. Screening of the *in vitro* amoebicidal activities of *Pastinaca armena* (Fisch. & C.A.Mey.) and *Inula oculus-christi* (L.) on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites, *Parasitology Research*, 110, 565-570.

Devasagayam, T.P.A., Bolor, K.K., Ramsarma, T., 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview), *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 40 (5), 300-308.

Deveci, H.A., Nur, G., Kırpık, M.A., Harmankaya, A., Yıldız, Y., 2016. Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1), 26-32.

Dizdaroğlu, M., 1991. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA, *Free Radical Biology and Medicine*, 10, 225-242.

Dülger, B., Gönüz, A., 2004. Antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*, *Salvia* and *Stachys* species, *Pharmaceutical Biology*, 42 (4-5), 301-304.

Esen M., 2008. *Verbascum pinetorum* (Boiss.) O. Kuntze bitki ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Fantel, A.G., 1996. Reactive oxygen species in developmental toxicity. Review and hypothesis. *Department of Pediatrics*, University of Washington, Seattle, Washington 98195-6320.

Faydaoğlu. E., Sürücüoğlu, M.S., 2011, Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1), 52-67.

Ferreira, M.J.P., Brant, A.J.C., Rufino, A.R., Alvarenga, S.A.V., Magri, F.M.M., Emerenciano, V.P., 2004, Prediction of occurrences of diverse chemical classes in the Asteraceae through artificial neural networks, *Phytochemical Analysis*, 15: 389-396.

Gardes-Albert, M., Jore, D., Abendinzadeh, Z., Remita, S., Rouscilles, A., UMR 8601-CNRS, 2002, Oxidative Stress, Expression of Interest for the VI. Framework Programme of the European Commission, Annex 3, *Network of Excellence projet, Laboratoire de chimie Physique*, Université Paris.

Gökbulut, A., 2011. Türkiye'de Yetişen Bazı *Inula* L. Türleri Üzerinde Farmakognozok Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Gülçin, İ., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicology*, 217 (2–3), 213–220.

Gürhan, G. ve N, Ezer, N.,2004. Halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler-I *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 24,1, 37-55.

Güzel, S., 2006. *Verbascum inulifolium* Hub.-Mor. (*Scrophulariaceae*) bitkisi üzerinde farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Hall, C., 2001. Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources, Antioxidants in Food, Practical Applications, J Pokorny, N Yanishlieva and M Gordon (eds), pp. 169-219, *Woodhead Publishing Ltd.*, Cambridge.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview, *In: Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

Harborne JB.,1994. *The flavonoids: advances in research since 1986*, London, UK: *Chapman & Hall*.

Hayatsu H., Arimoto S. and Negishi T., 1988. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis, *Mutation Research*, 202, 429-446.

Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Tanaka, T., 1996. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53, 75-87.

Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Sattar, H. ve Qureshi, M.S., 2011. In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity, *Pakistan Journal of Botany*, 43 (1), 531-538.

İşbilir, Ş.S., 2008. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Jayaprakasha GK., Selvi T., Sakariah K.K., 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts, *Food Research International*, 36, 117-122.

Kan, A., Özcelik., B. Kartal, M., 2009. *In vitro* antiviral activities under cytotoxic doses against herpes simplex type-1 and *parainfluenza-3* viruses of *Cicer arietinum* L., *Africa Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3, 627-631.

Karaaslan, E., 2013. Çevreden izole edilen suşların antimikrobiyal direnç durumlarının araştırılması ve klinik suşlarla karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016. Serbest radikaller, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4 (1), 50-59.

Karacaoğlu, M., 2014. *Inula heterolepis* Boiss. üzerinde farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Karadeniz, F., 1994. Elma suyunda fenolik madde dağılımı konsantreye işleme sonunda değişimi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Karavelioğulları, F.A., Vural, M., Şahin, B., Aslan, S., 2015. İç Anadolu bölgesi'nden (Türkiye) yeni bir tür: *Verbascum aydogdui* (*Scrophulariaceae*), *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 1 (3), 2014, 63-71.

Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015. Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3 (5), 226-234.

Keser, S., 2012. Civanperçemi (*Achillea millefolium*) ve Bögürtlen (*Rubus discolor*)’in toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve oksidatif stres oluşturulmuş ratlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Kıral, M., 2012. Turnike uygulanan ortopedi hastalarında iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif hasara karşı C ve E vitamininin koruyucu etkinliğinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi, *Tıp Fakültesi*.

Koçak, G., 2011. *Bacillus subtilis* ile reaktif black 5 boyar maddesinin renk giderim kinetiğinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Konishi, T., Shimada, Y., Nagao, T., Okabe, H., Konoshima, T., 2002. Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium*, *Biological of Pharmaceutical Bulletin.*, 25 (10), 1370-1372.

Kurtoğlu, S., 2011. Hatay Yöresinde Yetişen Bazı *Verbascum* Türleri Üzerine Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Kühnau J., 1996. The flavonoids, A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition, *In: Bourne GH, ed. World Review of Nutrition Dietetics. Basel, Switzerland: S. Karger, Vol 24, p. 117–120*

Larson, R.A., 1988. The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry*, 27, 969–978.

Magiatis P, Spanakis D, Mitaku S, Tsitsa E, Mentis A, Harvala C., 2001. Verbalactone, a new macrocyclic dimer lactone from the roots of *Verbascum undulatum* with antibacterial activity, *Journal of Natural Products*, 64 (8),1093-1094.

Manez, S., Hernandez, V., Giner, R.M., Rios, J.L., Recio, M.C., 2007. Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*, *Fitoterapia*, 78, 329-331.

Maure A., Cruz JM., Franco D., Domingez M., Sineiro J., Nunez MJ., Parajo JC., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.

Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 15, 91-96.

Mihailovic V., Kreft S., Benkovic ET., Ivonovic N., Stankovic MS., 2016. Chemical profile, antioxidant activity and stability in stimulatedgastrointestinal tract model system of three *Verbascum* species, *Industrial Crops and Products*, 89, 141–151

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Wami, K., 1966. Antioxidativ action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo*, 19, 210-214.

Modanlıoğlu, Ş.N., 2012. *Inula peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) krovin türünün farklı ekstrelerinde antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Nandita S., Rajini PS., 2004. Free radical scavenging avtivity of an aqueous extract of potato peel, *Food Chemistry*, 85, 611-616.

Nelson, D.L. and Cox, M.M., Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth edition, W.H. Freeman and Company, New York.

Nizamlıoğlu, M.N., Nas, S., 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, No:1, 5, 20-35.

Njume, C., Afolayan AJ, Ndip RN., 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections, *Africa Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3, 685-699

Oğuz, A., 2008. Bazı çerez gıdaların antioksidan kapasiteleri, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Okalin, Ş.Ş., 2017. Kronik süperatif otitis medialis hastalardan *Staphylococcus aureus* izolasyonu ve in vitro antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Onat T., Emerk K., Sözmen E.Y., 2002. İnsan Biyokimyası, *Palme Yayıncılık*, Ankara.

Oracı M., 2014. *Ebenus laguroides* Boiss. var. *laguroides*, *Inula thapsoides* subsp. *thapsoides* ve *Onosma sericeum* bitkilerinin in vitro antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Osawa T., Ide A., Su J-D., and Namiki M., 1987. Inhibition of lipid peroxidation by ellagic acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 808-812.

Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*. 44, 307-315.

Özbilgin, B., 2006. *Verbascum obtusifolium* Hub.-Mor. (*Scrophulariaceae*) bitkisi üzerinde farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Özcan, F., 2013. Bazı liliaceae familyası üyelerinin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan, antimutajenik ve sitotoksik aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Özer, Z., Tursun, N., Önen, H., 2001. Yabancı otlarla sağlıklı yaşam (gıda ve tedavi), *4Renk Yayınları*. 133s.

Özgümüş O. B., 2010. Mikroorganizmaların üretilmesi, metabolizması, genetiği ve antimikrobik maddeler, Mikrobiyoloji, Editör: M. Altındış, *Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*, s. 9-27.

Özhan, O., 2012. *Inula oculus-christi* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Özkan G., Sağdıç, O., Özcan, M., 2003. Inhibition on pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations, *Food Science and Technology International*, 9 (2), 85-88.

Öztan, T., 2006. Mor havuç konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Öztürk Y., 2007. Beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan *Yarrowia lipolytica* ve *Debaryomyces hansenii*'nin fenotipik ve genotipik identifikasyonu, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Petkova N., Vrancheva R., Mihaylova D., Ivanov I., Pavlov A., Denev P., 2015. Antioxidant activity and fructan content in root extracts from elecampane *Inula helenium* L. *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 4 (1), 101-107.

Pulcini, C., Bush, K., Craig, W.A., Frimodt-Moller, N., Grayson, M.L., Mouton, J.W., Turnidge, J., Harbarth, S., ve Gyssens, I.C., 2012. Forgotten antibiotics: an inventory in Europe, the United States, Canada and Australia, *Clinical Infectious Diseases*, 54, 268-274.

Radulovic, N.S., Blagojevic, P.D., Stojanovic-Radic, Z.Z. & Stojanovic, N.M., 2013. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action, *Current Medicinal Chemistry*, 20 (7), 932-952.

Ren, W., Qiau, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., 2003. Flavonoids: Promis inganti cancer agents, *Medicinal Research Reviews*, 23 (4), 519-534.

Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. Glover W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, *Food Chemistry*, 66, 401-436

Robbers J.E, Tyler V.E. 1999, *Tyler's Herbs of Choice (The therapeutic Use of Phytochemicals)*, New York, *The Harworth Herbal Pres*, 119.

Rojas, J., Ochoa, J., Ocampo, S.A. ve Munoz, J.F. 2006. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections, *BMC Complementary and Alternative Medicine*,

Saran, B., Karahan, Z.C., 2010. Antimikrobiyal ajanlara genel bakış, *Türk Üroloji Semineri*. 1, 216-220.

Sarıçam, A., 2014. Üzüm çekirdeği ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Sasaki, Y. F., S, Kawaguchi., A, Kamaya., M, Ohshita., K, Kabasawa., K, Iwama., K, Taniguchi., S. Tsuda., 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519 (1), 103-119.

Sellapan, S., Akoh, C.C., Krewer, G., 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2432-2438.

Sernikli, C., 2015. Karadut (*Morus nigra*) suyunda toplam fenolik madde ve suda çözünen vitaminlerin ısı parçalanma kinetiği, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Sertsever, A. ve Gök, V., 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, s. 83-98.

Sevindik, E., 2014. Türkiye'de yetişen *Inula* L. (Asteraceae) türlerinin moleküler sistematik analizi ve ekolojisi, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Silinsin, M., 2016. *Inula graveolens* L. def. bitki türüne ait su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin değişik in vitro metotlar ile belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muş Alparslan Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Sökücü, N., 2007. Hemoroid hastalığı ve tedavisi, Tarihçe. Editörler, Baykan, A., Füzün, M., Zorluoğlu, A., *Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi*. İstanbul. 1-11

Stavric B., 1994. Quercetin in our diet: from potent mutagen to probable anticarcinogen, *Clinical. Biochemistry.*, 27, 245–24

Şanlı, B., 2015. *Verbascum cheiranthifolium*, *Chrysanthemum cinerariaefolium* ve *Rosmarinus officinalis* ekstraktlarının Sera Beyazsineği (*Trialeurodes vaporariorum*)'ne etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Şen, B., 2011. Marmara bölgesinde bulunan bazı *Verbascum* türleri üzerine farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Taged H, Mohammed E, Asres, K., Mariam, TG., 2005. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders, *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 168-175.

Tan, A., 2014. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan *Candida albicans* izalasyonu ve izolatların flukonazole duyarlılığının mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

Taner, G., 2015. Doğal ürünlerde bulunan fenolik bileşiklerin genotoksik ve antigenotoksik etkileri, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Tanker, M.,ve Tanker, N., 1998. Farmakognozi Cilt 2. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, No: 65. 433 s. Ankara.

Tanker M., ve Tanker N., 2003. Farmakognozi Cilt 1. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, No: 66. 347 s. Ankara.

Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., 2004. Farmasötik Botanik, *Ankara Üniversitesi Basımevi*, s. 319-326.

Tapan, S., 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus Arvensis* and *Oenanthe Linearis* of North-Eastern Region in India, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (2), 157-166.

Tatli, I.I., Akdemir, Z.S., Bedir, E., 2004. Saponin, iridoid, phenylethanoid and monoterpeneglycosides from *Verbascum pterocalycinum* var. *mutense*, *Turkish Journal of Chemistry*, 28, 111–122.

Tempel, T., Jakobsen, M., 2000. The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for roduction of Danablu, *International Dairy Journal*, 10, 263-270.

Tietz, N., 1995. Clinical Guide to Laboratory Tests, Saunders Company, Philadelphia.

Topal, Y., 2013, *Alchemilla* L. (Rosaceae) cinsine ait bazı türlerin fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Topcu, Ş., Çölgeçen, H., 2015. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoreaktörlerde Üretilmesi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (2), 09-29, 2015

Topçu, G., Öksüz, S., Shieh, H-L., Cordell, G.A., Pazzuto, J.M., Bozok-Johansson, C. 1993. Cytotoxic and antibacterial sesquiterpenes from *Inula graveolens*, *Phytochemistry*, 33, 407-410.

Turan, M., 2016. *Cyclamen alpinum* ve *Cyclamen parviflorum* ekstraktlarının fenolik bileşenleri ve bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Türker, AU., Camper ND., 2002. Biological activity of Common Mullein, a medicinal plant, *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 117-125.

Ünlü, Ü., 2016. Bazı tıbbi bitkilerin farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., 2003. Gıda Mikrobiyolojik Analizi, (Microbiological Quality Control), *186 Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri*, Bornova-İzmir.

Velioğlu, S., 2000. Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri, *Gıda Kongresi*, 25, 167-176.

Wang, J., Zhao, Y.M., Zhang M.L., Shi, Q.W., 2015. Simultaneous determination of chlorogenic acid, caffeic acid, alantolactone and isoalantolactone in *Inula helenium* by HPLC, *Journal of Chromatographic Science*, 53 (4), 526-30.

Wu, L., Chang, L., Chen, S., Fan, N., Ho, J.A., 2009. Antioxidant activity and melanogenesis inhibitory effect of the acetonic extract of *Osmanthus fragrans*: A potential natural and functional food flavor additive, *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1513-1519.

Wu, Q-X., Shi, Y-P., Jia, Z.J., 2006. Eudesmane sesquiterpenoids from the Asteraceae family, *Natural Product Report*, 23, 699-734.

Yalçın, S.M., 1989. *Verbascum cheiranthifolium* Boiss. bitkisinin flavonoid bileşikleri, *Marmara Üniversitesi Eczacılık Dergisi*, 8 (2), 93-97.

Yazgan, A.S., 2010. *Enterobacter cloacae* ve *Enterobacter aerogenes* türlerinden elde edilen lipopolisakkarit yapısındaki endotoksinlerin bazı hastane enfeksiyonları üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Yılmaz, M., 2009. *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae) bitki ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Yorulmaz, A., ve Tekin, A., 2008. Zeytin ve zeytinyağı fenolikleri, *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, 17-18 Mayıs 2008 / Edremit-Balıkesir.

Yücel, U., Ötleş, S., 2001. Şarabın bileşimi ve beslenmedeki önemi, *Dünya Gıda Kongresi*, 6, 5, 79-82.

Zeybek, N., 1985. *Farmosötik Botanik*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

Zhao J., Li,Y., Liu Q., Gao K., 2010. Antimicrobial activities of some thymol derivatives from the roots of *Inula hupehensis*, *Food Chemistry*, 120, 512– 516.

Zhao,Y.M., Zhang M.L., Shi, Q-W., Kiyota, H.K., 2006. Chemical constituents of plants from the genus *Inula*, *Chemistry and Biodiversity*, 3, 371-384.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nimet YILMAZ

Uyruğu : T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi : Mutki / 28.07.1979

Telefon : 0 546 258 91 89

e-mail : nimet.yilmaz22@iskur.gov.tr , biyopat@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise :	Muş Lisesi- Muş	1997
Üniversite :	Atatürk Üniversitesi- Erzurum	2006
Yüksek Lisans :	Muş Alparslan Üniversitesi-Muş	Halen Devam Ediyor

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2012- halen	Muş Çalışma ve İş Kurumu İl Müdürlüğü	İş ve Meslek Danışmanı

UZMANLIK ALANI

İş ve Meslek Danışmanı, İş Güvenliği

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR*